



ŻYWNOŚĆ

Nauka Technologia Jakość

FOOD

Science Technology Quality

Nr 5 (72)

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 Naczek (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 5 (72)

Kraków 2010

Rok 17

SPIS TREŚCI

Od Redakcji	3
ANNA WOCIÓR, DAGMARA ZŁOTKOWSKA, HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA: Mikoproteiny	5
ALICJA KOŚMIDER, KATARZYNA CZACZYK: Witamina B ₁₂ – budowa, biosynteza, funkcje i metody oznaczania	20
AGNIESZKA MARTYN, ZDZIŚLAW TARGOŃSKI: Antymikrobiologiczne opakowania żywności	33
STANISŁAW KALISZ, IWONA ŚCIBISZ: Wpływ dodatku ekstraktów roślinnych na zawartość polifenoli ogółem, antocyjanów, witaminy C i pojemność przeciwutleniającą nektarów z czarnej porzeczki	45
IWONA ŚCIBISZ, STANISŁAW KALISZ, MARTA MITEK: Termiczna degradacja antocyjanów owoców borówki wysokiej	56
DARIUSZ KOWALCZYK, EWA PIKULA: Wpływ jadalnej powłoki białkowo-woskowej na jakość przechowalniczą winogron (<i>Vitis Vinifera</i> L.)	67
JOANNA NIEWCZAS, MARTA MITEK: Zawartość składników mineralnych w owocach pięciu odmian dyni olbrzymiej (<i>Cucurbita maxima</i>)	77
AGATA KURZAWSKA, DANUTA GÓRECKA, DOROTA PIASECKA-KWIATKOWSKA, KRZYSZTOF DZIEDZIC: Zawartość glutenu w kłęczu pałki wodnej wąskolistnej (<i>Typha angustifolia</i>)	85
MIROSLAW ŻMIJEWSKI: Jakość ciasta i chleba pszenno-gryczanego w zależności od dodatków technologicznych	93
PAULINA WOLSKA, ALICJA CEGLIŃSKA, ALEKSANDRA DUBICKA: Produkcja pieczywa na żurkach ze zbóż bezglutenowych	104
MARIA SIELICKA, BOGDAN PACHOŁEK, ANNA ZAGÓRSKA: Właściwości przeciwutleniające wybranych herbatek będących suplementami diety	112
DOROTA ZARĘBA: Stabilność aromatu fermentowanego mleka sojowego w czasie chłodniczego przechowywania	123
MAREK ALJEWICZ, GRAŻYNA CICHOSZ, MARIKA KOWALSKA: Wpływ dodatku kultur probiotycznych <i>Lactobacillus</i> na intensyfikację proteolizy w serach typu holenderskiego	136
MARTA POKORA, JOANNA NIEDBALSKA, MAREK SZOŁTYSIK: Wpływ enzymów drożdży <i>Yarrowia lipolytica</i> na wybrane cechy jakościowe dojrzewających serów niskotłuszczowych	146
MARTA CHMIEL, KRZYSZTOF DASIEWICZ, MIROSLAW SŁOWIŃSKI: Wpływ rozdrobnienia mięsa wołowego na dokładność szacowania zawartości tłuszczu metodą komputerowej analizy obrazu	159
KATARZYNA NEFFE, DANUTA KOŁOŻYŃ-KRAJEWSKA: Możliwości zastosowania bakterii probiotycznych w dojrzewających produktach mięsnych	167
KRZYSZTOF J. DURKALEC-MICHALSKI, JOANNA M. SULIBURSKA, ZBIGNIEW KREJPCIO, PAWEŁ BOGDAŃSKI: Ocena spożycia alkoholu, tłuszczu i sodu w wybranej grupie pacjentów z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym	178
EWA ŻARY-SIKORSKA, JERZY JUŚKIEWICZ: Wpływ fruktooligosacharydów i polifenoli z cykorii na procesy fermentacyjne zachodzące w końcowym odcinku przewodu pokarmowego u szczurów doświadczalnych	191
GRAŻYNA MORKIS: Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym	200
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA, ANNA WOCIÓR: Współczesny leksykon wiedzy o żywności	202
ANNA GRĘDA: Nowe książki	204
JOANNA KAWA-RYGIELSKA: XV Jubileuszowa Sesja Młodej Kadry Naukowej PTTŻ „Jakość i prozdrowotne cechy żywności”	207
Technolog Żywności	210

Zamieszczone artykuły są recenzowane

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

FOOD. Science. Technology. Quality

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

No 5 (72)

Kraków 2010

Vol. 17

CONTENTS

From the Editor.....	3
ANNA WOCIÓR, DAGMARA ZŁOTKOWSKA, HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA: Mycoprotein.....	5
ALICJA KOŚMIDER, KATARZYNA CZACZYK: Vitamin B ₁₂ - structure, biosynthesis, functions, and methods of determination.....	20
AGNIESZKA MARTYN, ZDZIŚLAW TARGOŃSKI: Antimicrobial food packagings.....	33
STANISŁAW KALISZ, IWONA ŚCIBISZ: Effect of plant extract additives on the content of total polyphenols, anthocyanins, l-ascorbic acid, and antioxidant capacity of black currant nectars.....	45
IWONA ŚCIBISZ, STANISŁAW KALISZ, MARTA MITEK: Thermal degradation of anthocyanins in blueberry fruit.....	56
DARIUSZ KOWALCZYK, EWA PIKULA: Effect of edible protein-wax coating on storage quality of table grapes (<i>Vitis vinifera</i> L.).....	67
JOANNA NIEWCZAS, MARTA MITEK: Content of mineral components in the fruit of five varieties of winter squash (<i>Cucurbita maxima</i>).....	77
AGATA KURZAWSKA, DANUTA GÓRECKA, DOROTA PIASECKA-KWIATKOWSKA, KRZYSZTOF DZIEDZIC: Content of gluten in rhizome of narrow-leaved cattail (<i>Typha angustifolia</i>).....	85
MIROŚLAW ŻMIJEWSKI: Quality of dough and bread made of wheat flour and buckwheat brini depending on the technological additives.....	93
PAULINA WOLSKA, ALICJA CEGLIŃSKA, ALEKSANDRA DUBICKA: Production of bread using sourdoughs from gluten-free cereals.....	104
MARIA SIELICKA, BOGDAN PACHOLEK, ANNA ZAGÓRSKA: Antioxidant properties of selected teas known as food supplements.....	112
DOROTA ZARĘBA: Aroma stability of fermented soymilk during cold storage.....	123
MAREK ALJEWICZ, GRAŻYNA CICHOSZ, MARIKA KOWALSKA: Effect of probiotic cultures <i>Lactobacillus</i> additive on the intensification of proteolysis in dutch-type cheeses.....	136
MARTA POKORA, JOANNA NIEDBALSKA, MAREK SZOŁTYSIK: Effect of <i>Yarrowia lipolytica</i> enzymes on selected qualitative features of ripening, low-fat cheeses.....	146
MARTA CHMIEL, KRZYSZTOF DASIEWICZ, MIROŚLAW SŁOWIŃSKI: Effect of beef grinding on the accuracy of estimating fat content with the use of video image analysis.....	159
KATARZYNA NEFFE, DANUTA KOŁOŻYN-KRAJEWSKA: Potential uses of probiotic bacteria in ripening meat products.....	167
KRZYSZTOF J. DURKALEC-MICHALSKI, JOANNA M. SULIBURSKA, ZBIGNIEW KREJPCIO, PAWEŁ BOGDAŃSKI: Assessment of alcohol consumption, fat and sodium intake in selected group of outpatients with primary arterial hypertension.....	178
EWA ŻARY-SIKORSKA, JERZY JUŚKIEWICZ: Effect of fructooligosaccharides and phenols from chicory on fermentation processes ongoing in final section of alimentary tract in experimental rats.....	191
GRAŻYNA MORKIS: Food problems in Polish and EU legislation.....	200
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA, ANNA WOCIÓR: Food Science Lexicon.....	202
ANNA GRĘDA: Book reviews.....	204
Joanna Kawa-Rygielska: The 15 th Jubilee Session of Young Scientists associated in the Polish Society of Food Technologists.....	207
The Food Technologist.....	210

Only reviewed papers are published

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

OD REDAKCJI


Szanowni Czytelnicy,

przekazujemy Państwu nr 5 (72) naszego czasopisma. Zamieściliśmy w nim artykuły naukowe i materiały informacyjne, które, mamy nadzieję, spełnią Państwa oczekiwania.

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, listopad 2010 r.

Redaktor Naczelny



Tadeusz Sikora

**Prof. dr hab. Tadeusz Sikora laureatem
Polskiej Nagrody Jakości**

W dniu 11 listopada 2010 r. na Zamku Królewskim w Warszawie odbyła się uroczystość wręczenia Polskich Nagród Jakości. Nagrody wręczał wicepremier Waldemar Pawlak. Podczas tej uroczystości prof. dr hab. Tadeusz Sikora – redaktor naczelny naszego czasopisma – został wyróżniony Polską Indywidualną Nagrodą Jakości im. prof. Edwarda Kindlarskiego.

Polska Indywidualna Nagroda Jakości im. prof. Edwarda Kindlarskiego jest przyznawana osobom, które:

- wniosły wybitny wkład w teoretyczne doskonalenie koncepcji zarządzania przez Jakość – TQM, Modelu Doskonałości EFQM w Polsce (Europejska Fundacja Zarządzania Jakością) oraz Modelu Doskonalenia Zarządzania Polskiej Nagrody Jakości (PNJ);
- osiągnęły wyróżniające wyniki we wdrożeniu koncepcji Zarządzania przez Jakość (TQM) oraz Modelu PNJ w organizacji;
- wyróżniły się wybitnie w promocji: problematyki jakości, koncepcji Zarządzania przez Jakość oraz Modelu PNJ;
- posiadają wybitne publikacje i wdrożenia praktyczne z zakresu jakości.

Gratulujemy!

Redakcja

ANNA WOCIÓR, DAGMARA ZŁOTKOWSKA, HENRYK KOSTYRA,
ELŻBIETA KOSTYRA

MIKOPROTEINY

Streszczenie

Mikoproteiny stanowią biomasę komórek grzybowych z rodzaju *Fusarium venenatum* o zredukowanej ilości RNA. W ich skład wchodzi około 50 % białek, 12 % tłuszczu, 12 % cukrów i 25 % włókna pokarmowego. Skład aminokwasowy białka mikoprotein jest porównywalny z ich zawartością w białkach mięsa, jaj, soi i pszenicy. Mikoproteiny poddane teksturyzacji mogą być wykorzystane jako substytut mięsa.

Słowa kluczowe: mikoproteiny, nowa żywność, substytuty mięsa, bezpieczeństwo żywności

Wprowadzenie

Światowy deficyt białka, którego powodem jest niewystarczająca produkcja, nieodpowiednia dystrybucja oraz coraz częściej pojawiające się choroby zwierząt i ptaków (BSE, ptasia grypa) powoduje ponowne zainteresowanie białkami pochodzącymi z niekonwencjonalnych źródeł. Jednym z nich, znanym od stuleci, są grzyby. Grzyby spożywane są na całym świecie w dużej mierze ze względu na ich aromat i teksturę. Obecnie znanych jest 35 gatunków grzybów hodowanych do celów żywieniowych i medycznych. Około 20 gatunków jest produkowanych przemysłowo. Przykładem może być grzyb *Ganoderma lucidum* (pol. lakownica lśniąca) odkryty w Chinach dwa tysiące lat temu, który do dziś stanowi jeden z podstawowych surowców medycyny Dalekiego Wschodu. Natomiast takie popularne potrawy, jak miso i tempeh wytwarzane są również z zastosowaniem grzybów mikroskopowych. W latach 60. ubiegłego stulecia podjęto próbę produkcji białka z grzybów mikroskopowych, które nazwano mikoproteinami (ang. mycoproteins).

Mgr A. Wociór, dr D. Złotkowska, prof. dr hab. H. Kostyra, Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN, Oddział Nauki o Żywności, ul. Tuwima 10, 10-747 Olsztyn, prof. dr hab. Elżbieta Kostyra, Katedra Biochemii, Wydz. Biologii, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, ul. Oczapowskiego 1A, 10-719 Olsztyn

Struktura i skład chemiczny mikoprotein

Mikoproteiny stanowią biomasę o zredukowanej ilości RNA, pozyskaną ze strzępek grzybni *Fusarium venenatum* A3/5 (ATCC PTA-2684, wcześniej znana jako *F. graminearum*). *F. venenatum* zostało odkryte na terenach Buckinghamshire w Wielkiej Brytanii i wyselekcjonowane spośród 3000 innych izolatów z całego świata, jako niekonwencjonalne źródło białka [12, 17, 33, 35]. *F. venenatum* należy do gromady workowców (*Ascomycota*) (tab. 1) i potocznie jest określane jako pleśń (mold), nie zaś do podstawczaków (*Basidiomycota*), jak wcześniej sugerowało oznaczenie producenta żywności mikoproteinowej („mushroom in origin“) [4]. Obecnie prowadzone są prace nad pozyskaniem mikoprotein z *Fusarium oxysporum* i *Fusarium solani* [1, 31].

Tabela 1

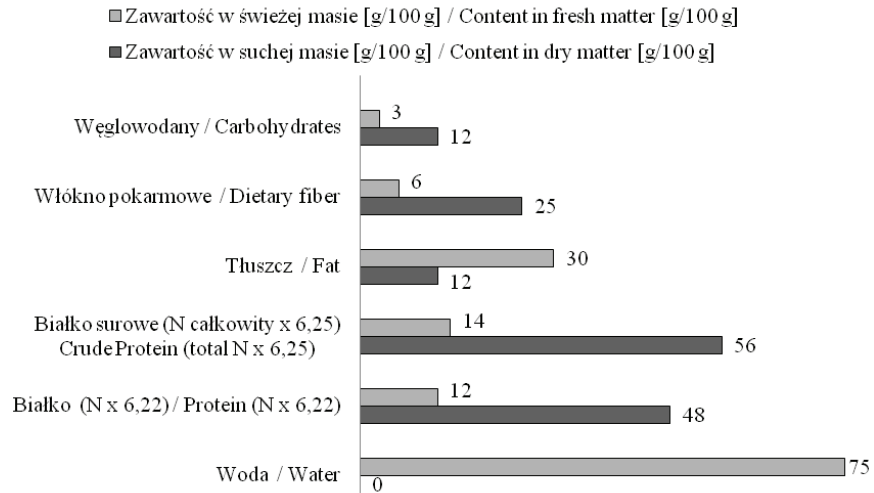
Klasyfikacja systematyczna *Fusarium venenatum*.
Taxonomic classification of *Fusarium venenatum*.

Takson / Taxon	Nazwa łacińska / Latin name
Nadkrólestwo / Domain	<i>Eukarya</i>
Supergrupa / Super-group	<i>Opisthokonta</i>
Królestwo / Kingdom	<i>Fungi</i>
Podkrólestwo / Subkingdom	<i>Dikarya</i>
Gromada / Division	<i>Ascomycota</i>
Klasa / Class	<i>Sordariomycetes</i>
Rząd / Order	<i>Hypocreales</i>
Rodzina / Family	<i>Hypocreaceae</i>
Rodzaj / Genus	<i>Fusarium</i>
Gatunek / Species	<i>Fusarium venenatum</i>

Struktura i skład mikoprotein jest typowy dla klasy grzybów niedoskonałych (*Fungi imperfecti*). W suchej masie komórek ok. 48 % stanowi białko, 12 % tłuszcz i 25 % włókno pokarmowe (rys. 1). Ściana komórkowa stanowi 1/3 suchej masy mikoprotein, w skład której wchodzi chityna (poli-N-acetyloglukozamina) oraz β -glukany (wiązania β -1,3- i β -1,6-glikozydowe). Mikoproteiny nie zawierają cholesterolu.

Technologia produkcji

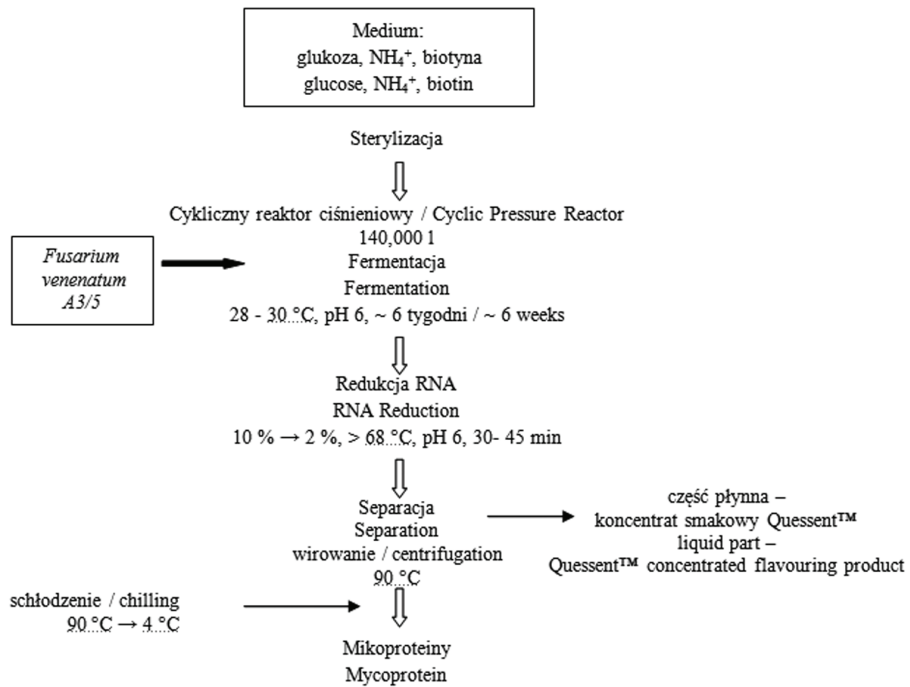
Rodger [17] oraz Wiebe [33] przedstawili schemat produkcji mikoprotein, który w uproszczeniu przedstawiono na rys. 2.



Rys. 1. Skład chemiczny mikoproteiny.

Fig. 1. Chemical composition of mycoprotein.

Opracowanie własne na podstawie: [12]. / The authors' own study on the basis of: [12].



Rys. 2. Schemat produkcji mikoprotein.

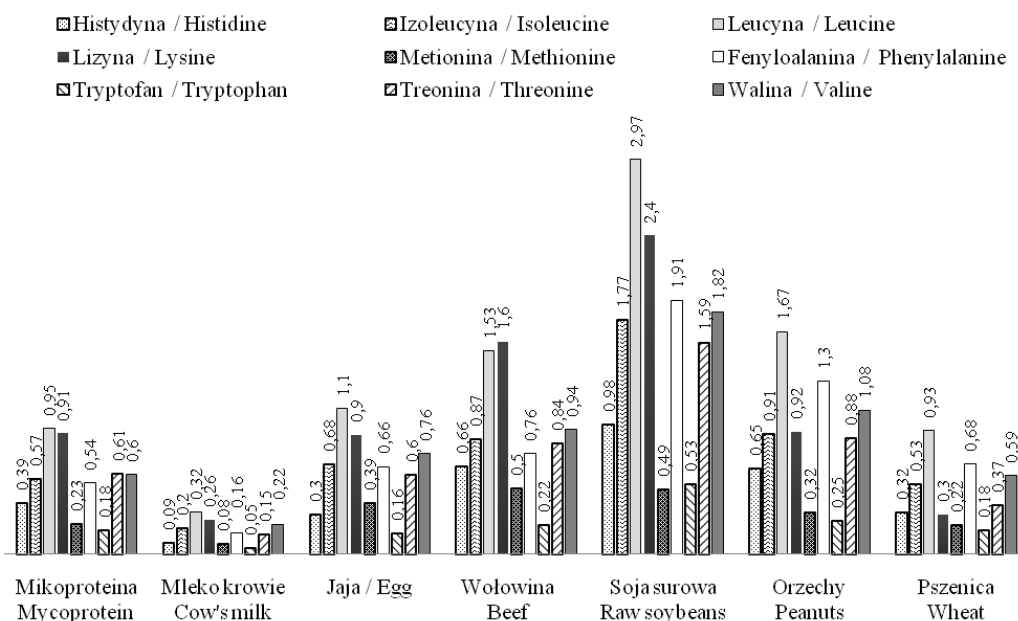
Fig. 2. Mycoprotein production diagram

Podstawę procesu stanowi fermentacja w obecności tlenu: glukozy, azotu, witamin i minerałów. W warunkach 28 - 30 °C i pH 6 następuje specyficzne dla *F. venenatum* tempo wzrostu: 0,17- 0,20 μ /h (czas podwojenia masy: 3,5 - 4 h), co umożliwia produkcję 300 - 350 kg biomasy na godzinę. Co 6 h procesu fermentacji następuje kontrola obecności mikotoksyn oraz zanieczyszczeń, pomimo że nigdy wcześniej ich nie stwierdzono. Po namnożeniu biomasy jest ona poddawana obróbce termicznej, by zredukować zawartość RNA z 10 % do około 2 % (m/m) (zalecenia Światowej Organizacji Zdrowia). W tym celu grzybnię ogrzewa się w temp. min. 68 °C, przy czym optimum procesu następuje w temp. 72 - 74 °C w ciągu 30 - 45 min [31]. W tych warunkach proteazy grzybowe podlegają dezaktywacji, za wyjątkiem RNAz, które powodują degradację rybosomalnego RNA do monomerów. Te z kolei dyfundują z komórek grzybni do bulionu i są usuwane z produktu [23]. Kolejny etap produkcji polega na odwirowaniu biomasy do postaci papki zawierającej min. 20 % (w/v) suchej masy. Produktem powyższego procesu są mikoproteiny. Ciecz wyekstrahowana w trakcie wirowania stanowi surowiec do produkcji koncentratu smakowego Quessent™ (Marlow Food Ltd.) [6, 33]. Do preparatu mikoprotein dodaje się albuminy jaja kurzego, substancji zapachowych oraz barwiących i poddaje ekstruzji. Uzyskany produkt o właściwościach zbliżonych do mięsa wykorzystuje się w żywieniu ludzi jako jego dietetyczny zamiennik [5, 17, 28]. Obecnie pod nazwą handlową Quorn™ dostępne są produkty zawierające mikoproteiny. Żywność Quorn™ została stworzona przez Marlow Foods Int., koncern obecnie należący do europejskiego inwestora Montagu Private Equity LLP. Żywność ta jest dostępna w Wielkiej Brytanii, Holandii, Belgii, Szwecji, Szwajcarii, Danii, Norwegii, USA, a niebawem będzie w Irlandii.

Zalety mikoprotein

W ostatnich latach zainteresowanie mikoproteinami znacznie wzrosło i to głównie z dwóch powodów. Jednym z nich jest obawa konsumentów przed chorobą BSE i ptasią grypą, drugim natomiast rosnąca popularność diety wegetariańskiej. W Wielkiej Brytanii po pojawieniu się BSE, ilość wegetarian wzrosła do 5,4 % populacji [18]. Rosnącą tendencję zainteresowania wegetarianizmem zaobserwowano również w Polsce. Obecnie szacuje się, że populacja wegetarian w Polsce wynosi około 2 - 3 %. Należy przyjąć, że wzrost liczby wegetarian w Polsce jest wynikiem zwiększającej się świadomości konsumentów o znaczącej roli żywienia w zachowaniu dobrostanu człowieka. Wzmoczone zainteresowanie mikoproteinami wykazuje również przemysł spożywczy, który chcąc sprostać wymogom konsumentów, zmuszony jest powiększać asortyment żywności i to spełniającej najwyższe standardy jakości, bezpieczeństwa i zdrowotności. Mikoproteiny mogą być wykorzystane w produkcji żywności nowej generacji polegającej na zasadzie genotrofii, czyli zindywidualizowanej diety. W najbliższej perspektywie będzie to dieta generacyjna, która powinna spełniać wy-

mogi żywieniowe poszczególnych grup wiekowych konsumentów. Spożywanie takiej żywności w połączeniu z aktywnym trybem życia powinno ograniczyć zapadalność ludzi na choroby dietozależne, a tych szacuje się na co najmniej 50 % w skali światowej. Mikoproteiny stają się atrakcyjnym surowcem do produkcji tego typu żywności, również ze względu na zrównoważony skład aminokwasowy (rys. 3) i dobre właściwości funkcjonalne.



Rys. 3. Zawartość aminokwasów egzogennych w mikoproteinie i innych produktach spożywczych.

Fig. 3. Content of essential amino acids in mycoprotein and other food products.

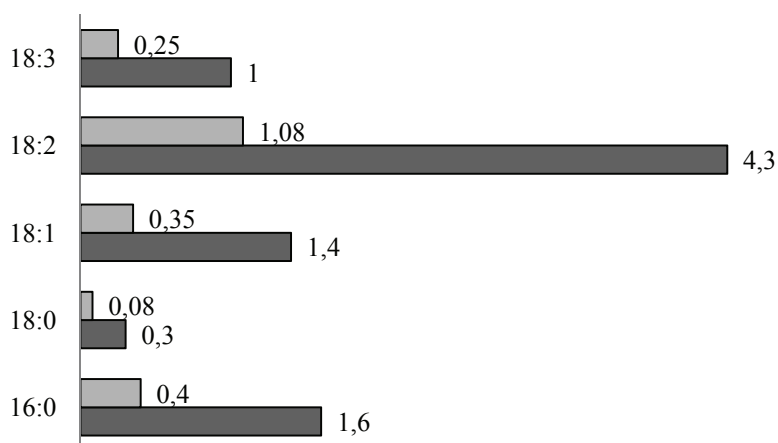
Opracowanie własne na podstawie: [12, 30] / The authors' own study on the basis of: [12, 30].

Mikoproteiny – korzyści zdrowotne

Spożywanie pokarmów zawierających mikoproteiny przyczynia się do obniżenia poziomu lipidów, w tym cholesterolu, w surowicy krwi. Przy spożyciu dziennym ok. 190 g mikoprotein przez 3 tygodnie Turnbull i wsp. [25] stwierdzili u osób badanych 13 % redukcję cholesterolu całkowitego oraz frakcji LDL, zaś poziom frakcji HDL wzrósł o 12 %. Ci sami badacze określili wpływ mikoprotein w diecie na poziom cukru i insuliny w krwi ludzi. Wyniki okazały się obiecujące, gdyż zanotowano spadek glikemii o 13 % w ciągu 60 min oraz redukcję insulinemii o 19 % po 30 min i 36 % po 60 min po spożyciu 20 g suchej masy mikoprotein. Mechanizmy tych zjawisk nie są do końca znane, przypuszcza się jednak, że czynnikiem aktywnym w tych procesach jest

blonnik, którego 35 % stanowi chityna, a 65 % β -D-glukan, jak również korzystny skład kwasów tłuszczowych w mikoproteinie (rys. 4 i 6) [3, 18, 24, 27].

□ Zawartość w świeżej masie [g/100 g] / Content in fresh matter [g/100 g]
 ■ Zawartość w suchej masie [g/100 g] / Content in dry matter [g/100 g]



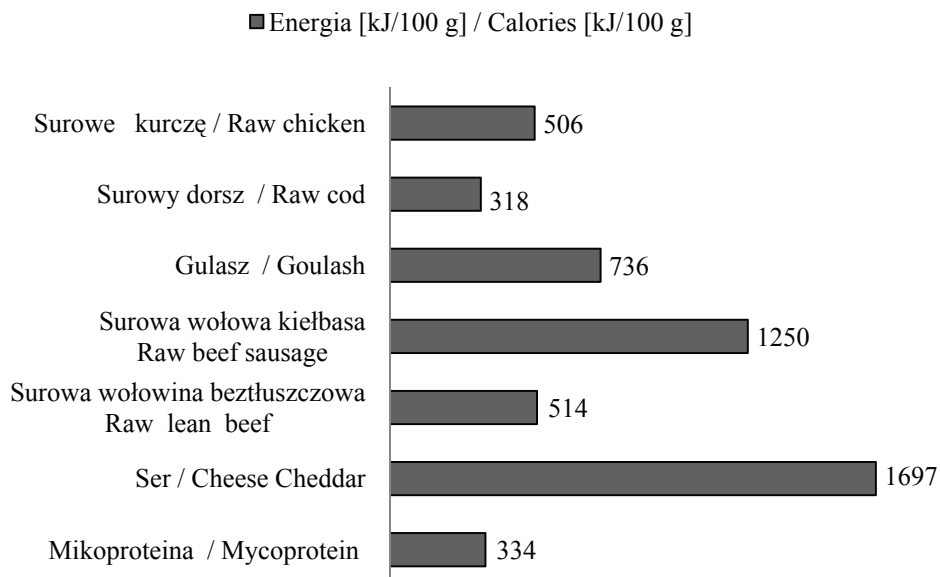
Rys. 4. Skład kwasów tłuszczowych zawartych w świeżej i suchej masie mikoproteiny.

Fig. 4. Composition of fatty acids contained in fresh and dry matter of mycoprotein.

Opracowanie własne na podstawie: [12] / The authors' own study on the basis of: [12].

W latach 90. ubiegłego wieku powstały prace badawcze, które potwierdzały istotną rolę mikoprotein jako czynnika redukującego oraz regulującego masę ciała. Działanie tego typu żywności polega na wydłużeniu czasu sytości, redukcji głodu oraz zmniejszeniu poboru energii w porównaniu z innymi produktami spożywczymi (rys. 5). W tym przypadku korzyści przypisywane żywności typu Quorn™ prawdopodobnie są także związane z wysoką koncentracją włókna pokarmowego (rys. 6) [2, 3, 26, 32, 34].

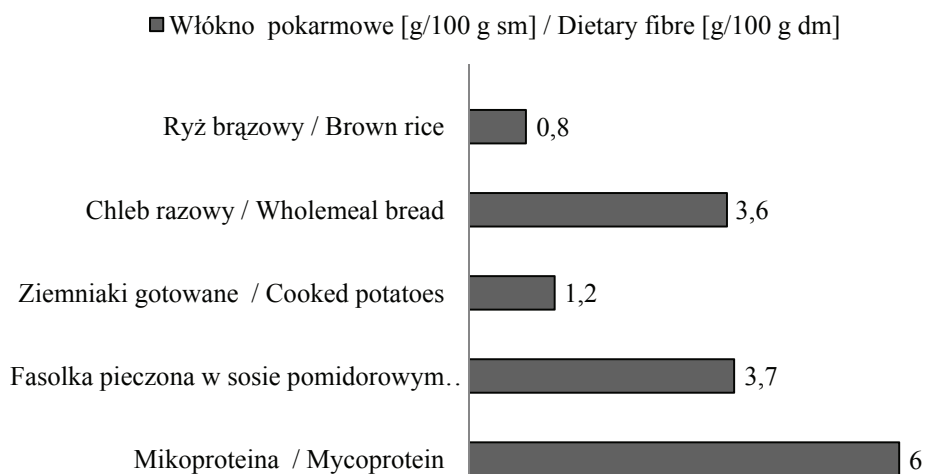
Mikoproteiny stanowią produkt o małej zawartości sodu. Są bogatym źródłem takich pierwiastków, jak cynk, selen czy żelazo [3].



Rys. 5. Wartość energetyczna wybranych produktów żywnościowych.

Fig. 5. Calorie contents of selected food products.

Opracowanie własne na podstawie: [23] / The authors' own study on the basis of: [23].



Rys. 6. Zawartość włókna pokarmowego w produktach spożywczych.

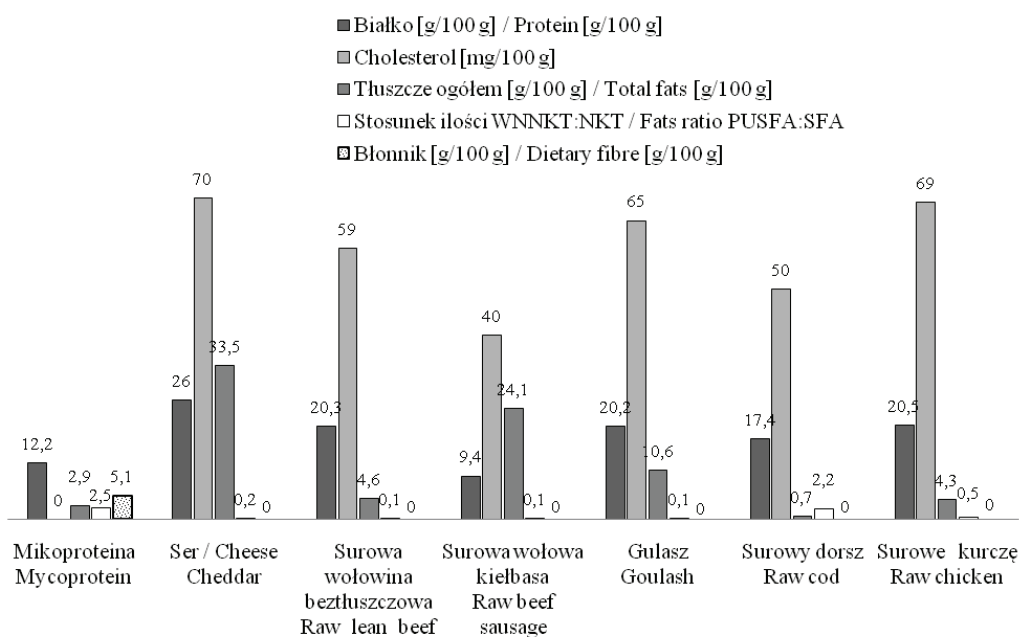
Fig. 6. Content of dietary fibre in food products.

Opracowanie własne na podstawie: [6, 20]. / The authors' own study on the basis of: [6, 20].

Mikoproteiny jako substytut produktów żywnościowych

Z konsumenckiego punktu widzenia mikoproteiny charakteryzują się dwoma akceptowalnymi właściwościami. Smakowo są obojętne oraz nie są wyczuwalne jako pojedyncze cząsteczki. Te ich reologiczne cechy pozwalają stosować je w postaci zdyspergowanej jako zamienniki tłuszczu w jogurtach, lodach i innych produktach [17].

Właściwości funkcjonalne mikoprotein zależą od rozmiarów i kształtu strzępek grzyba. Przeciętne strzępki grzyba mają długość 400-700 μ i średnicę 3-5 μ , a ich częstotliwość zwijania pojawia się raz na 250-300 μ . Charakterystyczna budowa molekularna mikoprotein ulega transformacji wskutek obróbki cieplnej. W efekcie powstaje nierozpuszczalny produkt o właściwościach zbliżonych do struktury mięsa. W celu uzyskania produktu mięsopodobnego strzępki miesza się z substancją wiążącą, innymi dodatkami i poddaje obróbce technologicznej. Produkty mikoproteinowe pozwalają na substytucję mięsa w produktach spożywczych w ilości nawet do 90 % i są doskonałym zamiennikiem białka zwierzęcego. Żywność mikoproteinowa z powodzeniem może konkurować z żywnością tradycyjną ze względu na skład odżywczy (rys. 7) [6, 17, 18].



Rys. 7. Porównanie składu chemicznego mikoproteiny Quorn™ z tradycyjnymi źródłami białka zwierzęcego.

Fig. 7. Comparison of Quorn™ mycoprotein with the traditional sources of animal protein.

Opracowanie własne na podstawie: [23]. / The authors' own study on the basis of: [23].

Wykorzystanie mikoprotein jako komponentu do produkcji płatków śniadaniowych bądź przekąsek napotyka jeszcze na trudności. Wykorzystywany do tego celu proces ekstruzji powoduje obniżenie smakowości wytworzonego produktu, co czyni go mniej konkurencyjnym wobec znanej tego typu żywności [6, 17, 32].

Bezpieczeństwo substytutów mikoproteinowych

Prezentując perspektywy produkcji żywności nowej generacji konieczne jest ustosunkowanie się do zagadnienia potencjalnej alergenicności takich produktów. Wynika to z faktu, że obowiązujące przepisy unijne wymagają znakowania każdej żywności na obecność alergenów. W roku 2001 Marlow Foods Int. wystąpił do FDA (Food and Drug Administration) o nadanie swoim produktom statusu GRAS (Generally Recognized as Safe). Rok później FDA potwierdziła bezpieczeństwo dodatku żywnościowego, jakim są mikoproteiny [6, 14, 16, 29]. Testową ewaluację bezpieczeństwa żywnościowego mikoprotein opisują Miller i Dwyer [12]. W dostępnym piśmiennictwie zamieszczane są jednak informacje dotyczące reakcji niepożądanych wskutek spożycia mikoprotein. Takie przypadki opisują m.in. Hoff i wsp. [7], Tee i wsp. [22], Jacobson [8], Katona i Kaminski [9]. Najczęściej są to reakcje takie, jak: wymioty, biegunka, wysypka, omdlenia. Stwierdzono, że w Wielkiej Brytanii jedna na 370 000 osób skarży się na występowanie powyższych symptomów [7, 8]. Dotychczas nie wyjaśniono, czy opisane objawy świadczą o alergenicności pokarmów mikoproteinowych i mechanizm reakcji jest IgE-zależny, czy też są one objawami nietolerancji pokarmowej [7].

Mimo powyższych doniesień, FDA podtrzymuje stanowisko dotyczące bezpieczeństwa produktów mikoproteinowych, twierdząc, że pewne osoby nie tolerują żywności typu Quorn™, tak jak inni mają problemy z przyswajaniem odmiennych rodzajów białek. FDA po kontakcie z osobami, u których wystąpiły reakcje niepożądane po konsumpcji żywności zawierającej mikoproteiny, oznajmiła, że nie ma dowodów na poważne zagrożenie zdrowia wskutek spożycia tego typu pokarmów [21].

Fusarium venenatum nie jest uznawany za patogenny szczep grzybów mikroskopowych. Jednak rejestrowano obecność wtórnych metabolitów w przypadku szczepów pochodnych A3/5, co pozwala przypuszczać, że *F. venenatum* jest zdolne do produkcji mikotoksyn takich, jak: trichoteceny, kulmoryny, fuzaryny oraz eniatyny B [11, 13, 19].

Mikotoksyn można uniknąć, kontrolując proces produkcji mikoprotein na etapie fermentacji, wówczas ściśle określone warunki nie są sprzyjające powstawaniu toksycznych związków. Pomimo powyższych zabiegów, mikoproteiny regularnie są poddawane testom na obecność mikotoksyn. Detekcja trichotecenów takich, jak: deoxynivalenol (DON), 3-acetoxynivalenol (3-AcDON), nivalenol (NIV), diacetoxyscirpenol (DAS), fusarenon X (FUSX) i neosolaniol (NEO) przeprowadzana jest metodą opisaną przez Patel i wsp. [15]. Limit detekcji poszczególnych trichotecenów

kształtuje się na poziomie 2×10^{-6} g/kg świeżej masy. Również poddano walidacji i wdrożono metodę oznaczania fuzaryn. W tym celu wykorzystuje się wysokosprawną chromatografię cieczową ze spektrofotometrią mas. Limit detekcji sumy fuzaryn wynosi 5×10^{-6} g/kg świeżej masy. Pomimo szczegółowych analiz mikoprotein nigdy nie stwierdzono w nich obecności mikotoksyn, zaś testy *in vitro* nie wykazały właściwości mutagennych [10, 12]. Wodna, 5 bądź 10 %, zawiesina mikoprotein aplikowana na zdrową oraz otartą skórę królików dwa razy dziennie przez 14 dni nie spowodowała żadnych reakcji skórnych; 10 % roztwór spowodował pojawienie się delikatnego rumienia na skórze świńskiej. Z kolei śródskórna iniekcja wywołała odpowiedź granulocytarną, lecz miała ona charakter podobny do reakcji wywoływanych przez inne grzyby czy żywność wywodzącą się z mikroorganizmów. Wykazano także brak potencjalnych właściwości estrogennych preparatu mikoproteinowego. Testując bezpieczeństwo żywności mikoproteinowej, przeprowadzono eksperyment żywieniowy. Do diety grupy ludzi wprowadzono mikoproteiny w ilości od 10 do 40 g na dzień przez okres jednego miesiąca. Osobnicy, którzy wskutek nowego składnika w pożywieniu doświadczyli jakichkolwiek niekorzystnych reakcji organizmu, ponownie zostali poddani próbie żywieniowej w kontrolowanych warunkach. Badani tym razem nie wykazywali żadnych negatywnych następstw, za wyjątkiem osób ze stwierdzoną atopową alergią na pokarmy grzybopochodne. Badania nad reaktywnością krzyżową wykazały, że mikoproteiny mają wspólne determinanty antygenowe m.in. z *Aspergillus fumigatus*, *Cladosporium herbarum* oraz *Alternaria alternata*. Z tego powodu u pacjentów przejawiających alergię na pleśń mogą wystąpić niepożądane objawy na skutek inhalacji lub spożycia mikoprotein [9, 22]. Tee i wsp. [22] przeprowadzili testy RAST (ang. *radio-allergosorbent test*) wśród osób pracujących przy produkcji mikoprotein w okresie dwóch lat. Jedynie u dwóch pracowników wykazano specyficzne przeciwciała IgE na poziomie większym bądź równym 2 %, lecz u żadnego nie zarejestrowano niepokojących symptomów. Mikoproteiny uznano za pokarm dobrze tolerowany, o znikomych właściwościach alergicznych [6, 10, 12].

Podsumowanie

Mikoproteiny można uważać za wysokiej jakości alternatywne źródło białka spożywczego. Ich właściwości biologiczne i funkcjonalne pozwalają opracowywać nowe atrakcyjne produkty spożywcze o prozdrowotnych właściwościach. Wykorzystanie do ich produkcji metod biotechnologicznych stwarza szansę konkurencyjnego zmniejszenia kosztów ich wytwarzania i dalszego doskonalenia ich właściwości sensorycznych i żywieniowych.

Literatura

- [1] Ahangi Z., Shojaosadati S.A., Nikoopour H.: Study of mycoprotein production using *Fusarium oxysporum* PTCC 5115 and reduction of its RNA content. *Pakistan J. Nutr*, 2008, **7** (2), 240-243.
- [2] Burley V.J., Paul A.W., Blundell J.E.: Influence of a high-fibre food (myco-protein) on appetite: effects on satiation (within meals) and satiety (following meals). *Eur. J. Clin. Nutr.*, 1993, **47**, 409-418.
- [3] Denny A., Aisbitt B., Lunn J.: Mycoprotein and health. *Nutrition Bulletin*, 2008, **33** (4), 298-310.
- [4] Feeney J.M.: Mushrooms- intake, composition, and research. *Nutrition Today*, 2006, **41** (5), 219-226.
- [5] Ghorai S., Banik S.P., Verma D., Chowdhury S., Mukherjee S., Khowala S.: Fungal biotechnology in food and feed processing. *Food Res. Int.*, 2009, **42**, 577-587.
- [6] GRAS notification for mycoprotein, Marlow Food Ltd., North Yorkshire, United Kingdom, 2001.
- [7] Hoff M., Trüeb R.M., Ballmer-Weber B.K., Vieths S., Wuethrich B.: Immediate type hypersensitivity reaction to ingestion of mycoprotein (Quorn) in a patient allergic to molds caused by acidic ribosomal protein P2. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **111** (5), 1106-1110.
- [8] Jacobson M. F.: Adverse reactions to a new food ingredient. *Am. J. Med.*, 2003, **115**, 334.
- [9] Katona S.J., Kaminski E.R.: Sensitivity to Quorn mycoprotein (*Fusarium venenatum*) in a mould allergic patient. *J. Clin. Pathol.*, 2002, **55**, 876-879.
- [10] Miller S.A., Dwyer J., Johnson E.A., Karel M., Young V.R.: Myco-Protein: Report of the expert panel on Mycoprotein. 1998. (niepublikowane), Marlow Foods Ltd., North Yorkshire, United Kingdom.
- [11] Miller J.D., MacKenzie S.: Secondary metabolites of *Fusarium venenatum* strains with deletions in the *Tri5* gene encoding trichodiene synthetase. *Mycologia*, 2000, **92**, 764-771.
- [12] Miller S.A., Dwyer J.: Evaluating the safety and nutritional value of mycoprotein. *Food Technol.*, 2001, **55** (7), 42-47.
- [13] O'Donnel K., Cigelnik E., Casper H.H.: Molecular phylogenetic, morphological, and micotoxin data support reidentification of the Quorn mycoprotein fungus as *Fusarium venenatum*. *Fungal Genet. Biol.*, 1998, **23**, 57-67.
- [14] Olempska-Beer Z., Merker R., Ditto M., DiNovi M.: Food-processing enzymes from recombinant microorganisms- a review. *Reg. Toxic. Pharmac.*, 2006, **45**, 144-158.
- [15] Patel S., Hazel C.M., Winterton A.G.M., Mortby M.: Survey of ethnic foods for mycotoxins. *Food Add. Cont.*, 1996, **13** (7), 833-841.
- [16] Peregrin T.: Mycoprotein: Is America ready for a meal substitute derived from a fungus? *J. Am. Diet. Assoc.*, 2002, **102** (5), 628.
- [17] Rodger G.: Production and properties of mycoprotein as meat alternative. *Food Technol.*, 2001, **55**, 42-47.
- [18] Sadler M. J.: Meat alternatives – market developments and health benefits. *Trends Food Sci. Technol.*, 2004, **15** (5), 250-260.
- [19] Song Z., Cox R.J., Lazarus C.M., Simpson T.J.: Fusarin C biosynthesis in *Fusarium moniliforme* and *Fusarium venenatum*. *Chem-BioChem.*, 2004, **5**, 1196-1203.
- [20] Supplement: Approximate dietary fibre content of selected foods. *MeReC Bulletin*, 2004, **14** (6).
- [21] Tajkarimi M., Mount M.E.: Fungi and mycotoxins. *PHR 250 Course- Foodborne Infections and intoxications*, 5/2/2007.
- [22] Tee R.D., Gordon D.J., Welch J.A.: Investigation of possible adverse allergic reactions to mycoprotein ("Quorn"). *Clin. Exp. Allergy*, 1993, **23**, 257-260.
- [23] Trinci A.P.J.: 'Quorn' Mycoprotein. *Mycologist*, 1991, **5**, 106-109.

- [24] Turnbull W.H., Leeds A.R., Edwards D.G.: Effect of mycoprotein on blood lipids. *Am J Clin Nutr.*, 1990, **52**, 646-650.
- [25] Turnbull W.H., Leeds A.R., Edwards D.G.: Mycoprotein reduces blood lipids in free-living subjects. *Am J Clin Nutr.*, 1992, **55**, 415-419.
- [26] Turnbull W.H., Walton J., Leeds A.R.: Acute effects of mycoprotein on subsequent energy intake and appetite variable. *Am J Clin Nutr.*, 1993, **58**, 507-512.
- [27] Turnbull W.H., Ward T.: Mycoprotein reduces glycemia and insulinemia when taken with an oral-glucose-tolerance test. *Am J Clin Nutr.*, 1995, **61**, 135-140.
- [28] Ugalde U., Castrillo J.I.: Single cell proteins from yeast and fungi. *Applied Mycology and Biotechnology*, 2002, **2**, 123-149.
- [29] US Food and Drug Administration Center for Food Safety and Applied Nutrition, Office of Food Additive Safety Agency Response Letter GRAS Notice No. GRN 000091, 2002.
- [30] USDA Nutrient Data Base for Standard Reference, March 12, 1998. U.S. Dept. of Agriculture Web site.
- [31] Ward P.N.: Production of food. 1998, US Patent, No 5739030.
- [32] Wiebe M.G.: Quorn™ Myco-protein – Overview of successful fungal product. *Mycologist*, 2004, **18 (1)**, 17-20.
- [33] Wiebe M.G.: Myco-protein from *Fusarium venenatum*: a well-established product for human consumption. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2002, **58**, 421-427.
- [34] Williamson D.A., Geiselman P.J., Lovejoy J., Greenway F., Volaufova J., Martin C.K., Arnett C., Ortego L.: Effects of consuming mycoprotein, tofu or chicken upon subsequent eating behavior, hunger and safety. *Appetite*, 2006, **46 (1)**, 41-48.
- [35] Yoder W.T., Christianson L.M.: Species-specific primers resolve members of *Fusarium* section *Fusarium*; Taxonomic status of edible “Quorn” fungus reevaluated. *Fungal Genetics Biol.*, 1998, **23**, 68-80.

MYCOPROTEIN

S u m m a r y

Mycoprotein is a biomass of the fungi cells of *Fusarium venenatum* with a reduced content of RNA. It consists of about 50 % of protein, 12 % of lipids, 12 % of sugars, and 25 % of dietary fibre. The amino acid content in mycoprotein is comparable with the amino acid content in meat, egg, soy, and wheat proteins. The mycoprotein processed by texturization can be used as a meat substitute.

Key words: mycoprotein, novel food, meat substitutes, food safety 

ALICJA KOŚMIDER, KATARZYNA CZACZYK

WITAMINA B₁₂ – BUDOWA, BIOSYNTETA, FUNKCJE I METODY OZNACZANIA

Streszczenie

W niniejszej pracy przedstawiono aktualną wiedzę dotyczącą witaminy B₁₂ (kobalaminy), struktury i szlaków metabolicznych jej powstawania, znaczenia dla zdrowia człowieka oraz metod jej wykrywania. Przedstawiono także wyniki badań nad biotechnologiczną produkcją witaminy B₁₂. Witamina B₁₂ jest istotnym kofaktorem w metabolizmie węglowodanów, tłuszczów, aminokwasów oraz kwasów nukleinowych w organizmie człowieka. Zapobiega także występowaniu anemii złośliwej. Biosynteza kobalaminy jest domeną wyłącznie organizmów prokariotycznych. Wiele gatunków bakterii jest zdolnych do produkcji witaminy B₁₂, ale tylko dwa mają istotne znaczenie: *Propionibacterium freudenreichii* i *Pseudomonas denitrificans*.

Słowa kluczowe: witamina B₁₂, kobalamina, *Propionibacterium* sp., anemia złośliwa

Wprowadzenie

Historia odkrycia witaminy B₁₂ wiąże się z opisanym po raz pierwszy w 1835 r. zaburzeniem produkcji czerwonych krwinek, które nazwano anemią złośliwą. W 1920 r. Whipple i wsp. [94] opublikowali badania, w których dowodzili, że podawanie wątroby wykrwawionym psom przyspiesza ich powrót do zdrowia. Minot i Murphy [53] podjęli dalsze doświadczenia, próbując wyjaśnić, który ze składników wątroby jest za to odpowiedzialny. Ich eksperymenty wykazały, że oprócz żelaza, w wątrobie występuje jeszcze inna substancja warunkująca skuteczność leczenia anemii. Za badania nad niedokrwistością złośliwą Whipple, Minot i Murphy otrzymali w 1934 r. Nagrodę Nobla z dziedziny medycyny. W 1948 r. Rickes i wsp. [71] wyizolowali z wątroby czysty, krystaliczny związek o zabarwieniu czerwonym, który w dawkach kilku mikrogramów

Mgr inż. A. Kośmider, prof. dr hab. inż. K. Czaczyk, Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Wydz. Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wojska Polskiego 48, 60-627 Poznań

zapobiegał występowaniu niedokrwistości. Związek ten zawierał fosfor i kobalt – nazwano go początkowo witaminą B₁₂, a potem kobaminą [71, 85]. Budowa witaminy B₁₂ została opisana dopiero w 1956 roku przez Hodgkin (która w 1964 r. otrzymała Nagrodę Nobla w zakresie chemii za rentgenostrukturalne badania struktury substancji ważnych biochemicznie) [31].

Witamina B₁₂ należy do grupy związków zawierających w swoim składzie układ korynowy, zbudowany z czterech zredukowanych pierścieni pirolowych i umieszczonego centralnie atomu kobaltu. Jest jedyną witaminą, której synteza możliwa jest jednak tylko w komórkach bakteryjnych [49, 72]. Stanowi ona także czynnik niezbędny do prawidłowego funkcjonowania organizmu człowieka i zwierząt, zapobiegającym anemii złośliwej [38, 39].

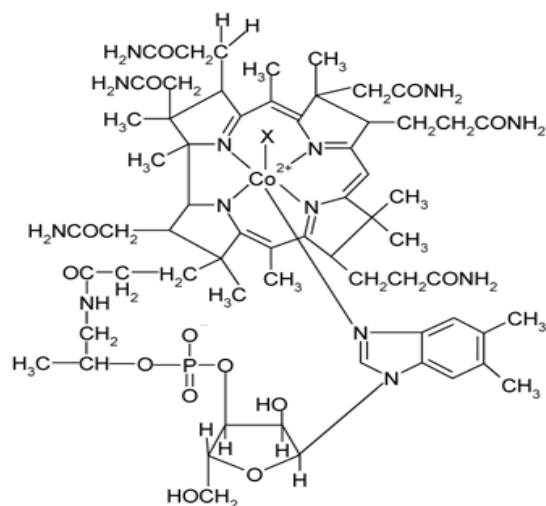
Celem niniejszej pracy jest przedstawienie najnowszych informacji o budowie witaminy B₁₂, szlakach metabolicznych jej powstawania, funkcjach w organizmie człowieka oraz metodach jej otrzymywania i oznaczania.

Budowa witaminy B₁₂

Witamina B₁₂ jest ogólną nazwą związków z grupy kobalamin, tzw. korynoidów o zbliżonej budowie chemicznej i podobnych funkcjach fizjologicznych. Obejmuje ona 4 podstawowe formy chemiczne: cyjanokobalaminę (zawierającą jako podstawnik kobaltu jon CN⁻), hydroksyl-, metylo- i dezoksyadenozylkobalaminę (zawierające odpowiednio -CH₃, -OH⁻, lub jednostkę 5'-deoksyadenozylową).

Ze względu na to, że korynoidom w ubiegłym stuleciu często nadawano nazwy, zanim poznano ich strukturę chemiczną, w 1959 r. wprowadzono nazewnictwo systematyczne tej grupy związków [86]. W 1975 r. Międzynarodowa Unia Chemii Czystej i Stosowanej (IUPAC) oraz Międzynarodowa Unia Biochemiczna (IUB) przyjęły obowiązującą do dzisiaj nomenklaturę korynoidów (wraz z uzupełnieniami z lat 1966 i 1973) [34-36].

Cząsteczka cyjanokobalaminy (C₈₈H₈₈O₁₄N₁₄PCo) składa się z czterech sprzężonych pierścieni pirolowych (A-D), połączonych wiązaniami w pozycji α, tworzących pierścień makrocykliczny. Trzy spośród tych wiązań łączą trzy pierścienie pirolowe poprzez mostek metionowy. Pierwszy pierścień z czwartym (A i D) jest sprzężony bezpośrednio przez wiązanie Cα-Cα. Układ ten łączy się z centralnie umiejscowionym atomem kobaltu znajdującym się na trzecim stopniu utlenienia. Nad układem makrocyklicznym znajduje się prostopadle ułożona grupa cyjanowa, a pod nim, 5,6-dimetylobenzimidazolyl (5,6-dimetylobenzimidazolo-rybozolo-3'fosforan). Oba ligandy skoordynowane są z atomem kobaltu (rys. 1.) [49, 70].

Ryc. 1. Budowa witaminy B₁₂.Fig. 1. Structure of vitamin B₁₂.

W przypadku pochodnych cyjanokobalaminy mogą występować różne ligandy kowalennie związane z atomem kobaltu nad lub pod strukturą pierścienia makrocyklicznego. Hydroksykobalamina powstaje poprzez związanie grupy -OH, a akwakobalamina dzięki połączeniu atomu wodoru z atomem kobaltu, nad strukturą pierścieni pirolowych. Pseudowitamina B₁₂ zawiera adeninę w miejscu 5,6-dimetylobenzimidazolyli, czyli pod strukturą makrocykliczną. Forma ta jest analogiem prawdziwej witaminy B₁₂, co oznacza, że zachowuje ona aktywność w komórkach bakteryjnych, lecz nie ma właściwości terapeutycznych dla ludzi [3].

W środowisku naturalnym witamina B₁₂ występuje w postaci deoksyadenozylkobalaminy (koenzymu B₁₂) i metylokobalaminy (MeCbl). Obie te formy są bardzo niestabilne w obecności światła, co objawia się zmianą widma absorpcji oraz utratą aktywności koenzymatycznej [3]. Trwałą formą witaminy B₁₂, produkowaną na skalę przemysłową i niewystępującą w przyrodzie, jest cyjanokobalamina (CNCbl) [69]. Jest ona stabilna w obecności tlenu, a w formie suchej jest także odporna na działanie wysokiej temperatury (100 °C). Wodny roztwór CNCbl o pH w zakresie 4,0 - 7,0 może być autoklawowany. Krystaliczna forma CNCbl może być bezpiecznie mieszana z różnymi środkami terapeutycznymi oraz odżywczymi. W obecności tiaminy, amidu nikotynowego lub kwasu nikotynowego powoli ulega dekompozycji. Aktywność cyjanokobalaminy zapewnia jednak dodatek niewielkich ilości żelaza lub rodanku [3].

Funkcje witaminy B₁₂ w organizmie człowieka

Organizm zdrowego człowieka pobiera witaminę B₁₂ z pożywienia. Biosynteza tej witaminy jest domeną organizmów prokariotycznych, komórki eukariotyczne jej nie wytwarzają. Cyjanokobalamina nie jest zatem naturalnym składnikiem żadnej rośliny, ale może być syntetyzowana przez mikroorganizmy zasiedlające przewód pokarmowy ssaków (głównie przeżuwaczy). Głównymi źródłami witaminy B₁₂ w diecie są produkty pochodzenia zwierzęcego, warzywa poddane procesowi fermentacji (np. „miso” – wytwarzane poprzez fermentację ziarna soi) oraz niektóre algi. Do produktów spożywczych bogatych w witaminę B₁₂ należy zaliczyć mięso przeżuwaczy, drób, ryby, skorupiaki, mleko, podroby, sery oraz jaja [58, 84].

Dobowe zapotrzebowanie człowieka dorosłego na tę witaminę wynosi ok. 2 µg, ale wytyczne co do zalecanych dawek różnią się pomiędzy krajami (np. w USA jest to 2,4 - 2,8 µg/dobę, w Niemczech 3 µg/dobę). Zalecane ilości obliczane są przy założeniu, że absorpcja witaminy wynosi 50 %. Zatem dawka 1,5 µg powinna wystarczyć, aby uniknąć u większości ludzi choćby najmniejszych oznak niedoboru tej witaminy [25]. Cyjanokobalamina jest akumulowana w tkankach zwierzęcych, zwłaszcza w wątrobie, a jej niedobory mogą wystąpić co najwyżej po 5 - 6 latach od przyjęcia ostatniej dawki. Przy normalnym spożyciu mięsa dzienne zapotrzebowanie jest z nadmiarem dostarczane, jednak problemy mogą się pojawić u wegan, wegetarian i ludzi z zaburzeniami wchłaniania w przewodzie pokarmowym [11, 47].

Wchłanianie witaminy B₁₂ odbywa się w końcowym odcinku jelita krętego w obecności glikoproteiny (tzw. czynnika wewnętrznego, czynnika Castle'a) wytwarzanej przez komórki okładzinowe żołądka [28, 46]. Kobalamina, wiążąc się z tą glikoproteina tworzy czynnik hematopoezy biorący udział w powstawaniu komórek krwi w układzie krwiotwórczym. Jest też niezbędna do prawidłowego przebiegu procesu powstawania krwinek czerwonych w szpiku kostnym (erytropoezy) oraz bierze udział w syntezie DNA i RNA w erytroblastach. Uczestniczy także w przemianach metabolicznych tłuszczów i węglowodanów oraz w prawidłowym funkcjonowaniu układu nerwowego (budowa otoczki mielinowej, tworzenie przekaźników nerwowych). Udział witaminy B₁₂ w procesach metabolicznych w organizmie człowieka dotyczy także metabolizmu DNA (przemiany puryn i pirymidyn) [38, 59]. Kobalamina jest kofaktorem dwóch enzymów: syntazy metioninowej (tworzenie metioniny z homocysteiny) i mutazy metylmalonylo-CoA (konwersja metylmalonylo-CoA do sukcyńnylo-CoA) [23, 84, 92]. Bierze udział w przemianie kwasu foliowego do biologicznie aktywnego tetrahydrofolianu i razem z nim odgrywa istotną rolę w stabilności genomu człowieka. Niedobór witaminy B₁₂ zwiększa możliwość uszkodzenia DNA i zmienia jego metylzację [23, 24]. Podnosi także poziom homocysteiny, co jest istotnym czynnikiem ryzyka w chorobach układu krążenia [1, 23, 78].

Głównym objawem niedoboru witaminy B₁₂ u człowieka są zaburzenia w procesie krwiotworzenia, głównie związane z niedostateczną produkcją krwinek czerwonych. Niedobór witaminy B₁₂ jest związany głównie z nieprawidłowym jej wchłanianiem jelitowym, co prowadzi do rozwoju schorzenia nazywanego anemią lub niedokrwistością (inne nazwy: anemia Addisona-Biermera, anemia złośliwa, niedokrwistość megaloblastyczna) [28, 46]. Do rozwoju niedokrwistości prowadzą także schorzenia jelita krętego lub stany po jego resekcji, brak transportowego białka osocza (transkobalaminy I lub II) oraz nadmierny wzrost mikroflory jelitowej, która zużywa witaminę B₁₂ [20].

Oprócz zahamowania krwiotworzenia, brak witaminy B₁₂ może również powodować ciężką chorobę neurologiczną, przebiegającą z porażeniem kończyn. Jej brak prowadzi także do zwiększenia ryzyka innych schorzeń układu nerwowego, takich jak zapalenia wielonerwowe, ataksja czy letarg [20, 82]. Może także powodować przedwczesną śmierć komórek [46]. Wykazano także istotną rolę kobalaminy w etiologii chorób, takich jak stwardnienie rozsiane, miażdżyca tętnic czy choroby serca [1, 39, 51, 78, 90].

Według rozporządzenia Ministra Zdrowia, z dnia 16 września 2010 r., w sprawie substancji wzbogacających dodawanych do żywności [32] witamina B₁₂ może być stosowana do wzbogacania środków spożywczych w postaci cyjanokobalaminy i hydroksykobalaminy w ilości nieprzekraczającej 50 % dziennego zapotrzebowania na ten związek.

Szlaki metaboliczne biosyntezy witaminy B₁₂

Ludzie, zwierzęta i protisty potrzebują cyjanokobalaminy do prawidłowego rozwoju, jednak nie mają zdolności do jej wytwarzania. Rośliny i grzyby również nie potrafią syntetyzować witaminy B₁₂, ale też nie pobierają jej z zewnątrz [21]. Witamina B₁₂ jest jedyną witaminą, której synteza możliwa jest jedynie w komórkach bakteryjnych i archebakteriach [49, 72].

Do biosyntezy witaminy B₁₂ *de novo* zaangażowanych jest ponad 30 genów, które stanowią ok. 1 % typowego genomu bakteryjnego [77] i obecne są u 1/3 zsekwencjonowanych genomów bakterii [69]. Obecnie znane są dwa odmienne szlaki biosyntezy kobalaminy w naturze. Jednym z nich jest tlenowa synteza, charakterystyczna dla drobnoustrojów *Pseudomonas denitrificans*, w którym aktywacji ulegają geny z prefixem *cob* [49]. Syntezę kobalaminy bez obecności tlenu wykryto u bakterii, takich jak *Bacillus megaterium* [68], *Propionibacterium shermanii* [81] i *Salmonella typhimurium* [67]. U tych bakterii w procesie biosyntezy witaminy B₁₂ zaangażowane są geny z prefixem *cbi* [49].

Adenozylokobalamina jest biosyntetyzowana z uroporfirynogenu III. Ten niesymetryczny makrocykliczny izomer powstaje z ośmiu cząsteczek kwasu 5-amino-

lewulionowego (ALA), przy udziale trzech enzymów: dehydratazy kwasu 5-aminolewulinowego (HemB), deaminazy porfobilinogenu (HemC) oraz syntetazy uroporfirynogenu III (HemD) [37]. Proces rozpoczyna się dimeryzacją cząsteczek kwasu 5-aminolewulinowego, czego efektem jest powstanie monopirolu, porfobilinogenu (PBG). W wyniku polimeryzacji czterech cząsteczek PBG powstaje liniowa postać tetrapirołu, preuroporfirynogen (hydroksymetylobilan), który następnie ulega inwersji i cyklizacji, w wyniku czego powstaje aktywny fizjologicznie uroporfirynogen III – prekursor układu korynowego [2, 45, 91]. Dekarboksylacja uroporfirynogenu III prowadzi do syntezy hemu i chlorofilu, jednak w wyniku działania metylotransferazy uroporfirynogenu III, związek ten ulega metyzacji w pozycji C-2 i C-7, tworząc „prototyp” pierścienia korynowego (ang. precorrin-2) [7, 93]. Od tego momentu biosynteza witaminy B₁₂ w warunkach tlenowych oraz beztlenowych jest odmienna. Na drodze tlenowej pierścień ten ulega metyzacji w pozycji C-20. Szlak beztlenowy rozpoczyna się od włączenia do pierścienia kobaltu. W obecności tlenu, wytworzenie tego chelatu następuje dopiero po kolejnych dziewięciu reakcjach. Ciekawym zjawiskiem jest występowanie dwóch różnych chelataz, w zależności od warunków przemian biochemicznych. W szlaku tlenowo-zależnym, chelataza kobaltu ulega aktywacji tylko przy udziale energii pochodzącej z adenozylotrifosforanu (ATP), w przeciwieństwie do chelatazy wykorzystywanej w warunkach beztlenowych, której działanie nie jest uzależnione od ATP. Kolejnym etapem biosyntezy witaminy B₁₂ jest proces kontrakcji pierścienia korynowego, związany z usunięciem węgla C-20. W warunkach tlenowych atom węgla C-20, zostaje utleniony przez tlen cząsteczkowy i wydany w postaci octanu. W warunkach beztlenowych zawężanie pierścienia możliwe jest dzięki obecności w centrum struktury jonu kobaltu, zdolnego do przyjęcia różnych stopni utlenienia. Uczestniczy on w procesie oksydacji, czego wynikiem jest usunięcie atomu węgla C-20, w postaci aldehydu octowego. Efektem kontrakcji pierścienia korynowego, zarówno w szlaku tlenowym, jak i beztlenowym jest konwersja do kobinamidu poprzez związanie aminopropanolu z resztą kwasu propionowego, znajdującą się przy łańcuchu bocznym pierścienia D. Powstanie nukleotydu znajdującego się pod pierścieniem makrocyclicznym następuje poprzez przeniesienie reszty fosforybozylowej mononukleotydu kwasu nikotynowego na cząsteczkę 5,6-dimetylobenzimidazolu. Powstały w wyniku tych przemian α -rybazol zostaje kowalentnie związany z aktywowanym przez guanozynodifosforan (GDP) adenozylokobinamidem, w następstwie czego uwalnia się guanozynomonofosforan (GMP). Efektem wszystkich tych przemian jest powstanie kompletnej formy adenozylokobalaminy (koenzymu B₁₂) [12, 49, 69, 80].

Produkcja witaminy B₁₂ na skalę przemysłową

W 1973 r. Woodward i Eschenmoser dokonali chemicznej syntezy witaminy B₁₂. Ta skomplikowana synteza, obejmująca ponad 70 przemian chemicznych, jest jednak

zbyt droga i trudna technicznie, aby mogła być wykorzystana na skalę przemysłową [22, 49, 95]. Obecnie kobalamina produkowana jest jedynie na drodze mikrobiologicznej przy użyciu wyselekcjonowanych i/lub genetycznie zmodyfikowanych drobnoustrojów [5, 6, 62].

Naturalnymi producentami kobalaminy są mikroorganizmy przewodu pokarmowego ludzi i zwierząt oraz drobnoustroje występujące w glebie, nawozach naturalnych i ściekach [4]. Do efektywnej biosyntezy witaminy B₁₂ zdolne są bakterie z rodzajów: *Aerobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Micromonospora*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Propionibacterium*, *Protaminobacter*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Salmonella*, *Serratia*, *Streptomyces* oraz *Xanthomonas* [6, 49, 61, 57, 63, 73, 76, 79].

W celu selekcji wysoko wydajnych szczepów stosuje się czynniki mutagenne np. promieniowanie UV, etylenoiminę, nitrozometylouretan lub N-metylo-N'-nitro-N-nitrozoguanidynę. Pod uwagę bierze się takie wyróżniki, jak: produktywność, stabilność genetyczna szczepów, tempo wzrostu oraz oporność na wysokie stężenia toksycznych metabolitów pośrednich obecnych w medium hodowlanym [10, 49]. Badania molekularne dotyczące zwiększenia efektywności biosyntezy witaminy B₁₂ przez drobnoustroje doprowadziły do wyizolowania szeregu enzymów odpowiedzialnych za tworzenie się tego związku [62]. Szlaki metaboliczne na których syntetyzowana jest witamina B₁₂ zostały scharakteryzowane w przypadku bakterii *Pseudomonas denitrificans* [6], *Salmonella typhimurium* [76] oraz *Propionibacterium freudenreichii* [73, 79]. Geny odpowiedzialne za biosyntezę witaminy B₁₂ lub jej prekursorów zostały wyizolowane także dla rodzaju *Rhodobacter* [57, 63, 64].

Ze względu na naturalnie wysoką zdolność wytwarzania witaminy B₁₂ oraz szybki wzrost, w przemysłowej produkcji kobalaminy stosuje się głównie bakterie należące do gatunków: *Propionibacterium freudenreichii*, *Propionibacterium shermanii* oraz *Pseudomonas denitrificans* [49, 74].

Bakterie z rodzaju *Propionibacterium* zdolne są do biosyntezy witaminy B₁₂ w przestrzeni międzykomórkowej oraz kwasu propionowego i kwasu octowego zewnątrzkomórkowo [54]. Są one mikroaerofilami i produkują witaminę B₁₂ tylko w obecności niewielkich ilości tlenu, aby możliwa była synteza 5,6-dimetylobenzimidazolu (DMBI) - prekursora witaminy B₁₂. Dlatego proces powstawania kobalaminy podzielony jest na dwa etapy. Pierwsza faza odbywa się w warunkach beztlenowych w celu wytworzenia kobinamidu. W drugiej fazie niewielki dostęp tlenu pozwala bakteriom zsyntetyzować DMBI i wytworzyć witaminę B₁₂. Optymalne warunki procesu to 30 °C i pH środowiska w zakresie 6,0 - 7,0 [4, 49, 54]. Głównym problemem w produkcji kobalaminy przez bakterie propionowe jest powstawanie kwasów organicznych i innych metabolitów, powodujących zahamowanie wzrostu komórki. Konieczne jest ich usunięcie, aby zwiększyć przyrost biomasy i tym samym produktywność witaminy [54].

W celu usunięcia kwasu propionowego i kwasu octowego z płynu hodowlanego stosowano m.in. filtrację krzyżowo-przepływową [29], fermentację połączoną z oczyszczaniem w kolumnie absorpcyjnej z węglem aktywnym [56], fermentację ekstrakcyjną [40], elektrodializę [97] oraz komórki immobilizowane [14 -18, 96].

W celu zwiększenia produktywności witaminy B₁₂ przez bakterie *Propionibacterium freudenreichii*, Piao i wsp. [62] dokonali ekspresji genów należących do rodzin *hem*, *cob* i *cbi* biorących udział w procesie biosyntezy kobalaminy. Stwierdzono, że rekombinowany klon *Propionibacterium freudenreichii*, zawierający wektor ekspresyjny pPK705 z insertem *cobA*, *cbiLF* lub *cbiEGH* produkował odpowiednio o 1,7-, 1,9-, i 1,5-krotnie więcej witaminy B₁₂ niż mikroorganizmy niezawierające żadnego z klonowanych genów w wektorze pPK705. Badacze wklonowali także w wektor ekspresyjny gen *hemA* wyizolowany z komórek *Rhodobacter sphaeroides* i endogenne geny *hemB* i *cobA*. W wyniku przeprowadzonych doświadczeń otrzymano 2,2-krotnie więcej witaminy B₁₂ niż w przypadku wykorzystania *Propionibacterium freudenreichii* zawierającego wektor pPK705.

Niektóre gatunki rodzaju *Propionibacterium* (np. *Propionibacterium freudenreichii*) mają status GRAS (ogólnie uznawany za bezpieczny, ang. *Generally Recognized As Safe*). Pomimo tego firma Aventis – lider w produkcji witaminy B₁₂, preferuje wykorzystanie *Pseudomonas denitrificans*, który tego statusu nie ma [50]. W przeciwieństwie do bakterii propionowych, proces biosyntezy B₁₂ przez *Pseudomonas denitrificans* odbywa się całkowicie w warunkach tlenowych. W wyniku połączenia zabiegów mutagenizacji z jednoczesnym zastosowaniem narzędzi inżynierii genetycznej, grupa naukowców z Rhône-Poulenc-Rorer (RPR) stworzyła wysoce efektywny szczep *Pseudomonas denitrificans*, za pomocą którego możliwa jest produkcja witaminy B₁₂ na poziomie 300 mg/l [6]. W europejskim patencie 0516647 B1 Blanche i wsp. [7] opisują amplifikację 8 genów operonu *cobF-cobM*, w wyniku której zanotowano 30 % wzrost produkcji kobalaminy. Dodatkowo wzrost liczby kopii genu *cobA* i *cobE* powoduje zwiększenie produktywności witaminy B₁₂ o kolejne 20 %. Wykorzystanie genetycznie modyfikowanych mutantów *Pseudomonas denitrificans* pozwoliło naukowcom z RPR opracować proces efektywnej produkcji witaminy B₁₂ pokrywający 80 % światowego zapotrzebowania [49].

Użycie drobnoustrojów modyfikowanych genetycznie do produkcji metabolitów wykorzystywanych w profilaktyce zdrowia ludzi budzi jednak szereg kontrowersji. W związku z tym od wielu lat prowadzone są badania nad optymalizacją biosyntezy witaminy B₁₂ z wykorzystaniem mikroorganizmów niepoddanych modyfikacjom genetycznym. Badania te dotyczą głównie poszukiwania szczepów charakteryzujących się wysoką wydajnością tego metabolitu, doboru źródła węgla w pożywce hodowlanej, suplementacji pożywek, sposobu prowadzenia hodowli itp. Jednak uzyskane dotychczas wydajności nie są duże (tab. 1).

Tabela 1

Wydajność biosyntezy witaminy B₁₂ w różnych typach hodowli.
Biosynthesis yield of vitamin B₁₂ in different types of its culture.

Mikroorganizmy Micro-organisms	Rodzaj hodowli Type of culture	Rodzaj substratu Type of substrate	Maksymalna w wydajność procesu Maximum process yield	Literatura Literature
<i>Propionibacterium shermanii</i>	okresowa / batch	namok kukurydziany corn soak	1,99 mg/l	[60]
<i>Propionibacterium shermanii</i>	okresowo-dolewowa fed-batch	Glukoza / glucose	52 mg/l (0,23 mg/g s.m.) (0,23mg/g d.m.)	[29]
<i>Butylibacterium methylotrophicum</i>	okresowo-dolewowa fed-batch	Pepton / peptone	92,5 mg/l (2 mg/g s.m.) (2mg/g d.m.)	[29]
<i>Propionibacterium acidipropionici</i>	ciągła / continuous	melasa trzcinowa cane molasses sacharoza/ sucrose	34,8 mg/l 33,0 mg/l	[65]
<i>Propionibacterium freudenreichii</i>	immobilizacja w alginianie immobilization in alginate	Glukoza / glucose	4,3 mg/l	[18]
<i>Propionibacterium freudenreichii</i>	hodowla mieszana z <i>Ralstonia eutrophia</i> mixed culture with <i>Ralstonia eutrophia</i>	pepton z dodatkiem hydrolizatów kazeiny peptone with casamino acids addition	19 mg/ml	[54]
<i>Propionibacterium shermanii</i>	okresowa / batch	ciecze pofermentacyjne (fermentacja mlekowa) post-fermentation liquid (lactic acid fermentation)	1,8 µg/l	[27]
<i>Pseudomonas denitrificans</i>	ciągła / continuous	glukoza (suplementacja betainą) / glucose (betaine feeding)	177,49 mg/l	[42]
<i>Lentinula edodes</i>	okresowa / batch	melasa buraczana beet molasses glukoza / glucose	11,2 µg/g s.m. 11,2 2 µg/g d.m. 11,9 µg/g s.m./ 11,9 µg/g d.m.	[89]

Metody oznaczania witaminy B₁₂

Podstawowe techniki oznaczania witaminy B₁₂ w materiale mikrobiologicznym opracowano w latach 50. XX w. Przez wiele lat poziom kobalaminy w badanej próbie, możliwy był do wykrycia tylko przy użyciu metod mikrobiologicznych. Do tego celu wykorzystywano drobnoustroje *Lactobacillus leichmannii* [83, 88], *Euglena gracilis* [55, 75], *Ochromonas malhamensis* [26] oraz *Escherichia coli* 113-3 [9, 19]. Przy użyciu tych metod możliwe jest jednak oznaczenie sumy korynoidów, a więc oprócz biologicznie aktywnej formy witaminy B₁₂, także jej analogów oraz innych związków zawierających pierścień korynowy. Analogi te wykazują aktywność witaminy B₁₂ w komórkach bakteryjnych, lecz nie mają jej w metabolizmie ludzi i zwierząt. Stosując metody spektrofotometryczne analogi te, przy tej samej długości fali, mają takie samo maksimum absorpcji jak witamina B₁₂, co może być przyczyną błędów w oznaczeniu jej prawdziwego stężenia [66]. Obecnie, w celu określenia poziomu witaminy B₁₂ wytworzonej przez drobnoustroje w procesach mikrobiologicznych stosuje się techniki chromatograficzne, dzięki którym możliwe jest rozdzielenie powstałych korynoidów i pomiar ilości każdego związku oddzielnie [41, 48, 87].

W diagnostyce laboratoryjnej coraz rzadziej określa się zdolność wchłaniania witaminy B₁₂ za pomocą testu Schillinga na rzecz w pełni zautomatyzowanych technik immunometrycznych, określających całkowite stężenie witaminy B₁₂ [8, 33]. Innym testem diagnostycznym jest oznaczanie kwasu metylomalonowego w moczu lub surowicy, który jako marker metaboliczny ulega podwyższeniu przy niedoborze kobalaminy. Oznaczenie to jest wprawdzie parametrem bardzo czułym, ale cechuje się wysokim kosztem i zawyżoną wartością w przypadku niewydolności nerek [44].

Nową metodą pomiaru poziomu witaminy B₁₂ w organizmie człowieka jest oznaczanie holotranskobalaminy (holoTC, kobalamina związana z TCII), tzw. „aktywnej witaminy B₁₂”. Test ten polega na oznaczaniu kompleksu witamina B₁₂-TCII, który rozpoznawany jest przez receptory tkankowe i stanowi jedyny rezerwuuar kobalaminy możliwy do wykorzystania przez komórki. Technika ta znalazła zastosowanie głównie w przypadkach stężenia witaminy B₁₂ na poziomie 200 - 300 pg/ml [30, 33]. Herman i wsp. [30], badając zależność pomiędzy zmniejszaniem zapasów kobalaminy w organizmie a dostępnością holotranskobalaminy, doszli do wniosku, że oznaczenia holoTC oraz kwasu metylomalonowego w pełnijszy sposób obrazuje poziom witaminy B₁₂ niż jej całkowite stężenie. Inni autorzy wykazują jednak swoistą równorzędność diagnostyczną pomiędzy pomiarem całkowitego stężenia witaminy B₁₂ a testem holoTC [13, 43, 52].

Podsumowanie

W niniejszej pracy przedstawiono aktualną wiedzę dotyczącą budowy witaminy B₁₂, szlaków metabolicznych jej powstawania, funkcji w organizmie człowieka oraz metod jej otrzymywania i oznaczania. Witamina B₁₂ jest jedyną witaminą, której biosynteza jest możliwa tylko w komórkach prokariotycznych. Ze względu na jej ważne funkcje w organizmie człowieka istotne jest dokładne poznanie budowy tego związku i jego analogów oraz ich aktywności terapeutycznej, ustalenie szlaków metabolicznych ich powstawania i identyfikacja genów odpowiedzialnych za biosyntezę tych związków. Obecnie do produkcji witaminy B₁₂ na skalę przemysłową wykorzystuje się drobnoustroje modyfikowane genetycznie (*Pseudomonas denitrificans*), co przy jej zastosowaniu w profilaktyce zdrowia ludzi budzi kontrowersje. Prowadzone od wielu lat poszukiwania mikroorganizmów zdolnych do jej produkcji z dużą wydajnością, przy użyciu tanich i łatwo dostępnych substratów, z zastosowaniem różnych metod prowadzenia hodowli, jak dotychczas, nie dały zadowalających rezultatów.

Literatura

- [1] Aleman G., Tovar A.R., Torres N.: Homocysteine metabolism and risk of cardiovascular diseases: importance of the nutritional status on folic acid, vitamins B6 and B₁₂. *Rev. Invest. Clin.*, 2001, **53** (2), 141-151.
- [2] Battersby A.R.: Tetrapyrroles: the pigments of life. *Nat. Prod. Rep.*, 2000, **17**, 507-526.
- [3] Beck W.S.: Cobalamin (Vitamin B₁₂). In: *Handbook of Vitamins*, 3d ed. Rucker R.B., Suttie J.W., McCormick D.B., Machlin L.J. Eds, Marcel Dekker Inc., New York 2001, pp. 466-476.
- [4] Bednarski W., Fiedurek J. (pod red.): *Podstawy biotechnologii przemysłowej*. WNT, Warszawa, 2007, s. 448-449.
- [5] Blanche F., Cameron B., Crouzet J., Debussche L., Levy-Schil S., Thibaut D.: Rhône- Poulenc Biochimie. Eur. Patent 0516647 B1, 1998.
- [6] Blanche F., Cameron B., Crouzet J., Debussche L., Thibaut D., Vuilhorgne M., Lepper F.J., Battersby A.R.: Vitamin B₁₂: how the problem of its biosynthesis was solved. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1995, **34**, 383-411.
- [7] Blanche F., Debussche L., Thibaut D., Crouzet J., Cameron B.: Purification and characterization of S-adenosyl-L-methionine: uroporphyrinogen III methyltransferase from *Pseudomonas denitrificans*. *J. Bacteriol.*, 1989, **171**, 4222-4231.
- [8] Bobilewicz D.: Nowe spojrzenie na witaminę B₁₂. *Abbott Voice*, 2003, **3**, 2-3.
- [9] Burkholder P.R.: Determination of vitamin B₁₂ with a mutant strain of *Escherichia coli*. *Science*, 1951, **114**, 459-460.
- [10] Bykhovskiy V.Y., Zaitseva N.I., Eliseev A.A.: Tetrapyrroles: diversity, biosynthesis, and biotechnology. *Appl. Biochem., Microbiol.*, 1998, **34**, 1-18.
- [11] Camilleri M.: Integrated upper gastrointestinal response to food intake. *Gastroent.*, 2006, **131**, 640-658.
- [12] Cheong C.-G., Escalante-Semerena J.C., Rayment I.: Structural investigation of the biosynthesis of alternative lower ligands for cobamides by nicotinate mononucleotide: 5,6-dimethylbenzimidazole phosphoribosyltransferase from *Salmonella enterica*. *J. Biol. Chem.*, 2001, **276**, 37612-37620.

- [13] Clarke R., Sherliker P., Hin H., Nexo E., Hvas A.M., Schneede J.: Detection of vitamin B₁₂ deficiency in older people by measuring vitamin B₁₂ or the active fraction of vitamin B₁₂, holotranscobalamin. *Clin. Chem.*, 2007, **53**, 963-970.
- [14] Czaczyk K., Trojanowska K., Wiszumirska E.: Hydrolyzed whey as a medium for propionic acid fermentation. *Acta Biotechnol.*, 1996, **16**, 175-183.
- [15] Czaczyk K., Albrecht A., Mroczkowski A., Trojanowska K.: Mechanical stability of carrageenan and carrageenan/locust bean gum gels used for immobilization of propionic acid bacteria. *J. Biotechnol.*, 1997, **53**, 13-20.
- [16] Czaczyk K., Trojanowska K., Stachowiak B.: The effect of immobilization of propionic acid bacteria in alginate gel on the course of fermentation. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 1997, **4**, 55-60.
- [17] Czaczyk K., Trojanowska K.: Batch propionic acid fermentation using *Propionibacterium* sp. immobilized in different supports. *Biotechnologia*. 1998, **1 (40)**, 188-198.
- [18] Czaczyk K., Trojanowska K., Grajek W.: The influence of a specific microelemental environment in alginate gel beads on the course of propionic acid fermentation. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1997, **48**, 630-635.
- [19] Davis B.D., Mingioli E.S.: Mutants of *Escherichia coli* requiring methionine or vitamin B₁₂. *J. Bacteriol.*, 1950, **60**, 17-28.
- [20] Dharmarajan T.S., Adiga G.U., Norkus E.P.: Vitamin B₁₂ deficiency. Recognizing subtle symptoms in older adults. *Geriatr.*, 2003, **58**, 30-34.
- [21] Duda J., Pędziwilk Z., Zodrow K.: Studies on the vitamin B₁₂ content of leguminous plants. *Acta Microbiol. Pol.*, 1967, **6**, 233-238.
- [22] Eschenmoser A.: Organische naturstoffsynthese heute, vitamin B₁₂ als beispiel. *Naturwissenschaften.*, 1974, **61**, 513-525.
- [23] Fenech M.: The role of folic acid and vitamin B₁₂ in genomic stability of human cells. *Mutat. Res.*, 2001, **475**, 57-67.
- [24] Figlin E., Chetrit A., Shahar A., Shpilberg O., Zivelin A., Rosenberg N., Brok-Simoni F., Gadoth N., Sela B-A., Seligsohn U.: High prevalences of vitamin B₁₂ and folic acid deficiency in elderly subjects in Israel. *Br. J. Haematol.*, 2003, **123**, 696-701.
- [25] Food and Nutrition Board, Institute of Medicine.: Dietary reference intakes for thiamin, riboflavin, niacin, vitamins B₆, folate, vitamins B₁₂, pantothenic acid, biotin, and choline. Washington, DC, National Academy Press., 1998.
- [26] Ford J. E.: The microbiological assay of "vitamin B₁₂". The specificity of the requirement of *Ochromonas malhamensis* for cyanocobalamin. *Br. J. Nutr.*, 1953, **7**, 299-306.
- [27] Gradner N., Champagne C.P.: Production of *Propionibacterium shermanii* biomass and vitamin B₁₂ on spent Media. *J. Appl. Microbiol.*, 2005, **99**, 1236-1245.
- [28] Hammerschmidt D.E.: A landmark article in translational medicine: Robert Schilling and intrinsic factor. *J. Lab. Clin. Med.*, 2004, **144 (5)**, 225-226.
- [29] Hatanaka H., Wang E., Taniguchi M., Iijima S., Kobayashi T.: Production of vitamin B₁₂ by a fermentor with a hollow-fiber module. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1998, **27**, 470-473.
- [30] Herman W., Obeid R., Schorr H., Geisel J.: Functional vitamin B₁₂ deficiency and determination of holotranscobalamin in population at risk. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2003, **41 (11)**, 1478-1488.
- [31] Hodgkin D.C., Kamper J., MacKay M., Pickworth J., Trueblood K.N., White J.G.: Structure of vitamin B₁₂. *Nature*. 1956, **178**, 64-66.
- [32] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 16 września 2010 r. w sprawie substancji wzbogacających dodawanych do żywności. *Dz. U.* 2010 r. Nr 174, poz. 1184.
- [33] Hvas A.M., Nexo E.: Holotranscobalamin as a predictor of vitamin B₁₂ status. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2003, **41**, 1489-1492.

- [34] IUPAC-IUB.: Tentative rules: nomenclature and symbols for folic acid and related compounds. J. Biol. Chem., 1966, **241**, 2991-1992.
- [35] IUPAC-IUB.: The nomenclature of corrinoids (rules approved 1975). Pure Appl. Chem., 1976, **48**, 495-502.
- [36] IUPAC-IUB.: The nomenclature of corrinoids. Biochemistry, 1974, **13**, 1555-1560.
- [37] Jordan P.M.: Highlights in hem biosynthesis. Curr. Opin. Struct. Biol., 1994, **4**, 902-911.
- [38] Knasmüller S., Verhagen H.: Impact of dietary on cancer causes and DNA integrity: new trends and aspects. Food Chem. Toxicol., 2002, **40**, 1047-1050.
- [39] Kolling K., Ndrepepa G., Koch W., Braun S., Mehilli J., Schoming A., Kastrati A.: Methylene-tetrahydrofolate reductase gene *C677T* and *A1298C* polymorphism, plasma homocysteine, folate and vitamin B₁₂ levels and the extent of coronary artery disease. Am. J. Cardiol., 2004, **93** (10), 1201-1206.
- [40] Lewis V., Yang S.-T.: A novel extractive fermentation process for propionic acid production from whey lactose. Biotechnol. Bioeng., 1992, **8**, 104-110.
- [41] Li H.-B., Chen F., Jiang Y.: Determination of vitamin B₁₂ in multivitamin tablets and fermentation medium by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. J. Chrom. A., 2000, **891** (2), 243-247.
- [42] Li K.-T., Liu D.-H., Li Y.-L., Chu J., Wang Y.-H., Zhuang Y.-P., Zhang S.-L.: Improved large-scale production of vitamin B₁₂ by *Pseudomonas denitrificans* with betaine feeding. Biores. Technol., 2008, **99**, 8516-8520.
- [43] Lindgren A., Kilander A., Bagge E., Nexø E.: Holotranscobalamin - a sensitive marker of cobalamin malabsorption. Eur. J. Clin. Invest., 1999, **29**, 321-329.
- [44] Lorenzl S., Vogeser M., Müller-Schunk S., Pfister H.W.: Clinically and MRI documented funicular myelosis in a patient with metabolic vitamin B₁₂ deficiency but normal vitamin B₁₂ serum level. J. Neurol., 2003, **250**, 1010-1011.
- [45] Louie G., Brownlie P., Lambert R., Cooper J.B., Blundell T.L., Wood S.P., Warren M.J., Woodcock S.C., Jordan P.M.: Structure of porphobilinogen deaminase reveals a flexible multidomain polymerase with a single catalytic site. Nature., 1992, **359**, 33-39.
- [46] Luggen A.S.: Gerontologic nurse practitioner care guidelines: vitamin B₁₂ deficiency in older adults. Geriatr. Nurs., 2006, **27** (1), 32-33.
- [47] Lukaski H.C.: Vitamin and mineral status: effect on physical performance. Nutr., 2004, **20**, 632-644.
- [48] Luo X., Chen B., Ding L., Tang F., Yao S.: HPLC-ESI-MS analysis of vitamin B₁₂ in food products and in multivitamins-multimineral tablets. Anal. Chim. Acta, 2006, **562** (2), 185-189.
- [49] Martens J.-H., Barg H., Warren M.J., Jahn D.: Microbial production of vitamin B₁₂. Appl. Microbiol. Biotechnol., 2002, **58**, 275-285.
- [50] Meile L., Gwenaelle L.B., Thierry A.: Safety assessment of dairy microorganisms: *Propionibacterium* and *Bifidobacterium*. Int. J. Food Microbiol., 2008, **126**, 316-320.
- [51] Miller A., Korem M., Almong R., Glaboiz Y.: Vitamin B₁₂, demyelination, remyelination and repair in multiple sclerosis. J. Neurol. Sci., 2005, **233**, 93-97.
- [52] Miller J.W., Garrod M.G., Rockwood A.L., Kushnir M.M., Allen L.H., Haan M.N., Green R.: Measurement of total vitamin B₁₂ and holotranscobalamin, singly and in combination, in screening for metabolic vitamin B₁₂ deficiency. Clin. Chem., 2006, **52**, 278-285.
- [53] Minot G.R., Murphy W.P.: Treatment of pernicious anemia by a special diet. J. Am. Med. Assoc. (JAMA), 1926, **87**, 470-476.
- [54] Miyano K., Ye K., Shimizu K.: Improvement of vitamin B₁₂ fermentation by reducing in the inhibitory metabolites by cell recycle system and mixed culture. J. Biochem Eng., 2000, **6**, 207-214.

- [55] Mollin D.L., Ross G.I.M.: The vitamin B₁₂ concentrations of serum and urine of normals and of patients with megaloblastic anaemias and other diseases. *J. Clin. Pathol.*, 1952, **5**, 129-139.
- [56] Nakano K., Kataoka H., Matsumara M.: High density culture of *Propionibacterium freudenreichii* coupled with propionic acid removal system with activated charcoal. *J. Ferment. Bioeng.*, 1996, **81**, 37- 41.
- [57] Neidle E.L., Kaplan S.: Expression of the *Rhodobacter sphaeroides hemA* and *hemT* genes, encoding two 5-aminolevulinic acid synthase isozymes. *J. Bacteriol.*, 1993, **175**, 2292-2303.
- [58] Ortigues-Marty I., Thomas E., Prévéraud D.P., Girard C.L., Bauchart D., Durand D., Peyron A.: Influence of maturation and cooking treatments on the nutritional value of bovine meats: Water losses and vitamin B₁₂. *Meat Sci.*, 2006, **73**, 451-458.
- [59] Paoloni-Giacombino A., Grimble R., Pichard C.: Genetics and nutrition. *Clinic. Nutr.*, 2003, **22** (5), 429-435.
- [60] Perez-Mendoza J.L., Garcia-Fernandez F.: Fermentation of a waste product from the industrial processing of the lime for the vitamin B₁₂ production. *Biotechnol. Lett.*, 1983, **5** (4), 259-264.
- [61] Perlman D.: Microbial synthesis of cobamides. *Adv. Appl. Microbiol.*, 1959, **1**, 87-122.
- [62] Piao Y., Yamashita M., Kawaraichi N., Asegawa R., Ono H., Murooka Y.: Production of vitamin B₁₂ in genetically engineered *Propionibacterium freudenreichii*. *J. Biosci. Bioeng.*, 2004, **98** (3), 167-173.
- [63] Pollich M., Klug G.: Identification and sequence analysis of genes involved in late steps in cobalamin (vitamin B₁₂) synthesis in *Rhodobacter capsulatus*. *J. Bacteriol.*, 1995, **177**, 4481-4487.
- [64] Pollich M., Wersig C., Klug G.: The *bluF* gene of *Rhodobacter capsulatus* is involved in conversion of cobinamide to cobalamin (vitamin B₁₂). *J. Bacteriol.*, 1996, **178**, 7308-7310.
- [65] Quesada-Chanto A., Afschar A.S., Wagner F.: Microbial production of propionic acid and vitamin B₁₂ using molasses or sugar. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1994, **41**, 378-383.
- [66] Quesada-Chanto A., Schmid-Meyer C., Schroeder A.G., Fuchter A., Carvalho-Jonas M.F., Koehntopp P.I., Jonas R.: Comparison of methods for determination of vitamin B₁₂ in microbial material. *Biotechnol Tech.*, 1998, **12** (1), 75-77.
- [67] Raux E., Lanois A., Levillayer F., Warren M.J., Brody E., Rambach A., Thermes C.: *Salmonella typhimurium* cobalamin (vitamin B₁₂) biosynthetic genes: functional studies in *S. typhimurium* and *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*, 1996, **178**, 753-767.
- [68] Raux E., Lanois A., Rambach A., Warren A., Hermes C.: Cobalamin (vitamin B₁₂) biosynthesis: identification and characterization of *Bacillus megaterium cobI* operon. *Biochem J.*, 1998, **335**, 159-166.
- [69] Raux E., Schubert H.J., Warren M.J.: Biosynthesis of cobalamin (vitamin B₁₂): a bacterial conundrum. *CMLS Cell. Mol. Life Sci.*, 2000, **57**, 1880-1893.
- [70] Raux E., Schubert H.L., Roper J.M., Wilson K.S., Warren M.J.: Vitamin B₁₂: Insights into biosynthesis's mount improbable. *Bioorg. Chem.*, 1999, **27**, 100-118.
- [71] Rickes E.L., Brink N.G., Koniuszy F.R., Wood T.R., Folkers K.: Crystalline vitamin B₁₂. *Science*, 1948, **107** (2781), 396-397.
- [72] Rodionov D.A., Vitreschak A.G., Mironov A.A., Gelfand M.S.: Comparative genomics of the vitamin B₁₂ metabolism and regulation in prokaryotes. *J. Biol. Chem.*, 2003, **278** (42), 41148-41159.
- [73] Roessner C.A., Huang K.X., Warren M.J., Raux E., Scott A.I.: Isolation and characterization of 14 additional genes specifying the anaerobic biosynthesis of cobalamin (vitamin B₁₂) of *Propionibacterium freidenreichii* (*P. shermani*). *Microbiology*, 2002, **148**, 1845- 1853.
- [74] Roman R.V., Iluc E., Mustea A., Neacsu A., Asandului V.: Optimisation of medium components in vitamin B₁₂ biosynthesis. *Roum. Biotechnol. Lett.*, 2001, **6**, 343-350.
- [75] Ross G.I.M.: Vitamin B₁₂ assay in body fluids. *Nature*, 1950, **166**, 270-271.

- [76] Roth J.R., Lawrence J.G., Bobik T.A.: Cobalamin (coenzyme B₁₂): synthesis and biological significance. *Ann. Rev. Microbiol.*, 1996, **50**, 137-181.
- [77] Roth J.R., Lawrence J.G., Rubenfield M., Dieffer- Higgins S., Church G.M.: Characterization of cobalamin (vitamin B₁₂) biosynthetic genes of *Salmonella typhimurium*. *J. Bacteriol.*, 1993, **175**, 3303-3316.
- [78] Sali A., Vitetta L.: Nutritional supplements and cardiovascular disease. *Heart Lung Circ.*, 2004, **13**, 363-366.
- [79] Sattler I., Roessner C.A. Stolowich N.J., Hardin S.H., Haris-Haller L.W., Yokubaitis N.T., Murooka Y., Hashimoto Y., Scott A.I.: Cloning, sequencing, and expression of the uroporphyrinogen III methyltransferase *cobA* gene of *Propionibacterium freidenreichii* (*shermani*). *J. Bacteriol.*, 1995, **177**, 1564-1569.
- [80] Scott A.I., Roessner C.A.: Biosynthesis of cobalamin (vitamin B₁₂). *Biochem. Soc. Trans.*, 2002, **30**, 613-620.
- [81] Scott A.I.: The discovery of nature's pathway to vitamin B₁₂. A 25 year Odyssey. *Tetrahedron*, 1994, **50**, 13315-13333.
- [82] Seiler W.O.: Clinical pictures of malnutrition in ill elderly subjects. *Nutr.*, 2001, **17**, 496-498.
- [83] Skeggs H.R., Huff J.W., Wright L.D., Bosshardt D.K.: The use of *Lactobacillus leichmannii* in the microbiological assay of the "animal protein factor". *J. Biol. Chem.*, 1948, **176**, 1450-1455.
- [84] Smith A.G., Croft M.T., Moulin M., Webb M.E.: Plants need their vitamins too. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 2007, **10**, 266-275.
- [85] Smith E.L., Parker L.F.J.: Purification of antipernicious anaemia factor. *Biochem. J.*, 1948, **43**, VIII.
- [86] Smith E.L.: Vitamin B₁₂. 3d ed., Wiley, New York 1965.
- [87] Snow C.F.: Laboratory diagnosis of vitamin B₁₂ and folate deficiency: a guide for the primary care physician. *Arch. Intern. Med.*, 1999, **159**, 1289-1298.
- [88] Thompson H.T., Dietrich L.S., Elvehjem C.A.: The use of *Lactobacillus leichmannii* in the estimation of vitamin B₁₂ activity. *J. Biol. Chem.*, 1950, **184**, 175-180.
- [89] Turło J., Gutkowska B., Herold F., Krzyczkowski W., Błażewicz A., Kocjan R.: Optimizing vitamin B₁₂ biosynthesis by mecelial cultures of *Lentinula edodes* (Berk.) Pegl. *Enzym. Microb. Technol.*, 2008, **43**, 369-374.
- [90] Visioli F., Hagen T.M.: Nutritional strategies for healthy cardiovascular aging: Focus on micronutrients. *Pharm. Res.*, 2007, **55**, 199-206.
- [91] Warren M.J., Cooper J.B., Woods S.P., Shoolingin-Jordan P.M.: Lead poisoning, haem synthesis and 5-aminolaevulinic acid dehydratase. *Trends Biochem. Sci.*, 1998, **23**, 217-221.
- [92] Warren M.J., Raux E., Schubert H.L., Escalante-Semerena J.C.: The biosynthesis of adenosylcobalamin (vitamin B₁₂). *Nat. Prod. Rep.*, 2002, **19**, 390-412.
- [93] Warren M.J., Roessner C.A., Santander P.J., Scott A.I.: The *Escherichia coli* *cysG* gene encodes S-adenosyl-methionine-dependent uroporphyrinogen III methylase. *Biochem. J.*, 1990, **165**, 725-729.
- [94] Whipple G.H., Robscheit F.S., Hooper C.W.: Blood regeneration following simple anemia. IV. Influence of meat, liver and various extractives, alone or combined with standard diets. *Am. J. Physiol.*, 1920, **53**, 236-262.
- [95] Woodward R.B.: The total synthesis of vitamin B₁₂. *Pure Appl.Chem.*, 1973, **33**, 145-177.
- [96] Yang S.-T., Huang Y.: A novel recycle batch immobilized cell bioreactor for propionate production from whey lactose. *Biotechnol. Bioeng.*, 1995, **45**, 379-386.
- [97] Zhang S.-T., Matsuoka H., Toda K.: Production and recovery of propionic and acetic acid in electro dialysis culture of *Propionibacterium shermani*. *J. Ferment. Bioeng.*, 1993, **75**, 276-282.

VITAMIN B₁₂ - STRUCTURE, BIOSYNTHESIS, FUNCTIONS, AND METHODS OF DETERMINATION

S u m m a r y

In the paper, the currently available studies are presented, which deal with the vitamin B₁₂ (cobalamin), its structure, the biochemical pathways of its biosynthesis, its importance for human health, as well as with the methods of determining it. In addition, research results into the biotechnological production of vitamin B₁₂ are reported. The vitamin B₁₂ is an important co-factor for the metabolism of carbohydrates, lipids, amino acid, and nucleic acids in the human body. It is also an anti- pernicious anaemia factor. The cobalamin biosynthesis is almost exclusively restricted to the prokaryotic organisms. Many bacterial species are able to synthesize vitamin B₁₂, but only appear significantly important: *Propionibacterium freudenreichii* and *Pseudomonas denitrificans*.

Key words: vitamin B₁₂, cobalamin, *Propionibacterium* sp., pernicious anaemia ☒

XL Sesja Komitetu Nauk o Żywności Polskiej Akademii Nauk „Tradycja i nowoczesność w żywności i żywieniu”

Tematyka sesji

- Właściwości i ocena jakości surowców i produktów
- Innowacyjność w produkcji żywności
- Produkty tradycyjne i regionalne a współczesny przemysł i konsument

Informacje

<http://latwnoz.sggw.pl/index.php>

Adres Komitetu organizacyjnego:

e-mail: konferencja_knos@sggw.pl

lub

Wydział Nauki o Żywności

XL Sesja Komitetu Nauk o Żywności Polskiej Akademii Nauk

„Tradycja i nowoczesność w żywności i żywieniu”

ul. Nowoursynowska 159c, 02-776 Warszawa

AGNIESZKA MARTYN, ZDZISŁAW TARGOŃSKI

ANTYMIKROBIOLOGICZNE OPAKOWANIA ŻYWNOŚCI

Streszczenie

Wzrastające wymagania konsumentów dotyczące bezpiecznej, minimalnie przetworzonej żywności oraz wydłużonego czasu jej przechowywania mobilizują przemysł spożywczy do wprowadzania m.in. aktywnych, w tym antymikrobiologicznych opakowań żywności. Głównymi antymikrobiologicznymi składnikami tych opakowań są: kwas benzoesowy, kwas sorbowy oraz ich sole, nizyna, lizozym, olejki eteryczne i inne. Składniki te, odpowiednio wkomponowane w matrycę opakowania, zapobiegają lub ograniczają rozwój wielu drobnoustrojów, np.: *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* oraz pleśni: *Penicillium*, *Aspergillus niger*. Skuteczność opakowania antymikrobiologicznego zależy od doboru składników antymikrobiologicznych do matrycy opakowania oraz rodzaju produktu spożywczego przeznaczonego do zapakowania. Problematyka ta jest przedmiotem niniejszego artykułu.

Słowa kluczowe: opakowanie antymikrobiologiczne, antymikrobiologiczne składniki

Wprowadzenie

Tradycyjne opakowania: szklane, metalowe i papierowe stanowią zewnętrzną barierę ochronną produktu przed wpływem środowiska zewnętrznego. Czynniki środowiska, takie jak: promieniowanie słoneczne, powietrze i wilgotność mogą powodować zmiany fizyczne, chemiczne i mikrobiologiczne żywności [2, 51]. Współczesnemu konsumentowi nie odpowiada „pasywna” funkcja ochronna opakowań tradycyjnych oraz dostarczenie informacji o produkcie i sposobie jego przechowywania. Dlatego w latach 80. XX w. rozpoczęto badania nad nowymi opakowaniami aktywnymi, wpływającymi na jakość i bezpieczeństwo produktu. Opakowanie może być zaliczone do opakowań aktywnych, jeśli poza funkcją ochronną, dodatkowo poprawia jakość i bezpieczeństwo produktu w czasie przechowywania [51]. Opakowania te wyróżniają się właściwościami barierowymi, które sprawiają, że powstają wzajemne oddziaływania między produktem, opakowaniem i otoczeniem [1, 2, 23]. Elementy te zapewniają

Mgr inż. A. Martyn, prof. dr hab. Z. Targoński, Katedra Biotechnologii, Żywnienia Człowieka i Towaroznawstwa Żywności, Wydz. Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Skromna 8, 20-950 Lublin

utrzymanie jakości i właściwości sensorycznych opakowanego produktu podczas wydłużonego czasu przechowywania [26, 61, 62]. Ponadto opakowania aktywne są stosowane do pakowania nowych wygodnych produktów żywnościowych przeznaczonych do łatwego i szybkiego przygotowania do konsumpcji.

W zależności od sposobu oddziaływania na produkt opakowanie aktywne można podzielić na trzy kategorie :

- zapewniające utrzymanie jakości produktu w czasie jego przechowywania,
- informujące konsumenta o warunkach przechowywania produktu za pomocą wskaźnika barwnego określającego czas i temperaturę przechowywania czy pH, zawartości tlenu lub dwutlenku węgla na podstawie przemian enzymatycznych żywności,
- zmieniające właściwości żywności wygodnej podczas jej przygotowania np. ogrzewania mikrofalowego.

Zapewnienie jakości produktu w czasie przechowywania wiąże się z kontrolą lub regulacją zachodzących przemian chemicznych w żywności, takich jak: utlenianie tłuszczów, brunatnienie, degradacja witamin, związków aromatycznych, pigmentów czy transpiracja owoców i warzyw, poprzez kontrolowanie przestrzeni wewnątrz opakowania za pomocą absorbowania lub wydzielania: tlenu, dwutlenku węgla lub pary wodnej, które przyczyniają się do powstawania zmian w żywności. Poza tym zapobiegają rozwojowi mikroorganizmów za pomocą dodatkowych składników antymikrobiologicznych (nizyna, lizozym, konserwanty) włączonych w opakowanie [2, 4, 23, 37, 51].

Zastosowanie odpowiednio aktywnego opakowania zależy od charakteru produktu oraz zachodzących w nim przemian fizjologicznych (oddychanie świeżych owoców i warzyw), chemicznych (utlenienie tłuszczów), mikrobiologicznych (psucie powodowane przez mikroorganizmy) podczas przechowywania [2]. W zależności od przeznaczenia, opakowania aktywne można podzielić na: absorbujące niepożądane składniki, takie jak np. tlen, dwutlenek węgla, etylen, parę wodną; wydzielające etanol do wnętrza opakowania; zawierające aktywny składnik mikrobiologiczny; umożliwiające kontrolę zapachu, czasu lub temperatury przechowywania opakowanego produktu [37, 51].

Opakowanie antymikrobiologiczne

Opakowanie antymikrobiologiczne jest jednym z rodzajów opakowań aktywnych [21]. Funkcją tego opakowania jest hamowanie rozwoju patogennych mikroorganizmów zanieczyszczających żywność przez dodanie antymikrobiologicznego składnika lub wykorzystanie polimeru o właściwościach antymikrobiologicznych. Zatem opakowanie antymikrobiologiczne pozwala ograniczyć lub zapobiegać rozwojowi mikroor-

ganizmów przez wydłużanie lag fazy oraz ograniczenie szybkości wzrostu drobnoustrojów [28].

Opakowania o charakterze antymikrobiologicznym tworzy się w następujący sposób:

1. Umieszczenie saszetki lub wkładki wewnątrz opakowaniowa, zawierającej „lotny” składnik antymikrobiologiczny [28]. Saszetka z absorbentem tlenu lub pary wodnej jest luźno włożona lub przytwierdzona do wewnętrznej części opakowania. Absorbent tlenu i wilgoci stosowany jest głównie w opakowaniach zawierających makarony, wyroby piekarnicze i mięso w celu ograniczenia procesów utleniania oraz absorpcji wykroplonej wody [51]. Ponadto absorbent wilgoci obniża aktywność wody w produkcie, a tym samym pośrednio wpływa na rozwój mikroorganizmów. Wkładki absorpcyjne znalazły zastosowanie przede wszystkim w jednorazowych opakowaniach (tackach) mięsa lub drobiu. Kwasy organiczne występujące we wkładkach zapobiegają również rozwojowi mikroorganizmów [29].
2. Umieszczenie składnika antymikrobiologicznego w polimerze czy papierze stanowiącym opakowanie. Rolą antymikrobiologicznego składnika jest zapobieganie rozwojowi mikroflory powodującej psucie się zapakowanego produktu. Włączenie składnika do polimeru odbywa się poprzez jego wtopienie, ekstruzję lub za pomocą rozpuszczalnika. Istnieje wiele publikacji naukowych i patentów świadczących o dużym zainteresowaniu naukowców sposobami włączenia antymikrobiologicznych składników do opakowania żywności [4].
3. Adsorpcja składnika antymikrobiologicznego na powierzchni polimeru. W przypadku składników wrażliwych na temperaturę, podczas produkcji polimeru przeznaczonego na opakowania, stosuje się pokrywanie polimerem uformowanego opakowania [4].
4. Tworzenie wiązań jonowych lub kowalencyjnych przez antymikrobiologiczny składnik z polimerem. Polimery syntetyczne, takie jak: polistyren, LDPE, alkohol poliwinylowy oraz naturalne, jak: celuloza, skrobia, chitozan na ogół są nierozpuszczalne. W związku z tym mogą tworzyć folie o strukturze siateczkowej za pomocą wiązań jonowych lub kowalencyjnych z peptydami, enzymami, poliamidami, kwasami organicznymi, jonami metali np. cynku, potasu i sodu. Wiązania powstają w obecności katalizatora, którym może być dekstryna, glikol polietylenowy, etylenodiaminy [4, 20].
5. Zastosowanie polimeru o właściwościach antymikrobiologicznych. Przykładem takiego polimeru jest chitozan [4].

Antymikrobiologiczne składniki stosowane w opakowaniach antymikrobiologicznych

Znanych jest wiele aktywnych składników, które mogą być wykorzystane w opakowaniach antymikrobiologicznych. Ich stosowanie powinno być zgodne z przepisami prawnymi kraju, w którym będą dopuszczone do użytku przez przemysł spożywczy. Do składników antymikrobiologicznych zalicza się: kwasy organiczne, bakteriocyny, enzymy, roślinne olejki eteryczne. Różnią się między sobą mechanizmem działania, oddziałując na ścianę komórkową, względnie na metabolizm lub genotyp mikroorganizmów [27, 37, 45].

Słabe kwasy organiczne (benzoesowy, parahydroksybenzoesowy, octowy, mlekowy, sorbowy, cytrynowy, propionowy) należą do popularnych środków konserwujących, które hamują rozwój bakterii i grzybów. Dodatkową funkcją kwasu sorbowego jest zapobieganie tworzeniu się przetrwalników. Aktywność antymikrobiologiczna słabych kwasów organicznych uzależniona jest od pH produktu żywnościowego oraz formy w jakiej występują. Optymalną aktywność wykazują w zakresie niskiego pH, ponieważ niezdisocjowane membrany komórkowe ułatwiają ich wnikanie do wnętrza komórki [8]. Gosh i wsp. [24] opracowali opakowanie przeciwegrzybowe z kwasem sorbowym. Wodny roztwór kwasu sorbowego rozpuszczono w 2 % roztworze karboksymetylocelulozy, a następnie naniesiono na odtłuszczony papier. Według Chen i wsp. [13] film metylocelulozowy z chitozanem zawierający sorbinian potasu lub benzoosan sodu wykazywał właściwości przeciwegrzybowe, które zostały potwierdzone na grzybach *Penicillium notatum* i drożdżach *Rhodotorula rubra*. Wiele badań przeprowadzono nad sposobem wkomponowania soli kwasu sorbowego lub jego bezwodnika w różne filmy, takie jak: skrobiowe, glicerolowe [5], polietylenowe [66]. Weng i wsp. [65] opracowali antymikrobiologiczny materiał opakowaniowy na bazie polietylenu z dodatkiem kwasu metyloakrylowego (PEMA), kwasu benzooesowego i sorbowego jako składnika antymikrobiologicznego. Devlieghere [17] wykazał, że film LDPE zawierający sorbinian potasu wykazywał słabą aktywność antymikrobiologiczną wobec *Candida* ssp., *Picia* ssp., *Trichosporon* ssp. i *Penicillium* ssp. Dobias i wsp. [18] stwierdzili, że opakowanie LDPE zawierające bezwodnik kwasu benzooesowego może odgrywać znaczącą rolę w hamowaniu rozwoju pleśni na powierzchni sera lub pieczywa tostowego. Matche i wsp. [38] wykazali, że folia powstała na skutek jednorodnego połączenia polietylenu i kwasu metakrylowego wiązaniem jonowym oraz zawierająca chlorek kwasu benzooesowego wykazuje lepsze właściwości antymikrobiologiczne wobec *Penicillium* ssp. i *Aspergillus* ssp. Natomiast Weng i wsp. [64] dowiedli, że zmodyfikowana, neutralizowana folia powstała dzięki wiązaniom jonowym pomiędzy kopolimerem polietylenu i kwasem metakrylowym oraz chlorkiem kwasu benzooesowego, który jednocześnie stanowi składnik antymikrobiologiczny, ma lepsze właściwości antymikrobiologiczne wobec *Penicillium* ssp. i *Aspergillus niger*

w porównaniu z folią zawierającą jedynie kwas benzoesowy [64]. Vartiainen i wsp. [60] porównali skuteczność właściwości antimikrobiologicznych tradycyjnych konserwantów żywności, takich jak: azotan(III) sodu, benzoesan sodu, sorbinian potasu i sól sodowa kwasu mlekowego, włączonych do polimerów syntetycznych wobec *Aspergillus niger*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*. Wykazali, że azotan(III) sodu hamuje rozwój zarówno *Aspergillus niger* i *Bacillus subtilis*, natomiast benzoesan sodu i sorbinian potasu hamują rozwój jedynie *Bacillus subtilis*, a sól sodowa kwasu mlekowego nie wykazuje właściwości antymikrobiologicznych. Żaden z podanych konserwantów nie wykazał zdolności do hamowania *Escherichia coli*. Soares i wsp. [57] stwierdzili, że folia celulozowa z dodatkiem propionianu sodu, w którą opakowano kromki chleba, zapobiegała rozwojowi pleśni oraz przedłużała okres jego przechowania [57]. Limjaroen i wsp. [36] przebadali skuteczność opakowania antymikrobiologicznego z polichlorku winylowego, zawierającego kwas sorbowy, na ograniczenie występowania *Listeria monocytogenes* w serze Cheddar i pokrojonej wędlinie z rodzaju „bologna”, podczas przechowywania. Nie zaobserwowano pojawienia się *Listeria monocytogenes* w wędlinie przechowywanej w warunkach chłodniczych przez 28 dni. Opakowanie nie zahamowało rozwoju *Listeria monocytogenes* w serze, lecz wpłynęło na minimalną redukcję mezofilnych tlenowców. Cargi i wsp. [10] opracowali antymikrobiologiczne jadalne powłoki z białek serwatkowych, które skutecznie hamowały rozwój *Listeria monocytogenes*. Jadalne powłoki izolatu białka serwatkowego zawierające kwas p-hydroksybenzoesowy lub sorbowy dodatkowo hamowały rozwój *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium* DT 104 [10], a skuteczność została potwierdzona na pokrojonej wędlinie typu „bologna” i kiełbasach grilowych [11]. Dodatek kwasu p-hydroksybenzoesowego do powłok jadalnych białka serwatkowego wpłynął na zahamowanie rozwoju *Listeria monocytogenes* hot dogów przechowywanych w warunkach chłodniczych przez 42 dni [9].

Lizozym (muramidaza EC. 3.2.1.17) jest białkiem peptydowym wykazującym aktywność enzymatyczną. Hydrolizuje wiązanie $\beta(1,4)$ glikozydowe pomiędzy kwasem N-acetylomuraninowym i N-acetyloglukozoaminą w peptydoglukanie, powodując rozpad ściany komórkowej bakterii Gram dodatnich. Bakterie Gram ujemne mają barierę chroniącą ścianę komórkową przed działaniem lizozymu. W obecności EDTA lizozym powoduje niszczenie ściany komórkowej bakterii Gram ujemnych [29]. Appendini i wsp. [3] przeprowadzili badania nad wpływem lizozymu, jako aktywnego składnika, stosując opakowania z polimeru polywinylowego, nylonowego i celulozowego do opakowania żywności. Mecitoğlu i wsp. [39] opracowali antymikrobiologiczny film kukurydziany, zawierający częściowo oczyszczony lizozym z jaja kurzego, który hamuje rozwój *Bacillus subtilis* i *Lactobacillus plantarum*, a po dodaniu EDTA (kwasu etylenodiaminotetraoctowego) folia również hamowała rozwój *Escherichia coli*. Monte i wsp. [42] wykazali, że folia poliwinylalkoholowa z powierzchnią pokry-

tą lizozymem skutecznie hamowała rozwój bakterii przetrwalnikujących *Alicyclobacillus acidoterrestis*, odpowiadających za psucie się napojów. Natomiast Conte i wsp. [15] potwierdzili aktywność antymikrobiologiczną wobec *Micrococcus lysodeikticus* lizozymu wkomponowanego w strukturę folii poliwinylalkoholowej za pomocą glikolu i kwasu chlorowego jako katalizatora. Park i wsp. [49] opracowali folię chitozanową z dodatkiem lizozymu, która ma właściwości antymikrobiologiczne wobec bakterii typu *Escherichia coli* i *Streptococcus faecalis*. Rubra i wsp. [52], wykorzystując nanotechnologię, uzyskali wielowarstwową antymikrobiologiczną folię poliaktydowo-glutaminową (PLGA) zawierającą lizozym.

Bakteriocyny są polipeptydami o właściwościach antymikrobiologicznych, produkowanymi głównie przez bakterie kwasu mlekowego. Uznawane są za naturalne substancje konserwujące. Najbardziej znaną bakteriocyną jest nizyna o aktywności antymikrobiologicznej wobec bakterii kwasu mlekowego, bakterii Gram dodatnich (*Listeria* ssp., *Bacillus* ssp., *Staphylococcus aureus*) oraz bakterii gatunku *Clostridium perfringens*. Aktywność nizyny polega na tworzeniu przejściowych porów w błonie cytoplazmatycznej, po czym następuje zanikanie potencjału błony cytoplazmatycznej i utrata metabolitów wewnątrzkomórkowych, powodując tym samym obumieranie całej komórki mikroorganizmu. Bakterie Gram ujemne mają barierę ochronną w błonie cytoplazmatycznej, która ochrania komórkę przed działaniem nizyny. Nizyna jest jedyną bakteriocyną dopuszczoną do stosowania jako środek konserwujący w przemyśle spożywczym. Przepisy unijne zezwalają na stosowanie nizyny jako dodatku do żywności (E 234) – do kremów i serów [54, 58].

W ostatnich latach wielu badaczy zainteresowało się włączeniem nizyny do opakowań żywności. Lee i wsp. [34] badali wpływ kartonu (kopolimeru winyloacetyloetylenowego) zawierającego nizynę i chitozan na kinetykę wzrostu niepożądanego flory mikrobiologicznej w mleku i soku pomarańczowym. Stwierdzili wyraźną poprawę jakości mikrobiologicznej mleka oraz soku pomarańczowego przechowywanego w temperaturze 10 °C. Natomiast w temperaturze 20 °C zauważono minimalny wpływ opakowania na jakość mikrobiologiczną mleka. Z kolei Muriello i wsp. [44] wykazali, że folia o małej gęstości polietylenu (LDPE) powleczona nizyną hamuje rozwój *Micrococcus luteus* ATTC 1240 w mleku surowym i pasteryzowanym. Podwyższona temperatura oraz niskie pH powodowały uwalnianie się nizyny z foli. Zatem folia zawierająca nizynę może kontrolować rozwój flory bakteryjnej mleka. Krejcova i wsp. [33] potwierdzili, że film LDPE powleczony preparatem NisaplinReg, zawierającym nizynę, zapobiega rozwojowi bakterii kwasu mlekowego, tlenowych bakterii przetrwalnikujących oraz *Bacillus cereus* w serach oraz produktach mięsnych. Scannell i wsp. [53] stworzyli bioaktywne woreczki celulozowe oraz polietyleno-poliamidowe zawierające bakteriocyny lacticin 3147 i nizynę. W warunkach chłodniczych opakowanie antymikrobiologiczne ograniczyło rozwój bakterii kwasu mlekowego w zapa-

kowanym w atmosferze modyfikowanej plasterkowanym serze i szynce, tym samym wydłużając ich okres przechowywania. Nizyna wyraźnie ograniczyła rozwój komórek *Listeria innocua* (≥ 2 log jednostek) w obydwu produktach, a także *Staphylococcus aureus* (1,5 log jednostek) w serze i (2,8 log jednostek) szynce. Guerra i wsp. [24] opracowali celofan pokryty nizyną, powodujący znaczące zmniejszenie ogólnej liczby bakterii tlenowych w świeżym mięsie cielecym przechowywanym przez 12 dni w temperaturze 4 °C. Cha i wsp. [12] wykazali, że zastosowanie nizyny w opakowaniu produktu sojowego – tofu umożliwiło zapobieżenie występowaniu *Listeria monocytogenes* oraz powtórnemu zakażeniu produktu przechowywanego w otwartym opakowaniu w domowej chłodziarce. Lee i wsp. [35], wykorzystując nizynę oraz α -tokoferol, otrzymali papier mający właściwości antymikrobiologiczne i antyoksydacyjne. Nizyna hamowała rozwój *Micrococcus flavus*, natomiast α -tokoferol opóźnił proces utlenianie tłuszczu w śmietanie. Zatem udowodnili, że papier zawierający nizynę i α -tokoferol może zapobiegać zmianom jakości mikrobiologicznej i chemicznej łatwo psującej się żywności. Ponadto wielu badaczy zajmowało się utworzeniem jadalnych powłok zawierających nizynę. Sebti i wsp. [55] opracowali jadalną powłokę hydroksy-propylo-metylo-celulozową zawierającą nizynę, która kontrolowała rozwój *Listeria monocytogenes* oraz *Staphylococcus aureus* na powierzchni żywności. Natomiast Coma i wsp. [14] dowiedli, że ten sam film hamował rozwój *Listeria innocua*. Ming i wsp. [42] otrzymali folię celulozową zawierającą inną bakteriocynę – pediocynę, która całkowicie zahamowała rozwój *Listeria monocytogenes* w produktach mięsnych przechowywanych w temperaturze 4 °C przez 12 dni.

Chelat EDTA (kwas etylenodiaminotetraoctwy) wzmacnia aktywność antymikrobiologiczną lizozymu i nizyny wobec *E. coli*, *L. monocytogenes* *Salmonella typhimurium* oraz bakterii Gram ujemnych [7, 41]. EDTA destabilizuje ścianę komórkową bakterii przez tworzenie kompleksu z kationami dwuwartościowymi, które działają jak pomost pomiędzy cząsteczkami membranowymi [6]. Cutter i wsp. [16] udowodnili, że folia polietylenowa zawierająca nizynę oraz EDTA jako czynnik chelatujący ma lepsze właściwości antymikrobiologiczne niż folia polietylenowa zawierające jedynie nizynę. Padgett i wsp. [48] opracowali kukurydzianą folię zawierającą nizynę lub lizozym oraz EDTA, która zapobiegała rozwojowi *Escherichia coli* oraz *Lactobacillus plantarum*. Natomiast Kandemir i wsp. [32] wykorzystali pullan do otrzymania folii antymikrobiologicznej zawierającej lizozym, który po dodaniu EDTA hamowała rozwój *Escherichia coli*.

Olejki eteryczne oraz ich składniki stały się popularnymi naturalnymi środkami antymikrobiologicznymi. Nielsen i wsp. [45] dowiedli, że olejek eteryczny gorczycy (*Brassica*) i czosnku (*Allium*) oraz oleożywice cynamonu (*Cinnamomum*) dodane do opakowanego chleba w atmosferze modyfikowanej mogłyby kontrolować powstawanie pleśni. Seydim i wsp. [56] wykazali, że jadalne izolowane białkowo serwatkowe,

folie zawierające olejki eteryczne oregano (*Origanum minutiflorum*) oraz czosnku (*Allium sativum* L.) hamowały wzrost *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*. Takie folie mogłyby znaleźć zastosowanie jako opakowania do sosów czy plasterkowanych serów. Zivanovic i wsp. [67] dowiedli, że powłoki chitozanowe wzbogacone olejkami eterycznymi z oregano (*Origanum vulgare*) miały silniejszą aktywność antymikrobiologiczną wobec *Listeria monocytogenes* niż *Escherichia coli*. Natomiast Pronato i wsp. [50] uzyskali powłoki chitozanowe zawierające nizinę, sorbinian potasu oraz dodatkowo wzbogacone olejkami eterycznymi z czosnku (*Allium sativum* L.), które hamowały rozwój następujących bakterii: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes* oraz *Bacillus cereus*.

Czynniki wpływające na skuteczność opakowania antymikrobiologicznego i kontrola migracji składnika antymikrobiologicznego oraz kinetyki wzrostu mikroorganizmów

Przy projektowaniu opakowania antybakteryjnego należy wziąć pod uwagę następujące czynniki: charakterystykę składnika antymikrobiologicznego (wybór sposobu wkomponowania, toksyczność, kontrolowanie procesu migracji do wnętrza opakowania, odporność mikroorganizmów); charakterystykę produktu (mikrobiologiczną, chemiczną, warunki przechowywania); charakterystykę opakowania (fizyczne i chemiczne właściwości użytego materiału) oraz przepisy prawne.

Szybsza migracja składnika antymikrobiologicznego do żywności, w stosunku do rozwoju mikroorganizmów, może doprowadzić do wcześniejszego wyczerpania się składnika i utraty przez opakowanie funkcji antymikrobiologicznej podczas przechowywania, czego wynikiem może być wzrost mikroorganizmów. Jednak pozytywną stroną migracji składnika z opakowania do produktu żywnościowego jest zahamowanie rozwoju mikroorganizmu na powierzchni produktu. Zachowanie wyższego stężenia składnika niż minimalne stężenie potrzebne do zahamowania rozwoju mikroorganizmów na powierzchni produktu zapewnia utrzymanie właściwości opakowania antymikrobiologicznego. Wielkość pH produktu oraz rozpuszczalność składnika również odgrywa ważną rolę w procesie migracji. Dokładne poznanie mechanizmu i szybkości migracji składnika antymikrobiologicznego do wnętrza opakowania i produktu podczas całego okresu przechowywania może zagwarantować opracowanie skutecznego opakowania antymikrobiologicznego [27].

Podsumowanie

Wzrastające wymagania konsumentów dotyczące świeżego oraz bezpiecznego produktu przez cały okres przechowywania wskazują na konieczność stosowania opa-

kowań antymikrobiologicznych [21]. Dotychczasowe badania skupione były głównie na opracowywaniu metod wytwarzania opakowań o statycznych funkcjach ochronnych [28]. Przyszłościowe zagadnienia w większym stopniu dotyczyć będą opakowań aktywnych, w szczególności wykorzystania składników antymikrobiologicznych i ich komponowania z polimerami; znalezienia nowych składników o szerokim zakresie działania i niskiej toksyczności oraz ograniczenia tradycyjnych środków konserwujących. Współpraca pomiędzy ośrodkami naukowymi a przemysłem i instytucjami rządowymi może zapewnić opakowaniom antymikrobiologicznym przewagę nad opakowaniami tradycyjnymi obecnie stosowanymi w opakowalnictwie produktów żywnościowych [3].

Literatura

- [1] An D.S., Kim Y.M., Lee S.B., Paik H.D., Lee D.S.: Antimicrobial low density polyethylene film coated with bacteriocins in binder medium. *Food Sci. Biotechnol.*, 2000, **9**, 14-20.
- [2] Ahvenainen R.: Active and intelligent packaging; in *Novel food packaging techniques*. Ed. by R. Ahvenainen. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England, 2003.
- [3] Appendini P., Hotchkiss J.H.: Immobilization of lysozyme on food contact polymers as potential food antimicrobial film. *Pack. Technol. Sci.*, 1997, **10**, 271-279.
- [4] Appendini P., Hotchkiss J.H.: Review of antimicrobial food packaging. *Int. Food Sci. Emer. Technol.*, 2002, **3**, 113-123.
- [5] Baron J.K., Sumner S.S.: Antimicrobial containing edible films as inhibitory systems to control microbial growth on meat product. *J. Food Prot.*, 1993, **56**, 916.
- [6] Bozaris I.S., Adams M.R.: Effect of chelator and nisin produced in situ on inhibition and inactivation of Gram negatives. *Int. J. Food Microbiol.*, 1999, **53**, 105-113.
- [7] Branem J.K., Davidson P.M.: Enhancement of nisin, lysozyme and monolaurin antimicrobial activities by ethylenediaminetetraacetic acid and lactoferrin. *Int. J. Food Microbiol.*, 2004, **90**, 63-74.
- [8] Brul S., Coote P.: Preservative agents in food. Mode of action and microbial resistance in microorganisms. *Int. J. Food Microbiol.*, 1999, **50**, 1-17.
- [9] Cagri A., Ustunol Z., Osburn W., Ryser E.T.: Inhibition of *Listeria monocytogenes* on hot dogs using antimicrobial whey protein - based edible casings. *J. Food Sci.*, 2003, **68** (1), 291-299.
- [10] Cagri A., Ustunol Z., Ryser E.T.: Antimicrobial, mechanical and moisture barrier properties of low pH whey protein- based edible films containing p-aminobenzoic or sorbic acid. *J. Food Sci.*, 2001, **66** (6), 865-870.
- [11] Cagri A., Ustunol Z., Ryser E.T.: Inhibition of three pathogens on bologna and summer sausage using antimicrobials edible films. *J. Food Sci.*, 2002, **67** (6), 2317-2324.
- [12] Cha D.S., Chen J., Park H.J., Chinnan M.S.: Inhibition of *Listeria monocytogenes* in tofu by use of polyethylene film coated with a cellulosic solution containing nisin; *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2003, **38**, 499-503.
- [13] Chen M.C., Yeh G.H.C., Chiang B.H.: Antimicrobial and physicochemical properties of methylcellulose and chitosan films containing a preservative. *J. Food Proc. Pres.*, 1996, **20**, 379-390.
- [14] Coma V., Sebti I., Pardon P., Deschamps A., Pichavant F.H.: Antimicrobial edible packaging based on cellulosic ethers fatty acids and nisin incorporation to inhibit *Listeria innocua* and *Staphylococcus aureus*. *J. Food Prot.* 2001, **64** (4), 470-475.

- [15] Conte A., Buonocore G.G., Sinigaglia M., Del Nobile M.A.: Development of immobilized lysozyme based active film. *J. Food Eng.*, 2007, **(78)**, 741-745.
- [16] Cutter C.N., Siragusa G.R.: Population reduction of gram negative pathogens following treatments with and chelators under various conditions. *J. Food Prot.*, 1995, **58 (9)**, 977-983.
- [17] Cutter C.N., Willet J.N., Siragusa G.R.: Improved antimicrobial activity of nisin-incorporated polymers films by formulation change and addition of grade chelator. *Let. Appl. Microbiol.*, 2001, **33**, 325-328.
- [18] Devlieghere F., Vermeir L., Bockstal A., Debevere J.: Study on antimicrobial activity of a food packaging material containing potassium sorbate. *Act. Alimen.* 2000, **29**, 137-146.
- [19] Dobias J., Chudackova K., Voldrich M., Marek M.: Properties of polyethylene films with incorporated benzoic anhydride and/or ethyl or propyl esters of 4-hydroxybenzoic acid and their suitability for food packaging. *Food Add. Contamin.* 2000, **17 (12)**, 1047-1053.
- [20] Fink J.K.: *Reactive Polymers Fundamentals and Applications*. Williams Andrew Publishing, Norwich, N.Y., USA, 2005.
- [21] Floros J.D., Dock L.L., Han J.H.: Active packaging technologies and applications. *Food Cosmet. Drug Packag.* 1997, **20 (1)**, 10-17.
- [22] Franklin N.B., Cooksey K.D., Getty K.J.K.: Inhibition of *Listeria monocytogenes* on the surface of individually packaged hot dogs with a packaging film coating containing nisin. *J. Food Prot.*, 2004, **67 (3)**, 480-485.
- [23] Gontard N.: Panorama des emballages alimentaire actif, in *Les emballages actifs*, coordonnatrice Gontard N., Editions TEC & DOC, Londres 2000.
- [24] Gosh K.G., Sriatsava A.N., Shmara T.R.: Development and application of fungastic wrappers in food preservation. *J. Food Sci. Technol.*, 1977, **14**, 261- 264.
- [25] Guerra N.P., Macías C.L., Agrasar A.T., Castro L.P.: Development of a bioactive packaging cellophane using Nisaplin® as biopreservative agent. *Lett. Appl. Microbiol.* 2005, **40**, 106-110.
- [26] Han J.H., Rooney M.L.: Active Food Packaging Workshop, Annual Conference of the Canadian Institute of Food Science and Technology (CIFSTA), May 26, 2002.
- [27] Han J.H.: Antimicrobial food packaging, in *Novel food packaging techniques* edited by R. Ahvenainen, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England, 2003.
- [28] Han J.H.: Antimicrobial food packaging. *Food Technology*, 2000, **54 (3)**, 56-65.
- [29] Hansen R., Rippl C., Midkiff D., Neuwirth J.: Antimicrobial absorbent pads. *Us Patent*, 1989, 4 865 855
- [30] Holzapfel W.H., Geisen R., Schillinger U.: Review paper. Biological preservation of foods with references to protective cultures, bacteriocins and food- grade enzymes. *Int. J. Food Microbiol.*, 1995, **24**, 343-362.
- [31] Hotchkiss J.H.: Recent research in MAP and active packaging system in Abstract, 27th Annual Convection Australian Institute of Food Science and Technology, Canberra 1995, p 104.
- [32] Kandemir N., Yemenicioğlu, Mecitoğlu C., Elmaci Z.S., Arslanğlu, Göksungur Y., Baysal T.: Production of antimicrobial films by incorporation of partially purified lysozyme into biodegradable films of crude exopolysaccharides obtained from *Aureobasidium pullulans* fermentation. *Food Technol Biotechnol*, 2005, **43 (4)**, 343-350.
- [33] Krejčová O., Svirková E., Dobias J., Plocková M.: Inhibition of lactic acid bacteria and *Bacillus* sp growth in cheese and meat product due to effect of polymer packaging film with incorporated nisin. *Czech J. Food Sci.*, 2004, **22** (special issue), 303-305.
- [34] Lee C.H., Park H.J., Lee D.S.: Influence of antimicrobial packaging on kinetics of spoilage microbial growth in milk and orange juice. *J. Food Eng.*, 2004, **65**, 527-531.

- [35] Lee C.H., An D.S., Lee S.C., Park H.J., Lee D.S.: A coating for use as an antimicrobial and anti-oxidative packaging material incorporating nisin and α tocopherol. *J. Food Eng.*, 2004, **62**, 323-329.
- [36] Limjaroen P., Ryser E., Lockhart H., Harte B.: inactivation of *Listeria monocytogenes* on beef bologna and cheddar cheese using polyvinylidene chloride films containing sorbic acid. *J. Food Sci.*, 2005, **70** (5), M267- M271.
- [37] López-Rubio A., Almenar E., Hernandez- Muñoz P., Lagarón J.M., Catalá Gavara R.: Overview of active polymer-based packaging technologies for food application. *Food Rev. Int.*, 2004, **20** (4), 357-387.
- [38] Matche R.S., Kulkarni G., Raj B.: Modification of ethylene acrylic acid film for antimicrobial activity. *J. Appl. Polym. Sci.*, 2006, **10** (4), 3063-3068.
- [39] Mecitoğlu C., Yemenicioğlu A., Arslanoğlu, Elmac Z.S., Korel F., Çetin A.E.: Incorporation of partially purified hen egg white lysozyme into zein films for antimicrobial food packaging. *Food Res. Int.*, 2006, **39**, 12-21.
- [40] Miltz X., Passy N., Mannheim C.H.: Trends and applications of active packaging systems. in *Food and packaging materials: chemical interactions*. Ed. Ackerman P., Jägerstad M., Ohlsson T., Cambridge: Royal Society of Chemistry, 1997, pp. 201-220.
- [41] Ming X., Weber G.H., Ayres J. W., Sandine W.E.: Bacteriocins applied to food packaging materials to inhibit *Listeria monocytogenes* on meat. *J. Food Sci.*, 1997, **62** (2), 413-415.
- [42] Monte A., Sinigaglia M., Del Nobile M.A.: Antimicrobial effectiveness of lysozyme immobilized on polyvinylalcohol – based film against *Alicyclobacillus acidoterrestis*. *J. Food Prot.*, 2006, **69** (4), 861-865.
- [43] Muriello G., Ercolini D., La Storia A., Casaburi A., Villani F.: Development of polythene films for food packaging activated with an antisterial bacteriocin from *Lactobacillus curvatus 32Y*. *J. Apl. Microbiol.*, 2004, **97**, 314-322.
- [44] Muriello P., De Luca E., La Storia A., Viliani F., Ercolini D.: Antimicrobial activity of a nisin-activated plastic film for food packaging. *Lett. Appl. Microbiol.*, 2005, **41**, 464-469.
- [45] Nielsen P.V., Rios R.: Inhibition of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs and the possible application in active packaging with special emphasis on mustard essential oil. *Int J. Food Microbiol.*, 2000, **60**, 219-229.
- [46] Ozdemir M., Floros J.D.: Active food packaging technologies. *Crit. Rev. Food Sc. Nutr.*, 2004, **44**, 185-193.
- [47] Quintavalla S., Vincini L.: Antimicrobial food packaging in meat industry. *Meat Sci.*, 2002, **62**, 373-380.
- [48] Padgett T., Han I.Y., Dawson P.L.: Incorporation of food grade antimicrobial compounds into biodegradable packaging films. *J. Food Prot.*, 1998, **61** (10), 1330-1335.
- [49] Park S.I., Deaschel M.A., Zhao Y.: Functional properties of antimicrobial lysozyme- chitosan composite film. *J. Food Sci.*, 2004, **69** (8), M215-M221.
- [50] Pronato Y., Rakshit S.K., Salokhe V.M.: Enhancing antimicrobial activity of chitosan films by incorporating garlic oils, potassium sorbate and nisin: *Lebensm- Wiss u.-Technol.*, 2005, **38**, 859-865.
- [51] Rooney M.: *Active Food Packaging*. Blackie Academic and Professional London, England, 1995.
- [52] Rudra J.A., Dave K., Haynie D.T. : Antimicrobial polypeptide multilayer nanocoating. *J. Biomater. Sci. Polymer End*, 2006, **17** (11), 1301-1315.
- [53] Scannell A.G.M., Hill C., Ross R.P., Marx S., Hartmieren W., Arendt E.K.: Development of bioactive food packaging materials using immobilized bacteriocins Lactacin 3147 and Nisaplin®. *Int. J. Food Microbiol.*, 2000, **60**, 241-249.
- [54] Schillinger U., Geisen R., Holzapfel W.H.: Potential of antagonistic microorganisms and bacteriocins for the biological preservation of foods. *Trends Food Sci. Technol.* 1996, **7**, 158-164.

- [55] Sebti I., Coma V.: Active edible polysaccharide coating and intereactions between solution coating compounds. *Carbohydr. Polym.* 2002, **49**, 139-144.
- [56] Seydim A.C., Sarikus G.: Antimicrobial of activity of whey proteins based edible films incorporated with oregano rosemary and garlic essential oils. *Food Res. Int.* 2006, **39**, 639-644.
- [57] Soares N.F.F., Rutishauser D.M., Melo N., Cruz R.S., Andrade N.J.: Inhibition of microbial growth in bread through active packaging. *Packag. Technol. Sci.*, 2002, **15**, 129-132.
- [58] Solomakos N, Govaris A.: Nisin and its food application. *Deltion tes Ellenikes- Kteniatrikes- Et- aireias, J. Vet. Med. Soc.*, 2005, **56 (2)**, 122-129.
- [59] Sonneveld K.: What driver (food) packaging innovation?. *Pack. Technol. Sci.* , 2000, **13 (1)**, 29-35.
- [60] Vartiainen J., Skytta E., Enqvist J., Ahvenainen R.: Properties of antimicrobial plastics, containing traditional food preservatives. *Packag. Technol. Sci.*, 2003, **16 (6)**, 223-229.
- [61] Vermeirein L., Devlieghere F., Dabereve J.: Effectiveness of some recent antimicrobial packaging concept. *Food Add. Contamin.* 2002, **19 Suppl.**, 163-171.
- [62] Vermeirein L., Devlieghere F., Dabereve J.: New preservation technologies: possibilities and limitation; *Int. Dairy J.*, 2004, **14**, 273- 285.
- [63] Vermeiren L., Devilghere F., van Beest M., de Kruijf N., Debevere J.: Development in active packaging of foods. *Trends Food Sci. Technol.*, 1999, **10**, 77-86.
- [64] Weng Y.M., Chen M.J, Chem W.M.: Benzoyl chloride modified ionomer films as antimicrobial food packaging materials. *Int. Food Sci. Technol.*, 1997, **32**, 229-234.
- [65] Weng Y.M., Chen M.J, Chem W.M.: Antimicrobial food packaging materials from poly ethylene-co-methaacrylic acid. *Lebensm- Wiss u.-Technol.*, 1998, **32 (4)**, 191-195.
- [66] Weng Y.M., Chen M.J.: Sorbic anhidryde as anitmycotic additive in polyethylene food packaging films. *J. Plastic Films Sh*, 1997, **13**, 287-298.
- [67] Zivanovic S., Chi S., Draughon A.F.: Antimicrobial activity of chitosan films enriched with essential oils. *J. Food Sci.*, 2005, **70 (1)**, M45-M51.

ANTIMICROBIAL FOOD PACKAGINGS

S u m m a r y

The increasing consumer demand for safety, healthy, minimally processed food and for its longer shelf- life forces the food industry to introduce, among other things, active packagings including antimicrobial food packagings. The major components of such packagings comprise: benzoic acid, sorbic acid, their salts, nisin, lysozyme, essential oils, and others. Those components, adequately incorporated into the matrices of packagings, protect against or reduce the development of many micro-organisms, such as: *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, or moulds: *Penicillium* and *Aspergillus niger*. The effectiveness of antimicrobial packagings depend on what antimicrobial components are selected for the packaging matrix, as well as on the kind of food product to be packed. Those issues constitute the subject of this paper.

Key words: antimicrobial packaging, antimicrobial components ☒

STANISŁAW KALISZ, IWONA ŚCIBISZ

WPLYW DODATKU EKSTRAKTÓW ROŚLINNYCH NA ZAWARTOŚĆ POLIFENOLI OGÓŁEM, ANTOCYJANÓW, WITAMINY C I POJEMNOŚĆ PRZECIWUTLENIAJĄCĄ NEKTARÓW Z CZARNEJ PORZECZKI

Streszczenie

Celem pracy było określenie zmian jakościowych nektarów z czarnej porzeczki przechowywanych przez 1, 2 i 4 miesiące w temp. 20 °C bez dostępu światła. Badaniom poddano 3 warianty nektarów: bez dodatków, wzbogacane ekstraktem z jeżówki purpurowej i wzbogacane ekstraktem z zielonej herbaty. W nektarach oznaczono zawartość polifenoli ogółem, antocyjanów, witaminy C oraz pojemność przeciwutleniającą.

Bezpośrednio po wytworzeniu nektary: bez dodatków oraz wzbogacane ekstraktem z jeżówki purpurowej i ekstraktem z zielonej herbaty wykazywały aktywność przeciwutleniającą na poziomie, odpowiednio, 9,3 μmoli Troloxu/ml, 11,8 μmoli Troloxu/ml i 16,3 μmoli Troloxu/ml. Z kolei zawartość antocyjanów wynosiła odpowiednio 89,7 oraz 100,2 i 105,2 mg/100 ml, a polifenoli 96,3 oraz 110,1 i 124,2 mg/100 ml.

W trakcie 4-miesięcznego przechowywania stwierdzono zmniejszenie zawartości polifenoli ogółem, antocyjanów i witaminy C, co spowodowało obniżenie pojemności przeciwutleniającej. Po 4 miesiącach przechowywania nektary zawierały 70 % mniej antocyjanów niż próbki wyjściowe.

Słowa kluczowe: nektary, czarna porzeczka, polifenole, antocyjany, aktywność przeciwutleniająca

Wprowadzenie

Z uwagi na sezonowość występowania surowców, w przemyśle owocowo-warzywnym istnieje konieczność szybkiego ich zagospodarowania, a wyroby gotowe w dużej mierze powstają z półproduktów. W strukturze produkcji branży owocowo-warzywniej blisko dwie trzecie stanowią soki pitne, nektary i napoje. Łączne ich spożycie od połowy lat 90. XX w. wykazuje tendencję wzrostową, jednak w ostatnich latach

odnotowano niewielki spadek zainteresowania sokami na rzecz nektarów i napojów [7, 13].

Przy tej zmianie tendencji szczególnie korzystne jest wzmocnienie pozycji nektarów w stosunku do napojów. Nektary bowiem są znacznie cenniejsze dla organizmu człowieka niż napoje zarówno ze względów żywieniowych, jak i zdrowotnych, ponieważ użyta do ich produkcji minimalna zawartość soku lub przecieru, w zależności od rodzaju owoców, kształtuje się na poziomie od 25 do 50 %, podczas gdy w napojach jest ona praktycznie nieokreślona. Mniejszy udział składnika owocowego w nektarach w stosunku do soków przekłada się na cenę i czyni ten produkt atrakcyjniejszym dla konsumentów. Dzięki nektarom rozpowszechnione zostaje także spożycie takich owoców, które z uwagi na wysoką kwasowość nie nadają się do bezpośredniego spożycia i w formie soków byłyby nie akceptowane przez konsumentów. Przykładem takiego surowca jest np. czarna porzeczka [9].

Stosunkowo duża zawartość antocyjanów, polifenoli, witaminy C i innych substancji biologicznie aktywnych powoduje, że surowiec ten, i otrzymane z niego przetwory, są cenione jako produkty o cechach prozdrowotnych. Z uwagi na walory żywieniowe i zdrowotne czarnej porzeczki ponad dwie trzecie polskich zbiorów eksportuje się. Niestety podczas przetwarzania, produkcji i przechowywania dochodzi do strat wielu cennych składników. Dlatego też, aby ograniczyć negatywne zmiany, a jednocześnie uczynić produkt atrakcyjnym dla konsumenta, podejmowane są badania nad możliwością wzbogacania tej grupy żywności. Wprowadzanie odpowiednio dobranych substancji dodatkowych wzmacnia pozytywny efekt synergistyczny w zakresie wzrostu aktywności antyoksydacyjnej. Uzyskane w ten sposób produkty cieszą się też większą akceptacją konsumentką [1, 4, 5, 6, 8, 14].

Celem podjętych badań było określenie wpływu wzbogacania nektarów z czarnej porzeczki ekstraktami z zielonej herbaty i jeżówki purpurowej na zawartość wybranych składników biologicznie aktywnych. Zakres pracy obejmował ocenę zmian wybranych wyróżników jakościowych podczas przechowywania nektarów przez cztery miesiące w temp. 20 ± 2 °C.

Material i metody badań

Material do badań stanowiły nektary z czarnej porzeczki otrzymane w wariantach bez dodatków i wzbogacane ekstraktami z zielonej herbaty (*Camelia sinensis*) i jeżówki purpurowej (*Echinacea purpura*) (firmy Wild). W warunkach laboratoryjnych wyprodukowano nektary o ekstrakcie 10 % oraz udziale składnika owocowego (soku) 25 %. Celem uzyskania soku owoce poddawano maceracji w temp. 50 °C z dodatkiem enzymu Pektopol PT-400 (Pektowin Jasło) w dawce 400 mg/kg przez 2 h. Po zakończonej obróbce enzymatycznej miazgę tłoczono w laboratoryjnej prasie warstwowej, a uzyskany sok depektynizowano preparatem Pektopol PT-400 w dawce 400 mg/l,

wykonując co 30 min próbę alkoholową na obecność pektyn, do całkowitego rozkładu tych związków. Po rozłożeniu związków pektynowych enzymy inaktywowano, podgrzewając sok do temp. 85 °C, a następnie chłodzono do 20 °C. Kolejno sok oczyszczano przy użyciu filtru płytowego pod ciśnieniem azotu, stosując płytę filtracyjną K5. Na płytę filtracyjną naniesiono perlit, a do soku dodano ziemi okrzemkowej Becogur 3500. Z tak otrzymanego soku kupażowano nektary, a przy otrzymywaniu próbek w wariantach wzbogacanych dodawano ekstrakty w ilościach zalecanych przez producenta (ekstrakt z zielonej herbaty 1 cm³ : 1 dm³, ekstrakt z jeżówki purpurowej 3 cm³ : 1 dm³). Przygotowane nektary rozlewano do słoików o pojemności 80 ml, poddawano obróbce termicznej przez 15 min w temp. 85 °C, a następnie chłodzono do 20°C. Otrzymany produkt przechowywano przez 4 miesiące w temp. 20 ± 2 °C, bez dostępu światła.

Próbki do badań, po 3 opakowania z każdego wariantu doświadczenia, pobierano bezpośrednio po produkcji oraz po 1, 2 i 4 miesiącach przechowywania. Oznaczano w nich zawartość polifenoli ogółem, w tym antocyjanów oraz indeks ich degradacji i półokres rozpadu. Określano także pojemność przeciwutleniającą.

Zawartość polifenoli ogółem oznaczano metodą Gao [2], wyrażając wynik w przeliczeniu na kwas galusowy. Zawartość antocyjanów i witaminy C oznaczano metodą HPLC z użyciem zestawu firmy Shimadzu, z detektorem UV-VIS SPD-10A VP wyposażonym odpowiednio w kolumny Luna 5 µm C18(2) 250 x 4,6 mm (Phenomenex) i Onyx Monolithic C18, 100 x 4,6 (Phenomenex). Próbki nektarów oczyszczano w minikolumnach Sep-Pak C18 firmy Waters, z użyciem systemu Baker SPE 12G oraz na filtrach strzykawkowych Millex-LCR 0,45 µm. Rozdział antocyjanów prowadzono metodą izokratyczną przy przepływie 1 ml/min, w temp. 25 °C, przy λ = 520 nm. Jako fazę ruchomą używano mieszaninę woda : acetonitryl : kwas mrówkowy 830:70:100; v/v/v. Wyniki analizy zawartości antocyjanów podano w przeliczeniu na cyjanidyno-3-glukozyd. Na podstawie zawartości antocyjanów, uwzględniając szybkość reakcji I rzędu i analizę regresji, wyliczano półokres ich rozpadu. Zawartość witaminy C oznaczano metodą HPLC w tych samych warunkach detekcji przy λ = 254 nm, a jako eluent stosowano 0,1 % H₃PO₄.

Pojemność przeciwutleniającą oznaczano metodą Yena oraz Chena, wobec rodników 2,2 difenyl-1-pikrylhydrazylowych (DPPH), wyrażając wynik w przeliczeniu na rozpuszczalny w wodzie analog witaminy E – trolox [16].

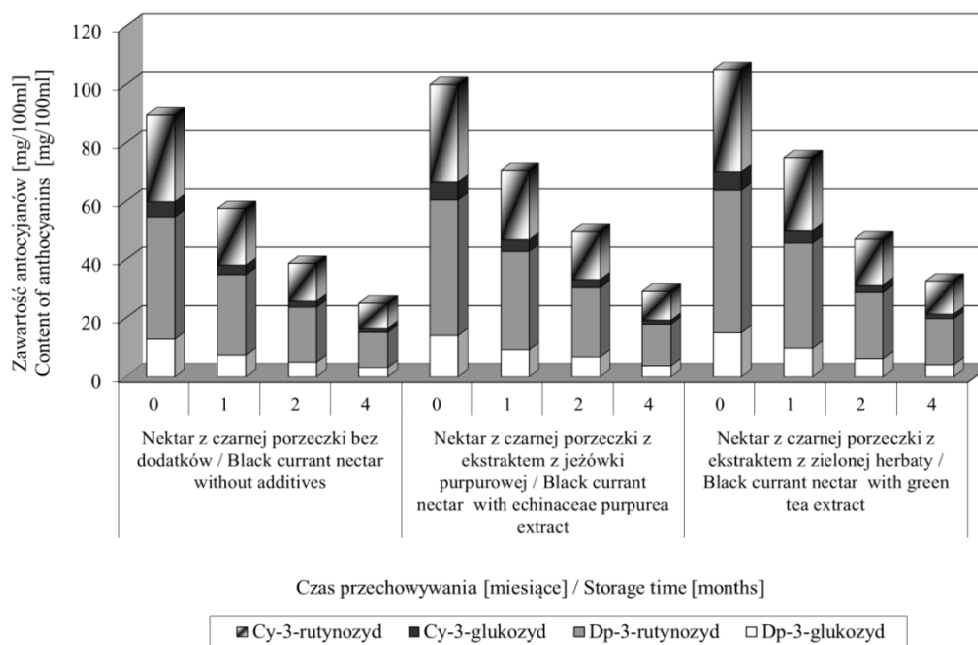
Analizę statystyczną wyników przeprowadzono w programie Statgraphics Plus 5.1, stosując dwuczynnikową analizę wariancji na poziomie istotności α = 0,05.

Wyniki i dyskusja

Nektary wyprodukowano w wariantach bez dodatków oraz wzbogacane ekstraktami z jeżówki purpurowej i zielonej herbaty. Udział składnika owocowego przyjęto na

minimalnym poziomie 25 %, określonym w rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi w sprawie szczegółowych wymagań w zakresie jakości handlowej soków i nektarów owocowych [9]. Jako podstawowy wyróżnik jakościowy decydujący o barwie, jak i determinujący walory żywieniowe i zdrowotne, przyjęto zawartość barwników antocyjanowych.

Bezpośrednio po produkcji nektar kontrolny bez dodatków zawierał barwniki antocyjanowe w ilości 89,7 mg/100ml. W nektarach wzbogacanych ekstraktami z jeżówki purpurowej i zielonej herbaty początkowa zawartość antocyjanów wynosiła odpowiednio 100,2 oraz 105,2 mg/100 ml (rys. 1).



Rys. 1. Zmiany zawartości antocyjanów w nektarach z czarnych porzeczek w trakcie przechowywania.
Fig. 1. Changes of anthocyanins contents in black currant nectars during storage.

Większa zawartość badanych związków w produktach wzbogacanych wynikała przepuszczalnie z ochronnego działania dodanych preparatów na barwniki antocyjanowe, na etapie obróbki termicznej. Analogiczny efekt obserwowano również podczas doświadczeń dotyczących napojów z czarnej porzeczki. Analiza dodawanych ekstraktów wykazała bowiem, że nie wnoszą one antocyjanów. Szczegółowe badania nad ochronnym działaniem dodatków stanowią przedmiot odrębnych badań, które są jeszcze w trakcie realizacji.

Wyjściowa analiza jakościowa składu antocyjanowego wykazała, że 14 % stanowił delfinidyno-3-glukozyd, 47 % delfinidyno-3-rutynozyd, 6 % cyjanidyno-3-glukozyd, a 33 % cyjanidyno-3-rutynozyd. Poszczególne antocyjany wykazują zróżnicowaną stabilność, a w badaniach klinicznych potwierdzono różny stopień ich absorpcji przez organizm ludzki [5].

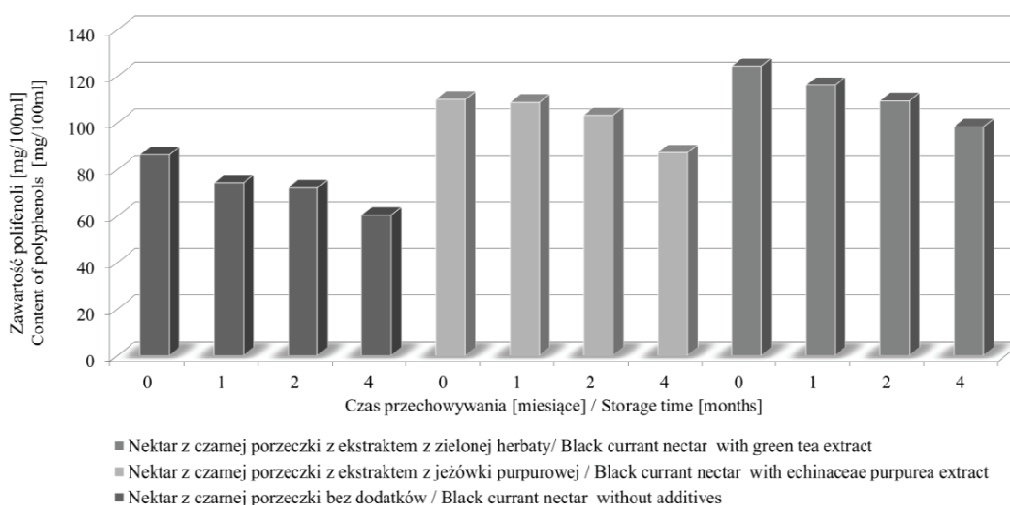
Podczas przechowywania nektarów, bez dostępu światła w temp. 20 ± 2 °C w każdym z badanych okresów, odnotowano statystycznie istotny spadek zawartości antocyjanów. Największą dynamikę negatywnych zmian odnotowano po 1 miesiącu składowania. Po 4-miesięcznym przechowywaniu pozostało od 28 % (próbka kontrolna) do 31 % (próbka z dodatkiem ekstraktu z herbaty) początkowej ilości antocyjanów. Ograniczenie degradacji antocyjanów w produktach uzyskanych na bazie czarnej porzeczki jest trudne, a tempo negatywnych zmian wzrasta w miarę przechowywania i jest uzależnione od udziału składnika owocowego [5, 10]. Analiza jakościowa składu antocyjanowego w nektarach przechowywanych przez 4 miesiące wykazała nieznaczną zmianę proporcji pomiędzy poszczególnymi monomerami i tak delfinidyno-3-glukozyd stanowił 12 %, delfinidyno-3-rutynozyd 49 %, cyjanidyno-3-glukozyd 5 %, a cyjanidyno-3-rutynozyd 34 %.

Statystyczna obróbka wyników wykazała, że próbki nektarów bez dodatków stanowiły odrębną grupę jednorodną. Produkty wytworzone w wariacie z dodatkiem badanych ekstraktów roślinnych tworzyły grupę homogenną i w stosunku do nektarów kontrolnych charakteryzowały się istotnie większą zawartością antocyjanów (p -Value = 0,0025). Jednocześnie należy podkreślić, że nie odnotowano wpływu ekstraktów na tempo zmian degradacyjnych w czasie, a jedynie efekt ochronny w początkowej fazie produkcji, co jest przedmiotem obecnie prowadzonych prac doświadczalnych. Brak wpływu dodawanych ekstraktów na zawartość antocyjanów w badanych nektarach potwierdza również półokres rozpadu antocyjanów, który wynosił od 72 do 79 dni.

Możliwość lepszego zachowania antocyjanów w produkcji jest istotna zarówno ze względu na fakt, iż kształtują one barwę produktu, jak również wykazują wysoką aktywność biologiczną, w tym zdolność przeciwutleniającą. Niestety biologiczna dostępność antocyjanów dla organizmu ludzkiego jest ograniczona. Bardzo ważne jest więc zmniejszenie zmian degradacyjnych, które mają miejsce zarówno na etapie produkcji, jak i przechowywania produktu finalnego [5].

Oprócz zawartości antocyjanów w badanych nektarach określono także ilość związków polifenolowych ogółem. Ich zawartość była stosunkowo mała, co wiąże się m.in. ze stratami na etapie produkcji, a przede wszystkim podczas otrzymywania soku, który był komponentem nektarów. Proces depektynizacji i filtrowania soku przebiegał bardzo powoli, przez kilka godzin, co sprzyjało utlenianiu związków polifenolowych. Warunki prowadzenia procesu mogą bowiem w znacznym stopniu determinować zawartość poszczególnych składników [3, 12, 14]. Nektary z czarnej porzeczki bez do-

datków bezpośrednio po produkcji zawierały 96,3 mg/100 ml polifenoli (rys 2). Zastosowanie substancji wzbogacających spowodowało statystycznie istotny wzrost zawartości polifenoli do poziomu 110,1 mg/100 ml w nektarach z dodatkiem ekstraktu z jeżówki purpurowej i 124,2 mg/100 ml w nektarach z dodatkiem ekstraktu z zielonej herbaty. Pod względem zawartości polifenoli poszczególne rodzaje nektarów stanowiły odrębne grupy statystyczne. Ilość polifenoli pochodzących z herbaty jest zależna od kraju jej pochodzenia oraz sposobu ekstrakcji i może być znacznie zróżnicowana [15].



Rys. 2. Zmiany zawartości polifenoli ogółem w nektarach z czarnych porzeczek w trakcie przechowywania.

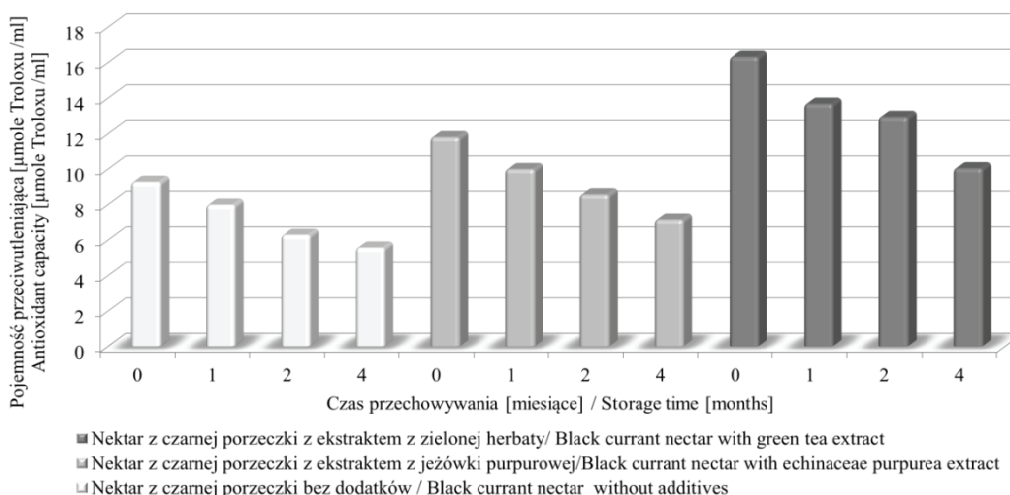
Fig. 2. Changes in the contents of polyphenols in black currant nectars during their storage.

Przechowywanie nektarów w temp. 20 ± 2 °C spowodowało zmniejszenie zawartości badanych związków. Po 4 miesiącach w nektarze kontrolnym pozostało 63 % początkowej zawartości polifenoli (60,3 mg/100 ml), zaś w nektarach wzbogaconych 79 % (87,2 mg/100 ml – wariant z ekstraktem z jeżówki purpurowej i 98,3 mg/100 ml – wariant z ekstraktem z zielonej herbaty). Analiza statystyczna potwierdziła występowanie różnic w zawartości polifenoli w poszczególnych okresach składowania (p -value = 0,0013). Jednak w tym zakresie odrębną grupę homogeną stanowiły próbki po 4 miesiącach przechowywania. Natomiast próbki po produkcji i 1 miesiącu przechowywania oraz po 1 i 2 miesiącach stanowiły dwie kolejne grupy jednorodne.

Zachowanie dużej zawartości związków polifenolowych w produkcie jest istotne zarówno ze względów żywieniowych, jak i zdrowotnych. W przypadku czarnej porzeczki i uzyskanych z niej produktów związku polifenolowe wraz z witaminą C kształ-

tują aktywność przeciwutleniającą. Zależnie od rodzaju owoców udział polifenoli w kształtowaniu potencjału antyoksydacyjnego jest różny [3, 4, 11].

Z uwagi na zawartość w składzie chemicznym substancji wykazujących zdolność wygaszania wolnych rodników DPPH wyznaczono także pojemność przeciwutleniającą. Wszystkie trzy warianty uzyskanych napojów istotnie różniły się między sobą pod względem badanej cechy. Po wyprodukowaniu najniższą aktywność wykazywał nektar nie wzbogacany 9,3 $\mu\text{moli Troloxu/ml}$ (rys. 3). Pojemność przeciwutleniająca nektarów wzbogacanych ekstraktami z jeżówki purpurowej i zielonej herbaty wynosiła odpowiednio 11,8 i 16,3 $\mu\text{moli Troloxu/ml}$. Wzrost zdolności przeciwutleniającej można tłumaczyć przede wszystkim większą zawartością poszczególnych substancji biologicznie aktywnych takich, jak polifenole, antocyjany i witamina C. Szczególnie zielona herbata jest znanym i cenionym źródłem substancji biologicznie aktywnych, zwłaszcza przeciwutleniaczy. Aktywność przeciwutleniająca zielonej herbaty jest przykładowo dwukrotnie wyższa od aktywności soku grejpfrutowego, ale jednocześnie dwukrotnie niższa od czerwonego wina [15].



Rys. 3. Zmiany pojemności przeciwutleniającej w nektarach z czarnych porzeczek w trakcie przechowywania.

Fig. 3. Changes in the antioxidant capacity in black current nectars during their storage.

W wyniku 4-miesięcznego przechowywania w temp. 20 ± 2 °C we wszystkich badanych nektarach nastąpiło obniżenie pojemności antyoksydacyjnej do 60 % wartości wyjściowej, odpowiednio 5,6; 7,1 i 10,0 $\mu\text{moli Troloxu/ml}$. Obniżenie potencjału antyoksydacyjnego było konsekwencją spadku zawartości substancji biologicznie ak-

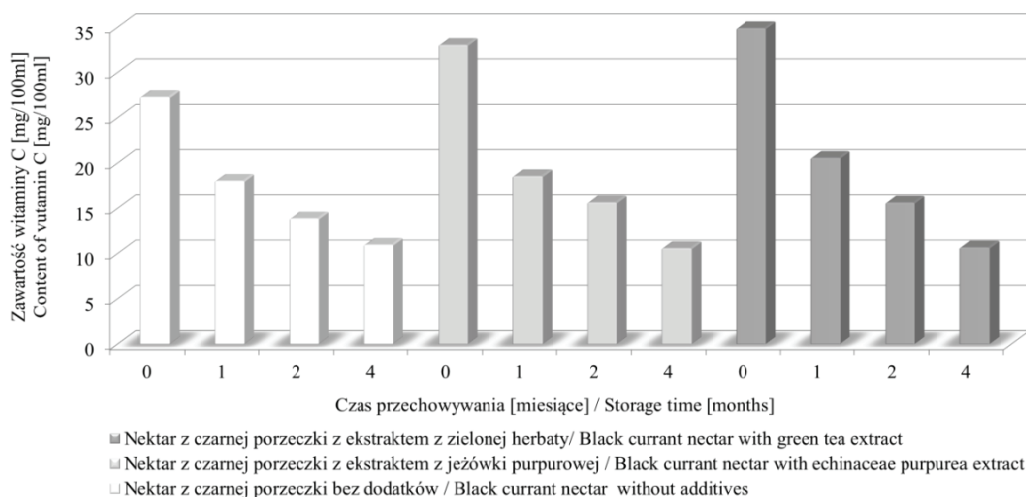
tywnych. W wyniku przeprowadzonej analizy statystycznej wpływu czasu przechowywania na zdolność wygaszania wolnych rodników wykazano istotne różnice na początku i końcu okresu przechowalniczego. Nie stwierdzono różnic statystycznych aktywności przeciwutleniającej pomiędzy próbkami przechowywanymi przez 2 i 3 miesiące, a próbki te stanowiły grupę jednorodną.

Wzrost aktywności przeciwutleniającej produktów z czarnej porzeczki, poprzez ich wzbogacanie na drodze wprowadzania substancji dodatkowych, był m.in. przedmiotem badań Graversena i wsp. [4]. Badacze ci wykazali wzrost pojemności przeciwutleniającej na skutek interakcji pomiędzy składnikami soku i dodawanym α -tokoferolem. Należy podkreślić, że pozytywny efekt synergistyczny wykazywano już wielokrotnie i udowodniono wyższą aktywność substancji w naturalnych układach biologicznych w porównaniu z czystymi formami danych związków. Szczególnie wysoką aktywność przeciwutleniającą przypisuje się zawartym w ciemnych owocach polifenolom i witaminie C, dlatego też czarna porzeczka uznawana jest za surowiec o wysokim potencjale przeciwutleniającym [3, 4, 8].

Uwzględniając fakt, że właściwości antyoksydacyjne są sumą aktywności poszczególnych związków oznaczono także zawartość witaminy C. Wyjściowa zawartość tego składnika była stosunkowo mała i wahała się od 27,3 mg/100 ml w próbkach kontrolnych do 33,0 mg/100 ml w nektarach z dodatkiem ekstraktu z jeżówki purpurowej oraz 34,9 mg/100 ml w próbkach wzbogaconych ekstraktem z zielonej herbaty (rys. 4). Jednocześnie wykazano, że rodzaj zastosowanego dodatku nie miał statystycznie istotnego wpływu na zawartość badanego składnika.

Jak już wspomniano przy omówieniu polifenoli, przyczyną mniejszej zawartości początkowej składników biologicznie aktywnych, w tym witaminy C, w dużym stopniu są zmiany degradacyjne, które miały miejsce na etapie przygotowywania soku. Witamina C należy bowiem do związków labilnych. Szybkość jej utleniania zależy od temperatury, obecności tlenu i innych składników żywności. Czynnikiem stabilizującym witaminę C może być obniżenie temperatury składowania oraz obecność związków polifenolowych [3, 8].

Proces przechowywania pogłębił degradację witaminy C, tak że w badanym produkcie po 4 miesiącach przechowywania witamina C pozostała odpowiednio w ilości 11,0 mg/100 ml (wariant bez dodatków), 10,6 mg/100 ml (wariant z jeżówką purpurową) i 10,7 mg/100 ml (wariant z zieloną herbatą). Rodzaj zastosowanego dodatku nie spowodował statystycznie istotnych różnic w zawartości witaminy C. Jednocześnie analizując zmiany badanego składnika w czasie wykazano, że próbki po produkcji istotnie różniły się od próbek w kolejnych okresach przechowywania, tworząc odrębną grupę homogeną. Natomiast próbki po 1 i 2 miesiącach oraz po 2 i 4 miesiącach przechowywania stanowiły dwie kolejne grupy jednorodne.



Rys. 4. Zmiany zawartości witaminy C w nektarach z czarnych porzeczek w trakcie przechowywania.

Fig. 4. Changes in the contents of vitamin C in black current nectars during their storage.

Możliwość zachowania witaminy C występującej w produkcie jest istotna zarówno ze względów żywieniowych, jak i zdrowotnych. Przy zapewnieniu odpowiedniego jej stężenia w produkcie możliwe jest również ograniczenie utleniania innych składników. Straty witaminy C w trakcie przechowywania zależą m.in. od warunków w jakich ten proces przebiega, jak i od rodzaju produktu [4, 8].

Wnioski

1. Dodatek ekstraktów roślinnych korzystnie wpłynął na zachowanie substancji bioaktywnych w badanych nektarach z czarnej porzeczki.
2. Nektary wzbogacone ekstraktami z jeżówki purpurowej i zielonej herbaty zawierały odpowiednio 12 i 17 % więcej antocyjanów w stosunku do próbek kontrolnych. Aktywność przeciwutleniająca nektarów z dodatkami wzrosła odpowiednio o 27 i 76 %.
3. W trakcie 4-miesięcznego przechowywania stwierdzono statystycznie istotne zmniejszenie zawartości polifenoli ogółem, antocyjanów i witaminy C, co spowodowało obniżenie pojemności przeciwutleniającej.
4. Po 4 miesiącach przechowywania nektary zawierały 70 % mniej antocyjanów niż próbki wyjściowe oraz wykazywały o 40 % mniejszą aktywność przeciwutleniającą.
5. Ekstrakty z jeżówki purpurowej i zielonej herbaty ograniczają tempo zmian degradacyjnych antocyjanów na etapie wytwarzania nektarów z czarnej porzeczki.

Pracę zrealizowano w ramach projektu badawczego MNiSzW Nr N N312 2191 33

Literatura

- [1] Borowska J., Szajdek A.: Składniki dietetyczne i substancje bioaktywne w owocach aronii, borówki czernicy i porzeczki czarnej. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2005, Supl., 181-184.
- [2] Gao X., Ohlander M., Jeppsson N., BjörTrajkovski V.: Changes in antioxidant effects and their relationship to phytonutrients in fruits of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides L.*) during maturation. *J. Agr. Food Chem.*, 2000, **48**, 1485-1490.
- [3] Grajek W. (pod red.): Przeciwtleniacze w żywności. Aspekty zdrowotne, technologiczne, molekularne i analityczne. WNT, Warszawa 2007.
- [4] Graversen H., Becker E., Skibsted L., Andersen M.: Antioxidant synergism between fruit juice and *α*-tocopherol. A comparison between high phenolic black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) and high ascorbic blackcurrant (*Ribes nigrum*). *Eur. Food Res. Technol.*, 2008, **226**, 737-743.
- [5] Hollands W., Brett G., Radreau P., Saha S., Teucher B., Bennett R., Kroon P.: Processing blackcurrants dramatically reduces the content and does not enhance the urinary yield of anthocyanins in human subjects. *Food Chem.* 2008, **108**, 869-878.
- [6] Luckow T., Delahunty.: Which juice is healthier? A consumer study of probiotic non-dairy juice drinks. *Food Qual. Pref.* 2004, **15**, 751-759.
- [7] Nosecka B., Mierwiński J., Smoleński T., Stępka G., Strojewska I., Szczepaniak I., Świątlik J.: Rynek owoców i warzyw. Stan i perspektywy. IERiGŻ, Warszawa 2009, **35**, 5-21.
- [8] Piljac-Žegarac J, Valek L, Martinez S., Belščak A.: Fluctuations in the phenolic content and antioxidant capacity of dark fruit juices in refrigerated storage. *Food Chem.*, 2009, **113**, 394-400.
- [9] Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 30 września 2003 w sprawie szczególnych wymagań w zakresie jakości handlowej soków i nektarów owocowych. *Dz. U.* 2003 r. Nr 177, poz. 1735 z późniejszymi zmianami (*Dz. U.* 2004 r. Nr 282, poz. 2810).
- [10] Stewart D., Deighton N., Davies H. V.: Antioxidants in soft fruit. <http://www.scri.sari.ac.uk/Document/AnnReps/01Indiv/15Antiox.pdf>. *Plant Biochem. Cell Biol.*, 94-98.
- [11] Sokół-Łętowska A., Kucharska A.: Zmiany barwy, zawartości polifenoli i właściwości przeciwradnikowych soku z czarnej porzeczki podczas przechowywania. *Przem. Ferm. Owoc.-Warz.* 2001, **1**, 24-26.
- [12] Szajdek A., Dąbrowska E, Borowska E.: Wpływ obróbki enzymatycznej miazgi owoców jagodowych na zawartość polifenoli i aktywność przeciwtleniającą soku. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **4 (49)**, 59-67.
- [13] Urban R.: Rynek i produkcja napojów w Polsce – tendencje i zagrożenia. *Przem. Ferm. Owoc.-Warz.*, 2009, **4**, 6-8.
- [14] 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.
- [15] Wołosiak R., Mazurkiewicz M., Drużyńska B., Worobiej E.: Aktywność przeciwtleniającą wybranych herbat zielonych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **4 (59)**, 290-297.
- [16] Yen G-C, Chen H-Y: Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *J. Agric. Food Chem.*, 1995, **43**, 27-32.

**EFFECT OF PLANT EXTRACT ADDITIVES ON THE CONTENT OF TOTAL
POLYPHENOLS, ANTHOCYANINS, L-ASCORBIC ACID, AND ANTIOXIDANT CAPACITY
OF BLACK CURRANT NECTARS**

S u m m a r y

The objective of the study was to determine the qualitative changes in black current nectars stored at 20 °C during a period of 1, 2, and 4 months with no access to light. Three variants of nectars were analysed: nectars without the additives, nectars enriched in an *echinacea purpurea* extract, and nectars enriched in a green tea extract. In the nectars analysed, the following contents were determined: total polyphenols, anthocyanins, L-ascorbic acid, and, also the antioxidant activity was determined.

Immediately after the production, the nectars without the additives, as well as those enriched in the *echinacea* extract and in the green tea extract were characterized by the following antioxidant activity levels: 9.3 µmol Troloxu/ml, 11.8 µmol Troloxu/ml, and 16.3 µmol Troloxu/ml, respectively. In the same nectars, the content of anthocyanins was 89.7, 100.2, and 105.2 mg/100 ml, respectively, whereas the content of polyphenols was 96.3, 110.1, and 124.2 mg/100 ml, respectively.

It was found that during the 4 months of storage the content of total polyphenols, anthocyanins, and vitamin C decreased in all nectars, and this decrease caused the antioxidant activity to fall. After the 4 month storage, the content of anthocyanins in the nectars was 70% lower compared to the initial samples.

Key words: nectars, black currant, polyphenols, anthocyanins, antioxidant activity ☒

IWONA ŚCIBISZ, STANISŁAW KALISZ, MARTA MITEK

TERMICZNA DEGRADACJA ANTOCYJANÓW OWOCÓW BORÓWKI WYSOKIEJ

Streszczenie

W pracy oceniono termiczną stabilność antocyjanów zawartych w ekstraktach otrzymanych z owoców borówki wysokiej poprzez ich ogrzewanie w temperaturze 95 °C przez 3 h. W próbkach oznaczono ogólną zawartość antocyjanów, udział barwy polimerycznej oraz określono barwę badanych ekstraktów. Metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej połączonej ze spektrometrią masową (HPLC/ESI-MS) zidentyfikowano i oznaczono zawartość poszczególnych antocyjanów. Proces obróbki termicznej powodował spadek zawartości antocyjanów ogółem w ekstraktach. Proces rozpadu antocyjanów przebiegał zgodnie z kinetyką reakcji pierwszego rzędu. Wykazano istotną korelację między zawartością antocyjanów a wartością L^* w badanych ekstraktach co sugeruje, że parametr ten jest odpowiedni do szybkiego monitorowania zmian antocyjanów w produktach poddanych obróbce termicznej. W pracy wykazano także różną termostabilność poszczególnych monomerów antocyjanów. Galaktozydy i glukozydy były bardziej odporne na ogrzewanie w porównaniu z barwnikami, w skład których wchodziła arabinoza.

Słowa kluczowe: antocyjany, borówka wysoka, obróbka termiczna

Wprowadzenie

Antocyjany są związkami kształtującymi najbardziej zauważalną przez konsumentów cechę sensoryczną jaką jest barwa, a także decydują o właściwościach prozdrowotnych przetworów, m.in. otrzymanych z owoców borówki wysokiej [21]. Owoce te charakteryzują się bardzo bogatym składem antocyjanowym, co wyróżnia je spośród innych owoców jagodowych.

Wysoka temperatura jest jednym z najistotniejszych czynników przyspieszających degradację związków antocyjanowych. W przetwórstwie owoców borówki wysokiej wiele operacji technologicznych związanych jest z działaniem wysokiej temperatury. Do najważniejszych z nich należy: cieplna metoda utrwalania otrzymanych przetworów, gotowanie produktów z dodatkiem cukru (dżemy, wsady jogurtowe, nadzienia

Dr inż. I. Ścibisz, dr inż. S. Kalisz, dr hab. M. Mitek, prof. SGGW, Katedra Technologii Żywności, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa

cukiernicze), obróbka termiczna miazgi (produkcja soków), zagęszczanie soków oraz suszenie, często poprzedzone procesem blanszowania.

Mechanizm degradacji antocyjanów pod wpływem ciepła jest jeszcze mało poznany. Badania naukowe prowadzone w latach 80. XX w. sugerują, że w pierwszym etapie następuje hydroliza wiązań glikozydowych w cząsteczce barwnika i utworzenie niestabilnego aglikonu. Podwyższona temperatura powoduje również przemiany antocyjanów w bezbarwne chalkony, które ulegają utlenieniu, tworząc brunatne związki i barwniki o wysokiej masie cząsteczkowej [11, 17]. Według najnowszych badań ogrzewanie cyjanidyno-3-glukozydu w środowisku o pH 1 w pierwszym etapie powoduje odłączenie się glukozy od cząsteczki antocyjanu, a następnie rozpad cyjanidyny do kwasu 4-hydroksybenzosowego oraz aldehydu floroglucyny [18].

Degradacja antocyjanów podczas obróbki termicznej uzależniona jest od temperatury i czasu prowadzenia procesu. Stwierdzono logarytmiczną zależność między destrukcją antocyjanów a czasem ogrzewania w stałej temperaturze. Podobnie obserwowano logarytmiczny wzrost tempa degradacji antocyjanów przy arytmetycznym wzroście temperatury [14]. Straty antocyjanów wynikające z działania wysokiej temperatury zależą także od innych czynników, takich jak: pH, budowa chemiczna antocyjanów oraz ich stężenie, obecność w środowisku tlenu, białek, metali, innych związków polifenolowych, cukrów oraz produktów ich degradacji [15].

Badania dowodzą, że budowa cząsteczki antocyjanów może mieć istotny wpływ na ich stabilność podczas ogrzewania. Większy stopień glikozydacji antocyjanów, a także acylacja kwasami fenolowymi lub organicznymi wpływa na poprawę odporności na działanie wysokiej temperatury [16].

Jak dotychczas, nie prowadzono badań określających stabilność poszczególnych antocyjanów borówki wysokiej podczas procesu ogrzewania. Problem ten wydaje się bardzo interesujący z powodu różnorodności związków antocyjanowych zawartych w borówkach. Daje to możliwość porównania termostabilności poszczególnych związków antocyjanowych w zależności od rodzaju aglikonu i podstawnika cukrowego.

Celem pracy było określenie wpływu obróbki termicznej na straty antocyjanów wyizolowanych z owoców borówki wysokiej. Dodatkowo porównano stabilność poszczególnych barwników antocyjanowych, a także określono w jaki sposób obróbka termiczna wpływa na barwę ekstraktów z owoców borówki wysokiej. Badania przeprowadzono w układzie modelowym, co pozwoliło stworzyć stałe warunki doświadczenia oraz ograniczyć wpływ zmiennych czynników.

Material i metody badań

Przedmiotem badań były owoce borówki wysokiej (*Vaccinium corymbosum* L.) odmiany Sierra pochodzące z gospodarstwa sadowniczego w Piskórcie koło Prażmowa, oddalonego 15 km od Warszawy. Zbioru dokonano 15 sierpnia 2008 r. Zebrane owoce

były całkowicie wybarwione, nie wykazywały oznak zepsucia oraz uszkodzeń mechanicznych. Owoce zamrożono w temp. $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ i przechowywano w tych warunkach do czasu wykonania eksperymentu tj. nie dłużej niż 2 miesiące.

Antocyjany ze skórek owoców ekstrahowano mieszaniną aceton/metanol/woda, zakwaszoną 0,1% HCl. Po odparowaniu acetonu i metanolu w wyparce próżniowej (temp. $40\text{ }^{\circ}\text{C}$), wodny ekstrakt poddawano pasteryzacji ($85\text{ }^{\circ}\text{C}$, 3 min), celem inaktywacji oksydazy katecholowej owoców. Następnie otrzymany wyciąg наносono na kolumnę z wypełnieniem Amberlite. Cukry, kwasy organiczne i pozostałe substancje nieabsorbujące się na złożu wypłukiwano wodą, natomiast pozostałość wmywano 80 % metanolem zakwaszonym 0,1 % HCl. Po odparowaniu metanolu usuwano z ekstraktu za pomocą octanu etylu inne związki polifenolowe, niebędące antocyjanami. Do otrzymanego ekstraktu antocyjanów dodawano bufor cytrynianowy o pH 3 (końcowe stężenie antocyjanów w przeliczeniu na cyjanidyno-3-glukozyd wynosiło $0,31 \times 10^{-3}\text{ M}$). W otrzymanych ekstraktach nie identyfikowano cukrów prostych, natomiast zawartość kwasu chlorogenowego (głównego fenolokwasu w owocach) wynosiła 0,1 mg/100 ml.

Otrzymane ekstrakty antocyjanów ogrzewano w łaźni wodnej w temp. $95 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ w ciągu 3 h w fiolkach szklanych o pojemności 15 ml, z dostępem powietrza („head-space” – 20 %). Temperaturę mierzono w centrum geometrycznym próbki. Po zakończonym procesie ogrzewania, próbki z ekstraktami poddawano natychmiastowemu chłodzeniu zimną wodą. W ekstraktach oznaczano zawartość antocyjanów ogółem, zawartość poszczególnych glikozydów antocyjanowych oraz procentowy udział barwy polimerycznej, a także mierzono ich barwę. Analizy prowadzono na ekstraktach niepoddanych obróbce termicznej oraz ogrzewanych w ciągu: 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180 min.

Antocyjany ogółem oznaczano spektrofotometryczną metodą Giusti i Wrolstad [7], polegającą na określeniu różnicy absorbancji roztworów antocyjanów w pH 1 (forma oksoniowa) oraz pH 4,5 (forma pseudozasadowa). Wyniki oznaczeń podano w przeliczeniu na cyjanidyno-3-glukozyd. Do oznaczenia procentowego udziału barwy polimerycznej (polimeric color), określającego procentowy udział w barwie próbki antocyjanów spolimeryzowanych, wykorzystano metodę z dwusiarczynem potasu [7]. Identyfikację monomerów antocyjanów prowadzono metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej połączonej ze spektrometrią masową z jonizacją elektrorozpraszającą (HPLC/ESI-MS). Rozdział prowadzono w kolumnie Luna RP – 18 ($5\text{ }\mu\text{m}$) przy prędkości przepływu $1\text{ cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$. W oznaczeniu antocyjanów jako eluentu używano 100 % acetonitrylu (odczynnik A) oraz 10 % kwasu mrówkowego (odczynnik B), wg gradientu: 4 min 5,5 % A, 7 min 9 % A, 18 min 11 % A, 21 min 14 % A, 26 min 22 % A, 30 min 30 % A, 32 min 5,5 % A, 35 min 5,5 % A. Rejestrację antocyjanów prowadzono przy długości fali 520 nm. Zakres przemiatania spektrum masowego wynosił 400 - 600 m/z. Napięcie linii desolwatacji wynosiło 25 kV, a temp. $250\text{ }^{\circ}\text{C}$. Przepływ

gazu nośnego wynosił 1 ml/min, a temp. układu 200 °C. Identyfikację prowadzono przez porównanie uzyskanych widm masowych oraz czasów retencji z widmami i czasami retencji antocyjanów wzorcowych (cyjanidyno-3-glukozydem, malwidyno-3-glukozydem oraz cyjanidyno-3-arabinozydem). Pozostałe monomery identyfikowano na podstawie porównania z widmami masowymi ze źródeł literaturowych [5, 13]. Wyniki ilościowe oznaczeń podawano w przeliczeniu na cyjanidyno-3-glukozyd. Pomiar barwy prowadzono za pomocą kolorymetru Konica Minolta CM-3600d. Pomiar prowadzono w systemie CIE L*a*b*. Oznaczenie wykonywano w świetle przechodzącym, w kuwetach szklanych o grubości 2 mm, stosując obserwatora 10°, iluminatu D65. Analizy przeprowadzono w trzech równoległych powtórzeniach.

Uzyskane wyniki poddano analizie wariancji. Istotność różnic określano za pomocą testu t-Tukey'a na poziomie istotności $\alpha = 0,05$. Stałą szybkość reakcji (k) wyliczano na podstawie zależności $k = \frac{1}{t} \ln \frac{C_0}{C_t}$, gdzie t – czas ogrzewania, C_0 – początkowe stężenie antocyjanów w ekstraktach, C_t – stężenie antocyjanów w czasie t, natomiast czas połowicznego rozpadu ($t_{1/2}$) obliczano ze wzoru: $t_{1/2} = - \ln 0,5k^{-1}$.

Wyniki i dyskusja

Owoce borówki wysokiej charakteryzują się bardzo różnorodnym składem antocyjanowym, gdyż zawierają mogą do 25 antocyjanów, co wyróżnia je spośród innych owoców jagodowych. Dla porównania, truskawki zawierają jedynie trzy związki antocyjanowe, czarna porzeczka i aronia po cztery, a malina pięć antocyjanów [5, 8]. W badanych ekstraktach zidentyfikowano antocyjany, które były monoglikozydami malwidyny, delfinidyny, petunidyny, cyjanidyny oraz peonidyny. Reszty glikozydowe antocyjanów tworzyły trzy monosacharydy: galaktoza, glukoza oraz arabinoza. W badanych ekstraktach oznaczono także niewielkie ilości antocyjanów acylowanych (poniżej 2 % ogólnej ilości barwników). Podobnie małą zawartość tych barwników w owocach odmiany Sierra uzyskali Zeng i Wang [23]. W innych odmianach borówki wysokiej formy acylowane stanowiły nawet do 14 % wszystkich zidentyfikowanych barwników [3, 5]. Ze względu na małą zawartość antocyjanów acylowanych w badanej odmianie oraz brak możliwości pełnej ich identyfikacji, w pracy nie prowadzono badań nad zmianami ich zawartości pod wpływem obróbki termicznej.

Antocyjanem, którego ekstrakty z owoców borówki zawierały najwięcej był malwidyno-3-galaktozyd (tab. 1). Otrzymane ekstrakty charakteryzowały się także dużą zawartością delfinidyno-3-galaktozydu, malwidyno-3-glukozydu, malwidyno-3-arabinozydu, delfinidyno-3-arabinozydu oraz petunidyno-3-galaktozydu (powyżej 12 mg/100 ml). Barwnikami występującymi w najmniejszych ilościach były pochodne peonidyny, których średnia zawartość w badanych ekstraktach wynosiła zaledwie 0,6 mg/100 ml.

Tabela 1

Czas retencji, spektra masowe oraz zawartość antocyjanów w owocach borówki wysokiej oraz ekstraktach antocyjanowych.

Retention time, mass spectral data and content of anthocyanins present in blueberry fruit and in the anthocyanins extracts.

Czas retencji [min] Retention time [min]	Jon molekularny Molecular ion [m/z]	Antocyjany Anthocyanins		Zawartość antocyjanów Content of anthocyanins	
				Ekstrakt Extract [mg/ 100 ml]	Owoce Fruit [mg/100 g]
22,7	493	Malwidyno-3-galaktozyd Malvidin-3-galactoside	Mv3gal	29,7	29,9
25,3	493	Malwidyno-3-glukozyd Malvidin-3-glucoside	Mv3glu Mv3glc	19,1	19,3
27,5	463	Malwidyno-3-arabinozyd Malvidin-3-arabinoside	Mv3ara	17,1	17,4
11,3	465	Delfinidyno-3-galaktozyd Delphinidin-3-galactoside	Dp3gal	19,5	19,0
13,2	465	Definidyno-3-glukozyd Delphinidin-3-glucoside	Dp3glu Dp3glc	7,7	7,3
14,8	435	Delfidyno-3-arabinozyd Delphinidin-3-arabinoside	Dp3ara	13,9	13,4
16,5	479	Petunidyno-3-galaktozyd Petunidin-3-galactoside	Pt3gal	12,6	12,6
18,2	479	Petunidyno-3-glukozyd petunidin-3-glucoside	Pt3glu Pt3glc	7,6	7,7
20,0	449	Petunidyno-3-arabinozyd Petunidin-3-arabinoside	Pt3ara	8,4	8,5
14,4	449	Cyjanidyno-3-galaktozyd Cyjanidin-3-galactoside	Cy3gal	1,7	1,7
15,9	449	Cyjanidyno-3-glukozyd Cyjanidin-3-glucoside	Cy3glu Cy3glc	1,1	1,1
17,6	419	Cyjanidyno-3-arabinozyd Cyjanidin-3-arabinoz	Cy3ara	1,1	1,3
19,3	463	Peonidyno-3-galaktozyd Peonidin-3-galactoside	Pn3gal	0,3	0,4
20,6	463	Peonidyno-3-glukozyd Peonidin-3-glucoside	Pn3glu Pn3glc	0,3	0,4

Porównując udział poszczególnych antocyjanów w owocach oraz ekstraktach stwierdzono, że ekstrakty zawierały więcej pochodnych delfinidyny. Przyczyną tego może być fakt, że podczas produkcji ekstraktów antocyjany wydobywane były jedynie ze skórki owoców, gdzie głównie są zlokalizowane. Według Lee i Wrolstad [12] ekstrakty antocyjanowe otrzymane z miąższu oraz pestek owoców borówki wysokiej zawierają mniej pochodnych delfinidyny w porównaniu z ekstraktami antocyjanowymi otrzymanymi ze skórek owoców.

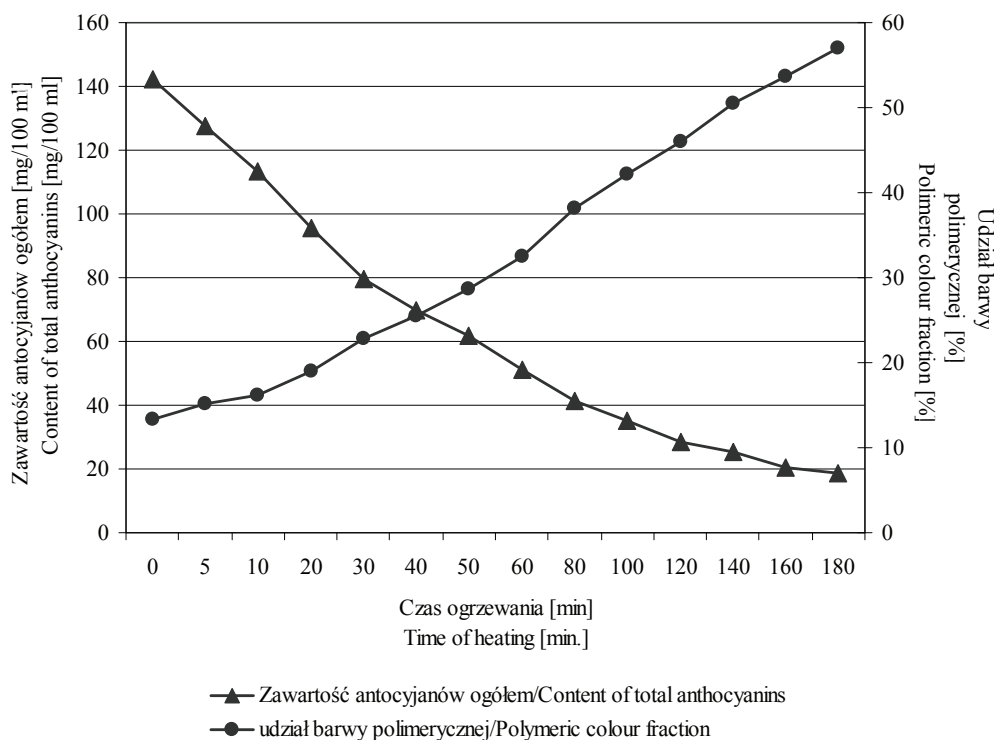
W trakcie ogrzewania ekstraktów w temp. 95 °C następowała stopniowa degradacja barwników antocyjanowych (rys. 1). Na podstawie metody najmniejszych kwadratów stwierdzono liniową zależność pomiędzy logarytmem naturalnym ze stężenia antocyjanów a czasem ogrzewania (współczynnik korelacji $r = 0,96 - 0,99$). Wykazano zatem, że proces rozpadu antocyjanów w trakcie obróbki termicznej przebiega zgodnie z kinetyką reakcji pierwszego rzędu. Badania wiśni [2], truskawek [6] oraz jeżyn [22] potwierdziły, że proces degradacji związków antocyjanowych podczas ogrzewania w stałej temperaturze przebiega zgodnie z kinetyką pierwszego rzędu.

Przeprowadzone badania wykazały, że antocyjany wyizolowane z owoców borówki są odporne na działanie wysokiej temperatury. Ogrzewanie ekstraktów antocyjanowych przez 40 min w temp. 95 °C spowodowało spadek zawartości antocyjanów ogółem jedynie o połowę (rys. 1). Podobne wyniki uzyskali Brownmiller i wsp. [1]. Wykazali oni, że pasteryzacja soków klarownych i mętnych otrzymanych z owoców borówki wysokiej powodowała zaledwie 5 - 8 % straty zawartości antocyjanów. Również wcześniejsze badania własne wykazały, że podczas produkcji dżemów (gotowanie z cukrem w temp. 100 °C przez 30 min, a następnie pasteryzacja 20 min w 95 °C) całkowite straty antocyjanów wynosiły zaledwie 35 % [20]. Dla porównania, straty antocyjanów podczas produkcji dżemu z czereśni wynosiły prawie 80 % [11].

Podczas ogrzewania ekstraktów antocyjanowych następował wzrost udziału barwy polimerycznej. W otrzymanych ekstraktach wynosił on poniżej 12 %, natomiast po 3 h ogrzewania wzrósł prawie do 60 % (rys. 1). Wynikało to prawdopodobnie z trzech przyczyn: zmniejszenia się zawartości monomerów antocyjanów podczas obróbki termicznej, powstawania podczas ogrzewania oligomerów i polimerów antocyjanów, a także wyższej termostabilności oligomerów i polimerów w porównaniu z monomerami antocyjanów. Powstające oligomery, w miarę wzrostu wielkości cząsteczki, wykazują jednak zmniejszającą się rozpuszczalność, co prowadzi do zmętnień i tworzenia się osadów w koncentratkach soków owocowych [9, 14].

W trakcie obróbki termicznej ekstraktów antocyjanowych obserwowano stopniowy wzrost wartości parametru barwy L^* oraz spadek parametru b^* (rys. 2). Podobne wyniki uzyskali Fiorini i wsp. [4] podczas ogrzewania związków antocyjanowych w temp. 55 °C. Związane jest to prawdopodobnie z przemianą czerwonego kationu flawyliowego antocyjanów w bezbarwne oraz żółte formy chalkonów. Jednocześnie

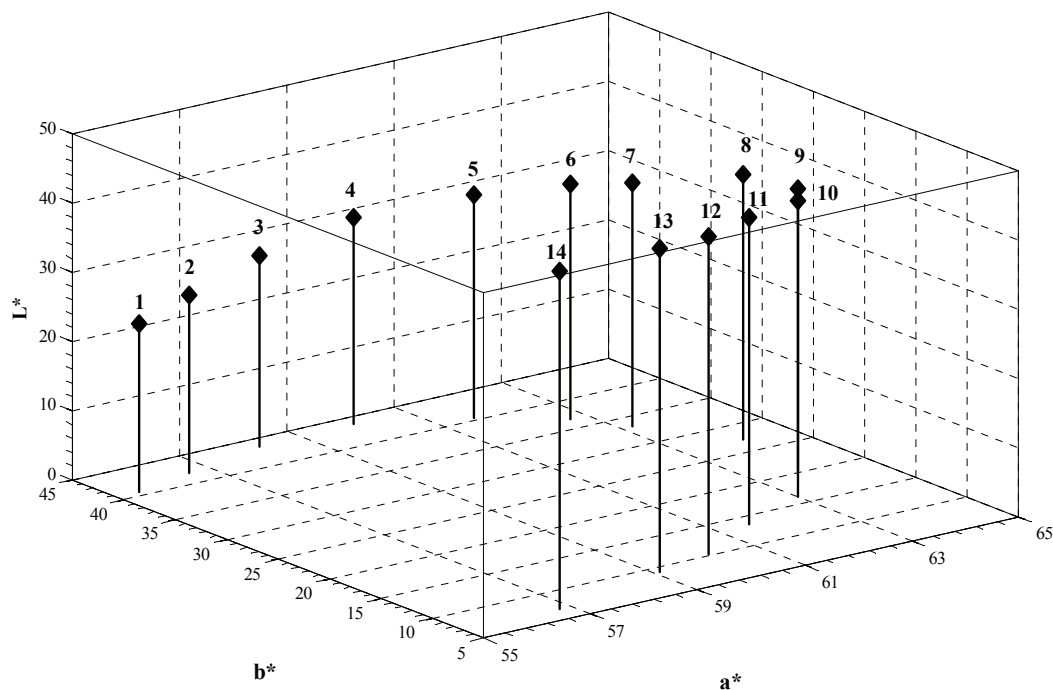
w pierwszym etapie procesu ogrzewania (do 100 min) następował wzrost wartości parametru a^* . Można to tłumaczyć polimeryzacją antocyjanów, na co wskazuje wzrost udziału barwy polimerycznej (rys. 1). Powstałe oligomery w porównaniu z monomerami wykazują większą siłę barwiącą. W dalszym etapie ogrzewania (dłuższym niż 100 min) obserwowano spadek wartości parametru a^* prawdopodobnie związany z postępującą degradacją barwników antocyjanowych.



Rys. 1. Zmiany zawartości antocyjanów ogółem [mg/100 ml] oraz barwy polimerycznej [%] w ekstraktach podczas obróbki termicznej.

Fig. 1. Changes in content of total anthocyanins [mg/100 ml] and polymeric colour fraction [%] of extracts during thermal processing.

Parametry barwy L^* i b^* były silnie skorelowane z zawartością antocyjanów ogółem. Współczynnik korelacji między parametrem L^* a zawartością antocyjanów ogółem był bardzo wysoki i wynosił $-0,98$. Mniejszą korelację stwierdzono w przypadku parametru barwy b^* ($r = 0,90$). Wysoka korelacja między zawartością antocyjanów ogółem a wartością parametru L^* wskazuje, że parametr ten może być wykorzystany w szybkim określeniu zawartości antocyjanów w produktach ogrzewanych.



Czas ogrzewania ekstraktów / Time of heating: 0 min (1), 5 min (2), 10 min (3), 20 min (4), 30 min (5), 40 min (6), 50 min (7), 60 min (8), 80 min (9), 100 min (10), 120 min (11), 140 min (12), 160 min (13), 180 min (14).

Rys. 2. Zmiany parametrów barwy (L^* , a^* , b^*) ekstraktów antocyjanowych podczas obróbki termicznej.
Fig. 2. Changes in colour parameters (L^* , a^* , b^*) of anthocyanin extracts during thermal processing.

Termostabilność poszczególnych związków antocyjanowych uzależniona jest od ich budowy cząsteczki. Odporne na działanie wysokiej temperatury są barwniki acylowane oraz antocyjany występujące w postaci di- i triglikozydów [15]. Porównując czas połowicznego rozpadu poszczególnych antocyjanów (tab. 2) można stwierdzić, że odporność antocyjanów z owoców borówki wysokiej na ogrzewanie zależy od podstawnika cukrowego. Antocyjany zawierające arabinozę charakteryzowały się znacznie krótszym czasem połowicznego rozpadu (od 35,2 min – delfinidyno-3-arabinozyd do 44,2 min – petunidyno-3-arabinozyd) niż barwniki, w skład których wchodzi glukoza (od 67,1 min – delfinidyno-3-glukozyd do 89,0 min – malwidyno-3-glukozyd). Prawdopodobnie spowodowane jest to mniejszą odpornością arabinozydów na hydrolizę w środowisku kwaśnym i w podwyższonej temperaturze. Ichyanagi i wsp. [10] wykazali, że na szybkość hydrolizy antocyjanów podczas ogrzewania w środowisku 1 % kwasu trifluorooctowego nie wpływa rodzaj aglikonu tylko rodzaj przyłączonego cu-

kru. Wyniki badań niniejszej pracy potwierdziły, że w grupie antocyjanów o tym samym aglikonie arabinozydy były znacznie mniej stabilne niż galaktozydy i glukozydy.

Tabela 2

Czas połowicznego rozpadu antocyjanów ($t_{1/2}$) w ekstrakcie po ogrzewaniu.
Half life times ($t_{1/2}$) of anthocyanins in the extract after its heating.

Antocyjany Anthocyanins	Mv3gal	Mv3glu Mv3glc	Mv3ara	Dp3gal	Dp3glu Dp3glc	Dp3ara	Pet3gal
$t_{1/2}$ [min]	67,7d	89,0a	42,4fg	59,6e	67,1d	35,2g	58,6e
Antocyjany Anthocyanins	Pt3glu Pt3glc	Pet3ara	Cy3gal	Cy3glu Cy3glc	Cy3ara	Pn3gal	Pn3glu Pn3glc
$t_{1/2}$ [min]	80,1b	44,2fg	58,3e	73,2c	37,4g	46,1f	54,2e

Wartości średnie oznaczone tą samą literą w wierszach nie różnią się statystycznie istotnie według testu t-Tukeya na poziomie istotności $\alpha = 0,05$ / Mean values in rows and denoted by the same letter do not differ statistically significantly at $\alpha = 0.05$ according to t-Tukey test.

Porównując czas połowicznego rozpadu antocyjanów zawierających taką samą resztę cukrową można stwierdzić, że pochodne malwidyny oraz petunidyny charakteryzują się najwyższą termostabilnością. W badaniach przeprowadzonych przez Lee i Wrolstad [19] także obserwowano różny stopień degradacji poszczególnych antocyjanów podczas produkcji koncentratu z owoców borówki wysokiej. Największe straty stwierdzono w przypadku pochodnych delfinidyny, natomiast wysoką stabilnością, podobnie jak w niniejszej pracy, charakteryzowały się antocyjany, w skład których wchodziła malwidyna.

Wnioski

1. Podczas ogrzewania ekstraktów antocyjanowych z owoców borówki wysokiej następuje zmniejszenie zawartości barwników. Proces rozpadu antocyjanów przebiega zgodnie z kinetyką pierwszego rzędu
2. W trakcie obróbki termicznej ekstraktów antocyjanowych następuje wzrost udziału barwy polimerycznej, co związane może być z polimeryzacją monoglikozydów antocyjanowych.
3. Stwierdzono wysoką ujemną korelację pomiędzy parametrem L^* a zawartością antocyjanów ogółem.
4. Zawarte w owocach borówki wysokiej związki antocyjanowe charakteryzują się zróżnicowaną termostabilnością. Obróbka termiczna powoduje największe straty antocyjanów, których resztę glikozydową stanowi arabinoza.

5. Biorąc pod uwagę zróżnicowaną wrażliwość antocyjanów owoców borówki wysokiej na ogrzewanie wskazany jest odpowiedni dobór surowców do przetwórstwa. Odmiany powinny charakteryzować się dużą zawartością antocyjanów ogółem oraz stosunkowo małą zawartością arabinozydów.

Praca naukowa finansowana ze środków MNiSzW w latach 2007-2010 jako projekt badawczy nr N N312 1832 33.

Literatura

- [1] Brownmiller C., Howard L.R., Prior R.L.: Processing and storage effects on monomeric anthocyanins, percent polymeric color, and antioxidant capacity of processed blueberry products. *J. Food Sci.*, 2008, **5 (73)**, H72-79.
- [2] Cemeroglu B., Velioglu S., Isik S.: Degradation kinetics of anthocyanins in sour cherry juice and concentrate. *J. Food Sci.*, 1994, **6 (59)**, 1216-1218.
- [3] Cho M.J., Howard L.R., Prior R.L., Clark J.R.: Flavonoid glycosides and antioxidant capacity of various blackberry, blueberry and red grape genotypes determined by high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. *J. Sci. Food Agric.*, 2004, **13 (84)**, 1771-1782.
- [4] Fiorini M., Barbiroli G., Pifferi P.G.: Effect of pH and temperature changes on the colour of anthocyanins. *J. Commod. Sci.*, 1999, **(38)**, 15-30.
- [5] Gao L., Mazza G.: Quantization and distribution of simple and acylated anthocyanins and other phenolics in blueberries. *J. Food Sci.*, 1994, **5 (59)**, 1057-1059.
- [6] Garzon G.A., Wrolstad R.E.: Comparison of the stability of pelargonidin-based anthocyanins in strawberry juice and concentrate. *J. Food Sci.*, 2002, **4 (67)**, 1288-1299.
- [7] Giusti M.M., Wrolstad R.E.: Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. In: *Handbook of food analytical chemistry – pigment, colorants, flavors, texture, and bioactive food components*, ed. Wrolstad R.E. John Wiley & Sons Inc., New York 2005, p. F1.2.1-13.
- [8] Goiffon J.P., Mouly P.P., Gaydou E.M.: Anthocyanic pigment determination in red fruit juice, concentrated juice and syrups using liquid chromatography. *Anal. Chim. Acta*, 1999, **1, 2 (382)**, 39-50.
- [9] Horubała A.: Zmiany barwy soków owocowych w procesach technologicznych ich otrzymywania i przechowywania. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 1996, **8**, 31-34.
- [10] Ichiyangi T., Oikawa K., Tateyama C., Konisi T.: Acid mediated hydrolysis of blueberry anthocyanins. *Chem. Pharm. Bull.*, 2001, **(49)**, 114-117.
- [11] Kim D.O., Padilla-Zakour O.I.: Jam processing effect on phenolics and antioxidant capacity in anthocyanin-rich fruits: cherry, plum and raspberry. *J. Food Sci.*, 2004, **9 (69)**, S395-S400.
- [12] Lee J., Wrolstad R.E.: Extraction of anthocyanins and polyphenolics from blueberry – processing waste. *J. Food Sci.*, 2004, **7 (69)**, C564-C573.
- [13] Lohachoompol V., Mulholland M., Szrednicki G., Craske J.: Determination of anthocyanins in various cultivars of highbush and rabbiteye blueberries. *Food Chem.*, 2008, **1 (111)**, 249-254.
- [14] Oszmiański J., Sożyński J.: Wpływ warunków otrzymywania oraz przechowywania soku z aronii na związki fenolowe i barwę. *Zesz. Nauk. AR Wrocław, Tech. Żywn.*, 1989, **5 (184)**, 89-100.
- [15] Oszmiański J.: Zachowanie przeciwutleniaczy w czasie produkcji soków i przecierów z jabłek i owoców jagodowych. W: *Przeciwutleniacze w żywności, aspekty zdrowotne, technologiczne, molekularne i analityczne – po red. W. Grajka*. WNT, Warszawa 2007.

- [16] Patras A., Brunon N.P., O'Donnell C., Tiwari B.K.: Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. *Trends Food Sci. Technol.*, 2010, **1 (21)**, 3-11.
- [17] Rhim J.W.: Kinetics of thermal degradation of anthocyanins pigment solutions driven from red flower cabbage. *Food Sci. Biotechnol.*, 2002, **4 (11)**, 361-364.
- [18] Sadilowa E., Stintzing F.C., Carle R.: Thermal degradation of acylated and nonacylated anthocyanins. *J. Food Sci.*, 2006, **8 (71)**, C504-512.
- [19] Skrede G., Wrolstad R.E., Durst R.: Changes in anthocyanins and polyphenolics during juice processing of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). *J. Food Sci.*, 2000, **65, 2**, 357-364.
- [20] Ścibisz I., Mitek M., Malewska J.: Aktywność przeciwutleniająca owoców borówki wysokiej (*Vaccinium corymbosum* L.). *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2003, **2 (10)** Supl., 159-166.
- [21] Ścibisz I., Mitek M.: Aktywność przeciwutleniająca i zawartość związków fenolowych w dżemach otrzymanych z owoców borówki wysokiej (*Vaccinium corymbosum* L.) oraz ich zmiany podczas przechowywania. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **2 (12)** Supl., 204-209.
- [22] Wang W.D., Xu S.Y.: Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and concentrate. *J. Food Eng.*, 2007, **(82)**, 271-275.
- [23] Zheng W., Wang S.: Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries and lingonberries. *J. Agric. Food Chem.*, 2003, **2 (51)**, 502-509.

THERMAL DEGRADATION OF ANTHOCYANINS IN BLUEBERRY FRUIT

S u m m a r y

In the paper, the heat stability was assessed of anthocyanins contained in the extracts prepared from blueberry fruit by heating them at 95 °C for 3 hours. In the samples, the following was determined: content of total anthocyanins, polymeric colour fraction, and colour of the extracts analysed. With the use of high-performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry (HPLC/ESI-MS), the content of individual anthocyanins was identified and quantified. The heating process caused the total content of anthocyanins in the extracts to drop. The degradation process of anthocyanins went according to the kinetics of the first-order reaction. It was proved that a significant correlation existed between the content of anthocyanins and the L*value in the extracts analysed. This correlation suggests that the L*value may be a parameter suitable for quick monitoring the changes in anthocyanins in thermally processed products. In the paper, it was also shown that the individual monomers of anthocyanins had different heat-stability. The galactosides and glucosides were more resistant to heating compared to the containing arabinose.

Key words: anthocyanins, highbush blueberry, thermal processing ☒

DARIUSZ KOWALCZYK, EWA PIKULA

WPLYW JADALNEJ POWŁOKI BIAŁKOWO-WOSKOWEJ NA JAKOŚĆ PRZECHOWALNICZĄ WINOGRON (*VITIS VINIFERA* L.)

Streszczenie

Winogrona (*Vitis vinifera*) są cenionymi owocami deserowymi, jednak ich atrakcyjność może ulec pogorszeniu, jeśli podczas dystrybucji i sprzedaży nie są właściwie zabezpieczone. Obecnie poszukuje się nowych metod pozwalających na zwiększenie trwałości owoców i zachowanie ich dobrej jakości w obrocie towarowym. Do takich rozwiązań należą ochronne powłoki jadalne.

Celem pracy było określenie możliwości wykorzystania powłoki białkowo-woskowej do zabezpieczenia jakości winogron. Owoce poddano powlekanu poprzez trzykrotne zanurzenie w wodnym roztworze zawierającym 10 % izolatu białka grochu, 5 % sorbitolu (plastyfikator) i 2 % wosku kandelila. Powlekane oraz niepowlekane (kontrolne) winogrona przechowywano w temp. 20 °C i wilgotności względnej powietrza 40 % przez 11 dni. Badania wykazały, że po 11-dniowym przechowywaniu powlekane winogrona, w stosunku do niepowlekanych, wykazywały statystycznie istotnie większą zawartość kwasu askorbinoowego i cukrów redukujących oraz mniejsze ubytki masy, co przyczyniło się do przedłużenia świeżości owoców. Powlekanie nie wpłynęło na zmianę kwasowości miareczkowej i czynnej winogron. Dodatkową korzyścią powlekania było nadanie owocom atrakcyjnego połysku.

Słowa kluczowe: winogrona, powłoki jadalne, białka grochu, wosk kandelila

Wprowadzenie

Winogrona (*Vitis vinifera*) należą do owoców deserowych. Podczas dystrybucji i sprzedaży ich atrakcyjność może ulegać pogorszeniu, jeśli nie są właściwie zabezpieczone. Głównymi przyczynami zmniejszenia wartości handlowej winogron są ubytki ilościowe powstające wskutek parowania wody i zużycia substancji odżywczych w procesie oddychania, osłabienie konsystencji w wyniku degradacji związków pektynowych, zepsucie mikrobiologiczne spowodowane rozwojem szarej pleśni oraz zmiany zabarwienia [6, 9]. Straty wywołane tymi procesami ogranicza się podczas przechowywania, obniżając temperaturę. Winogrona składowane w chłodzie zachowują świeżość przez kilka dni, natomiast przechowywane w temperaturze pokojowej szybko

marszczą się i zaczynają gnić. Obecnie poszukuje się nowych metod pozwalających na zwiększenie trwałości owoców i zachowanie ich dobrej jakości w obrocie towarowym. Do takich rozwiązań należą powłoki jadalne, stosowane do zabezpieczania jakości szerokiej grupy artykułów spożywczych. Powlekanie ochronną warstwą wosku stosowane było już 800 lat temu w Chinach, do utrzymania świeżości owoców cytrusowych [13]. Wykorzystanie jadalnych powłok w przechowywaniu owoców i warzyw ma na celu przede wszystkim kontrolę wymiany gazowej między produktem a otoczeniem. Umożliwia to zmniejszenie ubytków wilgoci i modyfikację składu wewnętrznej atmosfery gazowej surowców, co sprzyja spowolnieniu procesów metabolicznych i wydłużeniu trwałości pozbiorczej. Oddziaływanie powłok na żywność można ponadto łatwo rozszerzyć poprzez inkorporację w ich skład dodatków funkcjonalnych np. substancji przeciwmikrobiologicznych, przeciwutleniaczy, witamin, barwników itp.

Podstawowymi materiałami stosowanymi do produkcji jadalnych powłok są związki organiczne otrzymywane bezpośrednio z biomasy roślinnej lub zwierzęcej. Do ważniejszych biopolimerów należą polisacharydy (celuloza, chitozan, skrobia) oraz proteiny (białka serwatkowe, białka soi, gluten, kazeina, zeina, żelatyna). Zaletą białek jest chemiczna różnorodność umożliwiająca pełnienie przez nie zróżnicowanych funkcji, przez co surowce białkowe są wykorzystywane w wielu dziedzinach życia. Proteinowe folie charakteryzują się dobrą barierowością w stosunku do gazów, a ich wrażliwość na wilgoć ograniczana jest poprzez łączenie z lipidami i innymi naturalnymi składnikami [15]. W branży opakowaniowej kolagen i żelatyna od dawna stosowane są do produkcji osłonek i folii jadalnych wykorzystywanych w sektorze mięsny. Duży potencjał użytkowy wykazują także białka roślinne. Nasiona roślin strączkowych są tanim i jednocześnie obfitym źródłem białka, o stosunkowo wysokiej wartości odżywczej, co czyni je bardzo dobrym surowcem do produkcji preparatów białkowych. Obecnie światowy rynek zdominowany jest przez preparaty sojowe. Niska cena, dostępność oraz wszechstronne zastosowanie sprawiły, że trudno jest z nimi konkurować ceną lub jakością. W konsekwencji duża część literatury naukowej poświęcona jest badaniom nad otrzymywaniem folii i powłok jadalnych na bazie białek soi. Porównanie cen (w USD/kg) izolatów białka serwatkowego (13,5 - 27), białka soi (3 - 3,8) oraz zeiny (23 - 35) [14] z ceną izolatu/koncentratu białka grochu (2,5 - 2,8) [7] wskazuje, że wykorzystanie białek grochu do produkcji żywności, w tym do otrzymywania jadalnych powłok, może przysporzyć ekonomicznych korzyści. Brak genetycznych modyfikacji tego gatunku sprawia, że preparaty białka grochu stanowią obiecującą alternatywę dla izolatów białkowych otrzymywanych z transgenicznej soi. Ponadto, groch w odróżnieniu od soi oraz zbóż glutenowych, jaj, ryb, orzechów ziemnych, mleka i łubinu nie znajduje się na liście produktów będących najczęstszą przyczyną alergii i nietolerancji pokarmowych [8].

Celem pracy było zbadanie możliwości wykorzystania powłoki otrzymanej na bazie białek grochu i wosku kandelila do zabezpieczenia jakości winogron.

Material i metody badań

Do przygotowania roztworu powlekającego użyto preparatu białka grochu Pro-pulse (Pro-Flo) produkcji Parrheim Foods (obecnie Nutri-Pea Limited, Kanada) oraz sorbitolu i wosku kandelila produkcji Sigma-Aldrich. Preparat białkowy (50 g), sorbitol (25 g) i wodę (415 g) wymieszano (14000 obr./min, 2 min) i skorygowano odczyn roztworu do $\text{pH} = 7$. Następnie mieszaninę poddano ogrzewaniu (20 min, 90 °C), podczas którego wprowadzono wosk kandelila (10 g). Homogenną emulsję uzyskano przez 5-minutowe mieszanie roztworu (14000 obr./min) pod koniec ogrzewania. Po ochłodzeniu i rehomogenizacji (14000 obr./min, 1 min) emulsję odpowietrzano pod próżnią.

Winogrona (*Vitis vinifera* L.) odm. Regina, pochodzące z uprawy w okolicach Sandomierza, umyto, podzielono na kiście zawierające od 3 do 10 jagód i poddano powlekanu poprzez trzykrotne zanurzenie w roztworze powlekającym. Pomiedzy kolejnymi zanurzeniami stosowano 30-minutową przerwę w celu umożliwienia zastygnięcia warstewki. Powlekane oraz niepowlekane (kontrolne) owoce przechowywano bez dostępu światła w temp. 20 °C i wilgotności względnej powietrza (RH) 40% przez 11 dni. Próbkę do analiz pobierano po 0, 4, 7 i 11 dniach przechowywania.

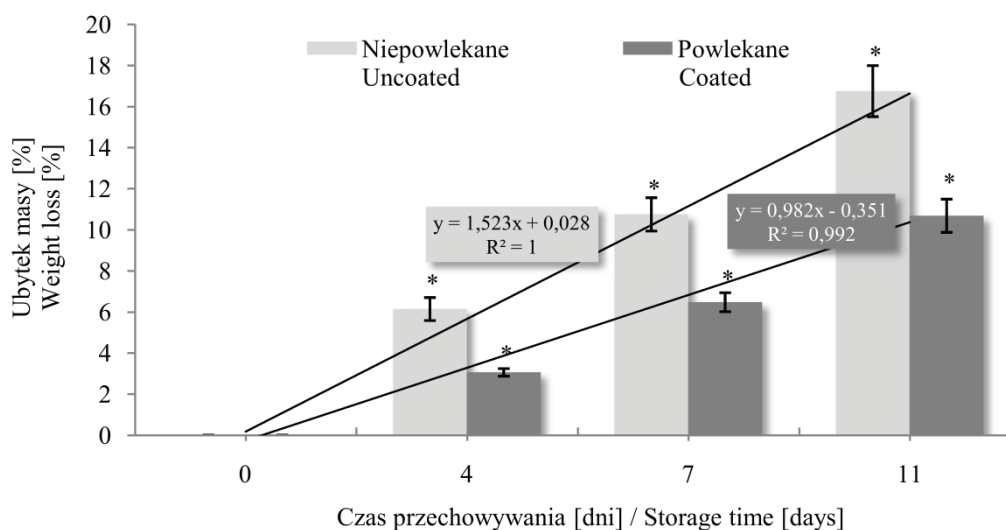
Badania jakości przechowalniczej winogron obejmowały oznaczenie: ubytków przechowalniczych wyrażonych w procentach masy początkowej, witaminy C (kwasu askorbinowego) [20], zawartości cukrów redukujących metodą Lane-Eynona [19], kwasowości ogólnej [17] w przeliczeniu na kwas winowy oraz pH metodą potencjometryczną [18] z wykorzystaniem pehametru Beckman Model $\Phi 10$. Zawartość kwasu askorbinowego i cukrów redukujących wyrażono w przeliczeniu na 100 g suchej masy [16].

Pomiary wykonano w 3 powtórzeniach, a otrzymane wyniki poddano analizie wariancji na poziomie istotności $\alpha = 0,05$ przy użyciu programu Statistica 6.0 PL.

Wyniki i dyskusja

Ubytki masy powlekanych winogron były istotnie ($p < 0,05$) mniejsze niż owoców niepowlekanych (rys. 1). W próbach powlekanych szybkość strat postępowała około 1,5-krotnie wolniej niż w próbach kontrolnych. Po 11 dniach przechowywania ubytki masy w winogronach niepowlekanych i powlekanych wyniosły odpowiednio 16,7 i 10,7 %. Analiza statystyczna wykazała, że po 11-dniowym okresie przechowywania próbki powlekanych winogron odznaczały się istotnie większą zawartością kwasu askorbinowego w porównaniu z próbą kontrolną (rys. 2). Po 7 i 11 dniach w powleka-

nych próbach stwierdzono także większą ($p < 0,05$) zawartość cukrów redukujących (rys. 3). Powlekanie nie zmieniło ($p > 0,05$) kwasowości ogólnej owoców, która przez cały okres przechowywania utrzymywała się na poziomie wynoszącym około 0,6 g/100 g w przeliczeniu na kwas winowy (rys. 4). W miarę wydłużania okresu składowania zmniejszeniu ulegała kwasowość czynna winogron. Porównanie pH homogenizatów niepowlekanych i powlekanych owoców wykazało istotne różnice po 4 i 7 dniach przechowywania (rys. 4).



Objaśnienia:/ Explanatory notes:

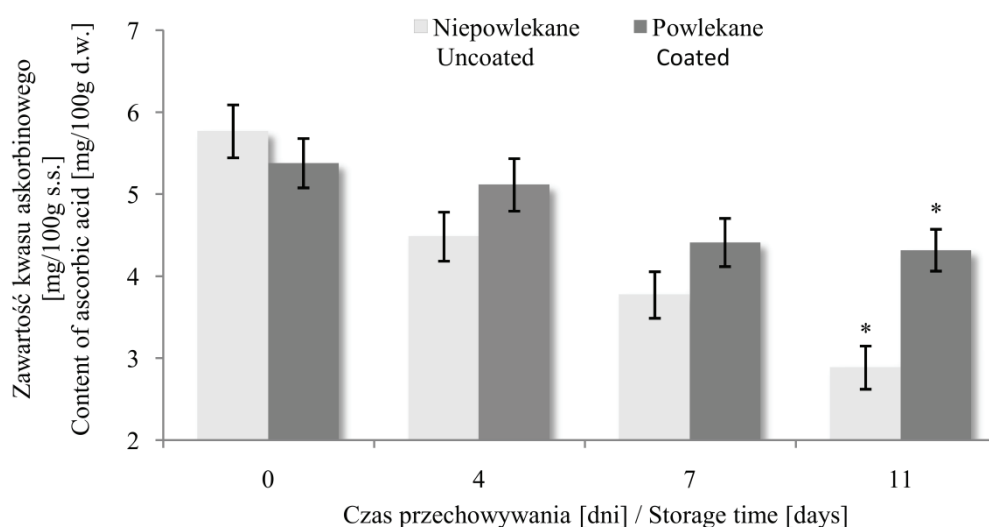
* - wartości średnie oznaczone indeksem w obrębie tego samego okresu przechowalniczego różnią się statystycznie istotnie między sobą ($p < 0,05$) / mean values denoted by index within the same storage time are statistically significantly different ($p < 0,05$).

Rys. 1. Straty masy podczas przechowywania winogron.

Fig. 1. Weight losses of grapes during their storage.

Wyniki przeprowadzonych badań dowodzą, że powlekanie mieszaniną białek grochu, wosku kandelila i z dodatkiem sorbitolu, jako plastyfikatora, ogranicza zmiany składu chemicznego winogron podczas ich przechowywania w warunkach otoczenia (20 °C, RH = 40 %). Korzystne oddziaływanie powłok jadalnych na jakość przechowalniczą winogron było już udokumentowane w literaturze. Romanazzi i wsp. [22] wykazali, że powlekanie winogron roztworem chitozanu w istotny sposób ogranicza zmiany gnilne owoców zainfekowanych zarodnikami *Botrytis cinerea*, przechowywanych zarówno w warunkach chłodniczych, jak i w temperaturze otoczenia. Niniejsze badania ograniczono do oceny wyróżników zmian infekcyjnych winogron, bez określenia wpływu powlekania na inne parametry jakości owoców. Z kolei Valverde i wsp.

[23] wykonali szeroką ocenę jakości przechowalniczej winogron powlekanych roztworem żelu z aloesu (*Aloe vera*). Wykazali, że powlekanie zmniejsza m.in. ubytki masy, wpływa na lepsze zachowanie jędrności i barwy oraz ogranicza rozwój tlenowych mezofili, drożdży i pleśni, co znalazło odzwierciedlenie w wyższej ocenie wyróżników sensorycznych (wygląd ogólny, jędrność, soczystość, cierpkość, chrupkość) powlekanych winogron. W trakcie 35-dniowego chłodniczego przechowywania winogron (1 °C, RH = 95 %) ubytki masy w owocach niepowlekanych wyniosły 15,51 %, podczas gdy w powlekanych były niemal o połowę mniejsze [23].



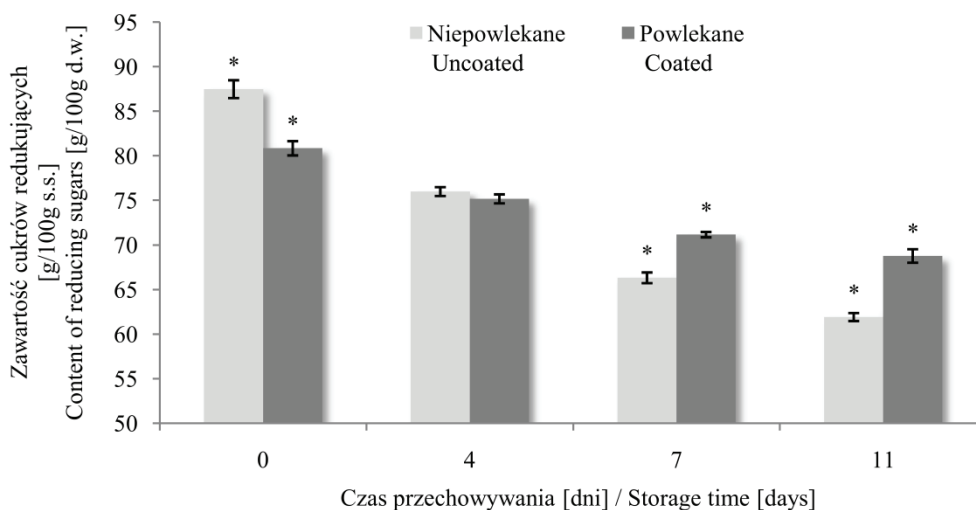
* - objaśnienia jak na rys. 1. / Explanatory notes as in Fig. 1.

Rys. 2. Zmiany zawartości kwasu askorbinowego podczas przechowywania winogron.

Fig. 2. Changes in the content of ascorbic acid in grapes during their storage.

Skuteczność powłok jadalnych jako czynnika ochrony jakości pozbiorczej wykazano na przykładzie różnych surowców. Ayranci i Tunc [4] zaobserwowali, że obecność powłok na bazie metylocelulozy, glikolu polietylenowego (PEG) i kwasu stearynowego zmniejsza ubytki masy moreli i zielonej papryki, odpowiednio z 19,8 do 7,82 % oraz z 5,02 do 2,87 %, po 10 dniach przechowywania w 25 °C i RH = 84%. We wcześniejszych badaniach wykazano skuteczność powłok o identycznym składzie w ograniczaniu ubytków masy pieczarek i porcjowanych róż kalafiora [3]. Xu i wsp. [25] wykorzystali kompozycję powlekającą zawierającą białka soi, pululan, kwas stearynowy i glicerol do przedłużenia trwałości owoców kiwi przechowywanych w warunkach otoczenia (15 °C, RH = 50 %). Badania wykazały, że po 54 dniach przechowywania ubytki masy w powlekanych owocach były o 1,78 % mniejsze niż w niepo-

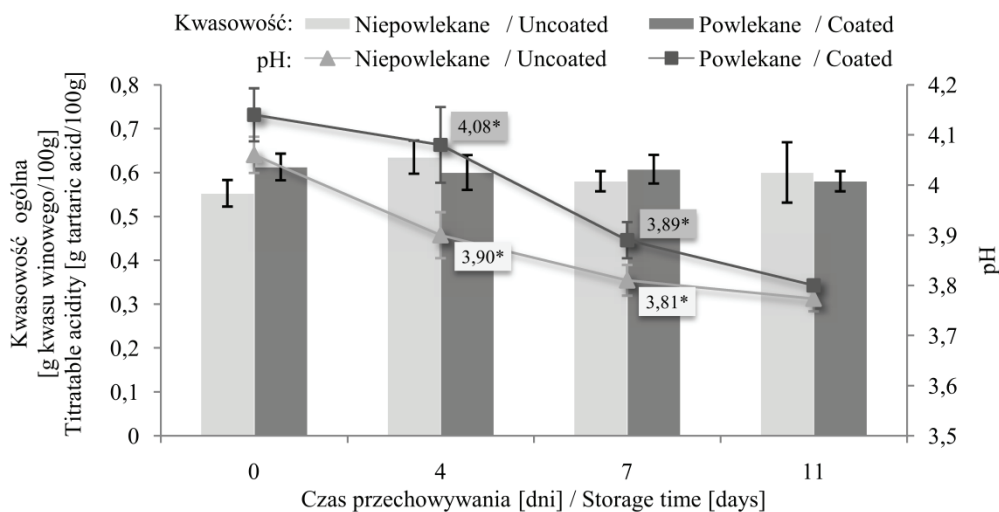
wlekanych. Z kolei Bai i wsp. [5] zaobserwowali, że pokrycie powierzchni jabłek powłoką na bazie zeiny i PEG, w czasie 14-dniowego przechowywania (21 °C, RH = 50 %), nieznacznie zmniejsza ubytki masy z 3,0 do 2,3 %.



* - objaśnienia jak na rys. 1. / Explanatory notes as in Fig. 1.

Rys. 3. Zmiany zawartości cukrów redukujących podczas przechowywania winogron.

Fig. 3. Changes in the content of reducing sugars in grapes during their storage.



* - objaśnienia jak na rys. 1. / Explanatory notes as in Fig. 1.

Rys. 4. Zmiany kwasowości ogólnej i pH podczas przechowywania winogron.

Fig. 4. Changes in titratable acidity and pH of grapes during their storage.

Polarny charakter białek i polisacharydów przesądza o ich właściwościach barierowych. Proteinowe powłoki wykazują niską barierowość w stosunku do substancji polarnych (para wodna), wysoką natomiast w stosunku do substancji niepolarnych (tlen). Szybkość przenikania tlenu przez warstwy uzyskane z izolatu białka sojowego jest od 325 do 1750-krotnie mniejsza niż folii polietylenowej [15]. Wysoka barierowość w stosunku do tlenu umożliwia formowanie powłok zmniejszających tempo oddychania owoców i warzyw. Badania przeprowadzone przez Bai i wsp. [5] wykazały, że powlekanie powierzchni jabłek powoduje około 2-krotny spadek ciśnienia cząstkowego tlenu w tkance i 4-krotny wzrost ciśnienia cząstkowego CO₂. Zmniejszenie szybkości respiracji obserwowano także w przypadku marchwi powlekanej emulsją kazeina/kwas stearynowy [2], truskawek powlekanych mieszaniną chitozanu (1 %) i kwasu oleinowego (2 %) [24] oraz winogron zabezpieczonych powłoką z aloesu [23]. Stwierdzone w niniejszej pracy zmniejszenie strat kwasu askorbinowego w powlekanych winogronach (rys. 2) jest prawdopodobnie wynikiem zmniejszonej szybkości oddychania. W trakcie przechowywania owoców i warzyw obserwuje się sukcesywny spadek zawartości kwasu L-askorbinowego, który utleniany jest do mniej stabilnego kwasu dehydroaskorbinowego, przekształcanego do kwasu 2,3-diketogulonowego, a następnie do kwasu szczawowego i L-treonowego lub furfurali i CO₂ [11]. Zmniejszenie ubytku witaminy C odnotowano także w przypadku powlekanych wiśni [26], moreli, pieczarek oraz zielonej papryki [3, 4]. Przykładowo straty witaminy C w morelach, po 12-dniowym przechowywaniu, wyniosły 78,3 i 63,2 % odpowiednio w owocach niepowlekanych i powlekanych. Inkorporacja kwasu askorbinowego w skład powłoki pozwoliła zredukować ubytki do 36,7 % [4]. Zastosowana w niniejszej pracy powłoka, dzięki potencjalnej zdolności do zmniejszania tempa oddychania winogron i przemian katabolicznych ograniczyła także straty przechowalnicze cukrów redukujących (rys. 3). Odmienne obserwacje poczynili Bai i wsp. [5], którzy stwierdzili brak wpływu powłoki zeinowej na zmiany zawartości glukozy i fruktozy w jabłkach.

Istotnym parametrem wartości sensorycznej owoców, obok zawartości cukrów, jest ich kwasowość. Kwasy organiczne uczestnicząc w oddychaniu (cykl Krebsa), dostarczają energii i w czasie przechowywania zwykle obserwuje się spadek ich zawartości [11]. Niemniej wyniki niniejszej pracy wskazują, że w czasie 11-dniowego przechowywania kwasowość ogólna winogron utrzymywała się na stałym poziomie, natomiast pH ekstraktów ulegało zmniejszeniu. W ostatnim dniu doświadczenia nie stwierdzono istotnych różnic kwasowości (miareczkowej i czynnej) kontrolnych i powlekanych owoców (rys. 4). Valverde i wsp. [23] wykazali z kolei, że powlekanie winogron pozwala zmniejszyć szybkość spadku kwasowości ogólnej, co, jak tłumaczą autorzy, spowodowane jest zmniejszeniem tempa oddychania i w konsekwencji ograniczeniem zużycia kwasów. Podobne rezultaty obserwowano w przypadku powlekanych owoców śliwy japońskiej [10], wiśni [26], truskawki i maliny [12]. Analogicznie, jak w przed-

stawionej pracy, brak wpływu powłok na kwasowość zaobserwowano na przykładzie jabłek [5].

Oprócz korzystnego oddziaływania powłok jadalnych na trwałość pozbiorną owoców i warzyw, dodatkowym atutem stosowania powłok jest niejednokrotnie nadanie produktom atrakcyjnego połysku [1, 5, 21]. Pomimo, że w niniejszej pracy nie przeprowadzono badań instrumentalnych, wizualnie zaobserwowano znaczący wzrost połysku w przypadku powlekanych winogron.

Wnioski

1. Izolat białka grochu, sorbitol i wosk kandelila mogą stanowić komponenty ochronnej powłoki jadalnej aplikowanej na powierzchnię winogron.
2. Powlekanie winogron ogranicza ubytki masy, kwasu askorbinowego i cukrów redukujących w czasie ich przechowywania (11 dni) w warunkach otoczenia, co przyczynia się do przedłużenia świeżości owoców. Dodatkowo, powlekanie pozwala nadać winogronom atrakcyjny połysk.

Badania finansowane przez MNiSzW w ramach promotorskiego projektu badawczego nr N N 312 1722 33.

Literatura

- [1] Alonso J., Alique R.: Influence of edible coating on shelf life and quality of "Picota" sweet cherries. *Eur. Food Res. Technol.*, 2004, **218**, 535-539.
- [2] Avena-Bustillos R.J., Cisneros-Zevallos L.A., Krochta J.M., Saltveit M.E.: Application of casein-lipid edible film emulsions to reduce white blush on minimally processed carrots. *Postharvest Biol. Technol.*, 1994, **4**, 319-329.
- [3] Ayranci E., Tunc S.: A method for the measurement of the oxygen permeability and the development of edible films to reduce the rate of oxidative reactions in fresh foods. *Food Chem.*, 2003, **80**, 423-431.
- [4] Ayranci E., Tunc S.: The effect of edible coatings on water and vitamin C loss of apricots (*Armeniaca vulgaris* Lam.) and green peppers (*Capsicum annuum* L.). *Food Chem.*, 2004, **87**, 339-342.
- [5] Bai J., Alleyne V., Hgenmaier R.D., Mattheis J.P., Baldwin E.A.: Formulation of zein coatings for apples (*Malus domestica* Borkh). *Postharvest Biol. Technol.*, 2003, **28**, 259-268.
- [6] Carvajal-Millán E., Carvallo T., Orozco J.A., Martínez M.A., Tapia I., Guerrero V.M., Chu A.R., Llamas J., Gardea A.A.: Polyphenol oxidase activity, color changes, and dehydration in table grape rachis during development and storage as affected by N-(2-chloro-4-pyridyl)-N-phenylurea. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, **49**, 946-951.
- [7] Choi W.S., Han J.H.: Physical and mechanical properties of pea-protein-based edible films. *J. Food Sci.*, 2001, **66**, 319-322.
- [8] Commission Directive 2007/68/EC of 27 November 2007 amending Annex IIIa to Directive 2000/13/EC of the European Parliament and of the Council as regards certain food ingredients.
- [9] Crisosto C.H., Garner D., Crisosto G.: Carbon dioxide-enriched atmospheres during cold storage

- limit losses from *Botrytis* but accelerate rachis browning of 'Redglobe' table grapes. Postharvest Biol. Technol., 2002, **26**, 181-189.
- [10] Eum H.L., Hwang D.K., Linke M., Lee S.K., Zude M.: Influence of edible coating on the quality of plum (*Prunus salicina* Lindl. cv. 'Sapphire'). Eur. Food Res. Technol., 2009, **229**, 427-434.
- [11] Gajewski M.: Przechowalnictwo warzyw. Wyd. SGGW, Warszawa 2005.
- [12] Han C., Zhao Y., Leonard S.W., Traber M.G.: Edible coatings to improve storability and enhance nutritional value of fresh and frozen strawberries (*Fragaria* × *ananassa*) and raspberries (*Rubus idaeus*). Postharvest Biol. Technol., 2004, **33**, 67-78.
- [13] Hardenburg R.E.: Wax and related coatings of horticultural products. A Bibliography. Agr. Res. Bull., No 965, Cornell Univ., Ithaca, NY, 1967, p. 1.
- [14] Krochta J.M., De Mulder-Johnston C.: Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. Food Technol., 1997, **51**, 61-74.
- [15] McHugh T.H., Krochta J.M.: Permeability properties of edible films. In: Edible coatings and films to improve food quality. Krochta J.M., Baldwin E. A., Nisperos-Carriedo M.O. Eds. Technomic Publishing, Lancaster, PA, 1994, pp. 139-187.
- [16] PN-90/A-75101/03. Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. Oznaczanie zawartości suchej masy metodą wagową.
- [17] PN-90/A-75101/04. Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. Oznaczanie kwasowości ogólnej.
- [18] PN-90/A-75101/06. Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. Oznaczenie pH metodą potencjometryczną.
- [19] PN-90/A-75101/07. Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. Oznaczanie zawartości cukrów i ekstraktu bezcukrowego.
- [20] PN-A-04019:1998. Produkty spożywcze. Oznaczanie zawartości witaminy C.
- [21] Rojas-Argudo C., del Río M.A., Pérez-Gago M.B.: Development and optimization of locust bean gum (LBG)-based edible coatings for postharvest storage of 'Fortune' mandarins. Postharvest Biol. Technol., 2009, **52**, 227-234.
- [22] Romanazzi F., Nigro F., Ippolito A., Di Venere D., Salerno M.: Effects of pre- and postharvest chitosan treatments to control storage grey mold of table grapes. J. Food Sci., 2002, **67**, 1862-1867.
- [23] Valverde J.M., Valero D., Martínez-Romero D., Guillén F., Castillo S., Serrano M.: Novel edible coating based on *Aloe vera* gel to maintain table grape quality and safety. J. Agric. Food Chem., 2005, **53**, 7807-7813.
- [24] Vargas M., Albors A., Chiralt A., González-Martínez C.: Quality of cold-stored strawberries as affected by chitosan-oleic acid edible coatings. Postharvest Biol. Technol., 2006, **41**, 164-171.
- [25] Xu S., Chen X., Sun D.: Preservation of kiwifruit coated with an edible film at ambient temperature. J. Food Eng., 2001, **50**, 211-216.
- [26] Yaman O., Boyunduruk L.: Effects of an edible coating and cold storage on shelf-life and quality of cherries. LWT, 2002, **35**, 146-150.

EFFECT OF EDIBLE PROTEIN-WAX COATING ON STORAGE QUALITY OF TABLE GRAPES (*VITIS VINIFERA* L.)

S u m m a r y

The table grapes (*Vitis vinifera*) are highly valued dessert fruits, but their attractiveness can get worse if they are not properly protected while being distributed and sold. Presently, researches have been carried

out to find new methods for increasing the life-shelf of fruits and maintaining their high quality while they are on the market. Edible coatings could be a potential solution to that problem.

The objective of this study was to determine the possibilities of using protein-wax coating to protect the quality of grapes. Grape fruits were coated while they were three times immersed in an aqueous solution containing: 10 % of pea protein isolate, 5 % of sorbitol (plasticizer), and 2 % of candelilla wax. The coated and uncoated (control) grapes were stored at 20 °C, under 40 % relative air humidity, during a period of 11 days. The study showed that, comparing to the uncoated grapes, the coated grapes stored for 11 days had a statistically significant higher content of ascorbic acid and reducing sugars, and lower weight losses, which caused the freshness of the fruits to be kept longer. The coating did not cause any changes in the titration acidity and pH of the grapes. The additional benefit of coating was an attractive sheen of the fruit surface.

Key words: grapes, edible coatings, pea protein, candelilla wax ✕

JOANNA NIEWCZAS, MARTA MITEK

ZAWARTOŚĆ SKŁADNIKÓW MINERALNYCH W OWOCACH PIĘCIU ODMIAN DYNI OLBRZYMIEJ (*CUCURBITA MAXIMA*)

Streszczenie

Celem pracy było określenie zawartości składników mineralnych w nowych odmianach dyni olbrzymiej. Materiał doświadczalny stanowiły owoce dwóch nowych niezarejestrowanych odmian dyni olbrzymiej oznaczonych numerami 727 i 729, dwóch niedawno zarejestrowanych odmian: Justynka i Karowita oraz jednej tradycyjnie uprawianej odmiany Bambino. Zbiór owoców przeprowadzono 25 września 2006 r.

W owocach badanych odmian dyni olbrzymiej oznaczono zawartość makroelementów: K, P, Ca, Mg i Na oraz mikroelementów: Fe, Zn, Cu i Mn. Ponadto oznaczono zawartość składników mineralnych w postaci popiołu oraz określono jego alkaliczność.

Zawartość składników mineralnych w poszczególnych odmianach dyni olbrzymiej była zróżnicowana. Nowe odmiany zawierały ich znacznie więcej niż odmiana Bambino. Pod względem zawartości składników mineralnych wyróżniała się nowa odmiana 727. Oznaczono w niej największą zawartość P, Ca, Mg, Na, Fe, Zn oraz Mn. Zawartość popiołu w nowych odmianach była znacznie większa niż w odmianie Bambino. Odmiany 727, 779 i Justynka były około 2-krotnie zasobniejsze w składniki mineralne niż odmiana Bambino. Alkaliczność popiołu w nowych odmianach była również wyższa niż w odmianie Bambino. Wpłynęła na to prawdopodobnie wysoka zawartość alkalizujących składników mineralnych tj. Ca, K, Mg, Mn, Na.

Słowa kluczowe: dynia olbrzymia, składniki mineralne, popiół, alkaliczność popiołu

Wprowadzenie

Składniki mineralne są związkami niezbędnymi do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Człowiek nie potrafi ich syntetyzować, dlatego muszą być dostarczone z pożywieniem w odpowiednich ilościach i proporcjach.

Składniki mineralne dzieli się na dwie zasadnicze grupy [4, 15]:

- makroelementy – ich zawartość w organizmie człowieka jest większa niż 0,01 %. Należą do nich: Ca (2 %), P (1 %), K (0,35 %), S (0,25 %), Mg (0,05 %), Na (0,15 %), Cl (0,15 %);

- mikroelementy, zwane też pierwiastkami śladowymi – występują w organizmie w ilości mniejszej niż 0,01 %. Należą do nich: Fe (0,004 %), F (0,004 %), Zn (0,002 %), Mn (0,0003 %), Cu (0,00015 %), I (0,00004 %), Se (0,00002 %), Cr (0,000005 %).

Pierwiastki można również podzielić na grupy, w zależności od pełnionych funkcji w organizmie. Najczęściej przyjmuje się podział na cztery grupy [1, 2]:

- składniki mineralne budulcowe, stanowiące podstawowy materiał budulcowy kości, zębów, skóry i włosów: Ca, P, Mg, S, F;
- składniki mineralne wchodzące w skład związków decydujących o przebiegu metabolizmu: Fe, Zn, Cu, Co, I;
- składniki uczestniczące w gospodarce wodno-elektrolitowej: Na, K, Cl;
- składniki o różnorodnym działaniu regulującym w organizmie: Se, Mn, Mo, Cr.

Warzywa i owoce pełnią ważną rolę w żywieniu człowieka. Są one bardzo dobrym źródłem składników mineralnych. Zawierają takie pierwiastki, jak K czy Ca, dzięki którym mają właściwości alkalizujące. Regulują równowagę kwasowo-zasadową w organizmie, a także neutralizują kwasy powstałe w wyniku spożywania pokarmów mięsnych i zbożowych [3].

Występujące w polskiej literaturze [7] opracowania dotyczą zawartości składników mineralnych w starszych odmianach dyni olbrzymiej. Brak jest natomiast danych dotyczących zawartości tych składników w nowych odmianach i mieszańcach dyni, dlatego też celowe wydaje się podjęcie badań w tym zakresie.

Celem pracy było określenie zawartości składników mineralnych oraz zawartości popiołu i jego alkaliczności w nowych odmianach dyni olbrzymiej.

Materiał i metody badań

Materiał doświadczalny stanowiły owoce dwóch niezarejestrowanych odmian dyni olbrzymiej oznaczonych numerami 727 i 729, dwóch nowych zarejestrowanych odmian: Justynka (rok rejestracji - 2007) i Karowita (2005) oraz jednej tradycyjnie uprawianej odmiany Bambino (1975). Badane dynie pochodziły z pola doświadczalnego „Wolica”, należącego do Katedry Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin, Wydziału Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu SGGW. Zbioru owoców dokonano 25 września 2006 r. Badania przeprowadzono w czterech terminach – bezpośrednio po zbiorze owoców i w kolejnych terminach co 4 tygodnie. Dynie przechowywane były w tunelu foliowym w temperaturze około 10 °C. Oznaczone zawartości składników mineralnych nie zmieniały się istotnie podczas przechowywania, stąd też w pracy przedstawiono wyniki będące średnią z czterech terminów badań.

Próbki do badań pobierano z najbardziej nasłonecznionej części sześciu owoców każdej z odmian dyni. Strona nasłoneczniona, to strona przeciwległa do części spoczywającej na ziemi, mającej jaśniejszy kolor i spłaszczoną powierzchnię.

W analizowanych dyniach oznaczano zawartość składników mineralnych metodą ICP-AES – atomowej spektrometrii emisyjnej ze wzbudzeniem plazmowym. Badane próbki homogenizowano, suszono i spopielano w piecu muflowym w temperaturze 550 °C aż do uzyskania jasnej barwy popiołu. Pomiary zawartości składników mineralnych w spopielonych uprzednio próbkach dokonywane były w Budapeszt University of Technology and Economics (BME) na Wydziale Nauk Przyrodniczych. Oznaczenie zawartości związków mineralnych w postaci popiołu oraz jego alkaliczności wykonywano metodą wagowo-miareczkową wg PN-90/A-75101/08 [11].

Wyniki opracowano statystycznie przy użyciu programu Statgraphics Plus, stosując wieloczynnikową analizę wariancji, a istotność różnic między wartościami średnimi badano testem Tukey'a.

Wyniki i dyskusja

Makroelementem występującym w owocach dyni w największej ilości był potas (tab.1). Zawartość tego składnika mineralnego była najmniejsza w tradycyjnej odmianie Bambino – 303,8 mg/100 g ś.m. Największą zawartością potasu charakteryzowały się nowe odmiany dyni: Justynka i 727, odpowiednio 566,7 i 530,1 mg/100 g ś.m. Kunachowicz i wsp. [7] podają zawartość tego pierwiastka w dyni olbrzymiej wynoszącą 278 mg/100 g ś.m. Dane te zostały opracowane przed zarejestrowaniem nowych odmian dyni, mogą więc dotyczyć starszych odmian np. Bambino czy Melonowa Żółta. Z kolei wartości podawane przez Souci i wsp. [14] pochodzą z 2008 r. i dotyczą niemieckich odmian, autorzy podają w nim zawartość potasu wynoszącą 407 mg/100 g ś.m. Głównym źródłem potasu w krajowych racjach pokarmowych są ziemniaki (24 – 30 %), produkty zbożowe (15 %) oraz mleko i jego przetwory (12 %). Większość warzyw zawiera poniżej 300 mg potasu, w niektórych z nich, tj. w szczawiu, zielonym groszku czy brukselce zawartość tego pierwiastka jest większa i wynosi 300 - 600 mg/100 g ś.m. [12].

Zawartość kolejnego makroelementu – fosforu była największa w dyni odmiany 727 (52,4 mg/100 g ś.m.), a najmniejsza w odmianach Karowita i Bambino (28,2 i 28,8 mg/100 g ś.m.). Według danych literaturowych zakres zawartości tego pierwiastka w dyni wynosi od 37 [14] do 43 mg/100 g ś.m. [7]. Spośród badanych odmian jedynie 727 charakteryzowała się zawartością fosforu wykraczającą ponad wymieniony zakres. Większość fosforu spożywana jest z produktami zbożowymi (25 - 35 % ogólnej ilości fosforu w codziennej diecie), mlecznymi (20 - 30 %) oraz mięsem i jego przetworami (20 - 25 %). W większości warzyw zawartość tego pierwiastka jest mniejsza niż 50 mg/100 g ś.m. [12].

T a b e l a 1

Zawartość składników mineralnych w owocach dyni olbrzymiej [mg/100 g ś.m.].

Content of mineral components in the fruit of winter squash [mg/100 g fresh matter].

Składnik mineralny Mineral component	Odmiana / Variety				
	727	Justynka	729	Karowita	Bambino
Makroelementy / Macronutrients					
K	530,1 ab	566,7 a	495,4 b	345,4 c	303,8 d
P	52,4 a	42,1 b	42,5 b	28,2 c	28,8 c
Ca	32,4 a	26,0 b	24,2 b	15,4 c	14,6 c
Mg	17,9 a	12,7 b	12,0 b	7,9 c	7,5 c
Na	5,3 a	4,9 a	4,6 a	3,5 b	2,9 b
Mikroelementy / Micronutrients					
Fe	2,5 a	1,5 b	1,2 bc	1,0 c	1,8 b
Zn	0,37 a	0,29 ab	0,20 bc	0,19 bc	0,17 c
Cu	0,17 a	0,18 a	0,13 a	0,17 a	0,11 a
Mn	0,12 a	0,11 ab	0,11 ab	0,06 b	0,06 b

a, b, c, d - wartości średnie oznaczone w wierszach w obrębie tego samego wyróżnika tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie na poziomie $\alpha = 0,05$.

a, b, c, d - mean values in the lines, and denoted by the same letter do not differ statistically significantly at $\alpha = 0.05$ level.

Odmiana 727 zawierała również najwięcej wapnia spośród badanych odmian – 32,4 mg/100 g ś.m. Namniejszą zawartość tego pierwiastka stwierdzono w odmianach Karowita i Bambino (15,4 i 14,6 mg/100 g ś.m.). Souci i wsp. [14] podają zawartość tego makroelementu w owocach dyni wynoszącą 32 mg/100 g ś.m. co odpowiada zawartości oznaczonej w odmianie 727. Z kolei Kunachowicz i wsp. [7] podają bardzo wysoką zawartość wapnia w dyni wynoszącą 66 mg/100 g ś.m., co jest wartością dużo wyższą od uzyskanych w niniejszej pracy. Głównym źródłem wapnia w diecie jest mleko i jego przetwory. Spośród warzyw dużą zawartością tego pierwiastka charakteryzują się liście pietruszki (193 mg/100 g ś.m.) i suche nasiona roślin strączkowych np. fasoli (163 mg/100 g ś.m.) [7, 12].

Magnez jest kolejnym pierwiastkiem występującym w owocach dyni, w największej ilości w odmianie 727 (17,9 mg/100 g ś.m.), a najmniejszej w odmianach Karowita i Bambino (7,9 i 7,5 mg/100 g ś.m.). Według innych badań zakres zawartości tego pierwiastka w dyni wynosi od 14 [7] do 17 mg/100 g ś.m. [14]. Spośród wartości oznaczonych w badanych odmianach dyni olbrzymiej, odmiana 727 zawierała niedużo

więcej magnezu niż podają Souci i wsp. [14], natomiast pozostałe odmiany zawierały mniej tego składnika mineralnego niż wynika to z danych literaturowych. Głównym źródłem magnezu w diecie Polaków są produkty zbożowe, dostarczające około 35 % tego pierwiastka. Ziemiaki stanowią około 15 %, a pozostałe warzywa 10 % dziennego spożycia magnezu. Wysoki poziom magnezu, powyżej 100 mg/100 g ś.m., zawierają suche nasiona roślin strączkowych [12].

Zawartość sodu nie różniła się istotnie w odmianach 727, 729 i Justynka, wynosiła od 4,6 do 5,3 mg/100 g ś.m. Pozostałe dwie odmiany Karowita i Bambino zawierały mniejsze ilości tego związku, odpowiednio 3,5 i 2,9 mg/100 g ś.m. Pierwsze trzy odmiany mieszczą się w zakresie zawartości sodu podawanej w literaturze i wynoszącej od 4 [7] do 7 mg/100 g ś.m. [14]. W odmianach Karowita i Bambino oznaczone zawartości tego pierwiastka były mniejsze niż podany zakres. Sód spożywany w nadmiarze powoduje powstawanie nadciśnienia tętniczego, zwiększa ryzyko powstawania raka żołądka i udarów mózgu. Stosunek sodu do potasu (Na : K) w racjach pokarmowych powinien wynosić 1 : 1,7. Należy zauważyć, że zawartość sodu w marchwi, czyli w innym warzywie o dużej zawartości karotenoidów, jest wielokrotnie większa niż w dyni i wynosi od 62 [14] do 82 mg/100 g ś.m. [7]. Biorąc pod uwagę małą zawartość sodu oraz dużą zawartość potasu można stwierdzić, że dynia jest warzywem pożądanym z punktu widzenia diety. Większość spożywanej ilości sodu, około 90 %, pochodzi z dodawanej do żywności soli kuchennej. Tylko około 10 % sodu w racjach żywieniowych jest pochodzenia naturalnego. Warzywa zawierają zwykle poniżej 40 mg sodu, choć w niektórych z nich ilość ta jest większa i wynosi 40 - 120 mg/100 g ś.m. (marchew, buraki, seler) [12].

Spośród badanych mikroelementów największą zawartość dotyczyła żelaza. Zawartość tego pierwiastka była największa w odmianie 727 (2,5 mg/100 g ś.m.), a najmniejsza w odmianie Karowita (1,0 mg/100 g ś.m.). Według danych literaturowych zakres zawartości tego pierwiastka w dyni wynosi od 0,5 [14] do 0,8 mg/100 g ś.m. [7]. We wszystkich analizowanych odmianach dyni zawartość żelaza była większa od tych wartości. Najwięcej żelaza spożywa się wraz z produktami zbożowymi oraz mięsem – po około 30 % ogólnej zawartości tego pierwiastka w całodiennej racji pokarmowej. Warzywa dostarczają 10 %, a ziemniaki 7 % tej racji. W większości warzyw zawartość żelaza jest mniejsza niż 1 mg/100 g ś.m. Wysoka zawartość tego składnika, powyżej 4 mg/100 g ś.m., znajduje się w natce pietruszki i suchych nasionach roślin strączkowych [12].

Największą zawartością cynku charakteryzowała się odmiana 727 (0,37 mg/100 g ś.m.), a najmniejszą odmiana Bambino (0,17 mg/100 g ś.m.). W literaturze podawany jest zakres zawartości tego składnika mineralnego wynoszący od 0,18 [14] do 0,38 mg/100 g ś.m. [7]. Spośród badanych odmian jedynie dynia Bambino zawierała mniej tego pierwiastka. Głównym źródłem cynku jest mięso i jego przetwory oraz produkty

zbożowe; dostarczają one odpowiednio 28 - 37 % i 30 - 40 % ogólnej ilości tego pierwiastka w całodziennej diecie. Z warzyw pochodzi około 8 % całodziennego spożycia cynku. Warzywa zawierają poniżej 1 mg/100 g ś.m. tego składnika mineralnego [12].

Zawartość miedzi w pięciu analizowanych odmianach dyni olbrzymiej nie różniła się istotnie i wynosiła od 0,11 do 0,18 mg/100 g ś.m. Souci i wsp. [14] podają zawartość tego pierwiastka w dyni wynoszącą 0,05 mg, natomiast Kunachowicz i wsp. [7] podają wartości wyższe – 0,15 mg/100 g ś.m. W podanym przedziale mieszczą się średnie wartości oznaczone w owocach dyni odmian 729 i Bambino, natomiast w pozostałych odmianach oznaczone ilości miedzi są większe. Głównym źródłem miedzi w diecie są produkty zbożowe dostarczające około 30 % ogólnej zawartości tego składnika w całodziennej racji pokarmowej. Warzywa dostarczają jej około 13 %. Zawartość miedzi w większości warzyw jest mniejsza niż 0,1 mg/100 g ś.m., niektóre warzywa tj. dynia, cykoria, groszek zielony, buraki (w postaci boćwiny) należą do grupy o większej zawartości tego pierwiastka wynoszącej 0,1 - 0,5 mg/100 g ś.m. [12].

Badane odmiany dyni olbrzymiej zawierały mangan w ilości od 0,06 (Karowita i Bambino) do 0,12 mg/100 g ś.m. (727). Według Kunachowicz i wsp. [7] zawartość tego składnika mineralnego w owocach dyni wynosi 0,04 mg, a według Souci i wsp. [14] 0,10 mg/100 g ś.m. Odmiany Karowita i Bambino, w których oznaczono najmniejszą zawartość manganu mieszczą się w podanym przez autorów zakresie. W pozostałych analizowanych odmianach dyni zawartość tego pierwiastka była większa. W krajowych racjach pokarmowych głównym źródłem manganu są produkty zbożowe, które dostarczają około połowy ogólnej zawartości tego składnika w codziennej diecie. Warzywa zawierają ten pierwiastek w ilości od 0,05 do 2,0 mg/100 g ś.m. [12].

Nowe odmiany dyni olbrzymiej zawierały znacznie więcej składników mineralnych w postaci popiołu (1,4 - 1,6 %) niż tradycyjna odmiana Bambino (0,8 %) (tab. 2). W porównaniu z odmianą 727 odmiana Bambino zawierała 2-krotnie mniej tego składnika. Według Kunachowicz i wsp. [7] zawartość popiołu w owocach dyni wynosi 0,8 %, czyli dokładnie tyle, ile oznaczono w tradycyjnej odmianie Bambino. Według Krzysik i Boguckiej [6] dynie zawierają od 0,5 do 0,8 % popiołu.

W badanych odmianach dyni alkaliczność popiołu była bardzo zróżnicowana (tab. 2). Popiół odmian 771, 772 (Justynka) i 774 był około 2-krotnie bardziej alkaliczny niż odmian 783 (Karowita) i Bambino. Odmiany o bardziej alkalicznym popiele charakteryzowały się jednocześnie większą zawartością takich składników mineralnych, jak: Ca, K, Mg, Mn, Na. Dzięki alkalicznemu charakterowi popiołu warzywa odgrywają ważną rolę w żywieniu człowieka [3, 13].

Przeciętna alkaliczność popiołu warzyw wynosi od 5 do 45 cm³ 0,1 M HCl/100 g, a roślin strączkowych np. fasoli nawet 110 cm³ [5]. Alkaliczność popiołu badanych odmian dyni wynosiła od 52,2 do 125,1 cm³ 0,1 M HCl/100 g, czyli była znacznie wyższa od przeciętnej.

T a b e l a 2

Zawartości popiołu oraz jego alkaliczność.
Content of ash and its alkalinity.

Wyszczególnienie Specification	Odmiana dyni / Winter squash variety				
	727	Justynka	729	Karowita	Bambino
Zawartość popiołu Content of ash [%]	1,6 a	1,5 a	1,4 a	1,4 a	0,8 b
Alkaliczność popiołu Alkalinity of ash [cm ³ 0,1 M HCl/100 g]	125,1a	102,4 ab	88,5 b	69,0 b	52,2 c

a, b, c - wartości średnie oznaczone w wierszach w obrębie tego samego wyróżnika tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie na poziomie $\alpha=0,05$.

a, b, c - mean values in the lines and denoted by the same letter do not differ statistically significantly at $\alpha=0.05$ level.

Nowe odmiany dyni olbrzymiej charakteryzują się większą zawartością suchej substancji, cukrów [9], karotenoidów, witaminy C [10], a także mniejszą zawartością azotanów [8] niż odmiana Bambino. Większa zawartość składników mineralnych w nowych odmianach dyni jest dodatkowym czynnikiem przekonującym do zainteresowania się uprawą i przerobem tych odmian.

Wnioski

1. Nowe odmiany dyni olbrzymiej zawierały znacznie więcej składników mineralnych niż tradycyjnie uprawiana odmiana Bambino.
2. Pod względem zawartości składników mineralnych wyróżniała się nowa odmiana 727. Stwierdzono w niej największą zawartość: P, Ca, Mg, Na, Fe, Zn oraz Mn.
3. Nowe odmiany dyni olbrzymiej zawierały więcej związków mineralnych w postaci popiołu niż odmiana Bambino. Pod tym względem nowe odmiany 727, 779 i Justynka były około 2-krotnie zasobniejsze w te składniki niż tradycyjna odmiana Bambino.
4. Alkaliczność popiołu nowych odmian była również wyższa niż odmiany Bambino. Wpłynęła na to prawdopodobnie duża zawartość alkalinizujących składników mineralnych tj. Ca, K, Mg, Mn, Na.

Literatura

- [1] Brzozowska A.: Funkcje składników mineralnych w organizmie człowieka. W: Składniki mineralne w organizmie człowieka – pod red. A. Brzozowskiej. Wyd. AR Poznań, 2002, ss. 23-40.
- [2] Czerwińska D., Kołtajis-Dołowy A., Kozłowska K., Pietruszka B.: Podstawy żywienia człowieka. Format-AB, Warszawa 2001.


- [3] Jarczyk A., Berdowski J.B.: Przetwórstwo owoców i warzyw. Cz. I. WSiP, Warszawa 1999.
- [4] Gawęcki J., Hryniewiecki L.: Żywnienie człowieka. Podstawy nauki o żywieniu. PWN, Warszawa 1998.
- [5] Klepacka M.: Analiza żywności. Fundacja Rozwój SGGW, Warszawa 1997.
- [6] Krzysik K., Bogucka W.: Dynia – wartościowy surowiec do produkcji przetworów dla dzieci. Przem. Ferm. Owoc. Warz., 1981, **4**, 23-25.
- [7] Kunachowicz H., Nadolna I., Przygoda B., Iwanow K.: Tabele składu i wartości odżywczej, PZWL, Warszawa 2005.
- [8] Niewczas J., Kamionkowska M., Mitek M.: Zawartość azotanów (III) i (V) w owocach dyni olbrzymiej (*Cucurbita maxima*). Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2006, **2 (47)** Supl., 234-241.
- [9] Niewczas J., Mitek M.: Zmiany zawartości sacharydów podczas przechowywania owoców dyni olbrzymiej (*Cucurbita maxima*). Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2004, **3 (40)** Supl., 166-174.
- [10] Niewczas J., Szweda D., Mitek M.: Zawartość wybranych składników prozdrowotnych w owocach dyni olbrzymiej (*Cucurbita maxima*). Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2005, **2 (43)** Supl., 147-155.
- [11] PN-90/A-75101/08. Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. Oznaczanie zawartości popiołu ogólnego i jego alkalizności.
- [12] Rutkowska U., Wojtasik A.: Składniki mineralne w żywności i racjach pokarmowych. W: Składniki mineralne w organizmie człowieka – pod red. A. Brzozowskiej. Wyd. AR Poznań, 2002, ss. 67-85.
- [13] Sikorski Z.E.: Chemiczne i funkcjonalne właściwości składników żywności. WNT, Warszawa 1996.
- [14] Souci S.W., Fachmann W., Krant H.: Food composition and nutrition tables. Medpharm Scientific Publisher, Stuttgart 2008.
- [15] Stoś K., Zaręba M.: Składniki mineralne i ich znaczenie dla zachowania zdrowia. W: Suplementacja a zdrowie człowieka – pod red. L. Szponara i J. Cioka. IZZ, Warszawa 2002, ss. 71-87.

CONTENT OF MINERAL COMPONENTS IN THE FRUIT OF FIVE VARIETIES OF WINTER SQUASH (*CUCURBITA MAXIMA*)

S u m m a r y

The objective of the research was to determine the content of mineral components in new varieties of winter squash. The experimental material was a fruit of two new, not registered varieties of winter squash denoted as No. 727 and No. 729, a fruit of two new, registered varieties called Justynka and Karowita, and a fruit of one traditionally cultivated Bambino variety. The fruit harvest was conducted on the 25 September 2006. In the analysed fruit of winter squash, the content of the macronutrients: K, P, Ca, Mg, and Na was determined, as was the content of the micronutrients: Fe, Zn, Cu, and Mn. Furthermore, the content of ash and its alkalinity were determined.

The content of mineral components in the individual varieties of winter squash varied. The new varieties contained much more mineral components than the Bambino variety. The new variety 727 was above-average as regards the content of mineral components. The levels of P, Ca, Mg, Na, Fe, Zn, and Mn therein were reported the highest. The content of ash in the new varieties was considerably higher than in the Bambino variety. The content of the mineral components in the varieties No. 727, No. 779, and Justynka were almost twice as high as in the Bambino variety. The alkalinity of ash in the new varieties was also higher than in the Bambino variety. Probably, the high alkalinity resulted from the high content of mineral components, i.e. Ca, K, Mg, Mn, and Na in the new varieties.

Key words: winter squash, mineral components, ash, ash alkalinity 

AGATA KURZAWSKA, DANUTA GÓRECKA,
DOROTA PIASECKA-KWIATKOWSKA, KRZYSZTOF DZIEDZIC

ZAWARTOŚĆ GLUTENU W KLĄCZU PAŁKI WODNEJ WĄSKOLISTNEJ (*TYPHA ANGUSTIFOLIA*)

Streszczenie

Jedynym sposobem leczenia osób cierpiących na celiakię jest eliminacja z diety produktów zawierających białka glutenowe. Poszukiwane są nowe źródła pożywienia niezawierające białek glutenowych, do których może należeć pałka wodna (*Typha ssp.*). Z jej kłaczy można pozyskać mączkę, będącą surowcem do wypieku placków chlebowych i ciastek.

Celem pracy było określenie zawartości frakcji glutenowej, powodującej reakcję chorobową u osób cierpiących na celiakię, w mączce pozyskanej z kłaczy pałki wodnej wąskolistnej.

Materiał do badań stanowiły kłacze pałki wodnej wąskolistnej (*Typha angustifolia*), pobrane w okresie zimowym (styczeń 2009 r.) z trzech różnych zbiorników wodnych: stawu położonego w Puszczy Zielonce (k. Poznania), stawu hodowlanego oraz jeziora w Osiecznej (k. Leszna).

Test na obecność glutenu prowadzono metodami immunoenzymatycznymi, wykorzystując produkty firmy R-Biopharm: Cocktail Solution® oraz kit gliadynowy Ridascreen® Gliadin R7001 (AOAC 120601). Zawartość białka ogółem oznaczono metodą Kjeldahla, wykorzystując aparaturę Foss Tecator. Zawartość białka w gliadynowych ekstraktach oznaczono fotometrycznie z wykorzystaniem odczynnika Bradford.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że mączka z kłaczy pałki wodnej wąskolistnej nie zawiera peptydów wywołujących celiakię i może być stosowana w produktach przeznaczonych dla osób na nią cierpiących. Zawartość białka ogółem w mączce z kłaczy pałki wodnej była zmienna w zależności od miejsca zbioru rośliny. Zawartość białka w ekstraktach mączki z kłaczy pałki wodnej nie była skorelowana z zawartością białka ogółem w samej mączce.

Słowa kluczowe: pałka wodna wąskolistna (*Typha angustifolia*), kłacze, gluten, Ridascreen® Gliadin R7001

Wprowadzenie

Dotychczas nie opracowano metody wykorzystania pałki wodnej w celach spożywczych. Często postrzegana jest jako surowiec zbędny, wymagający raczej usunię-

Mgr inż. A. Kurzawska, prof. dr hab. D. Górecka, mgr inż. K. Dziedzic, Katedra Technologii Żywności Człowieka, dr D. Piasecka-Kwiatkowska, Katedra Biochemii i Analizy Żywności, Wydz. Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 Poznań

cia z najbliższego otoczenia. Wymagania klimatyczne tej rośliny ograniczają się do odpowiednio wysokiego nawodnienia podłoża, dlatego najchętniej porasta tereny podmokłe (mokradła, rowy melioracyjne, doły potorfowe) oraz brzegi zbiorników wodnych. Uzyskiwany przez nią przyrost biomasy, zarówno części nadziemnych, jak i podziemnych, jest bardzo wysoki. Rozpatrując pałkę wodną jako potencjalną roślinę uprawną, określić ją można jako surowiec łatwo dostępny, tani i wydajny [10].

Wykorzystanie pałki wodnej sprowadza się obecnie do zdobienia ogrodów lub oczyszczania zbiorników wodnych. Znane są również przykłady jej wykorzystania jako surowca użytkowego, a nawet budowlanego. Pałka wodna wykazuje też właściwości lecznicze (moczopędne, antyseptyczne, przeciwzapalne, ściągające oraz przeciwkrwotoczne). Najistotniejszą, pod względem żywieniowym, zaletą pałki wodnej jest jej wartość odżywcza. Jadalne są wszystkie części morfologiczne, jednak najbardziej odżywcze są kłacza (szczególnie w okresie zimowym) oraz kolby (w okresie letnim). Kłacza można spożywać na surowo lub ugotowane. Można także wycisnąć z nich sok lub w wyniku gotowania otrzymać "galaretkę"; wysuszone i sproszkowane można stosować jak mączkę do pieczenia ciastek czy chleba [9].

Celiakia jest to enteropatia pokarmowa o charakterze autoimmunologicznym, określana również jako zespół złego wchłaniania. W wyniku spożycia produktów zawierających gluten powstają zmiany w błonie śluzowej jelita czczego, na skutek czego dochodzi do zaburzeń procesów trawienia i upośledzenia wchłaniania, a w efekcie do znacznych niedoborów wielu składników pokarmowych i ogólnego wyniszczenia organizmu [3]. Stwierdzono, że szkodliwość prolamin zbóż zależy od ich struktury, czyli rodzaju i kolejności aminokwasów zawartych w łańcuchach polipeptydowych. Toksyczne peptydy z A-gliadyny zawierają przynajmniej jeden z czterech motywów sekwencji aminokwasowych (PSQQ, QQQP, QQPY, QPYP) [5]. Jedynym sposobem leczenia osób cierpiących z powodu celiakii jest eliminacja z diety chorych produktów zawierających toksyczne białka glutenowe, a więc większości produktów zbożowych [13]. Prowadzi to do ograniczenia asortymentu produktów spożywczych przeznaczonych dla tej grupy osób. Znaczna część żywności przetworzonej, pomimo braku zadeklarowanych przez producenta składników zawierających białka glutenowe, jest zanieczyszczona mąkami glutenowymi [11]. Jest to najczęściej efektem wykorzystania tych samych linii produkcyjnych do przygotowania wielu produktów spożywczych. W związku z powyższym, rozpoczęto produkcję żywności przeznaczonej dla osób chorych na celiakię, opatrzonej graficznym znakiem przekreślonego kłosa (lub napisem „gluten-free”). Żywność ta jest jednak często monotonna pod względem smaku. Poszukiwane są nowe źródła pożywienia, które poszerzyłyby ofertę produktów bezglutenowych. Rośliną, która stanowić może potencjalne źródło białka bezglutenowego jest pałka wodna. Z jej kłacza otrzymać można mączkę, stanowiącą surowiec do produkcji tego rodzaju żywności.

Celem pracy było określenie zawartości frakcji glutenowej, powodującej reakcję chorobową u osób cierpiących na celiakię, w mączce pozyskanej z kłaczy pałki wodnej wąskolistnej.

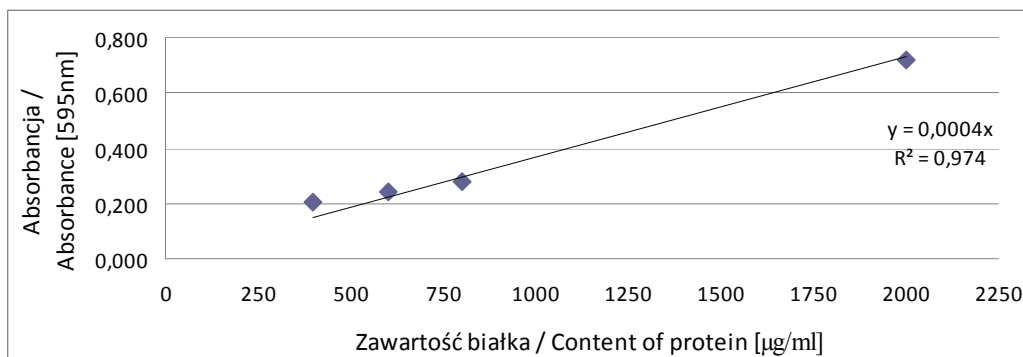
Materiał i metody badań

Materiał do badań stanowiły kłacza pałki wodnej wąskolistnej (*Typha angustifolia*), pobrane w okresie zimowym (styczeń 2009 r.) z trzech odmiennych środowiskowo zbiorników wodnych: stawu położonego w Puszczy Zielonce (k. Poznań), stawu hodowlanego w Osiecznej (k. Leszno) oraz jeziora w Osiecznej (k. Leszno).

Materiał pobrano w liczbie minimum 10 sztuk zdrowych kłaczy z przynajmniej 2 różnych stanowisk danego zbiornika. Po oczyszczeniu kłacza zliofilizowano, a następnie zmielono w celu otrzymania mączki.

Z mączek, otrzymanych z kłacza poszczególnych pałek wodnych wąskolistnych, ekstrahowano frakcję białkową za pomocą mieszaniny ekstrakcyjnej o nazwie Cocktail Solution® (Firma R-Biopharm) [6]. Ze względu na trudności w ekstrahowaniu gliadyn z badanego materiału zmodyfikowano podaną przez producenta metodę. Przyczyną trudności była zbyt duża lepkość mieszaniny, co uniemożliwiało jej swobodny przepływ, dlatego zmieniono proporcję mieszaniny ekstrakcyjnej w stosunku do naważki badanego materiału. Uwzględniono to następnie w trakcie wykonywania rozcieńczeń gotowych ekstraktów, w rezultacie czego w teście ELISA stosowano ekstrakt o stężeniu zgodnym z zaleceniem producenta. Z powodu małej stabilności ekstraktów tj. szybkiego wypadania białka z roztworu, ekstrakcję prowadzono bezpośrednio przed oznaczeniami immunoenzymatycznymi. Opisaną metodę poprzedzono badaniami wstępnymi, w trakcie których ekstrakcję przeprowadzono metodą klasyczną, tj. za pomocą wodnego roztworu etanolu (80 %). W efekcie uzyskano około dwu i półkrotnie wyższą wydajność ekstrakcji niż w przypadku ekstrakcji mieszaniną Cocktail Solution®. Nie zdecydowano się pozostać przy tej formie ekstrakcji ze względu na to, że rekomendowana przez producenta procedura jest standaryzowana wobec AOAC Research Institute (licencja nr 120601) [6].

Zawartość białka w ekstraktach z mączki pałki wodnej oznaczano zmodyfikowaną metodą Bradford [2]. Metoda ta polega na zmianie zabarwienia odczynnika Bradford w przypadku wytworzenia się w nim kompleksu białkowego. W tym celu ekstrakt mieszało z odczynnikiem Bradford w proporcji 5 : 200, a następnie po 5 min dokonywano pomiaru absorbancji przy długości fali 595 nm. Zmianę barwy mierzono spektrofotometrycznie, a wynik końcowy obliczano na podstawie krzywej wzorcowej zależności absorbancji od zawartości białka (rys. 1).



Rys. 1. Krzywa wzorcowa oznaczenia zawartości białka metodą Bradford

Fig. 1. Standard curve to determine content of total protein using a Bradford method

Białko ogółem oznaczano metodą Kjeldahla, wykorzystując aparaturę Foss Tecator (2006 Digestor; 2200 Kjeltex Auto Distillation).

Zawartość białek glutenowych, wywołujących reakcję chorobową u osób cierpiących z powodu celiakii, określono immunochemicznie za pomocą kanapkowego, bezpośredniego testu ELISA, przy użyciu zestawu odczynników do oznaczenia zawartości gliadyn Ridascreen® Gliadin R7001 (Firma R-Biopharm). Oznaczenie to bazuje na reakcji monoklonalnych przeciwciał z toksycznymi peptydami. Interpretacji wyników dokonywano na podstawie krzywej wzorcowej, wyznaczonej ze standardów dostarczonych przez producenta. Badanie przebiegało zgodnie z opracowaną przez producenta metodą, która jest standaryzowana wobec AOAC Research Institute (licencja nr 120601). Zgodnie z sugestią, nie ma konieczności zastosowania wszystkich dostępnych w zestawie standardów, dlatego w badaniu wykorzystano cztery o najmniejszej zawartości glutenu [6].

Wyniki i dyskusja

Zawartość białka ogółem w 100 g materiału doświadczalnego, a także frakcji gliadyn w 1 ml ekstraktu przedstawiono w tab. 1.

Zawartość białka ogółem w mączkach kłacza pałki wodnej wąskolistnej, pochodzącej z różnych zbiorników wodnych różniła się znacząco. Ponad dwukrotnie większą zawartością białka ogółem cechowało się kłacze pałki pobranej z jeziora w Osiecznej (13,16 %) w porównaniu z kłaczem pałek pobranych ze stawu w Puszczy Zielonce (4,19 %) i w Osiecznej (6,67 %). Może się to wiązać z wyższą klasą czystości wody pochodzącej z jezior niż stawów oraz mniejszym stopniem zamulenia zbiornika. Skuteczność ekstrakcji białka z trzech mączek kłaczy pałki wodnej była zbliżona i wyniosła 135 - 140 µg białka w 1 ml uzyskanych ekstraktów. Porównując wyniki zawartości białka ogółem z ilością białka wyekstrahowanego, stwierdzono brak korelacji między

odnośnymi wynikami. Przyczyną może być fakt, że udział białek glutenowych w białku klącza pałki wodnej nie jest cechą gatunkową danej rośliny. Może się to wiązać również z ograniczoną skutecznością zastosowanej ekstrakcji w przypadku badanego surowca, co sugerować mogą zbliżone wyniki zawartości białka w uzyskanych ekstraktach. Porównując jednak zawartość białka, pozyskanego z mączki klącza pałki wodnej szerokolistnej, ekstrahowanego zgodnie z metodyką zastosowaną w danym badaniu, która wahała się od 82,5 do 408,3 $\mu\text{g/ml}$ [8], twierdzenie o ograniczonej skuteczności tej ekstrakcji nie ma uzasadnienia.

Tabela 1

Zawartość białka ogółem w mące z klącza pałki wodnej wąskolistnej oraz białka w ekstrakcie mączki. Content of total protein in the flour made from rhizomes of narrow-leaved cattail and content of protein in the extract of flour

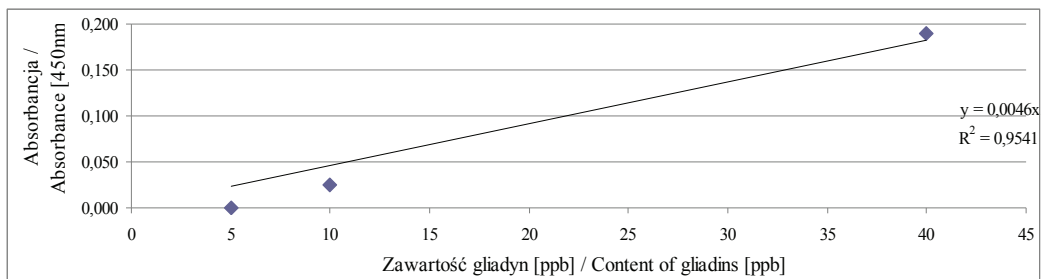
Miejsce zbioru rośliny Place of harvesting the plant	Białko ogółem [g/100vg] ($\bar{X} \pm \text{SD}$) Total protein	Białko w ekstrakcie [$\mu\text{g/ml}$] ($\bar{X} \pm \text{SD}$) Protein in extract
Staw w Puszczy Zielonce Pond in the Zielonka Forest	4,19 \pm 0,04 a	140,0 \pm 38,3 a
Jezioro w Osiecznej Lake in Osieczna	13,16 \pm 0,61 c	136,3 \pm 38,3 a
Staw hodowlany w Osiecznej Fish breeding pond in Osieczna	6,67 \pm 0,19 b	134,6 \pm 20,6 a

Objaśnienia:/ Explanatory notes:

\bar{X} – wartość średnia z trzech pomiarów / mean value of three measurements; SD – odchylenie standardowe / standard deviation; a,b,c – wartości średnie w kolumnach oznaczone odmiennymi indeksami różnią się od siebie statystycznie istotnie ($\alpha = 0,05$) / mean values in the same columns, denoted by different letters, vary statistically significantly among themselves at $\alpha = 0.05$.

Zastosowana metoda oznaczania zawartości glutenu jest obecnie jedną z najskuteczniejszych metod dostępnych na rynku laboratoryjnym. Oficjalną metodą detekcji glutenu w żywności, zaakceptowaną przez AOAC (Association of Analytical Communities) była analiza immunoenzymatyczna [1]. Był to kanapkowy test ELISA, z użyciem przeciwciał monoklonalnych, skierowanych przeciwko ω -gliadynom pszenicy. Zastosowana w badaniu R5 ELISA (uznana przez AOAC w 2006 r.), skierowana jest przeciw sekwencji peptydowej QQPYP, dzięki czemu test jest skuteczny w przypadku nie tylko gliadyny pszenicy, ale i hordeiny żyta i sekaliny ryżu [7]. Wspomniana konfiguracja aminokwasów jest termicznie oporna, dzięki czemu zwiększa się skuteczność testu w przypadku żywności poddanej ogrzewaniu, podczas gdy zdenaturowana ω -gliadyna jest niewykrywalna przez test podstawowy [12].

Zgodnie z sugestią firmy R-Biopharm, producenta zastosowanego testu, celem otrzymania jak najniższego poziomu detekcji wykonywanej analizy zastosowano standardy o najmniejszej zawartości glutenu. Wyniki pomiaru absorbancji wszystkich standardów były niższe od podanych przez producenta, a w przypadku standardu 5 µg/kg, czyli tego o najmniejszej zawartości glutenu były na poziomie próby zerowej. Mogło to być spowodowane zastosowaniem w badaniach zbyt długo przechowywanego zestawu odczynników do oznaczenia zawartości gliadyn (na granicy ważności), co zgodnie z sugestią producenta może spowodować obniżenie wyników pomiarów absorbancji ze względu na obniżenie immunoreaktywności zastosowanych przeciwciał. Z tego względu do interpretacji uzyskanych rezultatów przyjęto powyższe wyniki za równe zero. Czulość testu odnoszącego się do oznaczeń ilościowych wynosi 2,5 mg/kg w przypadku gliadyn, co w przeliczeniu na gluten wynosi 5 mg/kg, gdyż zakłada się, że frakcja gliadynowa stanowi połowę białek glutenowych. Odrzucenie wyniku uzyskanego w przypadku najmniejszego standardu wpłynęło na zmianę czulości metody, dlatego też czulość została wyznaczona przez kolejny najniższy użyty standard, czyli 10 µg/kg. W rezultacie w odniesieniu do oznaczeń ilościowych uzyskano próg detekcji równy 5 mg/kg frakcji gliadynowej i 10 mg/kg białek glutenowych. Zgodnie z zaleceniami Kodeksu Żywnościowego [4] środek spożywczy uznawany jest za bezglutenowy, jeżeli zawiera mniej niż 200 mg/kg glutenu, dlatego taka modyfikacja nie wpłynęła w istotny sposób na czulość wykonanego oznaczenia. Uzyskaną krzywą wzorcową wraz z równaniem prostej opisującym zależność wyników pomiaru absorbancji od stężenia gliadyn przedstawiono na rys. 2.



Rys. 2. Krzywa wzorcowo oznaczenia zawartości białek (gliadyn) w ekstraktach z mączki kłaczy pałki wodnej wąskolistnej.

Fig. 2. Standard curve to determine content of protein (gliadins) in flour extracts made from rhizomes of narrow-leaved cattail.

Wyniki pomiaru absorbancji w ekstraktach z mączki kłaczy pałki wąskolistnej z zastosowaniem testu Ridascreen® Gliadin były zbliżone do wartości absorbancji próby zerowej i dlatego przyjęto powyższe wyniki za równe zero. Na podstawie prze-

przewodzonych badań stwierdzono, że mączka z klączy pałki wodnej wąskolistnej, niezależnie od warunków wzrostu, nie zawiera peptydów wywołujących celiakię i może być stosowana w produktach przeznaczonych dla osób na nią cierpiących.

Wnioski

1. Przeprowadzone badania z wykorzystaniem zestawu odczynników do oznaczania zawartości gliadyn Ridascreen® Gliadin wykazały, że mączka z klączy pałki wodnej wąskolistnej, niezależnie od warunków wzrostu, nie zawiera peptydów wywołujących celiakię.
2. Zawartość białka ogółem w mączce z klączy pałki wodnej wąskolistnej jest zmienna w zależności od miejsca zbioru rośliny.
3. Mączka z klączy pałki wodnej z jeziora cechowała się ponad dwukrotnie większą zawartością białka ogółem w porównaniu z mączką klączy pałek ze stawów.
4. Zawartość białka w ekstraktach mączki z klączy pałki wodnej wąskolistnej jest nieskorelowana z zawartością białka ogółem w samej mączce.

Literatura

- [1] Association of Analytical Communities Official Methods 991.19: Gliadin as a measure of gluten in food. Colorimetric monoclonal antibody enzyme immunoassay methods. First action 1991. Final action 2001. Gaithersburg, MD: AOAC International, 2005.
- [2] Bradford M.: A rapid and sensitive method of the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of dye-binding. *Anal. Biochem.*, 1976, **72**, 248-254.
- [3] Ciclitira P.J., Moodie S.J.: Transition of care between pediatric and adult gastroenterology. Coeliac disease. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.*, 2003, **17**, 181-195.
- [4] Codex Alimentarius 19' ed., http://www.codexalimentarius.net/web/procedural_manual.jsp, 2010.
- [5] Darewicz M., Dziuba J.: Dietozależny charakter enteropatii pokarmowych na przykładzie celiakii. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **1 (50)**, 5-15.
- [6] Instrukcja R-Biopharm, Ridascreen® Gliadin R7001, http://www.r-biopharm.com/product_site.php?product_id=252, 2008.
- [7] Joint Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization Food Standards Program: Report of the Twenty-seventh session of the Codex Committee on methods of analysis and sampling. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization, 2006, p. 8.
- [8] Kurzawska A., Górecka D., Kwiatkowska-Piasecka D.: Zawartość glutenu w klączy pałki wodnej szerokolistnej (*Typha latifolia*). Dane niepublikowane.
- [9] Morton J.F.: Cattails (*Typha spp.*) – Weed problem or potential crop. *Economic Botany*, 1975, **29**, 7-29.
- [10] Sculthorpe C.D.: The biology of aquatic vascular plants. Arnold, London 1967.
- [11] Storsrud S., Malmheden Yman I., Lenner R.A.: Gluten contamination in oat products and products naturally free from gluten. *Eur. Food Res. Technol.*, 2003, **217**, 481-485.
- [12] Thompson T., Mendez E.: Commercial assays to assess gluten content of gluten-free foods: why they are not created equal. *J. Am. Diet. Assoc.*, 2008, **108**, 1682-1687.

- [13] Wieser H., Koehler P.: The biochemical basis of celiac disease. *Cer. Chem.*, 2008, 85 (1) 1-13.

**CONTENT OF GLUTEN IN RHIZOME OF NARROW-LEAVED CATTAIL
(*TYPHA ANGUSTIFOLIA*)**

S u m m a r y

The only way to treat people suffering from celiac disease is to eliminate products containing gluten proteins from the diet. Researches have been carried out to find new sources of gluten-free food; among them, the cattail (*Typha spp*) can be counted. It is possible to grind its rhizomes and to get a baking flour to make cakes, bread, and biscuits.

The objective of the study was to determine the content of gluten fraction in the flour produced from rhizomes of the narrow-leaved cattail that caused a disease response in persons with the celiac disease.

The experimental material comprised rhizomes of the narrow-leaved cattail (*Typha angustifolia*), harvested in three water reservoirs during the winter period (January 2009), i.e. in a pond in the Zielonka Forest (the Province of Wielkopolska), in a lake and a fish breeding pond in Osieczna (near Leszno).

The test for gluten was conducted by means of immunoassay methods using the products from an R-Biopharm Company: Cocktail Solution ® and Ridascreen gliadin kit ® Gliadin R7001 (AOAC 120601). The content of total protein was determined by a Kjeldahl method using a Foss Tecator apparatus. The content of Gliadin protein in the extracts was determined photometrically using a Bradford reagent.

Based on the results obtained, it was found that the flour from rhizomes of the narrow-leaved cattail did not contain any peptides that caused celiac disease. Thus, this flour can be used in the products for people suffering from this disease. The content of total protein in the flour varied depending on the place where the plants were harvested. The content of the protein fraction in the flour extracts produced from rhizomes of the narrow-leaved cattail was not correlated with the content of total protein in the flour alone.

Key words: narrow-leaved cattail (*Typha angustifolia*), rhizome, gluten, Ridascreen ® Gliadin R7001 ☒

MIROSLAW ŻMIJEWSKI

JAKOŚĆ CIASTA I CHLEBA PSZENNO-GRYCZANEGO W ZALEŻNOŚCI OD DODATKÓW TECHNOLOGICZNYCH

Streszczenie

Celem pracy była ocena wpływu wybranych dodatków technologicznych na właściwości ciasta i jakość chleba pszenno-gryczanego z udziałem otrębów gryczanych. Materiałem badawczym były mieszanki mąki pszennej i otrębów gryczanych. Otręby były zamiennikami mąki pszennej w ilości 10, 20 i 30 %. Ponadto w celu poprawienia jakości pieczywa do mieszanek dodawano suchy gluten pszenno-gryczany lub proszek do pieczenia w ilości 2 i 4 %. W mące pszennej oraz sporządzonych mieszankach oznaczono zawartość białka ogółem, właściwości reologiczne ciasta przy wykorzystaniu farinografu Brabendera, właściwości kompleksu amylozowo-skrobiowego stosując amylograf Brabendera oraz wykonano wypiek laboratoryjny chleba metodą Biskupskiego. Otręby gryczane odznaczały się znacznie większą zawartością białka ogółem niż mąka pszenno-gryczana. Wartości cech amylograficznych ciasta wzrastały wraz z dodatkiem otrębów gryczanych. Zastosowanie substancji spulchniających powodowało znaczne zwiększenie maksymalnej lepkości ciasta w porównaniu z materiałem: bez dodatków technologicznych oraz z glutenem. Wzrost udziału otrębów gryczanych w mieszankach przyczynił się do zwiększenia wodochłonności badanych prób. Czas rozwoju i rozmiękczenie ciasta mieszanek z otrębami gryczanymi miały wyższe wartości niż próby bez ich dodatku. Czas rozwoju i stałość ciasta były najdłuższe w przypadku mieszanek z 10 % udziałem otrębów. Zastosowanie proszku do pieczenia w mieszankach wpłynęło na zmniejszenie wodochłonności oraz poprawę właściwości reologicznych ciasta w odniesieniu do materiału: bez dodatków technologicznych i z suchym glutenem pszenno-gryczanym. Największą objętością odznaczały się chleby uzyskane z mieszanek mąki pszenno-gryczanej i 10 % otrębów gryczanych. Zastosowanie proszku do pieczenia i zwiększanie jego udziału w próbach wpływało niekorzystnie na objętość chleba. Natomiast dodatek suchego glutenu pszenno-gryczanego i rosnąca jego dawka nie powodowały istotnych zmian objętości chleba w stosunku do pieczywa bez dodatków technologicznych.

Słowa kluczowe: orzeszki gryczane, otręby, suchy gluten, proszek do pieczenia, jakość

Wprowadzenie

Na światowym rynku żywności prozdrowotnej duże zainteresowanie wzbudza żywność funkcjonalna, czyli produkty, które oprócz tradycyjnej funkcji, jaką jest efekt

odżywczy, oddziałują w sposób fizjologiczny i/lub psychologiczny na organizm człowieka [17].

Najważniejszym kryterium, które decyduje o zastosowaniu gryki do produkcji żywności funkcjonalnej, jest wysoka wartość odżywcza białka orzeszków [20]. Białko gryki ma wartość biologiczną wyższą od białka mięsa wieprzowego, kazeiny, mączki rybnej i tylko nieco niższą od białka jaja kurzego [30]. Odnacza się dużą zawartością lizyny, argininy, kwasu asparaginowego, tryptofanu i treoniny, natomiast mniejszą kwasu glutaminowego, proliny, waliny i metioniny [18]. W porównaniu z białkiem innych roślin uprawnych gryka ma niższy stosunek Lys/Arg i Met/Arg. Liczne przeprowadzone doświadczenia wskazują, że ze względu na tę cechę białkowe ekstrakty z gryki mogą znaleźć zastosowanie jako funkcjonalne dodatki do żywności w leczeniu niektórych chorób cywilizacyjnych, takich jak: nadciśnienie, otyłość, choroby nowotworowe, alkoholizm [3]. Białkowe preparaty gryczane przyczyniają się do zapobiegania rozwojowi nowotworu jelita grubego i sutka, hamują powstawanie kamieni żółciowych oraz obniżają poziom cholesterolu we krwi [3, 15, 16]. Badania przeprowadzone przez Prestamo i wsp. [25] dowodzą, że gryka może być czynnikiem, który korzystnie wpływa na skład mikroflory jelita. Brak alergizujących prolamin w mące gryczanej decyduje o wykorzystywaniu gryki do produkcji żywności spożywanej przez ludzi wrażliwych na białka glutenowe [28].

Orzeszki gryki mają bardzo wiele zalet żywieniowych, a jedną z ważniejszych jest obecność przeciwutleniaczy. Należą do nich związki flawonoidowe oraz kwasy fenolowe [24]. Działanie polifenoli może odbywać się poprzez: wygaszanie wolnych rodników, unieczynnianie jednoatomowego tlenu, a tym samym utrudnianie początku reakcji wolnorodnikowych czy hamowanie aktywności enzymów utleniających [9]. Doświadczenia prowadzone przez Dietrych-Szóstak i Oleszka [4] wykazały, że w nieobłuszczonych orzeszkach gryki znajduje się sześć flawonoidów: rutyna, kwercetyna, witeksyna, izowiteksyna, orientyna i izoorientyna.

Najbardziej przydatną substancją w przemyśle jest rutyna – glikozyd, który wykorzystuje się w przemyśle farmaceutycznym, m.in. do leczenia miażdżycy, nadciśnienia, zapalenia opłucnej, otrzewnej, wsierdza, reumatyzmu, jaskry czy zapalenia nerek [26]. Glikozyd ten przeciwdziała łamliwości naczyń krwionośnych poprzez zmniejszenie przepuszczalności ścian włosowatych, a także pomaga w przyswajaniu witaminy C [7].

Wypiek pieczywa z mąki gryczanej nie jest możliwy ze względu na nieobecność lub bardzo niewielką zawartość białek glutenowych. Natomiast w połączeniu z mąką pszenną, w proporcji 2 : 3, można uzyskać pieczywo o bardzo ciekawych walorach smakowych i zapachowych [18]. Wykorzystanie naturalnych dodatków często wymaga zastosowania substancji polepszających [5]. Spośród preparatów białkowych szerokie zastosowanie w piekarstwie ma gluten suchy. Jest to proszek, który po uwodnieniu uzyskuje właściwości zbliżone do naturalnego glutenu mokrego [1]. Dodatek glutenu

do mąki poprawia i stabilizuje jej jakość, natomiast do ciasta – wpływa na jego właściwości reologiczne i cechy uzyskanego pieczywa [12]. W celu poprawy jakości pieczywa można stosować również środki spulchniające, popularnie zwane prozkami do pieczenia. Zawierają one substancje gazotwórcze, wyzwalacze i stabilizatory. Składnikiem spulchniającym jest CO₂ uwalniany podczas rozkładu wodorowęglanu sodu bądź amonu w warunkach odpowiedniej temperatury (60 - 70 °C) i wilgotności [29].

Gryka jako roślina alternatywna cieszy się coraz większym zainteresowaniem na rynku żywności funkcjonalnej. Jednak mimo wzrostu popularności badania prowadzone na tym zbożu są nieliczne.

Celem niniejszej pracy było określenie wpływu wybranych dodatków technologicznych na właściwości ciasta i jakość chleba pszenno-gryczanego z udziałem otrąb gryczanych.

Material i metody badań

Materiałem badawczym były obłuszczone orzeszki gryczane handlowe. Otręby gryczane, otrzymane po przemiale obłuszczonych orzeszków gryczanych w młynie Quadrumat Junior, stosowano jako zamiennik mąki pszennej typu 550, wyprodukowanej przez firmę Diamant Stradunia Sp. z o.o. Mieszanki pszenno-gryczane zawierały 10, 20 i 30 % otrąb gryczanych w stosunku do masy mąki. Próbę kontrolną stanowiła mąka pszenna. Dodatkowo do mieszanek i mąki pszennej zastosowano dodatki technologiczne: suchy gluten witalny i proszek do pieczenia, w dawkach 2 i 4 %. Suchy gluten witalny pochodził z firmy Cargill (Polska) Sp. z o.o., a proszek do pieczenia (substancje spulchniające: wodorowęglan sodu i difosforan disodowy) został wyprodukowany przez firmę FoodCare Sp. z o.o. – Gellwe. Próbkami kontrolnymi były mąka pszenna i mieszanki pszenno-gryczane bez udziału dodatków technologicznych.

W mące pszennej, mieszankach i otrębach gryczanych oznaczano zawartość białka ogółem metodą Kjeldahla (N x 5,7) [21]. Właściwości układu amylozowo-skrobiowego mąki pszennej i mieszanek pszenno-gryczanych określano przy użyciu amylografu firmy Brabender [23]. Jakość ciasta pszenno-gryczanego oceniano wykorzystując farinograf Brabendera [22]. Z mąki pszennej i mieszanek pszenno-gryczanych wyrabiano i pieczono chleb metodą Biskupskiego, opisaną przez Karolinę-Skaradzińską i wsp. [13]. Chleb oceniano pod względem: objętości (stosując aparat SA-WY – ZBPP Bydgoszcz), nadpieku oraz porowatości miękiszu według 8-punktowej skali Dallmanna [10].

Otrzymane wyniki opracowano statystycznie, stosując analizę wariancji przy jednokierunkowej klasyfikacji i trzech zmiennych (dodatek otrąb gryczanych, rodzaj oraz ilość polepszacza). Zróżnicowanie wartości średnich oceniono testem Duncana, określając grupy jednorodne przy $P \geq 0,95$. Do obliczeń wykorzystano program statystyczny Statgraphics 6,0 plus.

Wyniki i dyskusja

Doświadczenia żywieniowe dowiodły, że ziarno gryki jest jednym z najlepszych roślinnych źródeł białek biologicznie czynnych [8]. Wg Bonafaccia i wsp. [2], zawartość tego składnika w mące wynosi 10,6 % s.m., a w otrębach 21,6 % s.m. W badaniach własnych ilość białka w otrębach kształtowała się na poziomie 29,1 % s.m. (tab. 1). Rozbieżności otrzymanych ilości białka mogą wynikać nie tylko z różnic genetycznych badanego materiału, ale także z różnych warunków glebowo-pogodowych w czasie wegetacji roślin, stosowanych zabiegów agrotechnicznych lub ze zróżnicowanej technologii otrzymywania otrąb [20]. W ziarnie pszenicy zawartość białka kształtuje się średnio na poziomie 13 %, choć może wahać się od 9 do 23 % [11]. W badaniach własnych w mące pszennej stanowiącej próbę kontrolną zawartość białka ogółem wynosiła 11,9 % s.m. W mieszankach wzrastała wraz ze wzrostem dodatku otrąb do mąki pszennej.

Tabela 1

Zawartość białka ogółem [% s.m.]
Content of protein [% d.m.]

Mąka pszenna typ 550 Wheat flour, type 550	Otręby gryczane Buckwheat brini	Mąka pszenna + 10 % otrąb gryczanych Wheat flour + 10 % buckwheat brini	Mąka pszenna + 20 % otrąb gryczanych Wheat flour + 20 % buckwheat brini	Mąka pszenna + 30 % otrąb gryczanych Wheat flour + 30 % buckwheat brini
11,9	29,1	13,6	14,7	15,1

Temperatura początkowa kleikowania, oznaczająca wzrost lepkości kleiku skrobi pszennej, kształtuje się średnio na poziomie 60 °C, zaś końcowa, która wskazuje spadek lepkości – 88 °C [10]. Skrobia gryczana odznacza się odmiennym zakresem temperatury kleikowania. W badaniach przeprowadzonych przez Kozaczenko i Kasińską [19] dowiedziono, że kształtuje się ona w zakresie 82 - 94 °C. W tym samym doświadczeniu określono również maksymalną lepkość kleików mącznych, która wynosiła 740 AU. Dojczew i wsp. [5] badali natomiast wpływ naturalnych dodatków, w tym mąki gryczanej, na cechy amylograficzne mąki pszennej. Stwierdzili, że zwiększenie dodatku mąki gryczanej powoduje wzrost maksymalnej lepkości kleików mącznych. Natomiast początkowa i końcowa temperatura kleikowania nie ulega istotnym zmianom. W badaniach własnych dowiedziono, że końcowa temperatura kleikowania, czas kleikowania i maksymalna lepkość zależały od wielkości dodatku otrąb i były one najwyższe przy 30 % udziale produktów gryczanych (tab. 2). Temperatura początkowa kleikowania nie zależała od zastosowanego dodatku. Rozbieżności te mogą wynikać z zastosowania odmiennego produktu gryczanego w badaniach wymienionych autorów

i badaniach własnych, a także zróżnicowanego stopnia uszkodzenia gałeczek skrobiowych gryki podczas jej przemiatu. W pracy własnej próby, w których stosowano jako polepszacz proszek do pieczenia charakteryzowały się wyższą temperaturą początkową kleikowania, czasem kleikowania oraz maksymalną lepkością niż mieszanki z glutenem witalnym.

Tabela 2

Cechy amylograficzne mieszanek pszenno-gryczanych.
Amylographic properties of wheat-buckwheat mixtures.

Czynnik Factor		Początkowa temperatura kleikowania Initial temperature of gelatinization [°C]	Końcowa temperatura kleikowania Final temperature of gelatinization [°C]	Czas kleikowania Time of gelatinization [min]	Maksymalna lepkość kleiku Maximum viscosity [AU]
Dodatek otrąb Bran additives [%]	0	57,9a	85,4c	37,0d	1224b
	10	57,2a	85,3c	37,3c	1106c
	20	57,2a	86,8b	37,8b	1240b
	30	57,7a	88,0a	38,8a	1321a
Dodatki tech- nologiczne Technological additives	brak without	57,8a	86,3a	37,9a	1063b
	suchy gluten dry gluten	57,1b	86,1a	37,4b	996c
	proszek do pieczenia baking powder	57,7a	86,7a	38,0a	1611a
Ilość dodatku technologicznego Amount of technological additives [%]	0	57,8a	86,3a	37,9a	1063b
	2	57,3a	86,4a	37,7a	1300a
	4	57,5a	86,5a	37,8a	1307a

a, b, c - grupy jednorodne według testu Duncana / a, b, c – homogenous groups according to the Duncan's test

Poznanie cech fizycznych ciasta i jego zachowanie się podczas procesu tworzenia i dalszego mieszenia jest niezwykle pomocne w przemyśle piekarskim [27]. Przy stosowaniu różnego rodzaju dodatków należy zbadać ich wpływ na cechy farinograficzne otrzymanego ciasta. Dojczew i wsp. [5] przeprowadzili ocenę farinograficzną mąki

pszennej z różnymi dodatkami, m.in. mąki gryczanej. Stwierdzili, że wodochłonność ulegała niewielkim zmianom, wartości czasu rozwoju i stałości ciasta zwiększały się wraz z zastosowanym dodatkiem mąki gryczanej, rozmięczenie natomiast pozostawało bez zmian. W badaniach własnych zaobserwowano istotny wpływ dodatku otrąb gryczanych na wodochłonność mąki, była ona tym większa, im większy był udział otrąb w mieszance (tab. 3). Według Dojczew i wsp. [5] zmiany tej cechy mogą być spowodowane zmniejszeniem zawartości glutenu oraz wprowadzeniem dodatkowych ilości skrobi. W obecnej pracy czas rozwoju ciasta i rozmięczenie w przypadku mieszanek z produktem gryczanym były znacznie większe niż w przypadku próby kontrolnej. Większe rozmięczenie ciasta było następstwem zmniejszenia zawartości glutenu i osłabienia struktury ciasta [5]. Liczba jakości nie uległa istotnym zmianom. Dodatek glutenu witalnego do prób powodował zwiększenie wodochłonności mąki. Według Jurgi [12] mąka wzbogacona tym polepszaczem wykazuje wzrost wodochłonności o ok. 10 - 15 %. Autor ten twierdzi, że dodatek glutenu witalnego w istotny sposób wpływa na poprawę cech reologicznych ciasta. W oznaczeniu farinograficznym obserwuje się wydłużenie czasu rozwoju ciasta oraz zmniejszenie rozmięczenia, co potwierdzają badania własne. Ciasto staje się mniej lepkie, wykazuje zmniejszoną adhezję i większą wytrzymałość na rozrywanie. W obecnych badaniach wykazano również, że dodatek proszku do pieczenia mocno wydłużył czas rozwoju i stałość ciasta oraz zwiększył liczbę jakości.

Dopiero po przeprowadzeniu wypieku laboratoryjnego można uzyskać pełny obraz wartości wypiekowej mąki na podstawie otrzymanego produktu oraz przebiegu poszczególnych faz prowadzenia ciasta [10]. W badaniach własnych oceniano objętość chleba, nadpiek, porowatość miękiszu oraz cechy sensoryczne pieczywa. Stwierdzono, że objętość uzyskanego pieczywa zwiększyła się w przypadku dodatku 10 % otrąb w porównaniu z próbą kontrolną, natomiast przy wyższym ich udziale nastąpiło obniżenie wartości tej cechy (tab. 4). Dziki i Laskowski [6] wykorzystali do wypieku mieszanki mąki pszennej i gryczanej. Objętość uzyskanego przez nich pieczywa zmniejszała się na skutek wzrostu udziału mąki gryczanej. Największe zmiany objętości uzyskano przy 30 i 40 % dodatku. Powodowało to wzrost twardości, elastyczności, gumowatości i zuwalności, natomiast zmniejszenie spoistości. Również Dojczew i wsp. [5] wykazali, że dodatek mąki gryczanej powoduje zmniejszenie objętości uzyskanych chlebów. Zmniejszenie objętości chleba pszenno-gryczanego może być spowodowane zmniejszeniem zawartości frakcji tworzących kompleks glutenowy.

Tabela 3

Cechy farinograficzne mieszanek pszenno-gryczanych.
Farinographic properties of wheat-buckwheat mixtures.

Czynnik Factor		Wodochłonność mąki Water absorption of flour [ml]	Czas rozwoju ciasta Development time of dough [min]	Stalność ciasta Dough stability [min]	Liczba jakości Quality number [mm]	Rozmięczenie Softening [FU]
Dodatek otrąb Bran additives [%]	0	56,1d	2,0c	5,4b	74a	53c
	10	58,0c	6,9a	8,0a	105a	90b
	20	59,ab	5,4b	4,7b	84a	105a
	30	60,9a	5,1b	4,4b	78a	99a
Dodatki technologiczne Technological additives	brak without	59,1b	4,0b	3,7b	58b	105a
	suchy gluten dry gluten	60,3a	4,3b	4,1b	70b	96b
	proszek do pieczenia baking powder	56,4c	6,2a	9,1a	127a	60c
Ilość dodatku technologicznego Amount of technological additives [%]	0	59,1a	4,0b	3,7c	58c	105a
	2	58,5b	4,7b	5,8b	85b	72b
	4	58,1c	5,8a	7,4a	112a	56c

a, b, c – grupy jednorodne według testu Duncana / a, b, c – homogenous groups according to the Duncan's test

W celu poprawy objętości pieczywa Dojczew i wsp. [5], obok naturalnych dodatków, zastosowali także 3 % glutenu witalnego. Podobnie w doświadczeniu własnym nastąpił wzrost objętości pieczywa, ale nie w takim stopniu jak tego oczekiwano (tab. 4 i 5). Jurga [12] stwierdził, że dodatek glutenu suchego w ilości 2 - 3 % do mąki o słabych właściwościach wypiekowych jest wystarczający i powoduje poprawę wartości wypiekowej. W badaniach własnych wykazano również, że dodatek proszku do pieczenia miał niekorzystny wpływ na objętość chleba (tab. 4 i 5). Może być to spowodowane nadmiernym wzmocnieniem glutenu przez substancje spulchniające.

Tabela 4

Cechy wypiekowe mieszanek pszenno-gryczanych.
Baking properties of wheat-buckwheat mixtures.

Czynnik Factor		Objętość chleba ze 100 g mąki Bread volume made of 100 g flour [cm ³]	Nadpiek chleba Bread overbake [%]	Porowatość miękiszu wg skali Dallmanna [pkt] Crumb porosity according to Dallmann's scale [points]
Dodatek otrąb Bran additives [%]	0	518b	48,8a	5,0b
	10	538a	46,9a	6,0a
	20	508b	46,0a	6,5a
	30	461c	48,2a	6,7a
Dodatki technologiczne Technological additives	brak no additives added	514a	47,7a	6,3a
	suchy gluten dry gluten	523a	48,3a	5,5a
	proszek do pieczenia baking powder	482b	46,7a	6,6a
Ilość dodatku technologicznego Amount of technological additives [%]	0	514a	47,7a	6,3a
	2	510a	47,7a	5,8a
	4	494b	47,3a	6,a

a, b, c – grupy jednorodne według testu Duncana / a, b, c – homogenous groups according to the Duncan's test

Wartości nadpieku chlebów z dodatkiem otrąb czy polepszaczy nie różniły się istotnie i były porównywalne z cechami chleba wypieczonego wyłącznie z mąki pszennej. Porowatość miękiszu chleba wg skali Dallmanna została najwyżej oceniona w przypadku chlebów wypieczonych z mieszanek mąki pszennej z otrębami gryczanymi.

Tabela 5

Objętość pieczywa. Interakcja: rodzaj dodatku technologicznego x ilość dodatku technologicznego
Bread volume. Interaction: technological additives x amount of technological additives

Dodatki technologiczne Technological additives	Ilość dodatku technologicznego Amount of technological additives [%]		Ilość dodatku technologicznego Amount of technological additive [%]	Dodatki technologiczne Technological additives	
	2	4		Suchy gluten Dry gluten	Proszek do pieczenia Baking powder
Brak No additives added	514ab	514a	0	514a	514a
Suchy gluten Dry gluten	530a	525a	2	530a	488a
Proszek do pieczenia Baking powder	488b	444b	4	525a	444b

a, b – grupy jednorodne według testu Duncana / a, b – homogenous groups according to the Duncan's test

Wnioski

- Otręby gryczane charakteryzowały się większą zawartością białka niż mąka pszena, co korzystnie wpływało na zawartość tego składnika w mieszankach.
- Wartości większości cech amylograficznych rosły wraz z wielkością dodatku otrąb w mieszankach. Udział środków spulchniających w próbach przyczynił się do zwiększenia maksymalnej lepkości kleików w porównaniu z materiałem z glutenem witalnym i prób bez dodatków technologicznych.
- Otręby gryczane wpływały korzystnie na wodochłonność i czas rozwoju ciasta. Rozmięczenie ciasta mieszanek z otrębami gryczanymi było większe niż próby bez ich dodatku. Czas rozwoju i stałość ciasta były najdłuższe przy 10 % udziale produktu gryczanego. Zastosowanie proszku do pieczenia w mieszankach wpłynęło niekorzystnie na wodochłonność, ale poprawiło właściwości reologiczne ciasta w porównaniu z materiałem bez dodatków technologicznych i z suchym glutenem pszennym.
- Największą objętość chleba uzyskano z mieszanek mąki pszennej i 10 % otrąb gryczanych. Zastosowanie proszku do pieczenia wpłynęło niekorzystnie na objętość chleba. Dodatek suchego glutenu pszennego nie powodował istotnych zmian objętości pieczywa w porównaniu z chlebem bez dodatku technologicznego.

Literatura


- [1] Ambroziak Z., Piesiewicz H.: Gluten witalny – surowiec o wzrastającym znaczeniu dla przetwórstwa zbóż i piekarstwa. *Przegl. Zboż. Młyn.*, 1996, **7**, 6-10.
- [2] Bonaffacia G., Marocchini M., Kret I.: Composition and technological properties of the flour and bran from common and tatar buckwheat. *Food Chem.*, 2003, **80**, 9-15.
- [3] Christa K., Soral-Śmietana M.: Gryka – cenny surowiec w produkcji żywności funkcjonalnej. *Przem. Spoż.*, 2007, **12**, 36-37.
- [4] Dietrych-Szóstak D., Oleszek W.: Effects of processing on the flavonoid content in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Möench) grain. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47**, 4384-4387.
- [5] Dojczew D., Kosiewicz D., Lewczuk J.: Wpływ dodatków naturalnych na jakość pieczywa pszennego. *Przegl. Piek. Cukier.*, 1996, **7**, 35-36.
- [6] Dziki D., Laskowski J.: Wpływ dodatku mąki gryczanej do mąki pszennej na wybrane cechy ciasta i miększu pieczywa. *Acta Agrophysica*, 2005, **6 (3)**, 617-624.
- [7] Fessas D., Signorelli M., Pagani A., Mariotti M., Iametti S., Schiraldi A.: Guidelines for buckwheat enriched bread. Thermal analysis approach. *J. Therm. Anal. Calorim.*, 2008, **91(1)**, 9-16.
- [8] Gąsiorowski H.: Gryka. Część 2. Charakterystyka chemiczno żywnościowa. *Przegl. Zboż.-Młyn.*, 2008, **8**, 14-16.
- [9] Heś M., Korczak J., Górecka D., Szymandera-Buszk K.: Przeciwtleniające właściwości ekstraktów kaszy gryczanej. *Fragmenta Agronomiae*, 2006, **1 (89)**, 58-66.
- [10] Jakubczyk T., Haber T. (pod red.): Analiza zbóż i przetworów zbożowych. Wyd. SGGW-AR. Warszawa 1983.
- [11] Jasińska Z., Kotecki A.: Szczegółowa uprawa roślin. T. I. Wyd. AR we Wrocławiu. Wrocław 2003.
- [12] Jurga R.: Wpływ dodatku suchego glutenu na jakość mąki i pieczywa. *Przegl. Zboż. Młyn.*, 2005, **6**, 29-31.
- [13] Karolini-Skaradzińska Z., Subda H., Korczak B., Kowalska M., Żmijewski M., Czubaszek A.: Ocena technologiczna ziarna i mąki wybranych odmian pszenicy. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2001, **2 (27)**, 68-77.
- [14] Kawka A., Gąsiorowski H.: Produkty owsiane w piekarstwie. *Przegl. Piek. Cukier.*, 1995, **4**, 4-5.
- [15] Kayashita J., Shimaoka I., Nakajoh M., Kato N.: Feeding of buckwheat protein extract reduces hepatic triglyceride concentration, adipose tissue weight, and hepatic lipogenesis in rats. *Nutritional Biochemistry*, 1996, **7**, 555-559.
- [16] Kayashita J., Shimaoka I., Nakajoh M., Kishida N., Kato N.: Composition of a buckwheat protein extract retards 7,12 - dimethylbenz (alpha) - anthracene-induced mammary carcinoma - genesis in rats. *Biosci., Biotechnol. Biochem.*, 1999, **63**, 1837-1839.
- [17] Klepacka J., Fornal Ł.: Związki biologicznie aktywne gryki i ich funkcje prozdrowotne. *Fragmenta Agronomiae*, 2006, **1 (89)**, 78-89.
- [18] Kowalewski W., Gałązka R., Gąsiorowska T.: Technologia czyszczenia i przerobu gryki na kaszę. *Przegl. Zboż. Młyn.*, 2004, **6**, 12-14.
- [19] Kozaczenko H., Kasińska M.: Badania przydatności herbicydów w gryce oraz ich wpływu na biologiczną i technologiczną wartość nasion. *Mat. VII Krajowego Sympozjum „Fizjologia wzrostu, rozwoju i żywienia oraz technologia produkcji i jakość ziarna gryki”*, Puławy 1991, ss. 81-91.
- [20] Pisulewska E., Szymczyk B., Zajac T.: Ocena składu chemicznego i wartości odżywczej białka orzeszków polskich odmian gryki w świetle współczesnych kryteriów żywieniowych. *Zesz. Nauk. AR w Krakowie*, 2001, **392**, 95-101.
- [21] PN-75/A-04018. Produkty rolniczo-żywnościowe. Oznaczenia azotu metodą Kjeldahla i przeliczenie na białko.

- [22] PN-ISO 5530-1:1999. Mąka pszenna. Fizyczne właściwości ciasta. Oznaczanie wodochłonności i właściwości reologicznych za pomocą farinografu.
- [23] PN-ISO 7973:2001. Ziarno zbóż i przetwory zbożowe. Oznaczanie lepkości mąki. Metoda z zastosowaniem amylografu.
- [24] Podolska G.: Gryka – źródło zdrowia. *Więś jutra*, 2006, **4**, 15-17.
- [25] Prestamo G., Pedrazuela A., Penas E., Lasunció M.A., Arroyo G.: Role of buckwheat diet on rats as prebiotic and healthy food. *Nutrition Research*, 2003, **23**, 803-814.
- [26] Procyk A.: Gryka i proso – cenne rośliny użytkowe i lecznicze oraz ich uprawa. *Ogród Roślin Leczniczych AM we Wrocławiu*, 1995, **3**, 7-9.
- [27] Rothkaehl J.: Ocena farinograficzna ziarna pszenicy i mąki pszennej. *Przeł. Zboż. Młyn.*, 2001, **12**, 24-26.
- [28] Sensoy I., Rosen R.T., Ho C., Karwe M.: Effect of processing on buckwheat phenolics and antioxidant activity. *Food Chem.*, 2006, **99**, 388-393.
- [29] Sikorski Z.: *Chemia żywności. Tom 1. Składniki żywności*. WNT, Warszawa 2009.
- [30] Szczukowski S., Tworowski J.: Gryka, roślina alternatywna o wielorakich możliwościach wykorzystania. *Fragmenta Agronomii*, 1994, **3 (43)**, 55-59.

QUALITY OF DOUGH AND BREAD MADE OF WHEAT FLOUR AND BUCKWHEAT BRINI DEPENDING ON THE TECHNOLOGICAL ADDITIVES

Summary

The objective of the research was to evaluate the effect of some selected technological additives on the properties of dough and bread prepared using wheat flour and buckwheat brini. The experimental material consisted of mixtures made from wheat flour and buckwheat brini. The buckwheat brini were applied as a replacement for the wheat flour, and its amount constituted 10, 20, and 30 % of the flour weight. Moreover, in order to improve the quality of bread, dry gluten or baking powder were added to the mixtures; their amounts were 2 or 4%. In the wheat flour and the mixtures prepared, the following was determined: content of total protein, rheological properties using a Brabender farinograph, and properties of the amylose-starch complex using a Brabender amylograph. Furthermore, an experimental bread-baking test was performed using a Biskupski method. The buckwheat brini were characterized by a much higher content level of protein than the wheat flour. The value of dough's amylographic properties increased with the increasing amount of buckwheat brini added. The application of dough raising substances caused the maximum viscosity of dough to significantly increase compared to the material without the technological additives and with gluten added. The increased content of buckwheat brini in the mixtures attributed to the increase in the water absorption of the samples analysed. The development time and the softening of the mixtures' dough with buckwheat brini had higher values than the samples without the brini. The mixtures containing 10% of the brini showed the longest development time and the best dough stability. The use of baking powder in the mixtures caused the water absorption to decrease and the rheological properties of the dough to improve compared to the material without the technological additives and with the dry wheat gluten. The highest volumes had the bread made from mixtures of wheat flour and 10 % of buckwheat brini. The application of baking powder, as well as the increase in the amount of baking powder being added to the samples negatively impacted the bread volume. On the other side, the dry wheat gluten added, as well as the increasing of its measure caused no significant changes in the bread volume if compared to the bread without the technological additives.

Key words: buckwheat nuts, brini, dry gluten, baking powder, quality 

PAULINA WOLSKA, ALICJA CEGLIŃSKA, ALEKSANDRA DUBICKA

PRODUKCJA PIECZYWA NA ŻURKACH ZE ZBÓŻ BEZGLUTENOWYCH

Streszczenie

Celem pracy była ocena jakości pieczywa przygotowanego z udziałem żurek ze zbóż bezglutenowych. Materiał badawczy stanowiły mąki ze zbóż bezglutenowych, takich jak: szarłat, gryka, proso i ryż oraz pieczywo przygotowane według przyjętej receptury i koncentrat chleba bezglutenowego (próba kontrolna).

Użycie żurek ze zbóż bezglutenowych w produkcji pieczywa spowodowało istotne zmiany: upieku, masy właściwej i porowatości miękiszu w stosunku do próby kontrolnej. Przyczyniły się one również do istotnego zwiększenia zawartości białka w pieczywie. Szczególnie korzystny wpływ miał żurek z mąki gryczanej. Nie stwierdzono istotnego wpływu stosowanych żurek na: objętość 100 g pieczywa i wilgotność miękiszu. W punktowej ocenie wykazano, że pieczywo z dodatkiem żurku gryczanego wyróżniało się najlepszymi cechami sensorycznymi w porównaniu z próbą kontrolną.

Słowa kluczowe: pieczywo bezglutenowe, szarłat, proso, gryka, ryż, żurek

Wprowadzenie

Od kilku lat zmniejsza się spożycie pieczywa i produktów zbożowych pomimo tego, że powinny być one głównym źródłem sacharydów w diecie człowieka. Jednym z powodów takiego stanu rzeczy jest wzrastająca liczba osób cierpiących na alergię lub nietolerancję pokarmowe. U osób wrażliwych na tego typu dolegliwości mogą objawiać się one jako atopowe zapalenie skóry, anafilaksja, astma lub celiakia. Celiakia, nazywana także chorobą trzewną, zakwalifikowana została do alergii pokarmowych, a czynnikiem ją wywołującym są białka glutenowe [2, 16, 17]. Białka te występują w ziarnie pszenicy, orkisz, żyta, pszenżyta oraz jęczmienia i są czynnikiem niezbędnym do wytworzenia charakterystycznej gąbczastej struktury miękiszu pieczywa [9, 17]. Według danych podanych przez Darewicz i Dziubę [2] na celiakię cierpi 1 na 200

Europejczyków oraz 1 na 250 mieszkańców USA. W mniejszym stopniu alergia ta dotyka mieszkańców innych kontynentów, np. Azji [2]. U chorych na celiakię spożycie pokarmu zawierającego gluten powoduje uszkodzenie komórek błony śluzowej i zanik kosmków jelitowych, efektem tego jest upośledzenie funkcji trawiennych jelita i niedobór wielu składników odżywczych prowadzący do wyniszczenia organizmu. Celiakia jest najszerzej zbadaną chorobą żołądkowo-jelitową o podłożu autoimmunologicznym, a najlepszą formą jej leczenia jest eliminacja z diety białek glutenowych – przyczyny schorzenia [2, 3]. Znajdujące się w codziennej diecie zdrowego człowieka mąka i pieczywo muszą być zastąpione produktami niezawierającymi glutenu. Pieczywo bezglutenowe ma jednak dużo niższą wartość żywieniową niż chleb z konwencjonalnych surowców. Wynika to z mniejszej ilości składników odżywczych, takich jak: białka, witaminy i składniki mineralne [9]. Z tego powodu zrodziła się potrzeba poszukiwania innych surowców do produkcji pieczywa, które umożliwiłyby poprawienie jego cech żywieniowych i sensorycznych.

Celem pracy była ocena jakości pieczywa przygotowanego z udziałem żurek ze zbóż bezglutenowych.

Materiał i metody badań

Materiał badawczy stanowiły mąki ze zbóż bezglutenowych, takich jak: szarłat z PPHU „Szarłat”, gryka z Wytwórni Makaronu „BIO” Babalscy, proso z firmy „BIOHURT” i ryż z Wytwórni Artykułów Bezglutenowych „BEZGLUTEN” oraz pieczywo przygotowane według następującej receptury: skrobia kukurydziana 432 g, skrobia ziemniaczana 120 g, mąka kukurydziana 48 g, guma guar 10,53 g, pektyna 10,53 g, drożdże 30 g, cukier 36 g, sól 10,5 g, olej 18 g, woda 630 cm³. Koncentrat chleba bezglutenowego z firmy „BEZGLUTEN” i uzyskane z niego pieczywo traktowano jako próbę kontrolną.

W mąkach bezglutenowych oznaczano: wilgotność metodą suszenia [12], liczbę opadania za pomocą urządzenia Falling Number 1400 [13], zawartość białka ogółem za pomocą urządzenia Kjelttec. Następnie przygotowywano ze zbóż bezglutenowych żurki o wydajności 400 % i poddawano fermentacji przez 24 h. Oznaczano potencjalną kwasowość żurek, które dodawano w ilości 5 % w stosunku do skrobi kukurydzianej zawartej w recepturze przygotowywanego ciasta na pieczywo. Przygotowane ciasto dzielono na kęsy o masie 250 g, umieszczano w foremkach i fermentowano do momentu uzyskania optymalnego rozrostu. Wypiek prowadzono w piecu o wilgotności względnej w komorze wypiekowej wynoszącej 85 - 90 %, w temp. 220 °C przez 30 min. Uzyskane na różnych żurkach pieczywo oceniano pod względem upieku, objętości oraz właściwości miększu (masy właściwej i porowatości metodą Dallmana) [6] i porównywano z pieczywem z gotowego koncentratu chleba bezglutenowego (próba kontrolna). Określano także wilgotność miększu pieczywa i zawartość białka ogółem

[6], stosując współczynnik przeliczeniowy azotu na białko $N \times 5,8$. Wszystkie rodzaje pieczywa poddawano ocenie sensorycznej [1].

Analizę statystyczną otrzymanych wyników wykonano przy użyciu programu Statgraphics Plus 4.1. Ocenę istotności różnic pomiędzy wartościami średnimi określano za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$, a najmniejszą istotną różnicę wyznaczano testem Tukey'a.

Wyniki i dyskusja

Stosowane w badaniach mąki bezglutenowe charakteryzowały się typową dla danego gatunku barwą oraz swoistym, typowym smakiem i zapachem. Nie stwierdzono w nich obecności i śladów bytowania szkodników. Wyniki charakteryzujące wykorzystywane w badaniach mąki ze zbóż bezglutenowych przedstawiono w tab. 1.

Tabela 1

Ogólna charakterystyka mąki ze zbóż bezglutenowych.
General profile of flours from gluten-free cereals.

Rodzaj zboża bezglutenowego Gluten-free cereal species	Wilgotność Moisture [%]	Liczba opadania Falling number [s]	Zawartość białka ogółem Total protein content [%]
Szarłat Amaranth	11,0	62	14,76
Gryka Buckwheat	12,0	*	13,24
Ryż Rice	13,1	390	7,13
Proso Millet	11,6	62	14,48

* - wartość nieoznaczalna ze względu na proces prażenia gryki / non-determinable value owing to the roasting process applied to buckwheat

Według Januszewskiej-Józwiak i Synowieckiego [7] oraz Różyło i Laskowskiego [15] wilgotność mąki z szarłatu wynosi średnio 6,2 - 11,5 %. Zawartość wody w mące ryżowej według Januszewskiej-Józwiak i Synowieckiego [7] nie powinna przekraczać 11,5 - 15,0 %. Według Gąsiorowskiego [5] optymalna wilgotność mąki gryczanej do przechowywania powinna zawierać się w przedziale 12 - 13 %. Wilgotność mąki z prosa nie powinna być większa niż 12,0 % [8, 14]. Wykorzystywane w badaniach

mąki ze zbóż bezglutenowych cechowała zawartość wody zgodna z danymi literaturowymi [5, 7, 8, 14, 15].

Liczba opadania jest miarą aktywności enzymów amylolitycznych. Im jej wartość jest mniejsza, tym większą aktywność amylolityczną wykazuje mąka. Liczba opadania badanych rodzajów mąk wynosiła odpowiednio: 62 s – mąka z szarłatu i prosa oraz 390 s – mąka ryżowa. W mące gryczanej nie oznaczano liczby opadania, ponieważ podczas procesu produkcji ziarno gryki było prażone, co spowodowało inaktywację enzymów.

Zawartość białka ogółem w mące z szarłatu, prosa i gryki była wysoka i wynosiła odpowiednio 14,76, 14,48 i 13,24 %. Mąka ryżowa była najuboższa w ten składnik i zawierała 7,13 % białka. W badanych mąkach ze zbóż bezglutenowych zawartość białka ogółem była zbliżona z wynikami badań innych autorów [4, 7, 11].

W celu ukwaszenia pieczywa i nadania mu cech sensorycznych zbliżonych do pieczywa z tradycyjnych surowców przygotowano żurki z mąki ze zbóż bezglutenowych. Żurki uzyskane z mąki z szarłatu i prosa charakteryzowały się największą kwasowością potencjalną, najmniejszą natomiast żurek z mąki ryżowej (tab. 2).

Tabela 2

Kwasowość potencjalna żurków ze zbóż bezglutenowych.
Potential acidity of sourdoughs from gluten-free cereals.

Rodzaj zboża bezglutenowego Gluten-free cereal species	Kwasowość potencjalna żurku Potential acidity of sourdough [°kw]
Szarłat Amaranth	12,25
Gryka Buckwheat	10,84
Ryż Rice	4,28
Proso Millet	12,13

Prowadzenie ciasta na żurkach z badanych mąk bezglutenowych nie miało wpływu na: objętość pieczywa w przeliczeniu na 100 g oraz wilgotność jego miękkiszu. Obserwowano natomiast istotny wpływ użytej mąki w żurkach na inne cechy pieczywa. Pieczywo na żurkach z szarłatu i prosa charakteryzowało się mniejszym upiekaniem niż próba kontrolna. Porowatość miękkiszu pieczywa na żurku z szarłatu była istotnie większa w stosunku do pieczywa na żurku z prosa i z próby kontrolnej. Badania Marciniak-Łukasiak i Skrzypacz [10] wykazały również zwiększenie porowatości miękkiszu chle-

ba bezglutenowego po dodaniu mąki z szarłatu. Mała masa właściwa miękiszu pieczywa na żurku z ryżu może wskazywać na większą jego pulchność w porównaniu z pozostałymi próbkami pieczywa (tab. 3).

Prowadzenie ciasta na żurkach miało istotny wpływ na zwiększenie zawartości białka w stosunku do próby kontrolnej we wszystkich rodzajach uzyskanego pieczywa (tab. 3). Największy wzrost (o ok. 90 %) wystąpił w przypadku pieczywa na żurku gryczanym. Badania Wronkowskiej i Soral-Śmietany [18] oraz Wronkowskiej i wsp. [19] potwierdzają, że obecna w recepturze pieczywa bezglutenowego mąka gryczana istotnie zwiększa zawartość w nim białka ogółem. Najmniejszy wzrost zawartości białka stwierdzono w pieczywie wyprodukowanym na żurku z prosa i wynosił on ok. 45 % w stosunku do próby kontrolnej.

Tabela 3

Cechy pieczywa bezglutenowego determinowane prowadzeniem ciasta na żurkach ze zbóż bezglutenowych.

Features of gluten-free breads determined by the dough making process based on sourdoughs from gluten-free cereals.

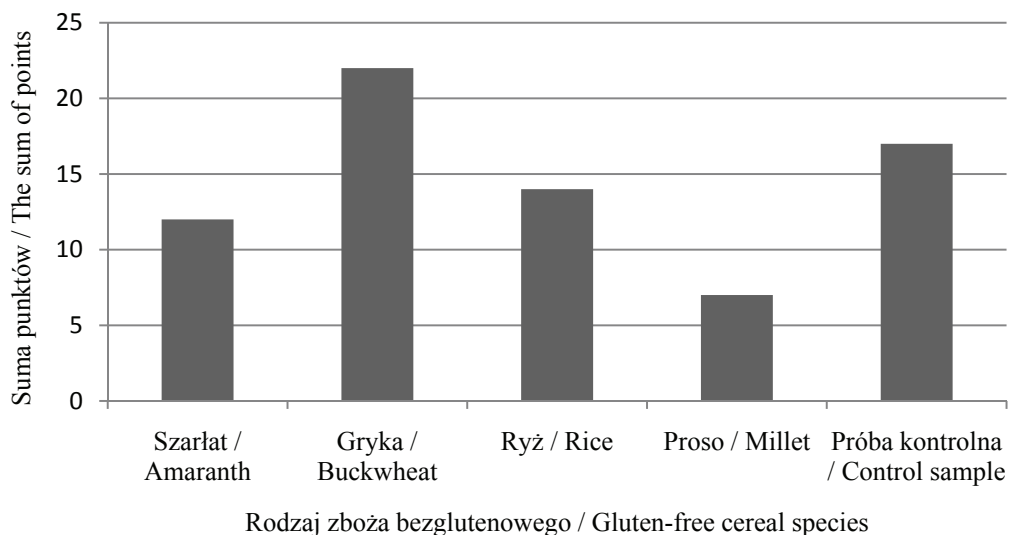
Rodzaj żurku ze zbóż bezglutenowych Type of sourdough from gluten-free cereals	Upiek Baking loss [%]	Objętość w przeliczeniu na 100 g pieczywa Volume of 100 g of bread [cm ³]	Masa właściwa miękiszu Crumb mass density [g/cm ³]	Porowatość wg Dallmana Crumb porosity acc. to Dallman	Wilgotność miękiszu pieczywa Moisture of bread crumb [%]	Zawartość białka ogółem Content of total protein [%]
Szarłat Amaranth	12,16 c	240,93 a	0,245 ab	80 a	46,00 a	2,26 ab
Gryka Buckwheat	15,89 ab	255,53 a	0,26 a	70 b	48,65 a	2,69 a
Ryż Rice	18,12 a	267,46 a	0,225 b	70 b	47,20 a	2,17 ab
Proso Millet	12,69 bc	254,11 a	0,235 ab	60 c	50,00 a	2,04 b
Próba kontrolna Control sample	18,37 a	241,52 a	0,26 a	70 b	48,00 a	1,41 c

a - c – wartości oznaczone tą samą literą w wierszu nie różnią się statystycznie istotnie ($\alpha = 0,05$) / Values in a line and denoted by the same letter do not differ statistically significantly ($\alpha = 0.05$)

Na podstawie przeprowadzonej oceny sensorycznej stwierdzono, że pieczywo prowadzone na żurkach ryżowym i gryczanym oraz próba kontrolna charakteryzowały się zaokrągloną górną powierzchnią i równymi spodami bochenka. Pieczywo prowadzone na żurkach z szarłatu i prosa miało nierównomiernie chropowatą powierzchnię.

Pieczyczo na żurku z prosa cechowało się zbyt jasną, nieatrakcyjną barwą skórki. Pod względem elastyczności miękiszu wysokie oceny uzyskało pieczywo prowadzone na żurkach gryczanym i z prosa oraz próba kontrolna. Pod względem smaku i zapachu najbardziej pożądane cechy wykazywało pieczywo uzyskane na żurkach gryczanym i z szarłat.

Na podstawie punktowej oceny pieczywo uzyskane na żurku z prosa zostało zdyskwalifikowane ze względu na obniżoną jakość sensoryczną (7 pkt). Najbardziej pożądane cechy sensoryczne wykazywało pieczywo na żurku gryczanym (22 pkt.) (rys. 1). Pieczywo stanowiące próbę kontrolną uzyskało niższą ocenę o 5 punktów. Badania Wronkowskiej i Soral-Śmietany [18] oraz Wronkowskiej i wsp. [19] również dowodzą, że dodatek mąki gryczanej ma korzystny wpływ na cechy sensoryczne pieczywa bezglutenowego.



Rys. 1. Punktowa ocena uzyskanego pieczywa bezglutenowego

Fig. 1. Point-based assessment of gluten-free bread produced

Wnioski

1. Zastosowanie do produkcji pieczywa bezglutenowego żurków ze zbóż, takich jak: szarłat, gryka, ryż i proso było korzystne, ponieważ wpłynęło na istotny wzrost zawartego w nim białka.
2. Najkorzystniejszym w produkcji chleba bezglutenowego rodzajem zboża wykorzystywanym w żurku była gryka, ze względu na połączenie wysokiej oceny za cechy sensoryczne z dużą zawartością białka.

Literatura

- [1] Ceglińska A.: Ocena jakości pieczywa. W: Wybrane zagadnienia z technologii żywności pod red. M. Mitek i M. Słowińskiego. Wyd. SGGW, Warszawa 2006, ss. 255-268.
- [2] Darewicz M., Dziuba J.: Dietozależny charakter enteropatii pokarmowych na przykładzie celiakii. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2007, **1 (50)**, 5-15.
- [3] Diowksa A., Sucharzewska D., Ambroziak W.: Wpływ składu mieszanek skrobiowych na właściwości chleba bezglutenowego. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2008, **2 (57)**, 40-50.
- [4] Dziki D., Różyło R., Laskowski J.: Wpływ dodatku mąki ryżowej na zmiany tekstury miększu pieczywa pszennego. Acta Agrophysica, 2009, **13 (2)**, 329-340.
- [5] Gąsiorowski H.: Gryka. Część 4. Aspekty zdrowotne i różne sposoby wykorzystania. Przegl. Zboż. Młyn., 2008, 52 (11), 14-17.
- [6] Jakubczyk T., Haber T.: Analiza zbóż i przetworów zbożowych. Wyd. SGGW – AR, Warszawa 1983.
- [7] Januszewska-Jóźwiak K., Synowiecki J.: Charakterystyka i przydatność składników szarłatu w biotechnologii żywności. Biotechnologia, 2008, **3 (82)**, 89-102.
- [8] Jurga R.: Perspektywy wykorzystania mączki z prosa. Przegl. Zboż. Młyn., 2007, **51, (7)**, 10-11.
- [9] Korus J., Achremowicz B.: Zastosowanie preparatów błonnikowych różnego pochodzenia jako dodatków do wypieku chlebów bezglutenowych. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2004, **1 (38)**, 65-73.
- [10] Marciniak-Lukasiak K., Skrzypacz M.: Koncentrat chleba bezglutenowego z dodatkiem mąki z szarłatu. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2008, **4 (59)**, 131-140.
- [11] Paśko P., Bednarczyk M.: Szarłat (*Amaranthus* sp.) – możliwości wykorzystania w medycynie. Bromat. Chem. Toksykol., 2007, **2 (40)**, 217-222.
- [12] PN-EN ISO 712:2009. Ziarno zbóż i przetwory zbożowe. Oznaczanie wilgotności. Metoda odwoławcza.
- [13] PN-ISO 3093:1996/AZ1:2000. Zboża. Oznaczanie liczby opadania w aparacie Falling Number 1400.
- [14] Podbielkowski Z.: Rośliny użytkowe. WSiP, Warszawa 1992, s. 46.
- [15] Różyło R., Laskowski J.: Wpływ dodatku produktów z amarantusa na cechy tekstury miększu pieczywa. Acta Agrophysica, 2008, **11(2)**, 499-508.
- [16] Stempińska K., Soral-Śmietana M., Zieliński H., Michalska A.: Wpływ obróbki termicznej na skład chemiczny i właściwości przeciwutleniające ziarniaków gryki. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2007, **5 (54)**, 66-76.
- [17] Waga J.: Structure and allergenicity of wheat gluten proteins – a review. Pol. J. Food Nutr. Sci. 2004, **13/54**, 4, 327-338.
- [18] Wronkowska M., Soral-Śmietana M.: Buckwheat flour – a valuable component of gluten-free formulations. Pol. J. Food Nutr. Sci. 2008, **58, 1**, 59-63.
- [19] Wronkowska M., Troszyńska A., Soral-Śmietana M., Wołęjszo A.: Effects of buckwheat flour (*Fagopyrum esculentum moench*) on the quality of gluten-free bread. Pol. J. Food Nutr. Sci. 2008, **58, 2**, 211-216.

PRODUCTION OF BREAD USING SOURDOUGHS FROM GLUTEN-FREE CEREALS

S u m m a r y

The objective of the study was to assess the quality of bread made using sourdoughs from gluten-free cereals. The experimental material constituted flours from gluten-free cereals, such as: amaranth, buckwheat, millet, and rice, as well as gluten-free bread made according to an adopted recipe, and gluten-free bread concentrate (control sample).

The sourdoughs from gluten-free cereals applied to the bread making process caused significant changes to occur, namely: baking loss, changes in the crumb mass density and in the crumb porosity comparing with a control sample. Furthermore, the sourdoughs applied contributed to a significant increase in the level of total proteins in the bread baked. The effect of buckwheat sourdough was particularly beneficial. No significant impact was found of the sourdoughs used on the volume of 100 g of bread and on the bread moisture. The point-based system of assessment applied in this study allowed for the statement that the bread with buckwheat sourdough added had the best and above-average sensory features compared to the control sample.

Key words: gluten-free bread, amaranth, millet, buckwheat, rice, sourdough ☒

MARIA SIELICKA, BOGDAN PACHOLEK, ANNA ZAGÓRSKA

WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWUTLENIAJĄCE WYBRANYCH HERBATEK BĘDĄCYCH SUPLEMENTAMI DIETY

Streszczenie

Celem pracy była ocena właściwości przeciwutleniających oraz zawartości związków fenolowych naparów herbatek będących suplementami diety. Analizie poddano 15 herbatek ziołowych oraz ziołowo-owocowych, które podzielono na 5 grup, przyjmując za kryterium deklarację wpływu odżywczego i fizjologicznego określoną przez producenta - wpływ na włosy i skórę, figurę, samopoczucie, odporność oraz energię ciała. Zakres badań obejmował: oznaczenie właściwości przeciwrodnikowych (test z rodnikiem DPPH), oznaczenie zawartości związków fenolowych (metoda Folina-Ciocalteu'a) oraz oznaczenie siły redukującej (metoda FRAP).

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że napary herbatek wykazały zróżnicowane właściwości przeciwutleniające oraz zawartości związków fenolowych. Grupa herbat wpływających na odporność charakteryzowała się najwyższą aktywnością przeciwrodnikową, najwyższą siłą redukującą oraz najwyższą zawartością polifenoli ogółem. Wyniki badań ukazują dodatnią korelację między aktywnością przeciwutleniającą wyrażoną odsetkiem wygaszonego rodnika DPPH, siłą redukującą FRAP oraz zawartością związków fenolowych ogółem.

Słowa kluczowe: aktywność przeciwutleniająca, DPPH, FRAP, herbatki, suplementy diety

Wprowadzenie

Rosnąca świadomość konsumentów w zakresie wpływu składników żywności na zdrowie powoduje wprowadzanie na rynek nowych produktów zawierających składniki prozdrowotne. Szczególną popularność zyskują produkty, w skład których wchodzi substancje o właściwościach przeciwutleniających. Składniki te odgrywają ważną rolę przeciwrodnikową. Wolne rodniki reagując z cząsteczkami białek, sacharydów i lipidów powodują ich utlenianie, co w konsekwencji powoduje niszczenie struktur komórkowych oraz tkankowych w organizmie i może prowadzić do rozwoju wielu chorób [5]. Do naturalnych przeciwutleniaczy należą m.in. witaminy C i E, karotenoidy, niektóre pierwiastki śladowe oraz polifenole, których spożycie jest znacznie wyższe

Mgr inż. M. Sielicka, dr inż. B. Pacholek, inż. A. Zagórska, Katedra Towaroznawstwa Żywności, Wyzd. Towaroznawstwa, Uniwersytet Ekonomiczny w Poznaniu, Al. Niepodległości 10, 61-875 Poznań

w stosunku do innych przeciwutleniaczy. Pod koniec ubiegłego wieku spożycie polifenoli w USA w przeliczeniu na glikozydy wynosiło ponad 1 g/dzień [8]. Aktywne przeciwutleniacze występują w owocach, warzywach, produktach zbożowych oraz roślinach strączkowych, a także w licznych ziołach, przyprawach, herbatach, kawie. W badaniach epidemiologicznych wykazano, że spożywanie produktów bogatych w związki polifenolowe może znacznie zmniejszyć ryzyko wystąpienia chorób układu sercowo-naczyniowego poprzez działanie przeciwutleniające na niskocząsteczkowe frakcje lipoprotein (LDL) oraz zwolnić proces arteriosklerozy [2, 18]. Związki fenolowe wykazują ponadto udokumentowane działanie przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe, przeciwzapalne, przeciwalergiczne, przeciwmutagenne i przeciwnowotworowe [6, 7, 9, 12]. Wiele ich funkcji w organizmie wynika z właściwości przeciwutleniających.

Przedmiotem wielu badań są właściwości przeciwutleniające herbat zielonych, czarnych i czerwonych [5, 16, 19], natomiast niewiele analiz dotyczy produktów wytwarzanych z suszy owocowych, które cieszą się wzrastającym zainteresowaniem konsumentów [17]. Od niedawna na polskim rynku dostępne są herbatki rejestrowane jako suplementy diety. Produkty te korzystnie wpływają na funkcjonowanie organizmu, regulując przebieg procesów fizjologicznych oraz przemian metabolicznych. Wspomagają ponadto naturalny system odpornościowy, utrzymują prawidłowy stan skóry, pobudzają procesy jej regeneracji, a także mogą dodawać energii i wzmacniać koncentrację. Herbatki zawierają m.in. liść herbaty zielonej, herbaty Pu-Erh, mate, korzeń lukrecji, ziele melisy, mięty, palczatki cytrynowej, owsa, bratka, owoce jabłka, aronii, maliny, kwiat hibiskusa.

Celem pracy była ocena właściwości przeciwutleniających oraz zawartości związków fenolowych herbatek będących suplementami diety.

Material i metody badań

Material badawczy stanowiło 15 herbatek ziołowych oraz ziołowo-owocowych zakupionych na rynku, rejestrowanych jako suplementy diety. Analizowane próbki podzielono na 5 grup, przyjmując za kryterium deklarację wpływu odżywczego i fizjologicznego określoną przez producenta na opakowaniu (tab. 1).

Napary do badań przygotowywano zgodnie z zaleceniami PN-ISO 3103:1996 [11].

W naparach oznaczano: aktywność przeciwutleniającą (test z rodnikiem DPPH), siłę redukującą (test FRAP) oraz ogólną zawartość związków fenolowych (metodą Folina-Ciocalteu'a).

Aktywność przeciwutleniającą oznaczano testem z rodnikiem DPPH wg metodyki opracowanej przez Sánchez-Moreno [14], z modyfikacją Szlachty i Małeckiej [17]. Etanolowy roztwór rodnika DPPH (2,2-difenylo-1-pikrylhydrazyl) jest stabilny w warunkach normalnych. W obecności przeciwutleniacza ulega redukcji, której towarzyszy zmiana barwy roztworu z fioletowej na żółtą. Wskutek redukcji DPPH następuje

Tabela 1

Materiał badawczy.
Research material.

Grupy herbatek o oddziaływaniu wskazanym przez producenta Group of teas showing the effect as stated by the producer	Próbka Sample	Oznaczenie Mark
Wpływ na włosy, skórę Effect on the hair & skin	Herbatka ziołowo-owocowa (producent A) Herbal – fruit tea (producer A)	Włosy i skóra (A) / Hair and skin (A)
	Herbatka ziołowa (producent B) Herbal tea (producer B)	Włosy i skóra (B) / Hair and skin (B)
	Herbatka ziołowa (producent C) Herbal tea (producer C)	Włosy i skóra (C) / Hair and skin (C)
Wpływ na figurę Effect on the figure	Herbatka owocowo-ziołowa (producent A) Fruit – herbal tea (producer A)	Figura (A) / Slimming (A)
	Herbatka ziołowa (producent B) Herbal tea (producer B)	Figura (B) / Slimming (B)
	Herbatka ziołowa (producent C) Herbal tea (producer C)	Figura (C) / Slimming (C)
Wpływ na samopoczucie Effect on the wellness	Herbatka ziołowa (producent A) Herbal tea (producer A)	Samopoczucie (A) / Wellness (A)
	Herbatka ziołowa (producent B) Herbal tea (producer B)	Samopoczucie (B) / Wellness (B)
	Herbatka ziołowa (producent C) Herbal tea (producer C)	Samopoczucie (C) / Wellness (C)
Wpływ na odporność Effect on the immunity	Herbatka owocowo-ziołowa (producent A) Fruit – herbal tea (producer A)	Odporność (A) / Immunity (A)
	Herbatka ziołowa (producent B) Herbal tea (producer B)	Odporność (B) / Immunity (B)
	Herbatka ziołowa-owocowa (producent C) Herbal – fruit tea (producer C)	Odporność (C) / Immunity (C)
Wpływ na energię ciała Effect on the body energy	Herbatka ziołowo-owocowa (producent A) Herbal – fruit tea (producer A)	Energia ciała (A) / Body Energy Boost (A)
	Herbatka ziołowa (producent B) Herbal tea (producer B)	Energia ciała (B) / Body Energy Boost (B)
	Herbatka ziołowa-owocowa (producent C) Herbal – fruit tea (producer C)	Energia ciała (C) / Body Energy Boost (C)

spadek absorbancji mierzonej przy długości fali 515 nm. Im silniejsze są właściwości przeciwutleniające danej próbki, tym zmniejszenie absorbancji odzwierciedlające redukcję rodnika DPPH jest większe. Z kolei próbki o mniejszej zdolności dezaktywacji wolnego rodnika wykazują mniejszy spadek absorbancji. Aktywność przeciwutleniającą naparów wyrażano jako procent redukcji rodnika DPPH po 10 min inkubacji z naparem w odniesieniu do próbki kontrolnej. Nasilenie redukcji rodnika DPPH wyrażano w procentach i obliczano z równania:

$$\text{Redukcja rodnika DPPH [\%]} = \frac{A_0 - A_t}{A_0} \cdot 100,$$

w którym:

A_0 – absorbancja alkoholowego roztworu rodnika DPPH (próbki kontrolnej),

A_t – absorbancja alkoholowego roztworu DPPH z naparem po 10 min inkubacji.

Siłę redukującą wyznaczano metodą FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) na podstawie metody Benzie i. Strain [1]. Metoda ta polega na ocenie zdolności redukcji kompleksu żelaza Fe^{3+} -TPTZ (kompleks żelazowo-2,4,6-tripirydylo-s-traizyny) do kompleksu Fe^{2+} -TPTZ przez badaną substancję o właściwościach przeciwutleniających. Redukcji tej towarzyszy zmiana absorbancji mieszaniny reakcyjnej. Spadek absorbancji kompleksu Fe^{3+} -TPTZ mierzy się spektrofotometrycznie przy długości fali 593 nm. Potencjał antyoksydacyjny naparów przeliczano na aktywność Troloxu. Równolegle sporządzano krzywą kalibracyjną zależności absorbancji mieszaniny Troloxu i odczynnika FRAP od jej stężenia.

Oznaczenie ogólnej zawartości związków fenolowych prowadzono metodą kolorymetryczną z wykorzystaniem odczynnika Folina-Ciocalteu'a według metodyki Singleton i Rossi [15]. W wyniku reakcji zachodzącej podczas wykonywania oznaczenia powstaje $(\text{PMoW}_{11}\text{O}_4)^{4-}$ o niebieskiej barwie. Molibdenian Mo(VI) przyjmuje elektron, a następnie jest redukowany do Mo(V). Reakcja między odczynnikiem Folina-Ciocalteu'a a związkami fenolowymi jest możliwa tylko w środowisku alkalicznym [3]. Pomiaru spadku absorbancji dokonywano spektrofotometrycznie przy długości fali 725 nm po 2-godzinnej inkubacji. Na podstawie krzywej kalibracyjnej przedstawiającej zależność absorbancji etanolowego roztworu kwasu galusowego od jego stężenia w roztworze oznaczono ogólną zawartość związków fenolowych w naparach.

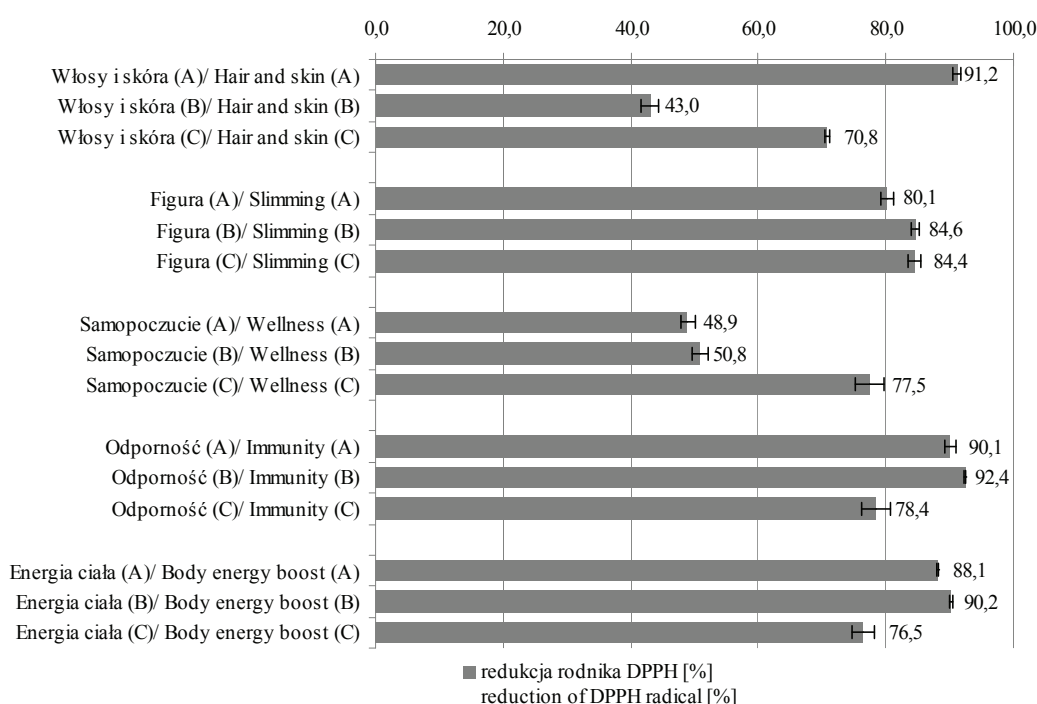
Pomiary spektrofotometryczne wykonywano przy użyciu spektrofotometru Genesis 2 (Milton Roy).

Przedstawione wyniki stanowią średnią arytmetyczną z co najmniej trzech równoległych oznaczeń. Obliczono podstawowe statystyki opisowe dotyczące parametrów. Wykorzystano program komputerowy Statistica 8.0. Celem porównania wartości średnich przeprowadzono analizę wariancji (ANOVA). Dla zweryfikowania istotności

różnic pomiędzy wartościami średnimi zastosowano odpowiednie testy (test t-Studenta). W szacowaniu statystycznym za poziom istotności przyjęto $p < 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Badane napary herbatek, należące do kategorii suplementów diety, charakteryzowały się zróżnicowanymi właściwościami przeciwrodnikowymi. Na rys. 1. przedstawiono redukcję rodnika DPPH, wyrażoną w procentach, po upływie 10 min inkubacji roztworu rodnika DPPH z badanym naparem.



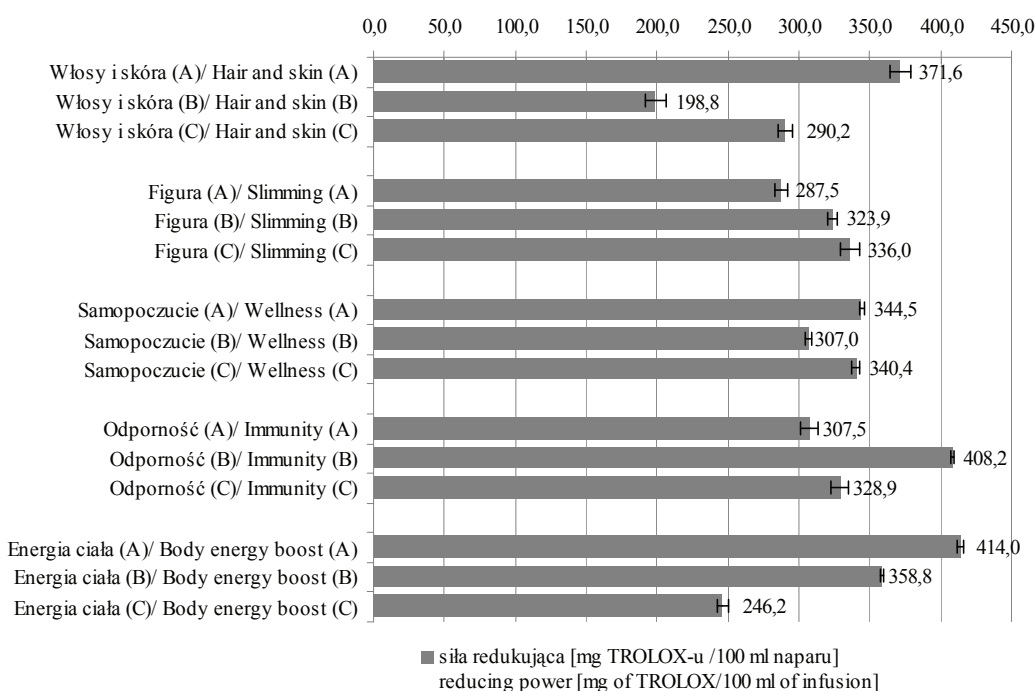
Rys. 1. Redukcja rodnika DPPH po 10 min inkubacji rodnika DPPH z badanymi naparami.

Fig. 1. Reduction of DPPH radical after it was incubated with the infusions analyzed for 10 minutes.

Test z zastosowaniem rodnika DPPH wykazał, że najsilniejszymi właściwościami przeciwutleniającymi charakteryzował się napar herbatki ziołowej z grupy ‘wpływ na odporność’ (producent B), który redukował 92,4 % rodnika DPPH po 10 min inkubacji, a najsłabszymi – napar herbatki ziołowej należący do grupy ‘wpływ na włosy i skórę’ (producenta B), który wygaszał 43,0 % początkowej ilości rodnika. Wśród przebadanych naparów dominowały herbatki wygaszające rodnik DPPH na poziomie 80,1 - 92,4 %. Należy do nich większość herbatek ‘wpływających na odporność, energię ciała i smukłą sylwetkę’.

Analiza składu herbatki pozwoliła stwierdzić, że kompozycja składników poszczególnych herbatki w znaczący sposób warunkowała ich właściwości przeciwrodnikowe. Herbatki o największym procentowym wygaszeniu rodnika DPPH zawierały owoc dzikiej róży, owoc maliny oraz kwiat hibiskusa, które to składniki były nieobecne w herbatkach wykazujących najmniejsze właściwości przeciwrodnikowe. W badaniu przeprowadzonym przez Szlachtę i Małecką [17] wymienione susze owocowe wykazały szczególnie wysoką aktywność przeciwutleniającą (dzika róża – wygaszenie rodnika na poziomie 80,1 %, hibiskus - 57,9 %, malina - 40,7 %), co również zostało potwierdzone w przeprowadzonych badaniach.

Oceny siły redukującej badanych naparów herbatki dokonano testem FRAP przy użyciu kompleksu Fe^{3+} -TPTZ, który pod wpływem zawartych w naparach antyoksydantów ulega redukcji do kompleksu Fe^{2+} -TPTZ. Potencjał antyoksydacyjny naparów przeliczono na aktywność Troloxu. Na rys. 2. przedstawiono oznaczone metodą FRAP siły redukujące poszczególnych naparów.



Rys. 2. Siła redukująca badanych naparów (wyrażona w równoważnikach Troloxu).

Fig. 2. Reducing power of infusions analyzed (expressed as Trolox equivalents).

Tabela 2

Zawartość związków fenolowych w badanych naparach (wyrażona w równoważnikach kwasu galusowego).

Content of the phenolic compounds in analyzed infusions (expressed as gallic acid equivalents).

Próbka Sample	Zawartość związków fenolowych ogółem [w mg/100 ml naparu; średnia \pm odchylenie standardowe] Total phenolic compounds [mg/100 ml of infusion; mean value \pm standard deviation]
Włosy i skóra (A) / Hair and skin (A)	83,6 ⁱ \pm 1,2
Włosy i skóra (B) / Hair and skin (B)	24,6 ^a \pm 0,1
Włosy i skóra (C) / Hair and skin (C)	40,9 ^c \pm 1,7
Figura (A) / Slimming (A)	42,9 ^c \pm 0,6
Figura (B) / Slimming (B)	41,8 ^c \pm 0,6
Figura (C) / Slimming (C)	65,9 ^h \pm 2,1
Samopoczucie (A) / Wellness (A)	29,2 ^b \pm 0,1
Samopoczucie (B) / Wellness (B)	36,6 ^d \pm 0,4
Samopoczucie (C) / Wellness (C)	58,6 ^g \pm 0,3
Odporność (A) / Immunity (A)	46,1 ^e \pm 0,5
Odporność (B) / Immunity (B)	87,8 ^j \pm 0,3
Odporność (C) / Immunity (C)	53,3 ^f \pm 1,5
Energia ciała (A) / Body Energy Boost (A)	55,4 ^{fg} \pm 0,6
Energia ciała (B) / Body Energy Boost (B)	47,0 ^e \pm 0,1
Energia ciała (C) / Body Energy Boost (C)	31,3 ^b \pm 0,2

a-j – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie między wierszami ($p < 0,05$) / mean values denoted by different letters differ statistically significantly between lines ($p < 0,05$)

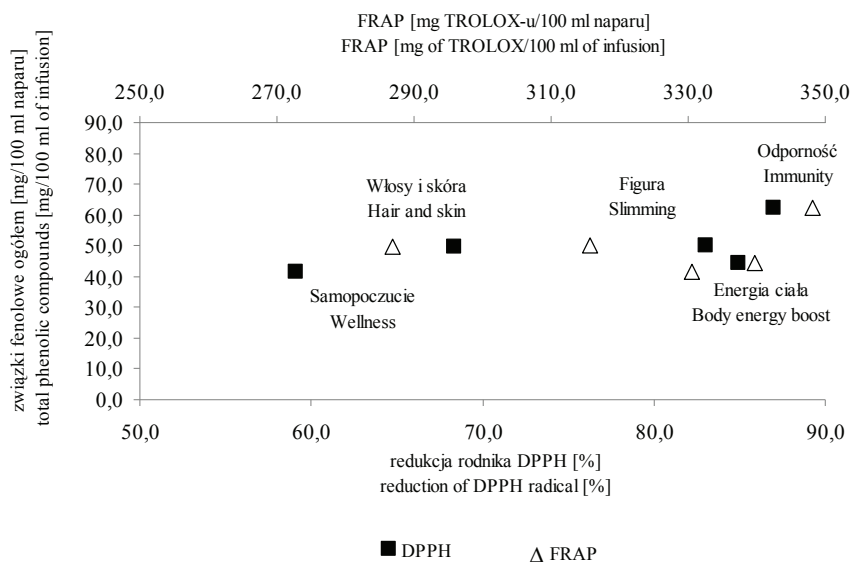
Napary wykazywały duże zróżnicowanie pod względem siły redukującej. Najwyższą siłą redukującą wykazała herbata ziołowo-owocowa producenta A ‘wpływająca na energię ciała’ (414,0 mg w 100 ml naparu). Równie wysoką siłą redukującą

wykazała herbata ziołowa z grupy 'wpływ na odporność' (producent B), która charakteryzowała się najsilniejszymi właściwościami przeciwrodnikowymi (test z rodnikiem DPPH, rys. 1) oraz największą zawartością związków fenolowych (tab. 2). Natomiast zdecydowanie najniższą, dwukrotnie mniejszą siłę, ujawniła herbata ziołowa stosowana 'w celu pielęgnacji włosów, skóry i paznokci' produkowana przez firmę B (198,8 mg Troloxu w 100 ml naparu). Dominowały próbki herbatki o sile redukującej na poziomie 306,4 - 360,2 mg Troloxu w 100 ml naparu.

Zawartość związków fenolowych ogółem określano metodą z odczynnikiem Folina-Ciocalteu'a. W tab. 2. przedstawiono oznaczone zawartości związków fenolowych w badanych naparach herbatki.

Zawartość związków fenolowych ogółem w badanych naparach kształtowała się na zróżnicowanym poziomie od 24,6 mg kwasu galusowego w 100 ml naparu w herbacie ziołowej z grupy 'wpływ na włosy i skórę' (producenta B) do maksymalnie 87,8 mg kwasu galusowego w 100 ml naparu herbatki ziołowej 'wspomagającej odporność' (producenta B). Szczególnie widoczne zróżnicowanie zawartości związków fenolowych stwierdzono w grupie herbatki 'wpływających na włosy i skórę'. Próbką pochodząca od producenta A charakteryzowała się bardzo dużą zawartością (83,6 mg kwasu galusowego w 100 ml naparu), natomiast próbka od producenta B ponad 3-krotnie mniejszą. Tak duże różnice są najprawdopodobniej wynikiem odmiennego składu herbatki, mimo deklarowanej tej samej funkcji produktu. Herbata o małej zawartości związków fenolowych to mieszanka ziołowa złożona m.in. z liścia pokrzywy, ziela bratka, owsa, skrzypu polnego, rumianku. Z kolei druga herbata, oprócz wspólnego dla obu herbatki ziela bratka, zawierała m.in. owoc dzikiej róży, czarną i białą herbatę oraz witaminy: A, C, E. Otrzymany wynik wydaje się interesujący z punktu widzenia konsumenta, który pragnie nabyć produkt skuteczny. Badania naukowe potwierdzają wpływ substancji flawonowych na skórę. *Stratum corneum*, czyli zewnętrzna warstwa skóry, zbudowana jest z substancji lipidowych, które mogą ulegać utlenianiu. W warstwie tej flawonoidy mogą pełnić zarówno rolę substancji przeciwutleniających, jak i czynników neutralizujących wolne rodniki. Flawonoidy oddziałują ponadto na głębsze, epidermalne partie skóry, chroniąc ją przed niepożądanymi właściwościami promieniowania UV, a także hamują działanie niektórych enzymów [10].

Na podstawie przeprowadzonego badania porównano średnie wartości uzyskane w testach poszczególnych grup herbatki (rys. 3).



Rys. 3. Zależność między zawartością związków fenolowych i aktywnością przeciwutleniającą naparów.
Fig. 3. Correlation between content of phenolic compounds and antioxidant activity of infusions.

Zaobserwowano, że grupa herbatek ‘wpływających na odporność’ wykazuje najwyższe właściwości przeciwutleniające. Próbki te uzyskały najwyższe średnie wartości w badaniach aktywności przeciwrodnikowej (średnio 87,0 % wygaszenia rodnika DPPH), siły redukującej (średnio 348,2 mg Troloxu w 100 ml naparu) oraz zawartość polifenoli ogółem (średnio 62,4 mg kwasu galusowego w 100 ml naparu).

W badaniach stwierdzono także dodatnią korelację (tab. 3) między aktywnością przeciwutleniającą wyrażoną procentem wygaszonego rodnika DPPH, siłą redukującą FRAP oraz zawartością polifenoli ogółem. Zależność ta może świadczyć o wpływie związków fenolowych na właściwości przeciwutleniające.

Tabela 3

Współczynniki korelacji pomiędzy wyróżnikami.
Correlation coefficients between distinguishing features.

Wyróżnik Distinguishing feature	DPPH	FRAP	Zawartość polifenoli Phenolic content
DPPH	1	-	-
FRAP	0,592	1	-
Zawartość polifenoli Phenolic content	0,700	0,729	1

Badania prowadzone przez innych autorów dowiodły znaczącego udziału związków fenolowych w całkowitej pojemności przeciwutleniającej herbatek owocowych, herbat zielonych, używek, ziół, a także ekstraktów z kielków roślin [4, 5, 13, 17, 19, 20].

Wnioski

1. Napary z herbatek będących suplementami diety wykazały zróżnicowane właściwości przeciwutleniające oraz zawartość związków fenolowych, które uwarunkowane były rodzajem herbatki.
2. Grupa herbatek 'wpływających na odporność' wykazała najwyższą aktywność przeciwdrobnikową, najwyższą siłę redukującą oraz największą zawartość polifenoli ogółem.
3. W badaniach stwierdzono dodatnią korelację między aktywnością przeciwutleniającą wyrażoną procentem wygaszonego rodnika DPPH, siłą redukującą FRAP oraz zawartością polifenoli ogółem.

Literatura

- [1] Benzie I.F.F., Strain J.J.: The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of „antioxidant power”: The FRAP assay. *Analytical Biochem.*, 1996, **239**, 70-76.
- [2] Borkowska J.: Owoce i warzywa jako źródło naturalnych przeciwutleniaczy. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2003, **5**, 11-12.
- [3] Cybul M., Nowak R.: Przegląd metod stosowanych w analizie właściwości antyoksydacyjnych wyciągów roślinnych. *Herba Polonica*, 2008, **54 (1)**, 68-78.
- [4] Dixit P., Ghaskadbi S., Mohan H., Devasagayam T.P.: Antioxidant properties of germinated fenugreek seeds. *Phytotherapy Res.*, 2005, **19**, 977-983.
- [5] Fik M., Zawisłak A.: Porównanie właściwości przeciwutleniających wybranych herbat. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **3 (40)**, 98-105.
- [6] Gąsiorowski K., Szyba K., Brokos B., Kołaczyńska B., Jankowiak-Włodarczyk M., Oszmiański J.: Antimutagenic activity of anthocyanins isolated from *Aronia melanocarpa* fruits. *Cancer Letters*, 1997, **119**, 37-46.
- [7] Grajek W. (pod red.): *Przeciwutleniacze w żywności. Aspekty technologiczne, molekularne i analityczne*. WNT, Warszawa 2007
- [8] Mitek M., Gasik A.: Polifenole w żywności. Właściwości przeciwutleniające. *Przem. Spoż.*, 2007, **9**, 36-39, 44.
- [9] Neto C.C., Kruger C.G., Lamoureaux T.L., Kondo M., Vaisberg A.J., Hurta R.A.R., Curtis S., Matchett M.D., Yeung H., Sweeney M.I., Reed J.D.: MALDI-TOF MS characterization of proanthocyanidins from cranberry fruit (*Vaccinium macrocarpon*) that inhibit tumor cell growth and matrix metalloproteinase expression in vitro. *J. Sci. Food Agric.*, 2006, **86**, 18-25.
- [10] Oborska A., Arct J., Mojski M.: Kosmetyczne zastosowanie flawonoidów – aspekty praktyczne. *Wiadomości PTK*, 2001, **4**, 21-25.
- [11] PN-ISO 3103: 1996. Herbata. Przygotowanie naparu do badań sensorycznych.

- [12] Puupponen-Pimiä R., Nohynek L., Alakomi H.-L., Oksman-Caldentey K.-M.: Bioactive berty compounds – novel tools against human pathogens. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2005, **67**, 8-18.
- [13] Samotyja U., Zdziebłowski T., Szlachta M., Małecka M.: Przeciwwutleniające właściwości ekstraktów z kielków roślin. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **5 (54)**, 122-128.
- [14] Sanchez-Moreno C., Larrauri J.A., Saura-Calixto F.: A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J. Sci. Food Agric.*, 1998, **76**, 270-276.
- [15] Singleton V.L., Rossi J.A.: Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Viticul.*, 1965, **16**, 144-158.
- [16] Szajdek A., Borowska J.: Właściwości przeciwwutleniające żywności pochodzenia roślinnego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **4 (41) Supl.**, 5-28.
- [17] Szlachta M., Małecka M.: Właściwości przeciwwutleniające herbatek owocowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **1 (56)**, 92-102.
- [18] Vinson J.A., Hao Y., Su X., Zubik L.: Phenol antioxidant quantity and quality in foods: vegetables. *J. Agric. Food Chem.*, 1998, **46**, 3630-3634.
- [19] Wołosiak R., Mazurkiewicz M., Drużyńska B., Worobiej E.: Aktywność przeciwwutleniająca wybranych herbat zielonych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **4 (59)**, 290-297.
- [20] Wołosiak R., Rudny M., Skrobek M., Worobiej E., Drużyńska B.: Charakterystyka aromatu i właściwości przeciwwutleniających wybranych naparów używek i ziół. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **3 (52)**, 109-118.

ANTIOXIDANT PROPERTIES OF SELECTED TEAS KNOWN AS FOOD SUPPLEMENTS

S u m m a r y

The objective of the study was to assess the antioxidant properties and the content of phenolic compounds in tea infusions known as food supplements. 15 herbal and fruit - herbal teas were analyzed; the teas were sorted into 5 groups according to the assumed criterion: a producer declaration stating the nutritive and physiological effect of each tea on hair and skin, figure, wellness, immunity, and body energy. The range of research performed in order to achieve the objective of the study covered what follows: the determination of antiradical properties (test with a DPPH radical), the determination of the content of phenolic compounds (Folin-Ciocalteu method), and the determination of the ferric reducing antioxidant power (FRAP method).

On the basis of the analysis conducted, it was found that the tea infusions had diverse antioxidant properties and diverse contents of phenolic compounds. The group of teas boosting the immune system was characterized by the highest antiradical activity, the highest ferric reducing antioxidant power, and the highest content of total polyphenolic compounds. The research results show a positive correlation between the antioxidant activity, expressed as DPPH radical scavenging activity, the reducing power FRAP, and the content of total phenolic compounds.

Key words: antioxidant activity, DPPH, FRAP, teas, food supplements ☒

DOROTA ZARĘBA

STABILNOŚĆ AROMATU FERMENTOWANEGO MLEKA SOJOWEGO W CZASIE CHŁODNICZEGO PRZECHOWYWANIA

Streszczenie

Typowymi związkami tworzącymi aromat mlecznych napojów fermentowanych są: aldehyd octowy, diacetyl, kwas mlekowy, kwas octowy, acetoina i wiele innych. Udział wymienionych związków decyduje o pożądanym i akceptowanym walorach zapachowo-smakowych mlecznych napojów fermentowanych. Mleko sojowe ma odmienny skład w porównaniu z mlekiem krowim, co powoduje, że charakteryzuje się innymi cechami smaku i zapachu.

Celem pracy była ocena stabilności aromatu jogurtów sojowych w ciągu 4 tygodni chłodniczego przechowywania. Dla pogłębienia interpretacji wyników obrazujących stabilność aromatu, określono przeżywalność bakterii jogurtowych i zmiany pH jogurtu sojowego podczas magazynowania. Analiza chromatograficzna GC-MS z użyciem techniki SPME wykazała brak istotnych zmian profilu lotnych związków jogurtów sojowych w ciągu 4 tygodni chłodniczego przechowywania. Dodatek glukozy nie miał większego wpływu na intensyfikację zmian profilu aromatycznego jogurtów podczas przechowywania. W składzie lotnych związków zidentyfikowano: etanol, 1-heksanol, acetoinę, 2,3-butanodion (diacetyl), 2,3-pentanodion, heksanal, nonanal, kwas butanowy i octowy.

Słowa kluczowe: jogurt sojowy, przechowywanie, związki lotne, aromat, SPME

Wstęp

Produkcja jogurtów z mleka sojowego polega na fermentacji przez bakterie jogurtowe (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Str. thermophilus*) i/lub probiotyczne (*Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* sp.) mleka sojowego z dodatkiem sacharozy, glukozy lub laktozy. Dotychczas na polskim rynku nie ma sojowych analogów jogurtów mlecznych. Jak wykazują badania, dodatek bakterii fermentacji mlekowej do mleka sojowego wpływa na poprawę jego wartości odżywczej oraz smakowości poprzez rozkład związków wpływających niekorzystnie na cechy smakowe (heksanal, pentanal) lub cukrów będących substratami tworzenia gazów przez mikroflorę jelitową (stachiozy, rafinozy) [14, 25]. Należy podkreślić, że żywe komórki bakterii

Mgr inż. D. Zaręba, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-787 Warszawa

fermentacji mlekowej przyczyniają się także do zwiększenia biodostępności aminokwasów egzogennych, ponadto fermentowane mleko sojowe wykazuje działanie: obniżające poziom cholesterolu, antyoksydacyjne, antymutagenne [15, 30]. Jak wykazał Miyazaki [21] mleko sojowe fermentowane przez *Bifidobacterium* stymuluje również produkcję kwasu hialuronowego w komórkach skóry. Dodatkowo mleko sojowe zawiera korzystne izoflawony, na przykład genisteinę i daidzeinę, które prawdopodobnie hamują rozwój niektórych nowotworów, niwelują efekty menopauzy i osteoporozy, a także korzystnie wpływają na układ sercowo-naczyniowy [6, 10, 16].

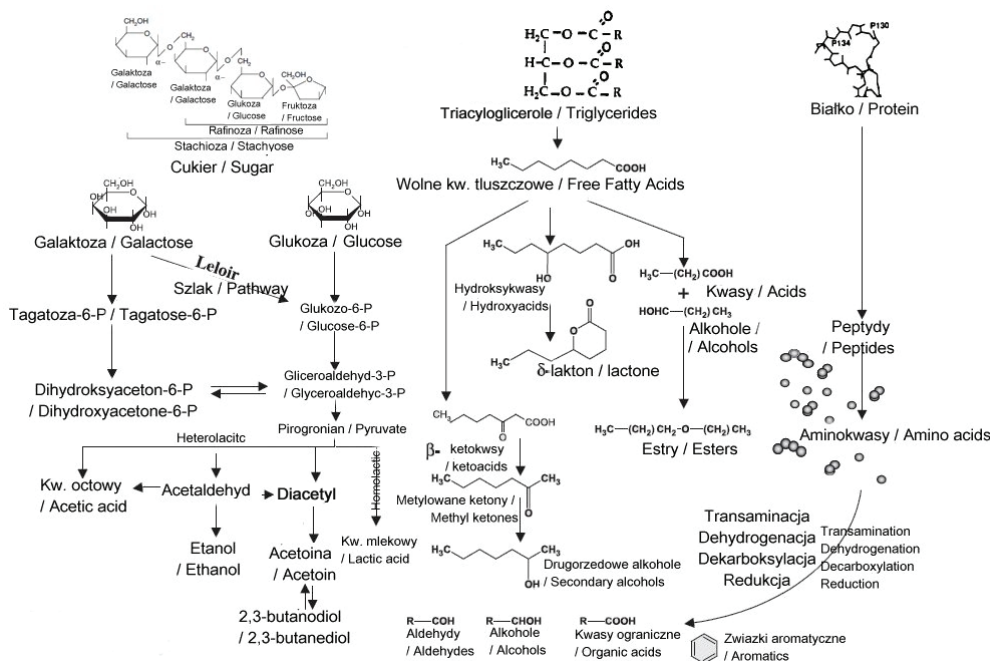
Mikroflora starterowa to podstawowy czynnik profilujący cechy smakowo-zapachowe produktów fermentowanych. W wyniku aktywności proteolitycznej, lipolitycznej i przede wszystkim fermentacyjnej bakterie fermentacji mlekowej kształtują cechy sensoryczne napojów fermentowanych, zależne od użytych rodzajów i gatunków LAB [1, 4].

Mleko sojowe (soymilk) jest napojem produkowanym z ziaren soi lub izolatów sojowych. Najczęściej do jego produkcji wykorzystywana jest mąka sojowa. W suchej masie ziarna soi, w zależności od rodzaju, jak i warunków klimatycznych, zawarty jest przeciętnie 40 % białka, 20 - 25 % lipidów i 30 % węglowodanów. Po procesie pozyskiwania mleka sojowego zawartość tych składników zmniejsza się średnio 10-krotnie: w mleku sojowym pozostaje około 4 % białka, 2 - 2,2 % tłuszczu ogółem i ok. 1,8 % węglowodanów. Dominującymi węglowodanami mleka sojowego są stachioza (120,3 mg/100 cm³), rafinoza (55,4 mg/100 cm³) i glukoza (76,0 mg/100 cm³) [25]. Mleko sojowe zawiera mniej niestrawnych oligosacharydów i frakcji tłuszczowych w porównaniu z całymi ziarnami soi. Jednak produkt ten nadal charakteryzuje nieprzyjemny zapach i smak, opisywany jako surowy lub mączny, za który w największym stopniu odpowiada heksanal powstający w czasie lipooksygenacji wielonienasyconych kwasów.

Wielu badaczy udowodniło pozytywny wpływ fermentacji mlekowej na zawartość heksanalu [2, 3, 25]. Z tego względu podstawowym wyróżnikiem cechującym bakterie fermentacji mlekowej wykorzystywane w procesie fermentacji mleka sojowego powinna być zdolność do fermentacji tych cukrów. Garro i wsp. [13] stwierdzili redukcję zawartości stachiozy w mleku sojowym o 85 % przez mezofilne pałeczki mlekowe gatunku *Lb. fermentum*. W badaniach innych naukowców szczep *Lb. fermentum* CRL 722 miał zdolność do całkowitego rozkładu stachiozy i rafinozy, tym samym uwalniając produkt od niepożądanych oligosacharydów [17]. Cytowani badacze zasugerowali wykorzystanie bakterii fermentacji mlekowej, jako nośnika egzogennych enzymów trawiennych, w tym α -galaktozydazy, w postaci doustnie przyjmowanych preparatów ułatwiających trawienie węglowodanów [7, 17]. Podobnie Thi i wsp. [24] w wyniku badań nad zmniejszaniem koncentracji stachiozy i rafinozy w mleku sojowym wykazali zasadność zastosowania bakterii fermentacji mlekowej i tym samym

potwierdzili rozkład tych oligosacharydów oraz innych związków mających w efekcie wpływ na korzystne zmiany smaku i zapachu produktu finalnego. Metabolizm oligosacharydów przez LAB zależy od aktywności galaktozydazy, która jest dominującym enzymem *Str. thermophilus* (w porównaniu do aktywności tego enzymu innych kultur jogurtowych), natomiast *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* charakteryzuje się dominującą aktywnością proteolityczną [9].

Układ uzupełniających się aktywności biochemicznych obu gatunków bakterii jogurtowych umożliwia im przeżycie wskutek synergistycznego współdziałania. Zdolności proteolityczne pałeczek jogurtowych i sacharolityczne paciorkowców mlekowych oraz ich lipolityczna aktywność są podstawowym źródłem związków odpowiadających za smak i zapach napojów fermentowanych. Jak wykazano we wcześniejszych badaniach nad składem kwasów tłuszczowych mleka sojowego, fermentacja prowadzona przy wykorzystaniu kultury YC-X16 spowodowała redukcję zawartości kwasu linolowego z 8 do 5,08 mg/1 g napoju oraz pozostałych zidentyfikowanych kwasów średnio o 35 % w czasie chłodniczego przechowywania [31]. Rozkład cukrów, wolnych kwasów tłuszczowych i białek dostępnych dla bakterii jogurtowych to podstawa powstawania substancji składowych bukietu zapachowego fermentowanego mleka sojowego, których biochemiczne szlaki przedstawiono na rys. 1.



Rys. 1. Biochemiczne szlaki tworzenia składników aromatu w mleku sojowym.

Fig. 1. Biochemical pathways leading to the formation of aroma compounds in soymilk.

Opracowanie własne na podstawie [19, 25] / The author's own study.

Jak opisano wyżej, zarówno mleko sojowe, jak i bakterie mlekowe (LAB) wykazują wiele pozytywnych właściwości korzystnych dla zdrowia człowieka, dlatego też ważne są badania nad udoskonalaniem produktów stworzonych na bazie napoju sojowego i LAB. Do osiągnięcia tego celu najważniejszy jest dobór szczepów bakterii, za pomocą których otrzyma się poprawę cech sensorycznych, a przy okazji także zwiększy wykorzystanie cennych składników mleka sojowego [5, 8, 26]. W czasie poszukiwania najlepszego szczepu najistotniejszym wyróżnikiem jest zdolność do fermentacji cukrów zawartych w mleku sojowym i do rozkładu czynników odpowiedzialnych za nieprzyjemny smak określany jako surowy lub fasolowy. Donkor i wsp. [9] wykazali, że zwykły jogurt sojowy sensorycznie bardziej odpowiadał potencjalnym konsumentom niż probiotyczny jogurt sojowy. Potwierdzili to Champagne i wsp. [5], wykazując, że jogurt sojowy wytworzony na bazie tylko szczepu probiotycznego cechuje się nieprzyjemnym smakiem. Wang i wsp. [27] stwierdzili, że w przypadku zastosowania mieszanych kultur starterowych do fermentacji mleka sojowego otrzymuje się produkt smaczniejszy i o większej redukcji poziomu stachiozy i rafinozy. Sugimoto i wsp. [23] osiągnęli poprawę smaku fermentowanego mleka sojowego przez dodatek kwasu poliglikolowego (PGA).

Celem pracy była ocena stabilności aromatu jogurtów sojowych w ciągu 4 tygodni chłodniczego przechowywania. Dla pogłębienia interpretacji wyników obrazujących stabilność aromatu określono przeżywalność bakterii jogurtowych i zmiany pH jogurtu sojowego podczas magazynowania.

Material i metody badań

Do produkcji jogurtów sojowych wykorzystano kulturę jogurtową YC-X16 (Chr. Hansen) zawierającą bakterie jogurtowe z gatunków *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i *Str. thermophilus*. Fermentację prowadzono w temp. 37 °C przez 5 h. Przed inkubacją, do mleka sojowego (Alpro[®] soya) dodawano glukozę (w ilości 0 lub 4 %) w celu ułatwienia bakteriom przeprowadzenia fermentacji. Po zakończeniu fermentacji jogurty sojowe przechowywano w temp. 6 °C przez 4 tygodnie.

Liczbę komórek bakterii mlekowych oznaczano metodą płytkową z wykorzystaniem podłoży agarowych M17 i MRS (Merck). Płytki z posiewami *Str. thermophilus* inkubowano tlenowo w temp. 37 °C / 48 h. Płytki z posiewami bakterii *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* inkubowano w anaerostatach zapewniających warunki beztlenowe w temp. 37 °C / 48 h.

Pomiaru wartości pH dokonywano przy użyciu pehametru typu LPH330T (Tocussel, Francja).

W celu przygotowania próbki do analizy chromatograficznej GC-MS z użyciem techniki SPME naważkę 2 g próbki i 2 g zdearomatyzowanego chlorku sodu wymieszanego z 1-propanolem (standard wewnętrzny o gęstości 0,7996 g/cm³, POCH)

umieszczano w szczelnie zamkniętym naczyniu i inkubowano w temp. 30 °C przez 20 min, następnie przez 25 min prowadzono mikroekstrakcję do fazy stałej. Desorpcję związków z włókna typu DVB/CAR/PDMS (diwinylobenzen / carboksen / polidimetylosiloksan), o grubości faz 30/50 µm, prowadzono przez 2 min. Do analizy wykorzystano chromatograf gazowy sprzężony ze spektrometrem masowym GC-MS QP20105 (Shimadzu), temp. komory nastrzykowej 220 °C z kolumną kapilarną ZB WAX o wymiarach: 30 m /0,25 µm /0,25 mm o temp. początkowej 40 °C, przez 2 min, szybkość wzrostu temp. 4 °C/min, temp. końcowa 180 °C, czas izotermy końcowej 6 min, z wykorzystaniem helu jako gazu nośnego z przepływem liniowym o prędkości 0,73 cm³/min. Ustawienia detektora były następujące: temp. źródła jonów 190 °C, temp. linii łączącej GC-MS 200 °C, jonizacja elektronowa o energii 70 eV, napięcie detektora 0,95 kV, zakres przemieszczenia filtra kwadropulowego 40 - 500 m/z. Analizę chromatograficzną prowadzono przez 45 min. Identyfikacji związków lotnych dokonywano na podstawie widm spektrów masowych, które porównano z bibliotekami WILEY7N2, NIST147 i PAL600K. Analizę ilościową zidentyfikowanych związków lotnych dokonywano przy wykorzystaniu standardu wewnętrznego 1-propanolu.

Analizę statystyczną (jednoczynnikową i wieloczynnikową ANOVA przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$) przeprowadzono używając programu Statgraphics Plus 4.1.

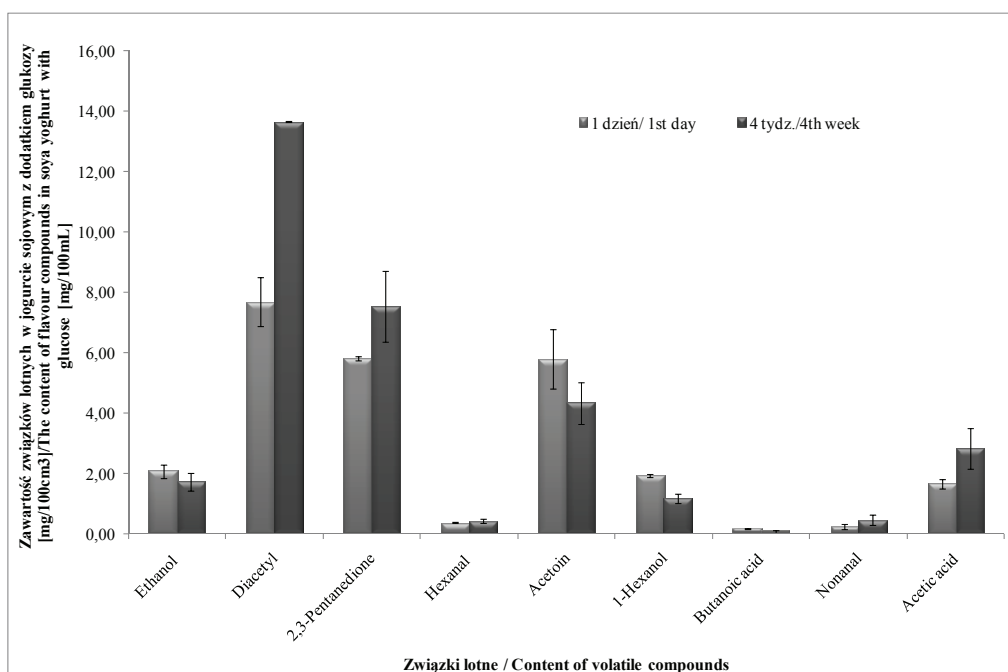
Wyniki i dyskusja

Wśród związków lotnych zidentyfikowano alkohole (etanol i 1-heksanol), ketony (acetoinę, 2,3-butandion i 2,3-pentandion), aldehydy (heksanal i nonanal) i kwasy (butanowy i octowy). W obu wersjach jogurtu, z dodatkiem i bez dodatku glukozy, dominującymi związkami były odpowiednio diacetyl, 2,3-pentanodion i acetoina. Dodatek glukozy spowodował zwiększenie zawartości wtórnych produktów rozkładu cukrów: diacetylu i acetoiny odpowiednio z 3,67 do 7,68 i 2,93 do 5,78 mg/100 cm³ po procesie fermentacji i z 9 do 13,65 i 3,12 do 4,33 mg/100 cm³ po 4 tygodniach chłodniczego przechowywania (rys. 2 i 3). Zawartość bezpośrednich produktów rozkładu cukrów, takich jak etanol i kwas octowy nie zmieniły się istotnie i wynosiły odpowiednio 1,07 - 1,48 i 1,51 - 2,79 mg/100 cm³ w próbce bez dodatku glukozy oraz 2,07 - 1,72 i 1,65 - 2,83 mg/100 cm³ w próbce z glukozą (rys. 2 i 3).

W ogólnej analizie profilu związków aromatycznych nie stwierdzono istotnego wpływu czasu ani dodatku glukozy na zawartość związków lotnych (p -value = 0,5563). Brak zmian zawartości składników na przestrzeni 4 tygodni chłodniczego przechowywania świadczy o stabilności produktu w tym czasie i sugeruje możliwy termin przydatności do spożycia.

Analizując szlaki metaboliczne charakterystyczne dla bakterii fermentacji mlekowej można zauważyć, że wszystkie ze zidentyfikowanych związków są prawdopodobnie efektem rozkładu cukrów przez żywe liczne komórki bakteryjne, głównie strep-

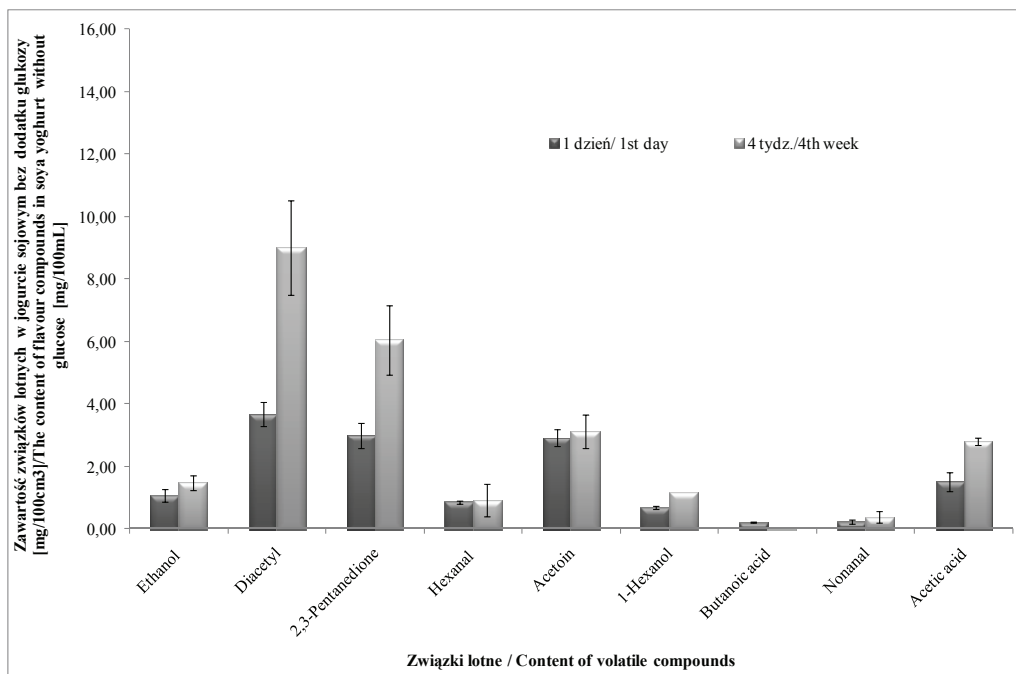
tokoków. W badaniach wykorzystano typową kulturę jogurtowa YC-X16, w której skład wchodziły *Str. thermophilus* i *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, a jak wynika z badań Wang i wsp. [29], *Str. thermophilus* wykazują większą skuteczność rozkładu stachiozy i rafinozy niż *Lactobacillus*. Cytowani badacze wykazali zmniejszenie zawartości rafinozy i stachiozy z jednoczesnym wzrostem zawartości fruktozy oraz sumarycznie glukozy i galaktozy. Jak wynika z danych przedstawionych na rys. 4., liczba komórek bakterii *Str. thermophilus* przeważała w układzie nawet o 4 cykle logarytmiczne w końcowym etapie przechowywania fermentowanego mleka sojowego. Wcześniej wspomniana wysoka aktywność sacharolityczna *Str. thermophilus* i duża populacja jego komórek wyjaśniają przewagę związków lotnych pochodzących z rozkładu cukrów w fermentowanym mleku sojowym (p -value = 0,0151).



Rys. 2. Profil związków lotnych w mleku sojowym z dodatkiem glukozy, fermentowanym kulturą YC-X16 (wartości średnie i SD).

Fig. 2. Profile of volatile compounds in soymilk with glucose added and fermented by YC-X16 starter culture (mean values and SD).

W niniejszej pracy porównano profil związków lotnych tworzonych w jogurtach sojowych z dodatkiem i bez dodatku glukozy, ponieważ, jak wykazał Drake [11], cukier lub dodatki smakowe w postaci wsadów owocowych (cytrynowych, truskawkowych) tłumią niepożądane posmaki obecne w produktach sojowych (rys. 2 i 3).

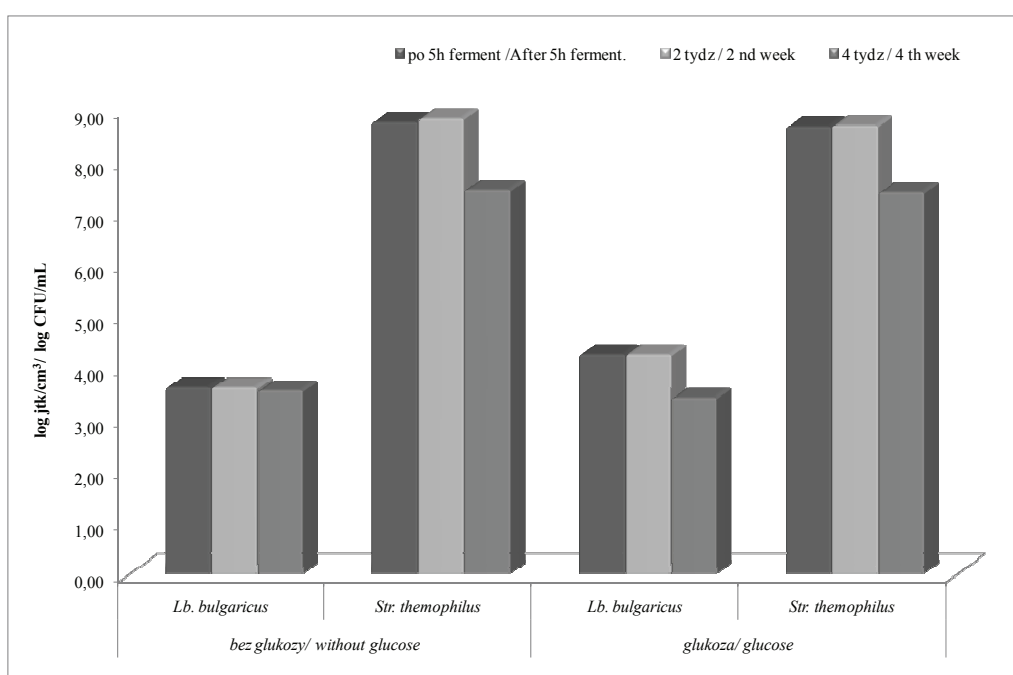


Rys. 3. Profil związków lotnych w mleku sojowym bez dodatku glukozy, fermentowanym kulturą YC-X16 (wartości średnie i SD).

Fig. 3. Profile of volatile compounds in soymilk without glucose fermented using YC-X16 starter culture (mean values and SD).

Glukoza, jako monosacharyd, jest wprost i w pierwszej kolejności wykorzystywana przez bakterie fermentacji mlekowej w konkurencji z pozostałymi cukrami. Po porównaniu obu profili związków lotnych fermentowanego mleka sojowego (z dodatkiem i bez dodatku glukozy) nie wykazano istotnego statystycznie wpływu dodatku tego cukru na ogólny profil związków lotnych (p -value = 0,5981) w czasie chłodniczego przechowywania. Dodatek glukozy miał istotne znaczenie jedynie w przypadku zawartości acetoiny i etanolu (p -value < 0,0254) (rys. 2 i 3). Udział acetoiny, podobnie jak i 2,3-pentanodionu, stanowi ok. 21 % w ogólnym składzie. Acetoina może być wytwarzana bezpośrednio lub wtórnie wskutek aktywności dehydrogenazy acetoynowej redukującej wcześniej powstały diacetyl, pośrednio z acetaldehydu lub na drodze odwracalnej reakcji dehydrogenazy 2,3-butanodiolu (rys. 1). Zarówno diacetyl, jak i acetaldehyd są nietrwałe i rozkładane odpowiednio do acetoiny i etanolu, dlatego nie dziwi znaczący wpływ glukozy na poziom zawartości obu tych substancji [20]. Acetoina, jako związek bezzapachowy, ma drugorzędne znaczenie w kształtowaniu aromatu, jednak duże nagromadzenie tego związku powoduje mało orzeźwiający, słodki smak jogurtu [1].

Diacetyl jest wytwarzany przez niektóre szczepy *Str. thermophilus* w wyniku transformacji dostępnych cukrów. W niniejszych badaniach wykazano istotny wpływ czasu chłodniczego przechowywania (p-value = 0,0221), liczby żywych komórek bakterii jogurtowych (p-value = 0,0016) i słabszy wpływ wartości pH (p-value = 0,0499) na zawartość diacetylu w ogólnym profilu lotnych związków badanych próbek (rys. 2 i 3). Diacetyl współtworzy delikatny aromat jogurtu, jego duża zawartość może powodować słodkawy smak produktu, natomiast nadprodukcja wywołuje niepożądane zmiany [22]. Ze względu na nietrwałość diacetylu, gotowy produkt należy przechowywać w niskiej temperaturze, która hamuje aktywność reduktazy acetoiny.



Rys. 4. Przeżywalność bakterii jogurtowych w próbkach jogurtu sojowego [log jtk/cm³].

Fig. 4. Viability of yoghurt bacteria in soy yoghurt samples [log CFU/cm³].

Sensoryczną cechą charakterystyczną tradycyjnych jogurtów jest acetaldehyd, którego obecności nie potwierdzono w niniejszych badaniach. Wiadome jest, że zbyt mała jego ilość przyczynia się do mało intensywnego zapachu [4]. Wykorzystana w badaniach kultura jogurtowa YC-X16 zgodnie z deklaracją producenta charakteryzuje się tworzeniem jogurtu o delikatnym smaku, czego przyczyną jest zmniejszona zawartość *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, które odpowiadają za tworzenie aldehydu octowego. Brak acetaldehydu może być także wywołany jego rozkładem do etanolu i kwasu octowego, których obecność nie jest typowa w jogurtach klasycznych (rys. 1).

Oznaczona zawartość etanolu na poziomie ok. 1,5 mg/100 cm³ i kwasu octowego średnio na poziomie 2,20 mg/100 cm³ produktu może dowodzić, że związki te częściowo powstały z aldehydu octowego, który w tradycyjnych jogurtach występuje na poziomie 1,0 - 1,5 mg/100 cm³ [1]. Analiza statystyczna uzyskanych wyników wykazała istotny wpływ czasu chłodniczego przechowywania (p-value = 0,0015) i liczby żywych komórek bakterii jogurtowych (p-value = 0,0395) na zawartość kwasu octowego w ogólnym profilu aromatycznym jogurtu sojowego (rys. 2 i 3). Donkor i wsp. [9] wykazali, że w zależności od szczepu, *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i *Str. thermophilus* wytwarzają od 0,002 do 0,007 mg/100 cm³ kwasu octowego, przy czym zdolność do tworzenia kwasu octowego dotyczyła trzech spośród pięciu przebadanych szczepów rodzaju *Lactobacillus* i czterech z pięciu szczepów rodzaju *Streptococcus*.

Spośród wolnych kwasów tłuszczowych w analizie składu związków lotnych mleka sojowego zidentyfikowano kwas masłowy, który ma cenny wkład w ogólny bukiet zapachowy fermentowanych produktów (rys. 2 i 3). Zawartość wolnych kwasów tłuszczowych w jogurcie jest w dużym stopniu uzależniona od poziomu ich zawartości w mleku przed fermentacją, gdyż mogą one powstawać także w wyniku enzymatycznych przemian białek, cukrów i tłuszczu obecnych w mleku. Warto przypomnieć, że bakterie fermentacji mlekowej wykazują nieznaczną aktywność enzymów lipolitycznych wewnątrzkomórkowych, które są uwalniane do produktu dopiero podczas lizy komórki [18, 32]. Mała liczba pałeczek mlekowych w badanych próbkach jogurtu sojowego była prawdopodobnie przyczyną nielicznych przemian proteolitycznych i lipolitycznych (p-value = 0,0074). Jednak należy pamiętać, że nadmiar kwasu butanowego (masłowego) mógłby doprowadzić do niepożądanych zmian zapachowych o charakterze ostrym, intensywnym i trudnym do zaakceptowania przez konsumenta [19].

Pozostałe zidentyfikowane związki: heksanal i nonanal, są to związki rodzime mleka sojowego, jedynie 1-heksanol jest efektem aktywności enzymatycznej bakterii fermentacji mlekowej podczas rozkładu białek lub cukrów (p-value < 0,0217) (rys. 2 i 3). Wiadomo, że heksanal jest związkiem powszechnie uważanym za powodowanie nieakceptowanego posmaku gorzkiego i mącznego, typowego dla mleka sojowego. Jak dowodzą uzyskane wyniki, nie wykazano istotnej redukcji zawartości tego związku podczas przechowywania (p-value = 0,3729). Tsangalis i Shah [25] wykazali redukcję zawartości tego związku w ciągu 48 h fermentacji mleka sojowego z udziałem *Bif. animalis* BB12 i *Bif. longum* 1941 z początkowego poziomu 3,60 do odpowiednio 2,33 i 1,10 µg/100 cm³ z uwzględnieniem szczepu.

Wartość pH w obu próbkach także nie wykazała istotnych statystycznie zmian podczas przechowywania (p-value > 0,6) (tab. 1). Wartość pH mleka sojowego fermentowanego bez dodatku glukozy wyniosła początkowo 4,74 i nie uległa zmianie w ciągu 4 tygodni chłodniczego przechowywania, natomiast wartość pH mleka sojowego fer-

mentowanego z dodatkiem glukozy wyniosła początkowo 4,65 i po 4 tyg. magazynowania obniżyła się do 4,41. Jak wykazali Wang i wsp. [28], w mleku sojowym zaszczerpionym monokulturą *Str. thermophilus* po 24 h fermentacji nastąpiło obniżenie pH do wartości 4,56, zaś po 48 h do 3,84. Dla porównania, po fermentacji prowadzonej przez monokulturę *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* pH mleka sojowego zmniejszyło się do 6,32 po 24 h i 5,97 po 48 h. Farnworth i wsp. [12] dowiedli, że obniżanie wartości pH w mleku krowim zaszczerpionym kulturą jogurtową jest wolniejsze niż w mleku sojowym. Brak istotnych zmian wartości pH podczas chłodniczego przechowywania mleka sojowego fermentowanego kulturą starterową YC-X16 przekłada się na brak statystycznie istotnych różnic w ogólnym profilu zidentyfikowanych związków w czasie chłodniczego przechowywania.

Tabela 1

Wartość pH próbek jogurtu sojowego w ciągu 4-tygodniowego przechowywania.
pH value of soy yoghurt samples during their four week storage.

Mleko / Milk	po 4 h ferment. after 4 h ferment.	2 tydz. 2nd week	4 tydz. 4th week
bez glukozy / without glucose	4,74	4,77	4,74
z glukoza/ with glucose	4,65	4,42	4,41

Otrzymany w niniejszych badaniach jogurt sojowy, zarówno z dodatkiem, jak i bez dodatku glukozy charakteryzował się przyjemnym waniliowym zapachem i kremową półpłynną konsystencją, typową bardziej dla jogurtu pitnego niż stałego. W ocenie sensorycznej nadal wyczuwano charakterystyczny dla ziarna soi posmak, jednak w ocenie był bardziej akceptowany niż w wersji niefermentowanej mleka sojowego. Podobne obserwacje poczynili Beasley i wsp. [3], którzy otrzymali jogurt sojowy fermentowany monokulturą *L. lactis* LL3 o stabilnych cechach smakowych pozytywnie oceniony przez konsumentów.

Wnioski

1. Nie wykazano statystycznie istotnego wpływu czasu chłodniczego przechowywania na profil związków aromatycznych w jogurcie sojowym. Brak zmian świadczy o stabilności cech sensorycznych w okresie przydatności do spożycia.
2. Nie wykazano istotnego wpływu dodatku glukozy na zawartość analizowanych składników aromatu w jogurcie sojowym podczas 4 tygodni chłodniczego przechowywania oraz na wartość pH tego produktu.

3. Brak obecności aldehydu octowego w składzie związków zapachowych wynikał z użycia niskoaromatyzującej starterowej kultury jogurtowej YC-X16, prawdopodobnie wpłynęło to na większą stabilność składników aromatu fermentowanego mleka sojowego w czasie chłodniczego przechowywania.
4. W profilu stwierdzono dominację związków pochodzących z rozkładu cukrów, głównie przez komórki bakterii *Str. thermophilus*.
5. Nie stwierdzono istotnej redukcji heksanal przez bakterie jogurtowe wchodzące w skład kultury YC-X16 podczas 4 tygodni chłodniczego przechowywania fermentowanego mleka sojowego.

Literatura

- [1] Baranowska M.: The content of volatile free fatty acids in milk cultured with yoghurt bacteria. Pol. J. Natur. Sci., 2006, **2**, 13-21.
- [2] Beasley S.: Isolation, identification and exploitation of lactic acid bacteria from human and animal microbiota. Helsinki, Academic Dissertation, 2004, pp. 22-32.
- [3] Beasley S., Tuorila H., Saris P.E.J.: Fermented soymilk with a monoculture of *Lactococcus lactis*. Int. J. Food Microbiol., 2003, **81**, 159-162.
- [4] Bonczar G., Wszolek M.: Charakterystyka jogurtów z mleka owczego o normalizowanej zawartości tłuszczu. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2002, **1 (30)**, 109-115.
- [5] Champagne C.P., Green-Johnson J., Raymond Y., Barrete J., Buckley N.: Selection of probiotic bacteria for the fermentation of soy beverage in combination with *Streptococcus thermophilus*. Food Res. Int., 2009, 1-10.
- [6] Cheng I.-C., Shang H.-F., Lin T.-F., Wang T.-H., Lin H.-S., Lin S.-H.: Effect of fermented soy milk on the intestinal bacterial ecosystem. World J. Gastroenterol., 2005, **11 (8)**, 1225-1227.
- [7] Chien H.-L., Huang H.-Y., Chou C.-C.: Transformation of isoflavone phytoestrogens during the fermentation of soymilk with lactic acid bacteria and bifidobacteria. Food Microbiol., 2006, **23**, 772-778.
- [8] Donkor O.N., Henriksson A., Basiljevic T., Shah N.P.: Probiotic strain as starter cultures improve angiotensin-converting enzyme inhibitory activity in soy yogurt. J. Food Sci., 2005, **70 (8)**, 375-381.
- [9] Donkor O.N., Henriksson A., Wasiljevic T., Shah N.P.: α -Galactosidase and proteolytic activities of selected probiotic and dairy cultures in fermented soymilk. Food Chem., 2007, **104**, 10-20.
- [10] Donkor O.N., Shah N.P.: Production of beta-glucosidase and hydrolysis of isoflavone phytoestrogens by *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis* and *Lactobacillus casei* in soymilk. J. Food Sci., 2008, **73 (1)**, 15-20.
- [11] Drake M.A., Gerard P.D., Chen X.Q.: Effects of sweetener, sweetener concentration, and fruit flavour on sensory properties of soy fortified yogurt. J. Sens. Studies, 2001, **16**, 393-405.
- [12] Farnworth E.R., Mainville I., Desjardins M.P., Gardner N., Fliss I., Champagne C.: Growth of probiotic bacteria and bifidobacteria in a soy yogurt formulation. Int. J. Food Microbiol., 2007, **116**, 174-181.
- [13] Garro M.S., de Valdez G.F., Oliver G., de Giori G. S.: Growth characteristics and fermentation products of *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Lactobacillus casei* and *L. fermentum* in soymilk. Z Lebensm Unters Forsch A, 1998, **206**, 72-75.

- [14] Hou J.-W., Yu R.-Ch., Chou Ch.-Ch.: Changes in some components of soymilk during fermentation with bifidobacteria. *Food Res. Int.*, 2000, **33**, s. 393-397.
- [15] Hsieh M.-L., Chou C.-C.: Mutagenicity and antimutagenic effect of soymilk fermented with lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Int. J. Food Microbiol.*, 2006, **111**, 43-47.
- [16] Kano M., Takayanagi T., Harada K., Sawada S., Ishikawa F.: Bioavailability of isoflavones after ingestion of soy beverages in healthy adults. *J. Nutr.*, 2006, **136**, 2291-2296.
- [17] LeBlanck J.G., Ledue-Clier F., Bensaada M., Savoy de Giori G., Guerekobaya T., Sesma F., Juillard V., Rabot S., Piard J.-C.: Ability of *Lactobacillus fermentum* to overcome host α -galactosidase deficiency, as evidenced by reduction of hydrogen excretion in rats consuming soya α -galactooligosaccharides. *BMC Microbiol.*, 2008, **8**, 22, 1-9.
- [18] Lortal S., Chapot-Chartier M.-P.: Role, mechanisms and control of lactic acid bacteria lysis in cheese. *Int. Dairy J.*, 2005, **15**, 857-871.
- [19] Marilley L., Casey M.G.: Flavours of cheese products: metabolic pathways, analytical tools and identification of producing strains. *Int. J. Food Microbiol.*, 2004, **90**, 139-159.
- [20] Marsili R.: Flavours and off-flavours in dairy foods. In: *Encyclopedia of Dairy Science*. Roginski H. (ed.), Academic Press, London, 2002, pp. 1069-1073.
- [21] Miyazaki K., Hanamizu T., Iizuka R., Chiba K.: *Bifidobacterium*-fermented soy milk extract stimulates hyaluronic acid production in human skin cells and hairless mouse skin. *Skin Pharm. Appl. Skin Physiol.*, 2003, **16**, 108-116.
- [22] Sa Xu, Boylston T.D., Glatz B.A.: Effect of inoculation level of *Lactobacillus rhamnosus* and yoghurt cultures on conjugated linoleic acid content and quality attributes of fermented milk products. *J. Food Sci.*, 2006, **71** (4), 275-280.
- [23] Sugimoto H., Nishio M., Horiuchi T., Fukushima D.: Improvement of organoleptic quality of fermented soybean beverage by additions of propylene glycol alginate and calcium lactate. *J. Food Proc. Preserv.*, 2007, **5** (2), 83-93.
- [24] Thi N., Champagne C.P., Lee B.H., Goulet J.: Growth of *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* on tofu whey. *Int. J. Food Microbiol.*, 2003, **89**, 67-75.
- [25] Tsangalis D., Shah N.P.: Metabolism of oligosaccharides and aldehydes and production of organic acids in soymilk by probiotic bifidobacteria. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2004, **39**, 541-554.
- [26] Tuitemwong P., Erickson L.E., Fung D.Y.C., Setser C.S., Perng S.: Sensory analysis of soy yoghurt and frozen soy yoghurt produced from rapid hydration hydrothermal cooked soy milk. *J. Food Qual.*, 1993, **16** (3), 223-239.
- [27] Wang Y.-C., Yu R.-C.: Viability of lactic acid bacteria and bifidobacteria in fermented soymilk after drying, subsequent rehydration and storage. *Int. J. Food Microbiol.*, 2004, **93**, 209-217.
- [28] Wang Y.-C., Yu R.-C., Chou C.-C.: Growth and survival of bifidobacteria and lactic acid bacteria during the fermentation and storage of cultured soymilk drinks. *Food Microbiol.*, 2002, **19**, 501-508.
- [29] Wang Y.-C., Yu R.-C., Yang H.-Y., Chou C.-C.: Sugar and acid contents in soymilk fermented with lactic acid bacteria alone or simultaneously with bifidobacteria. *Food Microbiol.*, 2003, **20**, 333-338.
- [30] Weidner C., Krempf M., Bard J.-M., Cazaubiel M., Bell D.: Cholesterol lowering effect of a soy drink enriched with plant sterols in a French population with moderate hypercholesterolemia. *Lipids Health Dis.*, 2008, **7**, 35.
- [31] Zaręba D.: Profil kwasów tłuszczowych mleka sojowego fermentowanego różnymi szczepami bakterii fermentacji mlekowej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, **6** (67), 59-71.
- [32] Zaręba D., Ziarno M., Obiedziński M., Bzducha A.: Profil lotnych związków modeli mleka niefermentowanego i fermentowanego przez bakterie jogurtowe. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **2** (57), 60-73.

AROMA STABILITY OF FERMENTED SOYMILK DURING COLD STORAGE**S u m m a r y**

Typical aroma compounds of fermented milk drinks are: acetaldehyde, diacetyl, lactic acid, acetic acid, acetoin, and others. The content of the above mentioned compounds determines the required and acceptable flavour and taste qualities of fermented milk drinks. The composition of soymilk is different from the composition of cow's milk; therefore, the soymilk is characterized by different taste and flavour characteristics than the cow's milk.

The objective of this paper was to assess the aroma stability of soy yoghurts during the 4 weeks of cold storage. In order to enhance the detailed interpretation of the research results on the aroma stabilization, the viability of yoghurt bacteria was determined, as were changes in pH of soy yoghurts during their storage. A chromatographic analysis GC-MS using a SPME technique performed showed that there were no significant changes in the profile of volatile compounds contained in soy yoghurts during the 4 weeks of cold storage. The glucose added had no significant effect on the intensification of changes in the aroma profile of yoghurts during their storage. In the composition of volatile compounds, the following compounds were identified: ethanol, 1-heksanol, acetoin, 2,3-butanedione (diacetyl), 2,3-pentanedione, hexanal, nonanal, butanoic acid, and acetic acid.

Key words: soy yoghurt, storage, volatile compounds, aroma, SPME ☒

MAREK ALJEWICZ, GRAŻYNA CICHOSZ, MARIKA KOWALSKA

WPLYW DODATKU KULTUR PROBIOTYCZNYCH *LACTOBACILLUS* NA INTENSYFIKACJĘ PROTEOLIZY W SERACH TYPU HOLENDERSKIEGO

Streszczenie

Szansą na zwiększenie zainteresowania konsumentów serami dojrzewającymi jest wprowadzenie na rynek produktu innowacyjnego, który odznaczałby się akceptowanymi cechami sensorycznymi. Tę innowacyjność można osiągnąć np. przez zastosowanie bakterii probiotycznych, o potencjalnie prozdrowotnym działaniu na organizm człowieka, do produkcji serów dojrzewających.

Celem podjętych badań była ocena wpływu probiotycznych pałeczek *Lactobacillus rhamnosus* Howaru i *Lactobacillus acidophilus* Howaru na zakres (N-rozpuszczalny) oraz głębokość (N-peptydowy i N-aminokwasowy) proteolizy podczas dojrzewania sera edamskiego.

Konsekwencją zastosowania kultur probiotycznych był większy zakres (N-rozpuszczalny) oraz głębokość (N-aminokwasowy) dojrzewania, a tym samym znaczne zróżnicowanie cech sensorycznych serów doświadczalnych w porównaniu z wyrobami kontrolnymi. Zastosowanie w wyrobie sera edamskiego kultur probiotycznych *Lactobacillus acidophilus* Howaru i *Lactobacillus rhamnosus* Howaru umożliwiło intensyfikację proteolizy czego dowodem są większe przyrosty zawartości N-rozpuszczalnego i N-aminokwasowego. Sery doświadczalne wyprodukowane z *Lb. acidophilus* charakteryzowały się największą zawartością N-rozpuszczalnego, N-peptydowego i N-aminokwasowego zwłaszcza po 6 tygodniach dojrzewania.

Słowa kluczowe: sery holenderskie, proteoliza, związki azotowe, probiotyki, *Lactobacillus acidophilus* Howaru, *Lactobacillus rhamnosus* Howaru

Wprowadzenie

Zainteresowanie konsumentów żywnością funkcjonalną, do której zalicza się m.in. wyroby probiotyczne, stale wzrasta [10]. Ze względu na skład chemiczny, mniejszą (w porównaniu z mlecznymi napojami fermentowanymi) kwasowość, temperaturę dojrzewania i magazynowania sery dojrzewające mogą stanowić dobre źródło kultur

Mgr inż. M. Aljewicz, prof. dr hab. G. Cichosz, mgr inż. M. Kowalska, Katedra Mleczarstwa i Zarządzania Jakością, Wydz. Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, ul. Oczapowskiego 7, 10-719 Olsztyn

probiotycznych. Obecność wszystkich substratów (cytryniany, mleczany, kwasy organiczne i inne), zapewnia wzrost oraz wysoką przeżywalność (rzędu $10^8 - 10^7$ jtk/g produktu) kultur probiotycznych w znacznie dłuższym czasie niż w innych produktach mleczarskich [16]. Zastosowanie bakterii probiotycznych do produkcji serów dojrzewających skutkuje prozdrowotnym działaniem na organizm człowieka. Ponadto, umożliwia wyrób serów dojrzewających o zróżnicowanych cechach sensorycznych oraz skrócenie czasu dojrzewania [8, 17, 20].

Mimo pasteryzacji mleka w serach dojrzewających zawsze obecne są niepochozące z zakwasu bakterie mlekowe (NSLAB), głównie mezofilne pałeczki *Lactobacillus*. W odróżnieniu do kultur zakwasu (mezofile paciorkowce mlekowe) pałeczki *Lactobacillus* syntetyzują aktywne proteiny oraz peptydazy zewnątrz- i wewnątrzkomórkowe, a także związane ze ścianą komórkową, zdolne do hydrolizy wszystkich frakcji kazeiny [12].

Oprócz aminopeptydaz syntetyzowanych przez mezofile paciorkowce mlekowe różne szczepy pałeczek *Lactobacillus* wytwarzają karboksy-, di- i tripeptydazy [7, 18, 19]. Wysokocząsteczkowe poli- i oligopeptydy powstające pod wpływem podpuszczki hydrolizowane są do niskocząsteczkowych peptydów i wolnych aminokwasów pod wpływem enzymów bakteryjnych. Powstałe wolne aminokwasy, a także produkty ich degradacji stanowią prekursorzy związków smakowo-zapachowych w serach dojrzewających [4, 13]. Znaczenie kultur starterowych w proteolizie i peptydolisie podczas dojrzewania sera jest marginalne, bowiem wewnątrzkomórkowe aminopeptydazy uwalniane są dopiero po autolizie komórek.

Z wcześniejszych badań realizowanych w Katedrze Mleczarstwa i Zarządzania Jakością wynika, że jakość sensoryczna serów typu holenderskiego jest w statystycznie istotnym stopniu zależna od liczby NSLAB [5]. Udowodniono również, że zastąpienie niepochozących z zakwasu pałeczek *Lactobacillus* kulturą probiotyczną wpływa na modyfikację cech sensorycznych [6].

Celem podjętych badań była ocena wpływu probiotycznych pałeczek *Lactobacillus rhamnosus* Howaru[®] i *Lactobacillus acidophilus* Howaru[®] na zakres (N-rozpuszczalny) oraz głębokość (N-peptydowy i N-aminokwasowy) proteolizy podczas dojrzewania sera edamskiego.

Material i metody badań

Sery typu holenderskiego (6 warów, każdy z 11 000 l mleka) wyprodukowano w warunkach przemysłowych zgodnie z obowiązującą instrukcją technologiczną. Do wyrobu sera zastosowano mleko klasy extra, termizowane, magazynowane w temp. 4 °C, poddane baktofugacji oraz pasteryzacji w 72,5 °C przez 15 s. Do mleka kotłowego dodawano: głęboko mrożone kultury serowarskie (Choozit classic 111, Danisco), chlorek wapnia, farbę serowarską, saletrę oraz podpuszczkę (Chymax, Ch. Hansen).

Wyroby kontrolne wyprodukowano z dodatkiem głęboko mrożonych kultur starterowych (Choozit classic 111). Natomiast w wyrobach doświadczalnych, oprócz kultur starterowych, zastosowano probiotyczną kulturę *Lactobacillus rhamnosus* Howaru® (2 wary) oraz *Lactobacillus acidophilus* Howaru® (2 wary) firmy Danisco.

Bezpośrednio po soleniu sery poddawano analizie chemicznej. Oznaczano: kwasowość (pH) i zawartości wody. W serach bezpośrednio po soleniu oraz po 2, 4, 6 i 10 tygodniach dojrzewania analizowano stopień degradacji parakazeiny, oznaczając zawartość: związków azotowych ogółem [9], związków azotowych rozpuszczalnych w pH 4,6 wg Sode Morgensena [9], związków azotowych peptydowych wg Boulanger i wsp. w roztworze związków azotowych niebiałkowych przygotowanym wg metody Schobera i wsp. [9] oraz związków azotowych aminokwasowych metodą Sirksa [9].

Wyniki i dyskusja

Stwierdzono zróżnicowanie zawartości wody w badanych serach: od 41,92 do 42,72 % (tab. 1). Najmniejsze zróżnicowanie stwierdzono w serach kontrolnych natomiast największe w serach z dodatkiem *Lb. rhamnosus* (0,39 %). Konsekwencją zróżnicowanej zawartości wody były zmiany liczby kultur probiotycznych oraz aktywność enzymów proteolitycznych.

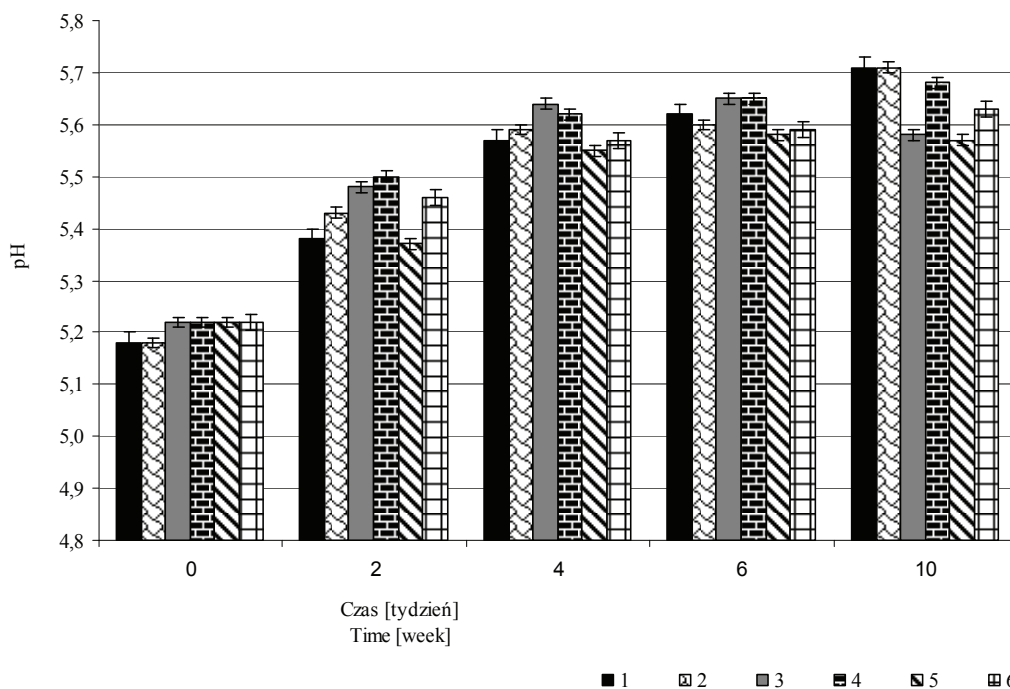
Tabela 1

Zawartość wody [%] w serach po soleniu (n = 3). Wyniki i odchylenie standardowe są statystycznie istotne ($\alpha < 0,05$).

Water content [%] in cheese after brining (n = 3). The results and standard deviation are statistically significant ($\alpha < 0.05$).

Produkt Product	Kod próby Sample code	Woda Water
Ser kontrolny Control cheese	1	42,36 ± 0,27
	2	42,61 ± 0,62
Ser z <i>Lb. acidophilus</i> Cheese with <i>Lb. acidophilus</i>	3	41,92 ± 0,43
	4	42,20 ± 0,20
Ser z <i>Lb. rhamnosus</i> Cheese with <i>Lb. rhamnosus</i>	5	42,72 ± 0,47
	6	42,33 ± 0,41

Wyroby kontrolne bezpośrednio po wyprodukowaniu charakteryzowały się nieznacznie większą (o 0,04) kwasowością niż doświadczalne. We wszystkich badanych serach po soleniu stwierdzono kwasowość poniżej pH 5,3. Zmiany kwasowości badanych serów podczas dojrzewania, świadczące o tzw. fermentacji wtórnej, były typowe dla serów holenderskich. Większe tempo fermentacji wtórnej, polegającej głównie na rozkładzie cytrynianów i mleczanów, stwierdzono po 2 i 4 tygodniach dojrzewania. Natomiast po 6 i 10 tygodniach dojrzewania spadek kwasowości serów był mniejszy. Po 10 tygodniach stwierdzono nieznacznie mniejszą kwasowość w serach kontrolnych (pH 5,7) niż doświadczalnych (pH ok. 5,6) (rys. 1). Dynamika fermentacji wtórnej zależna jest od liczby mikroflory wtórnej, a także od jej dostępu do odpowiednich substratów. Z tego powodu fermentacja wtórna bardziej intensywnie przebiegała w początkowych etapach procesu dojrzewania sera.

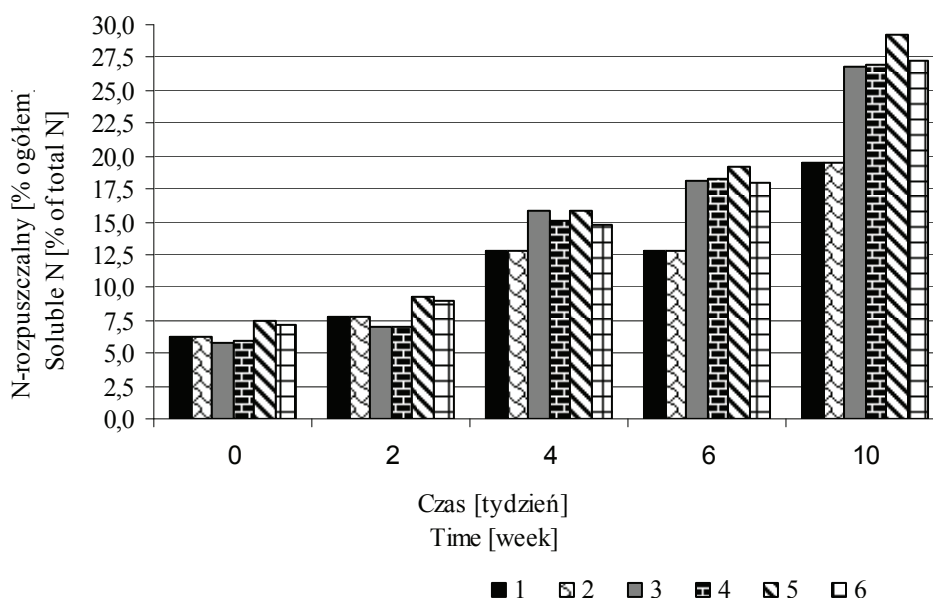


Objaśnienia / Explanatory notes:

1, 2 – ser kontrolny / control cheese; 3, 4 – ser z dodatkiem kultury probiotycznej *Lactobacillus acidophilus* Howaru / cheese with probiotic culture *Lactobacillus acidophilus* Howaru added; 5, 6 – ser z dodatkiem kultury probiotycznej *Lactobacillus rhamnosus* Howaru / cheese with probiotic culture *Lactobacillus rhamnosus* Howaru added.

Rys. 1. Zmiany pH w serach po 0, 2, 4, 6 i 10 tygodniach dojrzewania, wyniki statystycznie istotne ($\alpha < 0,05$).

Fig. 1. Changes in pH values of cheeses the ripening process of which lasted 0, 2, 4, 6, 10 weeks; statistically significant results ($\alpha < 0.05$).



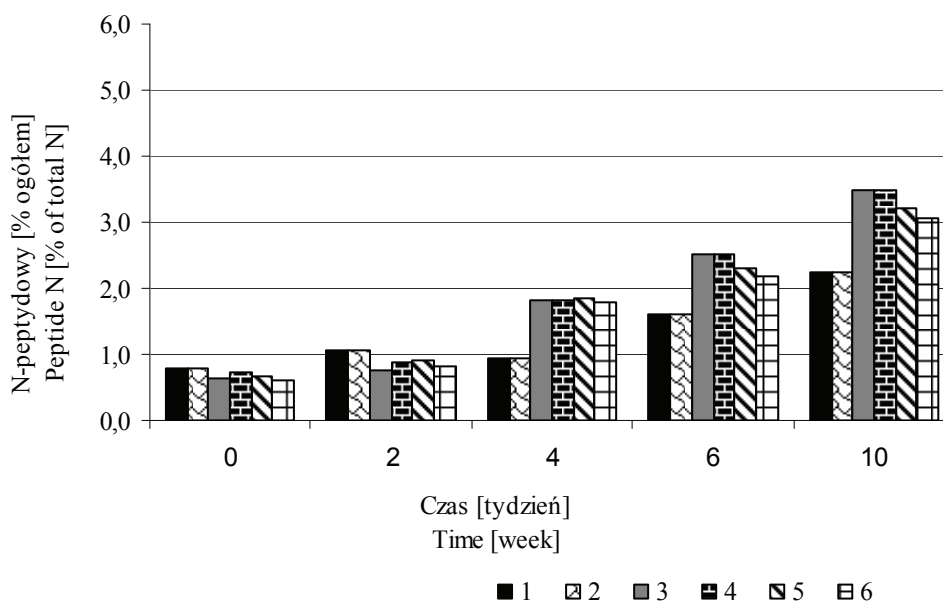
Rys. 2. Zmiany N-rozpuszczalnego [% ogółem] w serach podczas dojrzewania (n = 3). Wyniki statystycznie istotne ($\alpha < 0,05$).

Fig. 2. Changes in content of soluble N [% of total N] in cheeses during their ripening (n = 3). Statistically significant results ($\alpha < 0.05$).

W serach doświadczalnych (5 i 6) bezpośrednio po soleniu związki azotowe rozpuszczalne stanowiły największy odsetek azotu ogółem, średnio 7,34 %. W wyrobach kontrolnych stosunek N-rozpuszczalnego do N-ogółem wynosił 6,22 %, a w serach z dodatkiem *Lb. acidophilus* (3 i 4) 5,87 %. Po 10 tygodniach największy przyrost N-rozpuszczalnego stwierdzono w wyrobach z dodatkiem kultury *Lb. rhamnosus* (średnio - 28,22 %). Jest to wartość wyższa o 8,72 % w stosunku do serów kontrolnych – bez dodatku kultury probiotycznej (rys. 2).

Bezpośrednio po soleniu zawartość N-peptydowego była największa w serach kontrolnych i wynosiła średnio 0,78 %. Po 2 tygodniach dojrzewania stwierdzono niewielki wzrost N-peptydowego we wszystkich badanych serach, odpowiednio: średnio 0,28 % w serach 1 i 2 - 0,14 % w serach 2 i 3 oraz 0,24 % w serach 5 i 6. Po 4 tygodniach dojrzewania stwierdzono wzrost zawartości N-peptydowego w serach z dodatkiem kultur probiotycznych - średnio 0,98 % w serach 3 - 6 (rys. 3). Również po 6 i 10 tygodniach dojrzewania stwierdzono wyraźny wzrost N-peptydowego we wszystkich badanych serach, przy czym w serach kontrolnych każdorazowo zawartość N-peptydowego była znacznie mniejsza niż w doświadczalnych. Największą zawartość N-peptydowego (3,48 % po 10 tygodniach dojrzewania) stwierdzono w serach z do-

datkiem *Lb. acidophilus*. Procentowy przyrost N-peptydowego podczas 10 tygodni dojrzewania serów z dodatkiem *Lb. acidophilus* wynosił ok. 513 %, natomiast w wyrobach kontrolnych 288 %.



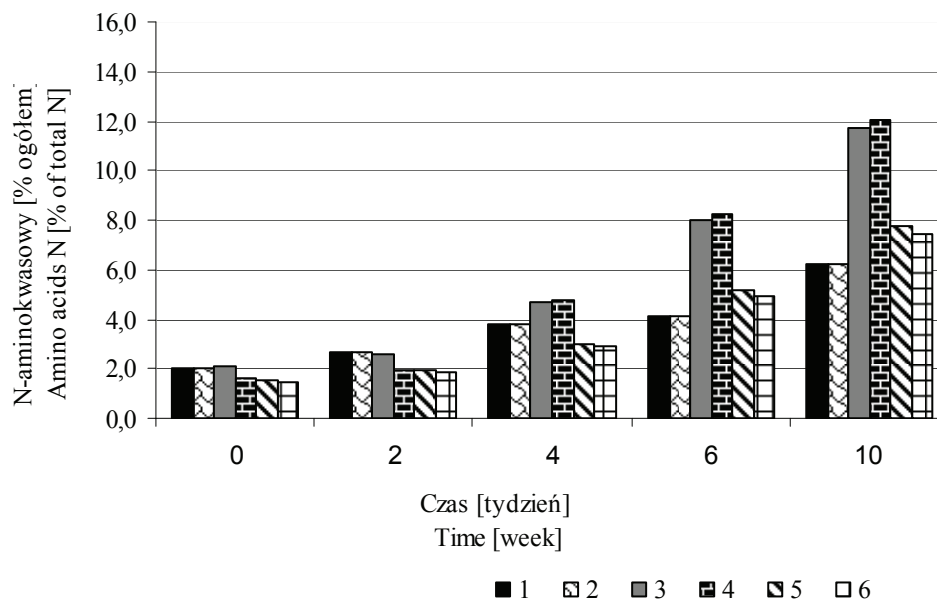
Rys. 3. Zmiany N- peptydowego [% ogółem] w serach podczas dojrzewania (n = 3). Wyniki statystycznie istotne ($\alpha < 0,05$).

Fig. 3. Changes in content of peptide N [% of total N] in cheeses during their ripening (n = 3). Statistically significant results ($\alpha < 0.05$).

W serach kontrolnych bezpośrednio po soleniu stwierdzono większą zawartość N-aminokwasowego (2,03 %) niż w doświadczalnych. Najmniejszą zawartość stwierdzono w serach z dodatkiem *Lb. rhamnosus* – średnio 1,46 %. Po 4 tygodniach dojrzewania stwierdzono intensywny wzrost N-aminokwasowego w serach z *Lb. acidophilus* (252 %) w porównaniu z serami kontrolnymi (189 %). Najmniejszą zawartość N-aminokwasowego stwierdzono w serach z *Lb. rhamnosus*. Pomiedzy 4 a 10 tygodniem stwierdzono znaczny przyrost zawartości N-aminokwasowego w serach z dodatkiem kultur probiotycznych: największy w serach z dodatkiem *Lb. acidophilus*. Najmniejszą zawartość N-aminokwasowego stwierdzono w serach kontrolnych (rys. 4).

Podczas wyrobu sera, w wyniku rozkładu β -kazeiny pod wpływem plazminy i enzymów bakteryjnych wytwarzane są wysokocząsteczkowe peptydy o charakterze hydrofobowym [1, 2]. Interakcje między nimi uniemożliwiają dalszą hydrolizę podczas dojrzewania. Proteoliza parakazeiny w początkowym stadium dojrzewania sera deter-

minowana jest przede wszystkim aktywnością podpuszczki [13], w mniejszym stopniu aktywnością proteinaz i peptydaz bakteryjnych.



Rys. 4. Zmiany N-aminokwasowego [% ogółem] w serach podczas dojrzewania (n = 3). Wyniki statystycznie istotne ($\alpha < 0,05$).

Fig. 4. Changes in content of amino acids N [% of total N] in cheeses during their ripening (n = 3). Statistically significant results ($\alpha < 0.05$).

Powstające pod wpływem podpuszczki poli- oraz oligopeptydy hydrolizowane są pod wpływem enzymów bakteryjnych do niskocząsteczkowych peptydów i wolnych aminokwasów. Ze względu na specyficzność substratową (zdolność hydrolizy wszystkich frakcji kazeiny), a także z powodu syntezy enzymów zewnątrz- i wewnątrzkomórkowych związanych z błoną komórkową znacznie większą aktywnością proteolityczną i peptydolityczną charakteryzuje się mikroflora wtórna głównie pałeczki *Lactobacillus*. Znaczenie kultur starterowych (mezofilnych paciorkowców mlekowych) w degradacji parakazeiny podczas dojrzewania sera jest znikome. Mezofilne paciorkowce mlekowe wytwarzają enzymy wewnątrz-komórkowe aktywne dopiero po autolizie bakterii. W ocenie procesów proteolizy sera uwzględnia się tzw. zakres dojrzewania (N-rozpuszczalny w % N-ogółem) oraz głębokość dojrzewania (zawartość N-aminokwasowego lub N-aminowego w % N-ogółem) [13]

Podczas dojrzewaniu badanych serów stwierdzono większe przyrosty zawartości N-peptydowego i N-aminokwasowego w serach doświadczalnych w porównaniu z kontrolnymi. Największą zawartość N-aminokwasowego stwierdzono w serach

z dodatkiem *Lb. acidophilus*. Było to konsekwencją wysokiej aktywności syntezowanych przez *Lb. acidophilus* proteinaz związanych ze ścianą komórkową oraz peptydaz (aminopeptydaz i dipeptydaz) [3, 7, 11]. Większa dynamika wytwarzania związków azotowych (N-aminokwasowych oraz N-peptydowych) w 10. tygodniu dojrzewania możliwa była dzięki obecności wysokocząsteczkowych peptydów powstałych w wyniku działalności enzymów koagulujących (N-rozpuszczalny) [6]. Jednocześnie wraz z autolizą dodanych kultur *Lactobacillus* w serze namnażały się NSLAB, co miało również wpływ na stopień intensyfikacji proteolizy. Podobne rezultaty uzyskano, oceniając dynamikę dojrzewania sera cheddar [13].

W badaniach dotyczących sera cheddar [15, 16], a także sera gouda [2, 3] dowiedziono, że zastosowanie kultur probiotycznych skutkuje intensyfikacją proteolizy oraz modyfikacją cech sensorycznych [14]. Konsekwencją zastosowania kultur probiotycznych był większy zakres (N-rozpuszczalny) oraz głębokość (N-aminokwasowy) proteolizy sera.

Wnioski

1. Zastosowanie do produkcji sera edamskiego kultur probiotycznych *Lactobacillus acidophilus* Howaru i *Lactobacillus rhamnosus* Howaru umożliwia intensyfikację procesu proteolizy, czego dowodem są większe przyrosty zawartości N-rozpuszczalnego i N-aminokwasowego.
2. Sery doświadczone wyprodukowane z *Lb. acidophilus* Howaru charakteryzowały się największą zawartością N-rozpuszczalnego, N-peptydowego i N-aminokwasowego, zwłaszcza po 6 tygodniach dojrzewania.

Mgr inż. Marek Aljewicz otrzymał stypendium współfinansowane przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego.

Literatura

- [1] Azarnia S., Lee B.H., Yaylayan V., Kilcawley K.N.: Proteolysis development in enzyme-modified Cheddar cheese using natural and recombinant enzymes of *Lactobacillus rhamnosus* S93. Food Chem., 2010, **120**, 174-178.
- [2] Bergamini C.V., Hynes E.R., Candioti M.C., Zalazar C.A.: Multivariate analysis of proteolysis patterns differentiated the impact of six strains of probiotic bacteria on a semi-hard cheese J. Dairy Sci., 2009, **92** (6), 2455-2467.
- [3] Bergamini C.V., Hynes E.R., Zalazar C.A.: Influence of probiotic bacteria on the proteolysis profile of a semi-hard cheese Int. Dairy J., 2006, **16**, 856-866.
- [4] Cagno R., Quintob M., Corsetti A., Minervinia F.: Assessing the proteolytic and lipolytic activities of single strains of mesophilic lactobacilli as adjunct cultures using a Caciotta cheese model system. Int. Dairy J., 2006, **16**, 119-130.

- [5] Cichosz G., Zalecka A., Lenkiewicz M.: The influence of streptococci and lactobacilli on proteolysis in Gouda cheese. *Milchwiss.*, 2006, **5/6**, 297-300.
- [6] Cichosz G., Kłębukowska L., Cichosz A.J., Kornacki M.: The effect of *Lactobacillus* addition on proteolysis in Gouda cheese during ripening. *Milchwiss.*, 2006, **61(1)**, 49-52.
- [7] Cichosz G., Kornacki M., Giczevska M., Konopka A.: Aktywność peptydazowa wybranych szczepów *Lactobacillus*. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **1 (46)**, 66-74.
- [8] Courtina P., Nardia M., Wegmann U., Joutsjokid V., Ogierb J.C., Gripona J.C., Palvad A., Henrich B., Monneta V.: Accelerating cheese proteolysis by enriching *Lactococcus lactis* proteolytic system with lactobacilli peptidases. *Int. Dairy J.*, 2002, **12**, 447-454.
- [9] Heldrich K.: Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Association of Official Analytical Chemists, Inc, Arlington, Virginia 1990.
- [10] Isolauri E., Sütas Y., Kankaanpää P., Arvilommi H., Salminen S.: Probiotics: effects on immunity. *Amer. J. Clin. Nutr.* 2001, **2**, 444-450.
- [11] Khalid N.M., Marth E.: Lactobacilli – their enzymes and role in ripening and spoilage of cheese: A review. *J. Dairy Sci.*, 1990, **73**, 2669-2684.
- [12] Lane C.N., Fox P.F.: Contribution of starter and adjunct lactobacilli to proteolysis in cheddar cheese during ripening. *Int. Dairy J.*, 1996, **6**, 715-728.
- [13] McSweeney, P.L.H.: Biochemistry of cheese ripening: introduction and overview. In: *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Vol. 1: General Aspects 3rd ed. P.F. Fox, P.H.L. McSweeney, T.M. Cogan, T.P. Guinee, ed. Academic Press, San Diego, CA 2004, pp. 347-360.
- [14] Milesi M.M., Vinderola G., Sabbag N., Meinardi C.A., Hynes E.: Influence on cheese proteolysis and sensory characteristics of non-starter lactobacilli strains with probiotic potential. *Food Res. Int.*, 2009, **42**, 1186-1196.
- [15] Ong L., Henrikssonb A., Shah N.P.: Chemical analysis and sensory evaluation of Cheddar cheese produced with *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. paracasei* or *Bifidobacterium* sp. *Int. Dairy J.*, 2007, **17**, 937-945.
- [16] Ong L., Henrikssonb A., Shah N.P.: Development of probiotic Cheddar cheese containing *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. paracasei* and *Bifidobacterium* spp. and the influence of these bacteria on proteolytic patterns and production of organic acid. *Int. Dairy J.*, 2006, **16**, 446-456.
- [17] Ross, R.P., Fitzgerald G., Collins K., Stanton C.: Cheese delivering biocultures - Probiotic cheese. *Aust. J. Dairy Technol.* 2002, **57**, 71-78.
- [18] Savijoki, K., Ingmer H., Varmanen P.: Proteolytic systems of lactic acid bacteria. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2006, **71**, 394-406.
- [19] Upadhyay V.K., McSweeney P.L.H., Magboul A.A.A., Fox P.F.: Proteolysis in Cheese during ripening Cheese. In: *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Vol. 1: General Aspects 3rd ed. P.F. Fox, P.H.L. McSweeney, T.M. Cogan, T.P. Guinee, ed. Academic Press, San Diego, CA 2004.
- [20] Watkinson, P., Coker C., Crawford R., Dodds C., Johnston K., McKenna A., White N.: Effect of cheese pH and ripening time on model cheese textural properties and proteolysis. *Int. Dairy J.*, 2001, **11**, 455-464.

**EFFECT OF PROBIOTIC CULTURES *LACTOBACILLUS* ADDITIVE
ON THE INTENSIFICATION OF PROTEOLYSIS IN DUTCH-TYPE CHEESES**

S u m m a r y

There is a chance to increase consumer interest in ripening cheeses by introducing an innovative product in the market that would be characterized by acceptable sensory features. Such innovativeness could be achieved, for example, by using probiotic bacteria with a potentially pro-health effect on human body in the production of ripening cheese.

The objective of the research undertaken was to assess the effect of probiotic cultures of *Lactobacillus rhamnosus* Howaru and *Lactobacillus acidophilus* Howaru on the range (soluble N) and depth (peptide N and amino acid N) of proteolysis during the ripening process of Edam cheese.

The application of the probiotic cultures resulted in the increase in the range (soluble N) and depth (amino-acid N) of the ripening process, therefore, the sensory features of cheeses analysed became significantly diversified compared to the control samples. Owing to the use of probiotic cultures of *Lactobacillus rhamnosus* Howaru and *Lactobacillus acidophilus* Howaru in the production of Edam cheese, it was possible to intensify proteolysis; this fact was confirmed by higher increases in the contents of soluble N and amino-acid N. The cheeses used in the experiment and manufactured using *Lactobacillus acidophilus* were characterized by the highest content of soluble N, peptide N, and amino acid N, especially when their ripening process lasted for 6 weeks.

Key words: Dutch cheese, proteolysis, nitrogen compounds, probiotics, *Lactobacillus acidophilus* Howaru, *Lactobacillus rhamnosus* Howaru ☒

MARTA POKORA, JOANNA NIEDBALSKA, MAREK SZOŁTYSIK

WPLYW ENZYMÓW DROŻDŻY *YARROWIA LIPOLYTICA* NA WYBRANE CECHY JAKOŚCIOWE DOJRZEWAJĄCYCH SERÓW NISKOTŁUSZCZOWYCH

Streszczenie

W pracy podjęto próbę poprawy cech sensorycznych dojrzewających serów niskotłuszczowych przez dodatek preparatu enzymatycznego proteolityczno-lipolitycznego otrzymanego z drożdży *Yarrowia lipolytica*. Sery o zmniejszonej do 30 % zawartości tłuszczu w suchej masie produkowano z mleka, do którego wprowadzono drożdżowy preparat enzymatyczny. Sery wytwarzano w dwóch wariantach: o standardowej (1,5 %) i podwyższonej zawartości NaCl (3,3 %). Podczas 8-tygodniowego procesu dojrzewania serów analizowano ich podstawowy skład chemiczny oraz poziom degradacji białek i tłuszczów. Wykazano, że wprowadzenie do serów preparatu enzymatycznego wpłynęło na intensyfikację przemian degradacyjnych białek i tłuszczów, w porównaniu z serami kontrolnymi. Poziom tych przemian był wyższy w serach o standardowej zawartości chlorku sodu (1,5 %) niż w serach o 3,3 % jego stężeniu. Wprowadzenie enzymów drożdżowych przyczyniło się również do znacznego nagromadzenia drobnocząsteczkowych związków azotowych oraz wolnych kwasów tłuszczowych. Wykazano również, że hydrolazy drożdżowe dodane do serów istotnie wzbogaciły ich skład w lotne związki zapachowe, co zostało potwierdzone w analizie chromatograficznej i ocenie sensorycznej.

Słowa kluczowe: sery niskotłuszczowe, proteazy, lipazy, *Yarrowia lipolytica*, dojrzewanie serów

Wprowadzenie

Sery dojrzewające niskotłuszczowe, ze względu na obniżoną wartość kaloryczną, są dla wielu konsumentów bardziej atrakcyjnymi produktami niż sery pełnotłuste. Jednak zmniejszona zawartość tłuszczu, który jest nośnikiem smaku i zapachu, jest często przyczyną obniżenia ich jakości [17, 18, 20].

Cechy sensoryczne serów kształtowane są w wyniku zachodzących podczas dojrzewania przemian biochemicznych laktozy, cytrynianów, białek i tłuszczu [6, 23]. Intensywność i głębokość tych przemian zależy od enzymatycznej aktywności zarów-

Mgr inż. M. Pokora, mgr J. Niedbalska, dr inż. M. Szoltysik, Katedra Technologii Surowców Zwierzęcych i Zarządzania Jakością, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, ul. C.K. Norwida 25/27, 50-375 Wrocław

no kultur starterowych oraz mikroflory niestarterowej, jak i aktywności enzymów koagulujących, enzymów rodzimych mleka oraz enzymów egzogennych wprowadzanych w trakcie produkcji [6, 10, 29]. Na skład powstających związków smakowo-zapachowych wpływa ponadto dostępność substratu, obecność związków regulatorowych i wybranych kofaktorów. Zmiany podstawowego składu fizykochemicznego serów dojrzewających, jakie mają miejsce przy zmniejszeniu zawartości tłuszczu, powodują zakłócenie zrównoważonego profilu smakowo-zapachowego i tekstury, czego przejawem są ubogie cechy sensoryczne i obniżone właściwości funkcjonalne serów [12, 21]. Wzmocnienie lub odtworzenie intensywnego smaku i zapachu tych produktów można osiągnąć przez modyfikację technologii, zwłaszcza stosowanie egzogennych enzymów pochodzenia mikrobiologicznego, głównie proteaz i lipaz [2, 12]. Ich źródłem mogą być drożdże *Yarrowia lipolytica*. Gatunek ten powszechnie występujący w serach jako mikroflora niestarterowa zdolny jest do syntezy pozakomórkowych enzymów, zarówno proteolitycznych aktywnych w środowisku kwaśnym i zasadowym, jak i lipolitycznych, które uczestniczą w procesach degradacyjnych białek i tłuszczów podczas dojrzewania serów [9, 27, 28].

Celem podjętych badań była próba poprawy cech sensorycznych serów niskotłuszczowych przez dodatek preparatu enzymatycznego otrzymanego z drożdży *Yarrowia lipolytica*.

Material i metody badań

Preparat zewnątrzkomórkowych enzymów proteolitycznych i lipolitycznych otrzymano z hodowli węgłnej drożdży *Yarrowia lipolytica* prowadzonej wg zastrzeżonej metody (zgłoszonej do opatentowania). Płyn pohodowlany po odwirowaniu biomasy drożdżowej poddano ultrafiltracji w dializatorze firmy Frasenius Medival Care przy wykorzystaniu membrany polisulfonowej o nominalnym punkcie odcięcia $18 \cdot 10^3$ Da.

Modelowe sery niskotłuszczowe typu holenderskiego o zawartości tłuszczu 30 % w suchej masie produkowano w warunkach laboratoryjnych z mleka mikrofiltrowanego, poddanego niskiej pasteryzacji (75 °C, 15 s) wg procedury podanej przez Szołtysika i wsp. [25]. Przy produkcji serów doświadczalnych do mleka serowarskiego wprowadzano preparat enzymatyczny w dawce odpowiadającej 1600 U/l aktywności proteolitycznej oraz 420 U/l aktywności lipolitycznej. Próbę kontrolną stanowiły sery otrzymywane bez dodatku preparatu. Produkty po uformowaniu poddawano prasowaniu, a następnie soleniu w solance o stężeniu NaCl 18 %. Poziom nasolenia serów wynosił: 1,5 i 3,3 % chlorku sodu. Proces dojrzewania serów prowadzono przez 8 tygodni w temp. 15 °C, przy wilgotności względnej powietrza 85 %. Okresowo (w czasie 0 tj. następnego dnia po wyprodukowaniu, po 4 i 8 tyg.) dokonywano analizy podstawowego składu chemicznego oraz oceny stopnia procesów proteolizy i lipolizy.

Analiza mikrobiologiczna serów obejmowała oznaczenie ogólnej liczby ziarniaków mlekowych, pałeczek mlekowych oraz drożdży i pleśni. Oznaczenie ogólnej liczby drożdży wykonywano na podłożu OGY agar, o składzie [$\text{g} \times \text{l}^{-1}$]: ekstrakt drożdżowy (Difco) - 5; glukoza - 20; agar (Difco) - 15; chlorowodorek oksytetracykliny (Merck) - 0,1. Płytki inkubowano 3 dni w temp. 30 °C. Oznaczenie liczby pałeczek mlekowych [$\text{g} \times \text{l}^{-1}$] wykonywano na podłożu MRS agar o składzie: suche podłoże MRS (Merck) - 52,2, agar - 15,0, cykloheksymid - 0,1, pH 5,4. Oznaczenie liczby ziarniaków mlekowych wykonywano na podłożu M17 o składzie [$\text{g} \times \text{l}^{-1}$]: suche podłoże M17 (Merck) - 42,5 g, agar - 15,0, cykloheksymid - 0,1. Płytki inkubowano 2 - 5 dni w temp. 30 °C.

Poziom proteolizy w serze oceniano oznaczając zawartość: azotu rozpuszczalnego w wodzie (WSN) wg Kuchroo i Fox [15], wolnych grup aminowych przy użyciu kwasu trinitrobenzenosulfonowego (TNBS, Sigma) wg zmodyfikowanej metody Kuchroo i wsp. [16], zarówno we frakcji rozpuszczalnej w wodzie, jak i wydzielonej z niej wg Jarret i wsp. [14] frakcji rozpuszczalnej w kwasie fosfowolframowym (PTA, Fluka). Stopień zaawansowania przemian proteolitycznych oznaczano także metodą elektroforezy w żelu poliakrylamidowym wg Andrews [1].

Zmiany lipolityczne oceniano oznaczając zawartość wolnych kwasów tłuszczowych (WKT), wydzielonych z sera wg Deeth i wsp. [7], metodą chromatografii gazowej w aparacie firmy Agilent Technologies, zaopatrzonym w detektor masowy (GC/MS). Rozdział prowadzono w warunkach: kolumna firmy Agilent HP-88 100 m \times 250 $\mu\text{m} \times 0,25 \mu\text{m}$, temp. kolumny 70 °C (5 min) do 240 °C (4 °C/min), gaz nośny hel.

Analiza lotnych związków

Związki zapachowe ekstrahowano z wodnego homogenatu sera (1:1 m/v) metodą mikroekstrakcji do fazy stałej (SPME). Rozdział prowadzono metodą GC/MS, stosując następujące warunki: kolumna 60 m \times 250 $\mu\text{m} \times 0,25 \mu\text{m}$, temp. kolumny 40 °C (5 min) do 240 °C (4 °C/min), gaz nośny – hel (20 cm³/s), split 1 : 1. Identyfikację związków lotnych wykonywano na podstawie analizy porównawczej widm masowych z komercyjną biblioteką widm NIST.

Ocenę sensoryczną wyprodukowanych serów prowadzono po zakończeniu dojrzewania. Obejmowała ona wyróżniki jakościowe, takie jak: zapach, smak, słoność, i konsystencja. Ocenę wykonał 10-osobowy zespół w skali 5-punktowej.

Wyniki, przedstawione jako średnie z trzech powtórzeń, poddano analizie statystycznej przy wykorzystaniu dwukierunkowej analizy wariancji. Obliczenia wykonano w programie Statistica v. 6.0.

Wyniki i dyskusja

W tab. 1. przedstawiono podstawowy skład chemiczny badanych dojrzewających serów niskotłuszczowych: doświadczalnych i kontrolnych. Początkowa zawartość suchej masy w serach, o mniejszej i większej zawartości soli, wynosiła odpowiednio ok. 47 i 49 %. W czasie dojrzewania notowano wzrost udziału poszczególnych składników suchej masy, jednak różnice te były statystycznie nieistotne. Obserwowane zmiany były konsekwencją utraty wody na skutek jej wycieku i odparowania w trakcie dojrzewania [3]. Wykazano także różnice w wartości pH serów podczas dojrzewania. W serach kontrolnych po zakończeniu dojrzewania notowano pH na poziomie 5,41-5,62, podczas gdy w serach doświadczalnych 6,42- 6,51.

Tabela 1

Podstawowy skład chemiczny i pH dojrzewających serów niskotłuszczowych, wyprodukowanych z dodatkiem preparatu enzymatycznego z drożdży *Yarrowia lipolytica* ($\bar{X} \pm SD$).

Basic chemical composition and pH of low-fat cheeses produced with the additives of enzymatic preparations obtained from the *Yarrowia lipolytica* yeast ($\bar{X} \pm SD$).

Ser - % NaCl Cheese - %NaCl	Czas [tyg.] Time [weeks]	Sucha masa, Dry matter [%]	Tłuszcz Fat [%]	Białko, Protein [%]	pH
Kontrolny 1,5 Control 1,5	0	47,00 ± 0,32	29,80 ± 0,28	28,67 ± 0,17	4,78 ± 0,14
	4	48,45 ± 0,14	31,00 ± 0,00	29,31 ± 0,35	5,31 ± 0,12
	8	49,91 ± 0,19	32,10 ± 0,08	29,49 ± 0,16	5,62 ± 0,05
Doświadczalny 1,5 Experimental 1,5	0	47,30 ± 0,12	29,60 ± 0,16	28,95 ± 0,17	4,88 ± 0,08
	4	49,90 ± 0,15	30,10 ± 0,14	30,44 ± 0,18	5,93 ± 0,11
	8	51,41 ± 0,16	31,10 ± 0,17	30,82 ± 0,14	6,51 ± 0,08
Kontrolny 3,3 Control 3,3	0	49,00 ± 0,21	28,60 ± 0,18	28,52 ± 0,39	4,75 ± 0,03
	4	50,23 ± 0,18	28,90 ± 0,21	29,21 ± 0,19	5,23 ± 0,12
	8	51,81 ± 0,11	30,90 ± 0,12	29,46 ± 0,21	5,41 ± 0,08
Doświadczalny 3,3 Experimental 3,3	0	48,99 ± 0,18	28,39 ± 0,09	28,81 ± 0,16	4,78 ± 0,12
	4	51,07 ± 0,20	28,59 ± 0,05	30,36 ± 0,15	5,87 ± 0,13
	8	52,96 ± 0,14	30,21 ± 0,10	30,67 ± 0,12	6,42 ± 0,10

Objaśnienie: / Explanatory note:

($\bar{X} \pm SD$) – wartość średnia ± odchylenie standardowe / mean value ± standard deviation.

Podczas dojrzewania serów monitorowano zmiany liczby wybranych grup drobnoustrojów (tab. 2). Stwierdzono zmniejszenie liczby zarówno ziarniaków wprowadzonych jako kultury starterowe, jak i pałeczek mlekowych. Populacja ziarniaków

mlekowych zmniejszyła się w serach niezależnie od stopnia nasolenia. W serach doświadczalnych nastąpiła zmiana z wyjściowego poziomu 10^8 jtk/g do 10^5 jtk/g w ostatnim tygodniu dojrzewania. Jednocześnie w serach kontrolnych stwierdzono spadek liczby tych mikroorganizmów o jeden rząd logarytmiczny. Początkowa liczba pałeczek mlekowych kształtowała się na zbliżonym poziomie, jednak w serach o podwyższonej zawartości NaCl (3,3 %) była ona niższa o jeden rząd logarytmiczny niż w serach o standardowym nasoleniu.

Tabela 2

Liczba wybranych grup drobnoustrojów w serach, podczas dojrzewania ($\bar{x} \pm SD$).

Changes in the counts of selected groups of micro-organisms in cheeses during the ripening ($\bar{x} \pm SD$).

Ser - % NaCl Cheese - %NaCl	Czas [tyg.] Time [weeks]	Liczba pałeczek mlekowych [jtk/g] Lactobacilli count [cfu/g]	Liczba ziarniaków mlekowych [jtk/g] Lactococci count [cfu/g]	Liczba drożdży [jtk/g] Yeast count [cfu/g]
Kontrolny 1,5 Control 1,5	0	$2,11 \cdot 10^5 \pm 0,11$	$1,47 \cdot 10^8 \pm 0,15$	0
	4	$1,78 \cdot 10^5 \pm 0,16$	$6,10 \cdot 10^7 \pm 0,09$	0
	8	$1,04 \cdot 10^3 \pm 0,14$	$1,30 \cdot 10^7 \pm 0,12$	$3,70 \cdot 10^3 \pm 0,23$
Doświadczalny 1,5 Experimental 1,5	0	$8,86 \cdot 10^6 \pm 0,16$	$1,60 \cdot 10^8 \pm 0,11$	0
	4	$2,86 \cdot 10^5 \pm 0,20$	$1,50 \cdot 10^7 \pm 0,16$	0
	8	$4,30 \cdot 10^4 \pm 0,21$	$3,00 \cdot 10^5 \pm 0,15$	$1,90 \cdot 10^3 \pm 0,15$
Kontrolny 3,3 Control 3,3	0	$1,47 \cdot 10^5 \pm 0,09$	$2,11 \cdot 10^8 \pm 0,18$	0
	4	$1,30 \cdot 10^5 \pm 0,24$	$1,78 \cdot 10^7 \pm 0,13$	0
	8	$6,10 \cdot 10^3 \pm 0,20$	$1,04 \cdot 10^6 \pm 0,35$	$3,40 \cdot 10^3 \pm 0,41$
Doświadczalny 3,3 Experimental 3,3	0	$1,20 \cdot 10^5 \pm 0,12$	$1,14 \cdot 10^8 \pm 0,14$	0
	4	$1,00 \cdot 10^4 \pm 0,11$	$5,40 \cdot 10^6 \pm 0,15$	0
	8	$7,80 \cdot 10^3 \pm 0,13$	$8,50 \cdot 10^5 \pm 0,09$	$2,10 \cdot 10^3 \pm 0,12$

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

Pod koniec dojrzewania we wszystkich badanych serach obserwowano redukcję ogólnej liczby pałeczek mlekowych sięgającą 2 rzędów logarytmicznych. Ferreira i Vilijoen [9] oraz Czajgucka i wsp. [5], badając sery, do których wprowadzono kultury wspomagające w postaci drożdży *Yarrowia lipolytica*, nie stwierdzili negatywnego ich wpływu na wzrost bakterii fermentacji mlekowej.

We wszystkich analizowanych serach w ostatnim okresie dojrzewania stwierdzono pojawienie się mikroflory drożdżowej. Jej liczba osiągnęła poziom 10^3 jtk/g. Drożdż-

dże należą do mikroflory dzikiej, naturalnie występującej w serach. Ich liczba w serach półtwardych i twardych zawiera się na ogół w przedziale 10^4 - 10^6 jtk/g [30].

Proces proteolizy kontrolowano poprzez oznaczenie zawartości rozpuszczalnych związków azotowych (WSN), wolnych grup aminowych we frakcji rozpuszczalnej w wodzie oraz w kwasie fosfowolframowym, a także na podstawie rozdziału białek w żelu poliakrylamidowym.

Tabela 3

Zawartość azotu rozpuszczalnego (WSN) oraz wolnych grup aminowych – we frakcji rozpuszczalnej w wodzie i PTA – w serach, podczas dojrzewania ($\bar{x} \pm SD$).

Content of water-soluble nitrogen (WSN) and free amino groups - in a fraction soluble in water and in PTA - in cheeses, during the ripening ($\bar{x} \pm SD$).

Ser - % NaCl Cheese - %NaCl	Czas [tyg.] Time [weeks]	WSN [%N ogólnego] WSN [% of total WSN]	Wolne grupy aminowe Free amino groups [μ M Gly/100 g]	
			we frakcji rozpuszczalnej w wodzie (A) in fraction soluble in water (A)	we frakcji rozpuszczalnej w PTA (B) in fraction soluble in PTA (B)
Kontrolny 1,5 Control 1,5	0	3,14 \pm 0,32	804 \pm 0,12	0
	4	9,21 \pm 0,19	3458 \pm 0,23	1391 \pm 0,28
	8	14,75 \pm 0,26	5483 \pm 0,18	2468 \pm 0,15
Doświadczalny 1,5 Experimental 1,5	0	9,48 \pm 0,10	3976 \pm 0,10	0
	4	36,83 \pm 0,17	12023 \pm 0,18	6891 \pm 0,14
	8	41,28 \pm 0,14	14831 \pm 0,20	8801 \pm 0,21
Kontrolny 3,3 Control 3,3	0	2,81 \pm 0,25	724 \pm 0,34	0
	4	8,92 \pm 0,18	3323 \pm 0,27	1310 \pm 0,11
	8	14,98 \pm 0,23	5374 \pm 0,14	2324 \pm 0,29
Doświadczalny 3,3 Experimental 3,3	0	9,22 \pm 0,11	3202 \pm 0,14	0
	4	30,16 \pm 0,16	9633 \pm 0,16	5748 \pm 0,13
	8	35,97 \pm 0,09	11882 \pm 0,17	7341 \pm 0,11

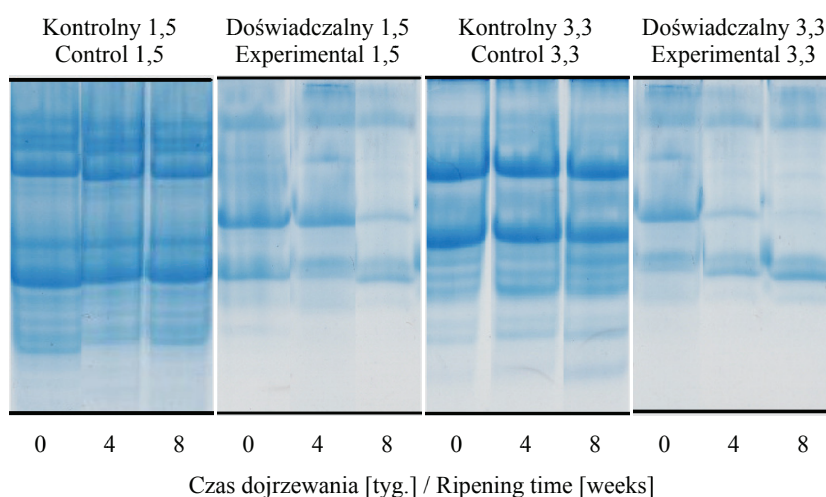
Objaśnienie jak pod tab. 1. / Explanatory note as in Tab. 1.

W serach produkowanych z udziałem enzymatycznego preparatu drożdżowego stwierdzono wyższy stopień degradacji białek (tab. 3). W ostatnim tygodniu dojrzewania zawartość WSN wynosiła 41,28 % w produktach o standardowej zawartości chloru sodu (1,5 %), podczas gdy w serach o wyższym stopniu nasolenia (3,3 %) - 35,97 %. W serach kontrolnych zawartość WSN zawierała się w przedziale 14,75 - 14,98 % i była mniejsza średnio o 58 - 64 % w stosunku do prób doświadczalnych.

W serach doświadczalnych zaobserwowano również najwyższe tempo uwalniania wolnych grup aminowych (WGA) we frakcji rozpuszczalnej w wodzie oraz we frakcji rozpuszczalnej w kwasie fosfowolframowym (PTA). Najwyższy poziom WGA we frakcji rozpuszczalnej w wodzie – 14831 $\mu\text{M Gly}/100\text{ g}$ oznaczono w produktach o nasoleniu 1,5 % NaCl. W serach o stężeniu NaCl równym 3,3 % wartość ta była niższa i wynosiła 11882 $\mu\text{M Gly}/100\text{ g}$ sera. Udział wolnych grup aminowych we frakcji rozpuszczalnej w PTA wynosił w tych serach odpowiednio 8801 i 7341 $\mu\text{M Gly}/100\text{ g}$. W dojrzałych produktach otrzymanych bez udziału preparatu enzymatycznego zawartość WGA we frakcji rozpuszczalnej w PTA była na poziomie 2324 – 2468 $\mu\text{M Gly}/100\text{ g}$ sera.

Zaawansowanie zmian degradacyjnych w parakazeinianie świadczy o aktywności preparatu zewnątrzkomórkowych enzymów użytego w produkcji serów doświadczalnych. Uzyskane wyniki są zbieżne z doniesieniami Czajguckiej i wsp. [5], którzy potwierdzają wysoki stopień proteolizy białek pod wpływem enzymów *Yarrowia lipolytica*. Różnice w głębokości zmian degradacyjnych białek badanych serów wynikają najprawdopodobniej z różnej zawartości chlorku sodu. Wzrost koncentracji NaCl powoduje obniżenie aktywności wody, a tym samym wpływa hamująco na procesy biochemiczne zachodzące podczas dojrzewania serów [24, 30].

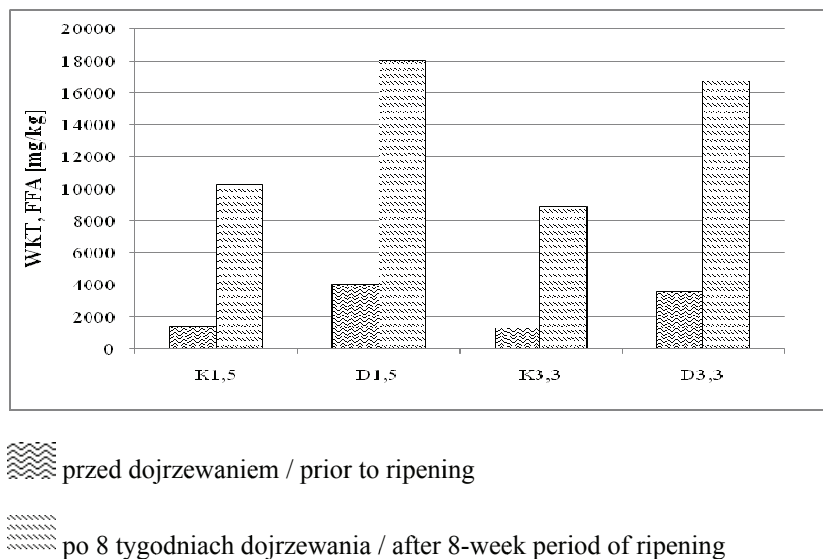
Przedstawione na rys. 1. rozdziały uzyskane metodą elektroforezy w żelu poliakrylamidowym potwierdziły głębszy rozkład białek w serach dojrzewających przy udziale drożdżowego preparatu enzymatycznego. W dojrzałych produktach stwierdzono niemal całkowitą degradację frakcji α_{s1} - i β kazeiny. W serach kontrolnych podczas 8 tygodni dojrzewania nie stwierdzono wyraźnych zmian degradacyjnych kazeiny.



Rys. 1. Rozdział elektroforetyczny białek serów podczas dojrzewania (1,5 i 3,3 % NaCl).

Fig. 1. Electrophoretic separation of proteins in cheeses during the ripening (1,5 and 3,3 % NaCl).

W serach doświadczalnych obserwowano także wyższe tempo uwalniania wolnych kwasów tłuszczowych (WKT). W dojrzałych produktach otrzymanych z udziałem preparatu proteolityczno-lipolitycznego z drożdży *Yarrowia lipolytica* notowano od 16669 do 18027 mg/kg WKT, co stanowiło prawie dwukrotnie wyższą koncentrację tych związków niż w serach kontrolnych (8843 - 10222 mg/kg) (rys. 2).



Rys. 2. Zawartość WKT ogółem w serach bezpośrednio po wyprodukowaniu oraz po 8 tygodniach dojrzewania (K - ser kontrolny, D - ser doświadczalny)

Fig. 2. Content of total FFA in cheeses directly after the production and after 8-week period of ripening (K – control cheese; D – experimental cheese).

W analizowanych serach stwierdzono również zróżnicowanie poziomu uwalniania poszczególnych kwasów tłuszczowych (tab. 4). Najwięcej krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych, jak masłowy i kapronowy, w głównej mierze decydujących o intensywności i akceptowalności cech zapachowych serów niskotłuszczowych [19], było w serze doświadczalnym o standardowej zawartości NaCl (1,5 %). Po ośmiu tygodniach dojrzewania zawartość kwasu masłowego wynosiła w nim 794 mg/kg, a kapronowego 563 mg/kg. W serach o 3,3 % koncentracji chlorku sodu oznaczono te kwasy na poziomie, odpowiednio 657 i 503 mg/kg. W równolegle produkowanych serach kontrolnych ich zawartość była ok. 2-krotnie mniejsza.

Wprowadzenie do serów preparatu enzymatycznego przyczyniło się do uwalniania z triacylogliceroli znacznych ilości długołańcuchowych kwasów tłuszczowych, takich jak palmitynowy, stearynowy i oleinowy. W porównaniu z serami kontrolnymi ich zawartość była od 1,5 do 2,5 razy większa. Nagromadzone w wyniku hydrolizy

triacylogliceroli WKT oraz liczne związki powstające w wyniku ich katabolizmu, jak: metyloketony, estry, alkohole bezpośrednio przyczyniają się kształtowania cech sensorycznych serów dojrzewających [4, 8, 19].

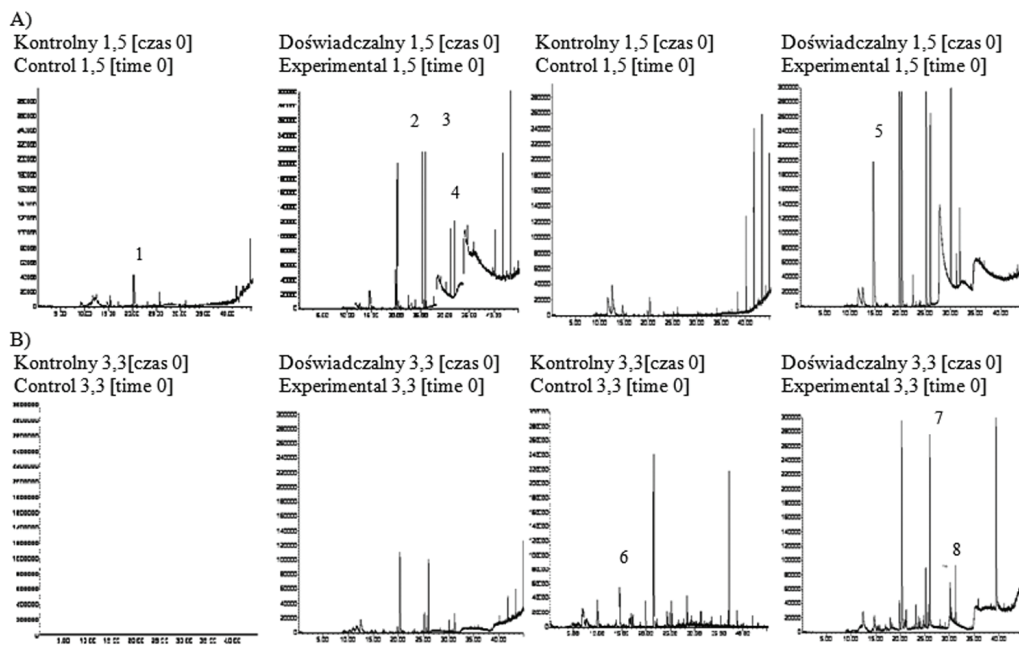
Tabela 4

Zawartość wolnych kwasów tłuszczowych (WKT) w serach, podczas dojrzewania ($\bar{x} \pm SD$).
Content of free fatty acids (FFA) in cheeses during the ripening ($\bar{x} \pm SD$).

Ser - % NaCl Cheese - % NaCl	Czas [tyg.]	Kontrolny 3,3 Control 3,3	Kontrolny 1,5 Control 1,5	Doświadczalny 3,3 Experimental 3,3	Doświadczalny 1,5 Experimental 1,5
C ₄	0	54 ± 0,13	39 ± 0,37	75 ± 0,23	94 ± 0,12
	8	348 ± 0,33	453 ± 0,04	657 ± 0,14	794 ± 0,21
C ₆	0	36 ± 0,11	27 ± 0,24	94 ± 0,10	134 ± 0,17
	8	235 ± 0,08	284 ± 0,34	503 ± 0,18	563 ± 0,16
C ₈	0	67 ± 0,22	41 ± 0,17	72 ± 0,03	154 ± 0,03
	8	198 ± 0,11	231 ± 0,08	594 ± 0,04	696 ± 0,24
C ₁₀	0	98 ± 0,17	72 ± 0,19	145 ± 0,24	173 ± 0,19
	8	376 ± 0,24	435 ± 0,21	896 ± 0,11	2745 ± 0,1
C ₁₂	0	56 ± 0,11	64 ± 0,09	98 ± 0,06	134 ± 0,21
	8	589 ± 0,20	643 ± 0,16	2245 ± 0,17	2637 ± 0,18
C ₁₄	0	124 ± 0,17	146 ± 0,24	453 ± 0,20	684 ± 0,24
	8	1456 ± 0,14	1642 ± 0,11	3245 ± 0,23	2543 ± 0,18
C ₁₆	0	298 ± 0,18	398 ± 0,15	765 ± 0,19	865 ± 0,07
	8	1785 ± 0,23	1952 ± 0,20	2174 ± 0,21	2876 ± 0,16
C _{18:0}	0	136 ± 0,22	154 ± 0,21	976 ± 0,24	673 ± 0,11
	8	1126 ± 0,29	1236 ± 0,37	3657 ± 0,28	3565 ± 0,16
C _{18:1}	0	298 ± 0,24	311 ± 0,08	673 ± 0,16	956 ± 0,15
	8	2356 ± 0,18	2783 ± 0,17	3371 ± 0,1	3562 ± 0,21
C _{18:2}	0	76 ± 0,09	95 ± 0,05	187 ± 0,2	134 ± 0,13
	8	374 ± 0,12	563 ± 0,06	845 ± 0,2	785 ± 0,09

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

Profil smakowo-zapachowy serów określono na podstawie analizy lotnych związków zapachowych. W badanych serach zidentyfikowano związki z grupy: ketonów, alkoholi i kwasów karboksylowych (rys. 3).



1: 2-heptanon / 2-heptanone; 2: kwas kaprylowy / caprylic acid; 3: 2-nonanon / 2-nonanone; 4: kwas kaprynowy / capric acid; 5: kwas masłowy / butyric acid; 6: 4-metyloheksanon / metyl hexanone; 7: 2-undekanon / 2-undecanone; 8: 1-nonanol / 1-nonanol.

Rys. 3. Rozdział chromatograficzny lotnych związków zapachowych serów o standardowej (A) i podwyższonej (B) zawartości NaCl

Fig. 3. Chromatographic profiles of volatile aromatic compounds of cheeses having standard (A) and increased (B) content of NaCl

Wykazano, że w serach doświadczalnych, do których wprowadzono preparat enzymatyczny, stężenie lotnych związków zapachowych wyrażone jako wysokość sygnałów uzyskanych w rozdziale chromatograficznym było największe (rys. 3). W składzie analizowanych związków dominowały kwasy karboksylowe i ketony, których w serach o standardowym i podwyższonym poziomie nasolenia udział wynosił odpowiednio: 78,13 i 21,66 % oraz 30,57 i 62,98 %. Wśród kwasów karboksylowych występowały kwasy: masłowy, kapronowy oraz kaprylowy i kaprynowy, a wśród ketonów: 2-heptanon, 2-nonanon i 2-undekanon. W równolegle produkowanych serach kontrolnych związki te nie były identyfikowane bądź ich zawartość była statystycznie nieistotna.

W ocenie sensorycznej wykazano, że sery wyprodukowane z dodatkiem preparatu enzymatycznego uzyskały wyższe noty pod względem cech smakowo-zapachowych niż konsystencji (tab. 5). Sery doświadczalne o zawartości chlorku sodu 3,3 % były

oceniane wyżej niż sery o standardowym nasoleniu. Niższa ocena tych ostatnich wynikała z gorzkiego posmaku będącego konsekwencją najprawdopodobniej zbyt daleko posuniętych procesów degradacji białek. Sery kontrolne otrzymały niższe oceny za poszczególne wyróżniki jakościowe. Uzyskane wyniki są zbliżone z wynikami Hulin-Bertaud i wsp. [13], według których modyfikacja technologii serów niskotłuszczowych poprzez wprowadzenie enzymów egzogennych pozwala na odtworzenie pełnego aromatu typowego dla ich pełnotłustych odpowiedników, a tym samym podniesienie jakości i pożądalności konsumenckiej.

Tabela 5

Ocena sensoryczna serów po 8 tygodniach dojrzewania ($\bar{X} \pm SD$).

Sensory assessment of cheeses after 8- weeks period of ripening ($\bar{X} \pm SD$).

Ser - % NaCl Cheese - % NaCl	Cecha [pkt] Parametr/points					Ogółem Total
	Zapach Aroma	Smak Taste	Słoność Saltness	Konsystencja Consistence	Tekstura Texture	
Kontrolny 1,5 Control 1,5	4,0±0,48	2,9±0,57	4,5±0,46	2,4±0,33	2,6±0,31	16,4
Doświadczalny 1,5 Experimental 1,5	4,5±0,46	3,4±0,54	4,4±0,53	2,7±0,48	3,3±0,46	18,3
Kontrolny 3,3 Control 3,3	4,5±0,50	3,7±0,55	3,1±0,54	3,6±0,40	3,3±0,50	18,2
Doświadczalny 3,3 Experimental 3,3	4,9±0,40	4,8±0,53	3,0±0,30	3,9±0,49	3,6±0,54	20,0

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

Wnioski

1. Preparat proteolityczno-lipolityczny z drożdży *Yarrowia lipolytica* może być wykorzystany w produkcji serów niskotłuszczowych w celu poprawy ich cech sensorycznych.
2. Wprowadzenie preparatu enzymatycznego uzyskanego z drożdży *Yarrowia lipolytica* do serów niskotłuszczowych przyczyniło się do intensyfikacji przemian biochemicznych zachodzących podczas ich dojrzewania.
3. Poziom nasolenia serów wywarł istotny wpływ na przemiany hydrolityczne białek i tłuszczu.

Praca wykonana w ramach projektu MNiSzW Nr N N312213036

Literatura


- [1] Andrews, A.T.: Proteinases in normal bovine milk and their action on caseins. *J. Dairy Res.*, 1983, **50**, 45-55.
- [2] Azarnia, S., Robert, N., Lee, B.-H.: Biotechnological methods to accelerate Cheddar cheese ripening. *Crit. Rev. Biotech.*, 2006, **26**, 121-143.
- [3] Berthold A., Pluta A., Kielak J.: Zmiany wybranych cech fizykochemicznych, reologicznych i sensorycznych w czasie dojrzewania sera typu holenderskiego o różnej zawartości tłuszczu. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **2 (47)**, 255-261.
- [4] Collins Y.F., McSweeney P.L., Wilkinson M.G.: Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge. *Int. Dairy J.*, 2003, **13**, 841-866.
- [5] Czajgucka A., Szołtyś M., Juszczak P., Żelazko M., Połaska X., Dąbrowska A., Wojtatowicz M., Chrzanowska J.: Wzrost i aktywność hydrolityczna szczepów drożdży pochodzących z sera w mleku. *Acta Scient. Polon., Biotechnol.*, 2007, **6 (4)**, 3-13.
- [6] Deetae P., Bonnarne P., Spinnler H.E., Helinck S.: Production of volatile aroma compounds by bacterial strains isolated from different surface-ripened French cheeses. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2007, **76**, 1161-1171.
- [7] Deeth H.C., Fitz-Gerald C.H., Snow A.J.: A gas chromatographic method for the quantitative determination of free fatty acids in milk and milk products. *J. Dairy Sci. Technol.*, 1983, **18**, 230-233.
- [8] Delgado F.J., Gonzalez-Crespo J., Ladero L., Cava R., Ramirez R.: Free fatty acids and oxidative changes of a Spanish soft cheese (PDO 'Torta del Casar') during ripening. *Inter. J. Food Sci. Technol.* 2009, **44**, 1721-1728.
- [9] Ferreira A.D., Viljoen B.C.: Yeasts as adjunct starters in matured Cheddar cheese. *Int. J. Food Microbiol.*, 2003, **86**, 131-140.
- [10] Forde A., Fitzgerald G.F.: Biotechnological approaches to the understanding and improvement of mature cheese flavour. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 2000, **11**, 484-489.
- [11] Guerzoni M., Lanciotti R., Vannini L., Galgano F., Favati F., Gardin F., Suzzi G.: Variability of the lipolytic activity in *Yarrowia lipolytica* and its dependence on environmental conditions. *Int. J. Food Microbiol.*, 2001, **69**, 79-89.
- [12] Hassan A.N., Awad S., Mistry V.V.: Reduced fat process cheese made from young reduced fat cheddar cheese manufactured with exopolysaccharide-producing cultures. *J. Dairy Sci.*, 2007, **90**, 3604-3612.
- [13] Hulin-Bertaud S., Kilcawley K.N., Wilkinson M.G., Delahunty C.M.: Sensory and compositional relationships between commercial cheddar-flavored enzyme-modified cheeses and natural cheddar. *J. Food Sci.*, 2000, **65 (6)**, 1076-1082.
- [14] Jarret W.D., Aston J.W., Dullely J.R.: A simple method for estimating free amino acids in Cheddar cheese. *Aust. J. Dairy Technol.*, 1982, **6**, 55-58
- [15] Kuchroo C.N., Fox P.F.: Soluble nitrogen in Cheddar cheese: comparison of extraction procedures. *Milchwiss.*, 1982, **37**, 331-335.
- [16] Kuchroo C.N., Rahilly J., Fox P.F.: Assessment of proteolysis in cheese by reaction with trinitrobenzene sulphonic acid. *Ir. J. Food Sci. Technol.*, 1983, **7**, 129-133.
- [17] Liu H., Xu X.M., Guo S.D.: Comparison of full-fat and low-fat cheese analogues with or without pectin gel through microstructure, texture, rheology, thermal and sensory analysis. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2008, **43**, 1581-1592.
- [18] McSweeney P.L.H., Sousa M.J.: Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review. *Lait*, 2000, **80**, 293-324.
- [19] Noronha N., Cronin D., O'Riordan D., O'Sullivan M.: Flavouring reduced fat high fibre cheese products with enzyme modified cheeses (EMCs). *Food Chem.*, 2008, **110**, 973-978.

- [20] Ritvanen T., Lampolahti S., Lilleberg L., Tupasela T., Isoniemi M., Appelbye U., Lyytikäinen T., Eerola S., Uusi-Rauva E.: Sensory evaluation, chemical composition and consumer acceptance of full fat and reduced fat cheeses in the Finnish market. *Food Qual. Pref.*, 2005, **16**, 479-492.
- [21] Rogers N.R., Drake M.A., Daubert C.R., McMahon D.J., Bletsch T.K., Foegeding E.A.: The effect of aging on low-fat, reduced-fat, and full-fat Cheddar cheese texture. *J. Dairy Sci.*, 2009, **92**, 4756-4772.
- [22] Roostita R., Fleet G.H.: Growth of yeasts in milk and associated changes to milk composition. *Int. J. Food Microbiol.*, 1996, **31**, 205-219.
- [23] Smit G., Smit A.B., Wim J. Engels M.: Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavor profiling of cheese products. *FEMS Microbiol. Rev.*, 2005, **29**, 591-610.
- [24] Sousa M.J., Ardo Y., McSweeney P.L.H.: Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. *Int. Dairy J.*, 2001, **11**, 327-345.
- [25] Szoltyś M., Pokora M., Sławska E., Niedbalska J., Dąbrowska A., Połomska X., Wojtatowicz M., Chrzanowska J.: Pośrednie wykorzystanie drożdży *Yarrowia lipolytica* do poprawy cech sensorycznych serów niskotłuszczowych. *Acta Scient. Polon., Biotechnol.*, 2009, **8 (2)**, 5-17.
- [26] Vakhlu J., Kour A.: Yeast lipases: enzyme purification, biochemical properties and gene cloning. *J. Biotechnol.* 2006, **9 (1)**, 69-85.
- [27] van den Tempel T., Jakobsen M.: The technological characteristics of *Debaryomyces hansenii* and *Yarrowia lipolytica* and their potential as starter cultures for production of Danablu. *Int. Dairy J.*, 2000, **10**, 263-270.
- [28] Wilkinsom M.G., Kilcawley K.N.: Mechanisms of incorporation and release of enzymes into cheese during ripening. *Int. Dairy J.*, 2005, **15**, 817-830.
- [29] Wiśniewska K., Rejs A., Jarmul I., Iwańczak M.: Ripening of rennet cheeses with different content of salt. *Natural Sci.*, 1999, **3**, 95-107.
- [30] Wojtatowicz M., Chrzanowska J., Juszczyk P., Skiba A., Gdula A.: Identyfikacja i biochemiczne cechy drożdżowej mikroflory sera Rokpol. *Int. J. Food Microbiol.*, 2001, **69**, 135-140.

EFFECT OF *YARROWIA LIPOLYTICA* ENZYMES ON SELECTED QUALITATIVE FEATURES OF RIPENING, LOW-FAT CHEESES

S u m m a r y

In the research, it was attempted to improve sensory features of ripening, low-fat cheeses by adding an enzymatic, proteolytic-lipolytic preparation obtained from *Yarrowia lipolytica* yeast. The cheeses with an amount of fat in dry mass reduced to a level of 30 % were produced from milk with the enzymatic yeast preparation added. Two variants of cheeses were produced: with a standard content of NaCl (1.5 %) and with an increased content of NaCl (3.3 %). During an 8-week period of ripening, the basic chemical composition of the cheeses was analysed as was the biodegradation level of proteins and fats. It was proved that with the enzymatic preparation added to the cheeses under production, the degradation processes of proteins and fats were intensified compared to the control cheeses. The level of biodegradation processes was higher in the cheeses having a standard content of NaCl (1.5 %) than in the cheeses with a 3.3 % concentration of NaCl. The yeast enzymes added contributed to a considerable accumulation of low-molecular-weight nitrogen compounds and free fatty acids. Moreover, it was shown that the yeast hydrolases added to the cheeses significantly enriched them with volatile aromatic compounds, and this fact was confirmed during a chromatographic analysis and, also, by a sensory assessment.

Key words: low-fat cheeses, proteases, lipases, *Yarrowia lipolytica*, ripening process of cheeses 

MARTA CHMIEL, KRZYSZTOF DASIEWICZ, MIROSŁAW SŁOWIŃSKI

WPLYW ROZDROBNIENIA MIĘSA WOŁOWEGO NA DOKŁADNOŚĆ SZACOWANIA ZAWARTOŚCI TŁUSZCZU METODĄ KOMPUTEROWEJ ANALIZY OBRAZU

Streszczenie

Celem pracy była ocena wpływu rozdrobnienia mięsa wołowego na dokładność szacowania zawartości tłuszczu metodą komputerowej analizy obrazu (KAO). Wykonano zdjęcia badanego drobnego mięsa wołowego pozyskanego z linii rozbiorowej, następnie każdą próbkę rozdrobniono w wilku z siatką o średnicy otworów 10 mm i ponownie wykonano zdjęcia. Na podstawie uzyskanych fotografii przeprowadzono komputerową analizę obrazu. W badanym mięsie oznaczono także zawartość tłuszczu odwoławczą metodą Soxhleta. Parametry wyznaczone metodą KAO (tj. składowe barwy RGB tłuszczu oraz udział pól białych – odpowiadających tkance tłuszczowej i łącznej) skorelowano z zawartością tłuszczu. Analiza statystyczna otrzymanych wyników wykazała istotne zależności pomiędzy udziałem pól białych a zawartością tłuszczu, zarówno w przypadku mięsa nierozdrobnionego, jak i rozdrobnionego. Zbliżone wartości współczynników korelacji odnoszące się do mięsa wołowego nierozdrobnionego i rozdrobnionego pozwalają stwierdzić, że stopień rozdrobnienia nie ma dużego wpływu na dokładność szacowania w nim zawartości tłuszczu metodą komputerowej analizy obrazu.

Słowa kluczowe: mięso wołowe, tłuszcz, komputerowa analiza obrazu

Wprowadzenie

Zróżnicowana zawartość tłuszczu w surowcu jest istotnym problemem w przemyśle mięsnym. Zawartość tego składnika w mięsie decyduje o jego wartości użytkowej, gdyż w znaczącym stopniu wpływa na wyróżniki jakości technologicznej tj. ilość wycieku po obróbce termicznej, zdolność wiązania wody własnej, teksturę, soczystość i smakowitość [4].

Drobne mięso pozyskiwane z rozbioru i wykrawania tusz wołowych odznacza się dużą zmiennością zawartości tkanki tłuszczowej, jak również jakości technologicznej. Stosowana w przemyśle mięsnym ocena wizualna zawartości tłuszczu dokonywana

Mgr inż. M. Chmiel, dr inż. K. Dasiewicz, dr hab. M. Słowiński, prof. SGGW, Katedra Technologii Żywności, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa

przez pracownika obarczona jest dużym błędem. Potrzebne są więc szybkie i proste metody szacowania zawartości tego składnika. Coraz częściej stosowaną w tym celu metodą jest komputerowa analiza obrazu (KAO) [2, 14, 28].

Komputerowa analiza obrazu znalazła zastosowanie do przyżyciowej oceny wartości i użytkowości rzeźnej bydła. Może być wykorzystywana do badania mięsności tusz i półtuszy wołowych, wieprzowych czy też owczych [17, 21, 23]. Zastosowanie KAO pozwala na podział, z dostateczną dokładnością, na klasy handlowe tusz wołowych pochodzących od zwierząt różnych genotypów [1]. W technologii mięsa może być ona także wykorzystywana do oceny jakości mięsa wołowego [7, 19, 21, 27], drobiowego [25] i wieprzowego [4, 9, 18, 20, 26]. Na podstawie badań stwierdzono przydatność komputerowej analizy obrazu do szacowania zawartości tłuszczu w drobnym peklowanym (lub nie) mięsie wieprzowym klasy II [5, 6].

Badania prowadzone przez wielu autorów na mięsie wołowym potwierdzają możliwość szerokiego zastosowania KAO w technologii mięsa [8, 16, 24, 27]. KAO wykorzystana została do oceny barwy, marmurkowatości i grubości warstwy tłuszczu w mięsie wołowym [11].

Celem niniejszych badań była ocena wpływu rozdrobnienia mięsa wołowego na dokładność szacowania zawartości tłuszczu metodą komputerowej analizy obrazu.

Materiał i metody badań

Materiał do badań stanowiło mięso wołowe pozyskane w warunkach przemysłowych z wykrawania i obróbki 3 elementów zasadniczych: karkówki, dolnej zrazowej oraz skrzydła, różniących się zawartością tłuszczu.

Badania wykonywano w dwóch etapach. Badania wstępne (etap 1), dotyczące wyboru warunków wykonywania zdjęć do komputerowej analizy obrazu (KAO), prowadzono z zastosowaniem 9 kombinacji rodzaju oświetlenia (halogenowe, żarowe, jarzeniowe) oraz tła (czarne, niebieskie, zielone). Na podstawie uzyskanych wyników za optymalne podczas wykonywania zdjęć uznano zastosowanie oświetlenia halogenowego oraz tła niebieskiego.

Badania właściwe (2 etap) obejmowały: pozyskanie zdjęć, przeprowadzenie na ich podstawie komputerowej analizy obrazu mięsa nierozdrobnionego, tzw. drobnego, oraz rozdrobnionego w wilku, a także oznaczenie w mięsie zawartości tłuszczu odwoławczą metodą Soxhleta.

Badania wykonano na 36 próbkach mięsa, po 12 z każdego elementu. Każdorazowo analizie poddawano próby mięsa drobnego pozyskiwanego z linii rozbiorowej, o masie około 5 kg, które przekładano do pojemnika i po wyrównaniu powierzchni umieszczano w stanowisku pomiarowym. Zdjęcia badanego mięsa wykonywano aparatem cyfrowym Olympus 1400L, w warunkach ustalonych w etapie 1. Następnie każdą próbkę rozdrabniano w wilku z siatką o średnicy otworów 10 mm i fotografowano. Po

wykonaniu zdjęć każdorazowo pobierano reprezentatywne próbki mięsa, które rozdrabniano dwukrotnie w wilku laboratoryjnym przy użyciu siatki o średnicy otworów 3 mm i dokładnie mieszano. Tak przygotowane próbki posłużyły do oznaczania zawartości tłuszczu odwoławczą metodą Soxhleta [22].

Stosując program analityczny Carne ver. 2.2. [15], na uzyskanych zdjęciach określono udział pól białych oraz przeprowadzono analizę składowych barwy R, G, B tłuszczu mięsa drobnego oraz rozdrobnionego.

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej, wykorzystując program Statgraphics 4.1, Weryfikację prowadzono na poziomie istotności $\alpha \leq 0,05$ [10].

Wyniki i dyskusja

Drobne mięso wołowe pozyskuje się z rozbioru i wykrawania tusz. Odnacza się ono dużą zmiennością zawartości tkanki tłuszczowej. W niniejszych badaniach największą zawartością tłuszczu charakteryzowało się mięso pozyskane z wykrawania i obróbki dolnej zrazowej (24,1 %). Istotnie mniejszą zawartość tłuszczu oznaczono w mięsie pozyskanym z karkówki – 5,0 %. Pośrednią zawartość tłuszczu stwierdzono w mięsie ze skrzydła – wynosiła ona 15,1 %. Oznaczona zawartość tłuszczu w mięsie pozyskanym z karkówki była porównywalna z wynikami badań prowadzonych przez innych autorów na tym samym elemencie, natomiast zawartość tłuszczu w mięsie pozyskanym z dolnej zrazowej i skrzydła była większa [12, 13]. Rozbieżności w otrzymanych wynikach mogły być spowodowane różnicami w stopniu przetłuszczenia mięsa pozyskanego z wykrawania i obróbki tych elementów, a także zmiennością osobniczą między zwierzętami, z których pozyskiwane było mięso.

Wykonane w etapie 2. zdjęcia nierozdrobnionego (tzw. drobnego) i rozdrobnionego (w wilku) mięsa wołowego, pozyskanego z wykrawania i obróbki 3 elementów zasadniczych, poddano analizie za pomocą programu komputerowego. Wyznaczono składowe barwy RGB tłuszczu (ang. *Red* – czerwona, *Green* – zielona, *Blue* – niebieska) oraz określono udział pól białych występujących na obrazie – odpowiadający tkance tłuszczowej i łącznej.

Średni udział pól białych na zdjęciach badanego mięsa wołowego, nierozdrobnionego oraz rozdrobnionego i wartości średnie składowych barwy RGB tłuszczu, wyznaczone metodą KAO, zestawiono w tab. 1.

W celu zbadania możliwości szacowania zawartości tłuszczu metodą KAO przeprowadzono analizę korelacji pomiędzy składowymi barwy RGB tłuszczu a zawartością tego składnika oszacowaną metodą odwoławczą. Uzyskane wartości współczynników korelacji odnoszące się do badanego drobnego i rozdrobnionego mięsa wołowego wskazują na istotne zależności (tab. 2). Najwyższy współczynnik korelacji i determinacji dotyczył składowej G_t (tłuszczu). Wyliczone zależności wskazują na możliwość szacowania zawartości tłuszczu, zarówno w przypadku mięsa nierozdrobnionego, jak

i poddanego rozdrobnieniu w wilku, za pomocą metody KAO, w określonych warunkach pomiarowych.

Tabela 1

Średni udział pól białych oraz średnie wartości składowych barwy R, G, B tłuszczu, wyznaczone metodą KAO, nierozdrobnionego oraz rozdrobnionego mięsa wołowego pozyskanego z wykrawania i obróbki wybranych elementów zasadniczych ($\bar{X} \pm SD$).

Average content of white fields and average values of fat colour components R, G, B as determined by VIA method, of non-ground and ground meat obtained while trimming and cutting selected retail cuts ($\bar{X} \pm SD$).

Karkówka Chuck	Dolna zrazowa Bottom rump	Skrzydło Top round	Karkówka Chuck	Dolna zrazowa Bottom rump	Skrzydło Top round
Nierozdrobnione w wilku mięso wołowe Beef not ground in grinder			Rozdrobnione mięso wołowe Ground beef		
Udział pól białych / Content of white fields [%]					
11,0 ± 1,6	19,5 ± 3,9	15,8 ± 2,6	2,3 ± 0,5	14,1 ± 1,4	13,3 ± 1,1
R _t					
232,3 ± 3,4	230,4 ± 2,9	231,1 ± 3,3	238,5 ± 2,6	232,5 ± 1,5	234,1 ± 0,8
G _t					
173,6 ± 5,2	163,9 ± 5,2	168,4 ± 6,0	176,9 ± 3,4	164,7 ± 2,6	171,3 ± 3,8
B _t					
154,3 ± 4,9	134,9 ± 6,0	146,7 ± 6,3	123,0 ± 3,0	140,7 ± 3,3	153,1 ± 3,9

Objaśnienia: / Explanatory notes:

$\bar{X} \pm SD$ - wartość średnia ± odchylenie standardowe / mean value ± standard deviation

Tabela 2

Współczynniki korelacji między składowymi barwy wyznaczonymi metodą komputerowej analizy obrazu a zawartością tłuszczu oznaczoną metodą Soxhleta w badanym mięsie wołowym.

Coefficients of correlation between colour components determined by video image analysis method and fat content determined by Soxhlet method in beef under analysis.

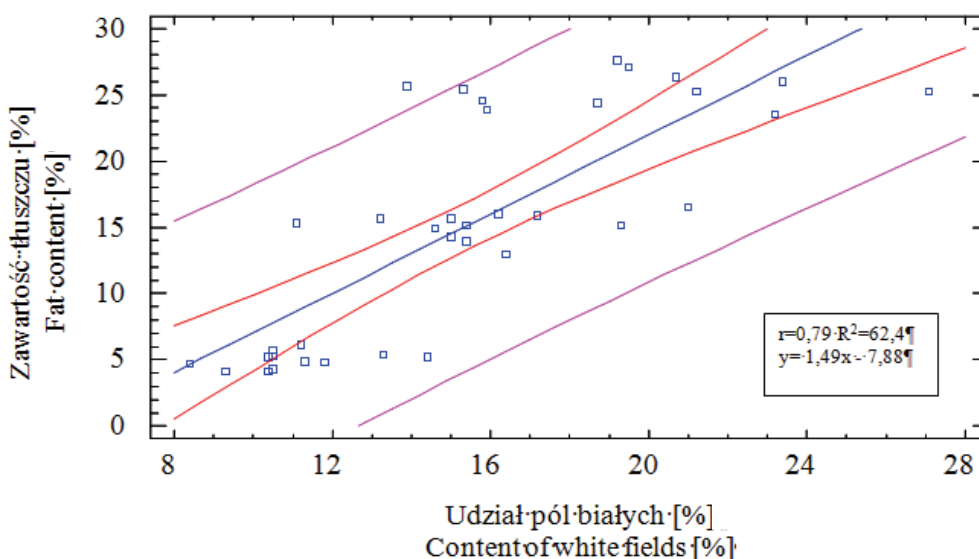
Składowe barwy wyznaczone metodą KAO Colour components determined by VIA	Nierozdrobnione mięso wołowe Non-ground beef	Rozdrobnione mięso wołowe Ground beef
R _t	-0,36*	-0,81*
G _t	-0,60*	-0,85*
B _t	-0,52*	-0,81*

Objaśnienia: / Explanatory notes:

*korelacja statystycznie istotna przy $\alpha \leq 0,05$ / correlation statistically significant at $\alpha \leq 0,05$

W celu zbadania wpływu rozdrobnienia mięsa wołowego na dokładność szacowania zawartości tłuszczu metodą komputerowej analizy obrazu przeprowadzono analizę korelacji pomiędzy udziałem pól białych (odpowiadających tkance tłuszczowej i łącznej) a zawartością tłuszczu oznaczonego metodą odwoławczą.

Przeprowadzona analiza statystyczna pomiędzy udziałem pól białych a zawartością tłuszczu wykazała istotne zależności. Wyliczone współczynniki korelacji i determinacji odnoszące się do mięsa nierozdrobnionego i rozdrobnionego wynosiły odpowiednio: $r = 0,79^*$ i $R^2 = 62,4\%$; $r = 0,87^*$ i $R^2 = 75,7\%$ (rys. 1 i 2). Zbliżone wartości współczynników korelacji i determinacji wskazują, że stopień rozdrobnienia mięsa wołowego nie miał wpływu na dokładność szacowania w nim zawartości tłuszczu metodą komputerowej analizy obrazu.

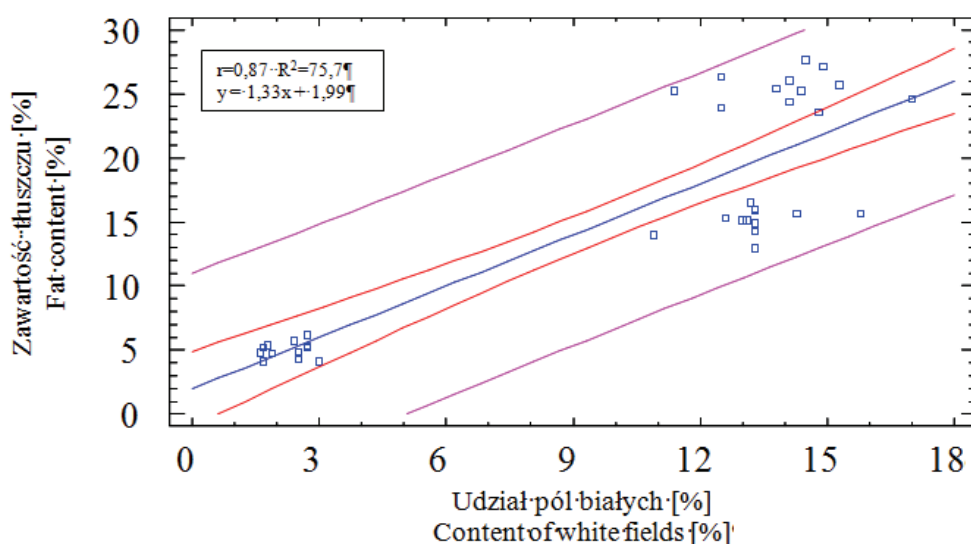


Rys. 1. Krzywa regresji pomiędzy udziałem pól białych wyznaczonym metodą KAO a zawartością tłuszczu oznaczoną metodą Soxhleta w badanym nierozdrobnionym mięsie wołowym.

Fig. 1. Regression curve of content of white spots determined using VIA method and fat content determined by the Soxhlet method in the analyzed unground in grinder beef.

Zależności te są podobne do zaobserwowanych w badaniach mięsa wieprzowego klasy II [3], w przypadku którego autorzy także wykazali istotne korelacje w mięsie poddanym rozdrobnieniu. Współczynniki korelacji były jednak niższe od uzyskanych w niniejszych badaniach. Mogło to być spowodowane różnicami w barwie mięsa oraz tłuszczu wieprzowego i wołowego. Mięso wołowe charakteryzuje się ciemniejszą barwą, tłuszcz jest natomiast barwy białej bądź żółtej, w związku z czym na zdjęciach widoczny jest większy kontrast pomiędzy barwą tkanki tłuszczowej i mięśniowej.

W przypadku mięsa wieprzowego kontrast pomiędzy tkankami tłuszczową i mięśniową jest mniejszy, gdyż tłuszcz wieprzowy może charakteryzować się różowoczerwonym zabarwieniem. Podczas przeprowadzania KAO zdjęć mięsa wołowego program analityczny dokładniej określa udział pól białych. Ponadto tłuszcz wołowy charakteryzuje się twardszą konsystencją, więc podczas rozdrabniania w większym stopniu zostaje zachowana jego struktura, a na analizowanym zdjęciu widoczne są wyraźne białe obszary. Bardziej miękka konsystencja tłuszczu wieprzowego powoduje jego rozmywanie się podczas rozdrabniania oraz zmniejszenie różnic w barwie tkanki tłuszczowej i mięśniowej. W konsekwencji na zdjęciach rozdrobnionego mięsa wieprzowego program analityczny nie rozpoznaje z tak dużą dokładnością udziału pól białych.



Rys. 2. Krzywa regresji pomiędzy udziałem pól białych wyznaczonym metodą KAO a zawartością tłuszczu oznaczoną metodą Soxhleta w badanym rozdrobnionym mięsie wołowym.

Fig. 2. Regression curve demonstrating the correlation between the content of white fields as determined by VIA method and the fat content as determined by Soxhlet method in the ground beef under analysis.

Wnioski

1. Istnieje możliwość wykorzystania komputerowej analizy obrazu do szacowania zawartości tłuszczu w mięsie wołowym nierozdrobnionym (drobnym) i rozdrobnionym w wilku, na co wskazują stwierdzone istotne korelacje pomiędzy składowymi barwy RGB tłuszczu, udziałem pól białych a zawartością tłuszczu oznaczoną metodą Soxhleta.

2. Zbliżone wartości współczynników korelacji pomiędzy udziałem pól białych a zawartością tłuszczu w mięsie nierozdrobnionym (drobnym) i rozdrobnionym w wilku pozwalają stwierdzić, że stopień rozdrobnienia mięsa wołowego nie ma wpływu na dokładność szacowania w nim zawartości tłuszczu metodą komputerowej analizy obrazu.

Praca finansowana z grantu nr N312 239435 MNiSzW w latach 2008-2010.

Literatura


- [1] Branscheid W., Dobrowolski A., Szindler M., Augustini C.: Apparative Klassifizierung und Erfassung des Schlachtwertes beim Rind mit Hilfe der Videobildanalyse. Fleischwirtschaft, 1998, **78 (10)**, 1046-1050.
- [2] Cheng J.D., Sun D.W.: Recent developments in the applications of image processing techniques for food quality evaluation. Trends Food Sci. Technol., 2004, **15**, 230-249.
- [3] Dasiewicz K., Mierzwińska I.: The use of a computer digital analysis for evaluating the quality of pork trimmings. Technologia Alimentaria, 2006, **5 (2)**, 85-92.
- [4] Dasiewicz K., Pisula A., Cegiełka A.: The use of computer image analysis for pork trimmings quality evaluation under industrial conditions. Animal Sci. Proc., 2007, **1**, 31-32.
- [5] Dasiewicz K., Pisula A., Flis A.: Próba zastosowania komputerowej analizy obrazu do oceny jakości drobnego mięsa wieprzowego klasy II. Roczn. IPMIT, 2004, **TXLI**, 53-61.
- [6] Dasiewicz K., Pisula A., Słowiński M., Noga A.: Zastosowanie komputerowej analizy obrazu do szacowania jakości peklowanego drobnego mięsa wieprzowego klasy II. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2008, **4 (59)**, 52-60.
- [7] Dasiewicz K., Słowiński M., Sakowski T., Oprządek J., Wiśnioch A., Dymnicki E., Słoniewski K.: The attempt of Video Image Analysis use for estimation of meat quality of beef breeds bulls. EJPAU. Series Food Sci. Technol., 2003, **6**, issue 2.
- [8] Dasiewicz K., Słowiński M., Walasek M., Cegiełka A.: The use of colour measurements for determining the quality of meat from young cattle and culled cows. Animal Sci. Proc., 2007, **1**, 33-34.
- [9] Faucitano L., Huff P., Teuscher F., Garipey C., Wegner J.: Application of computer image analysis to measure pork marbling characteristics. Meat Sci., 2005, **69**, 537-543.
- [10] Gawęcki J., Wagner W.: Podstawy metodologii badań doświadczalnych w nauce o żywieniu i żywności. PWN, Warszawa 1984.
- [11] Gerrard D.E., Gao X., Tan J.: Determining beef marbling and color scores by image processing. J. Food Sci., 1998, **61**, 145-148.
- [12] Grześkowiak E., Borzuta K., Strzelecki J.: Porównanie jakości różnych mięśni tusz młodego bydła rzeźnego rasy ncb. Gosp. Mięś., 2006, **58 (9)**, 16-18.
- [13] Grześkowiak E., Strzelecki J., Borzuta K., Borys A.: Jakość podstawowych elementów kulinarnych tusz młodego bydła. Gosp. Mięś., 2006, **58 (8)**, 30-33.
- [14] Gunasekaran S.: Computer vision technology for food quality assurance. Trends Int. Food Sci. Technol., 1996, **7**, 245-256.
- [15] Instrukcja programu komputerowego Carne ver 2.2., 2004.
- [16] Jackman P., Sun D. W., Allen P.: Automatic segmentation of beef longissimus dorsi muscle and marbling by an adaptable algorithm. Meat Sci., 2009, **83**, 187-194.
- [17] Kien S.: Aparaturowa klasyfikacja tusz wołowych w systemie EUROP. Mięso i Wędliny, 2000, **8**, 28-32, 36.

- [18] Lu J., Tan J., Shatadal P., Gerrard D. E.: Evaluation of pork color by using computer vision. *Meat Sci.*, 2000, **56**, 57-60.
- [19] Mendoza F., Dejmek P., Aguilera J.M.: Calibrated color measurements of agricultural foods using image analysis. *Posth. Biology Technol.*, 2006, **41**, 285-295.
- [20] O'Sullivan M. G., Byrne D. V., Martens H., Gidskehaug L. H., Andersen H. J., Martens M.: Evaluation of pork colour: prediction of visual sensory quality of meat from instrumental and computer vision methods of colour analysis. *Meat Sci.*, 2003, **65**, 909-918.
- [21] Ovsen E.: Objective classification of beef carcass by a beef classification centre. Beef carcass and meat quality evaluation. Proc 42nd EAAP Annual Meeting, Dummerstorf-Rostock, Germany, 1991, pp. 115-122.
- [22] PN-ISO 1444: 2000. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczenie zawartości tłuszczu wolnego.
- [23] Rius-Vilarrasa E., Bünger L., Maltin C., Matthews K.R., Roehe R.: Evaluation of Video Image Analysis (VIA) technology to predict meat yield of sheep carcasses on-line under UK abattoir conditions. *Meat Sci.*, 2009, **82**, 94-100.
- [24] Shiranita K., Miyahima T., Takiyama R.: Determination of meat quality by texture analysis. *Pattern Rec. Letters*, 1998, **19**, 1319-1324.
- [25] Słowiński M.: Badania nad zastosowaniem szybkich, pośrednich metod do oceny jakości tuszek i mięsa drobiowego. *Rozprawy naukowe i monografie*. Wyd. SGGW, Warszawa 2005.
- [26] Tan J.: Meat quality evaluation by computer vision. *J. Food Eng.*, 2004, **61**, 27-35.
- [27] Yoshikawa F., Toraichi K., Wada K., Nobuyuki O., Ostu N., Nakai H., Mitsumoto, M., Katagishi, K.: On a grading system for beef marbling. *Pattern Rec. Letters*, 2000, **21**, 1037-1050.
- [28] Zheng C., Sun D.W., Zheng L.: Recent developments and applications of image features for food quality evaluation and inspection – a review. *Trends Food Sci. Technol.*, 2006, **17**, 642-655.

EFFECT OF BEEF GRINDING ON THE ACCURACY OF ESTIMATING FAT CONTENT WITH THE USE OF VIDEO IMAGE ANALYSIS

Summary

The objective of this research was to estimate the effect of beef grinding on the accuracy of estimating fat content using a computer-aided video image analysis. Photographs of the analyzed beef trimmings from the fabrication line were taken. Next, each meat sample was ground in a grinder with a plate having 10 mm openings and, again, photographs of the meat ground were taken. Based on the photographs taken, a computer-aided video image analysis was performed. Furthermore, in the meat analyzed, a reference fat content was determined using a standard Soxhlet method. The parameters as determined by the VIA method (i.e. the RGB colour values and the content of white fields – corresponding with the fat and connective tissue) were correlated with fat content determined by a reference method. The results obtained were statistically analyzed and this analysis disclosed significant dependencies between the content of white fields determined by the VIA method and the fat content determined by the Soxhlet method in the case of both the non-ground and the ground meat. The similar values of correlation coefficients referring to the non-ground and ground meat allow for the statement that the grinding degree has not a big effect on the accuracy of estimating the fat content therein using the computer-aided video analysis method.

Key words: beef, fat, video image analysis 

KATARZYNA NEFFE, DANUTA KOŁOŻYN-KRAJEWSKA

MOŻLIWOŚCI ZASTOSOWANIA BAKTERII PROBIOTYCZNYCH W DOJRZEWAJĄCYCH PRODUKTACH MIĘSNYCH

Streszczenie

Celem podjętych badań była ocena możliwości wzrostu i przeżywalności wybranych szczepów bakterii probiotycznych w produktach mięsnych surowo dojrzewających, na przykładzie polędwicy.

Materiał do badań stanowiły surowe polędwice wieprzowe oraz dwa szczepy bakterii probiotycznych: *Lactobacillus casei* LOCK 0900 (zgłoszenie patentowe nr P-382760) oraz *Lactobacillus casei* LOCK 0908 (zgłoszenie patentowe nr P-382761).

W układzie doświadczenia zaplanowano trzy rodzaje badanych prób polędwic: dwie próby kontrolne (polędwice z dodatkiem 0,2 % glukozy i bez tego dodatku), dwie próby z dodatkiem samego szczepu probiotycznego *Lactobacillus casei* LOCK 0900 i LOCK 0908, próby z dodatkiem szczepu probiotycznego i 0,2 % glukozy. Tak przygotowane polędwice poddano procesowi dojrzewania przez 3 tygodnie w temperaturze 16 °C. Następnie badane produkty zostały zapakowane próżniowo i poddane przechowywaniu w temperaturze 4 °C przez 6 miesięcy. Wykonano trzy serie doświadczenia. Analizy mikrobiologiczne, polegające na oznaczeniu liczby bakterii kwasu mlekowego (LAB), przeprowadzono bezpośrednio po zakończeniu 3-tygodniowego procesu dojrzewania mięsa oraz po 6-miesięcznym okresie przechowywania zapakowanych próżniowo prób polędwic, z zastosowaniem automatycznego systemu pomiaru liczby drobnoustrojów – TEMPO® (Biomerieux, Francja).

Stwierdzono, że szczepy bakterii probiotycznych *Lactobacillus casei* LOCK 0900 i *Lactobacillus casei* LOCK 0908, wprowadzone do zapeklowanych polędwic wieprzowych, rozmnażają się do liczby 10^7 jtk/g, a w przypadku dodatku 0,2 % glukozy do 10^8 jtk/g. Liczba bakterii probiotycznych w polędwicach przechowywanych przez 6 miesięcy była niższa o 1 – 2 rzędy logarytmiczne w porównaniu z produktami po dojrzewaniu, lecz nadal wystarczająca do uznania produktów za probiotyczne.

Słowa kluczowe: produkty mięsne dojrzewające, polędwice wieprzowe, probiotyki

Wprowadzenie

Bakterie kwasu mlekowego (LAB – *ang.* Lactic Acid Bacteria), które wykazują właściwości prozdrowotne określane są mianem probiotyków. Współczesna definicja,

Mgr inż. K. Neffe, prof. dr hab. Danuta Kołożyn-Krajewska, Zakład Higieny i Zarządzania Jakością Żywności, Wydz. Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa

opublikowana na zjeździe ekspertów FAO/WHO w październiku 2001 roku, określa je jako żywe mikroorganizmy, które podawane w odpowiedniej ilości, wywierają korzystny wpływ na zdrowie człowieka lub zwierząt, w tym głównie na mikroflorę jelitową [5].

Bakterie kwasu mlekowego stosuje się od bardzo dawna w utrwaleniu i przetworstwie żywności. Produkty spożywcze, w skład których wchodzi LAB, uzyskują dzięki nim charakterystyczne cechy sensoryczne, przedłużoną trwałość oraz wykazują korzystny wpływ na organizm ludzki. W czasach współczesnych bakterie kwasu mlekowego stały się przedmiotem zainteresowania wielu gałęzi przemysłu spożywczego [12, 13].

Bakterie fermentacji mlekowej wykorzystuje się tradycyjnie w produkcji fermentowanych produktów mleczarskich, kiszonek warzywnych, chleba, przetworów mięsnych, sojowych, ryb, zbóż, żywności orientalnej. W ostatnich latach obserwuje się intensywny rozwój badań nad technologią produkcji nowych rodzajów żywności fermentowanej, zarówno pochodzenia zwierzęcego, jak i roślinnego, zawierającej w swoim składzie bakterie probiotyczne [14]. Żywność taka określana jest mianem żywności funkcjonalnej.

Nową koncepcją zastosowania bakterii probiotycznych są surowo dojrzewające produkty mięsne. Do tej pory podjęto próby wprowadzenia omawianych mikroorganizmów tylko do kielbas, które są produkowane przez fermentację, bez wysokotemperaturowej obróbki. W produkcji surowo dojrzewających kielbas, np. salami wykorzystuje się farsz mięsny składający się z rozdrobnionego mięsa, słoniny oraz soli peklującej i kultur starterowych, w tym przypadku bakterii mlekowych o właściwościach probiotycznych. Tak przygotowane batony kielbas poddawane są procesowi fermentacji, wędzenia, a następnie dojrzewaniu właściwemu w kontrolowanych parametrach temperatury oraz wilgotności. Wędliny surowo dojrzewające charakteryzują się specyficznymi właściwościami sensorycznymi pożądanymi przez konsumentów. Charakterystyczny smak oraz zapach produktów mięsnych dojrzewających powstaje właśnie podczas odpowiednio przeprowadzonego procesu fermentacji oraz wędzenia [7, 19]. Bakterie probiotyczne wchodzące w skład fermentowanych produktów mięsnych wpływają korzystnie nie tylko na jakość sensoryczną produktu, ale również mogą przyczyniać się do zahamowania rozwoju mikroflory patogennej (np. *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*). Proces ten polega na powstawaniu szeregu metabolitów szczepów probiotycznych (np. kwasu mlekowego oraz bakteriocyn) o właściwościach bakteriostatycznych i bakteriobójczych, które wspomagają działanie mieszanki soli peklujących [2, 11, 18].

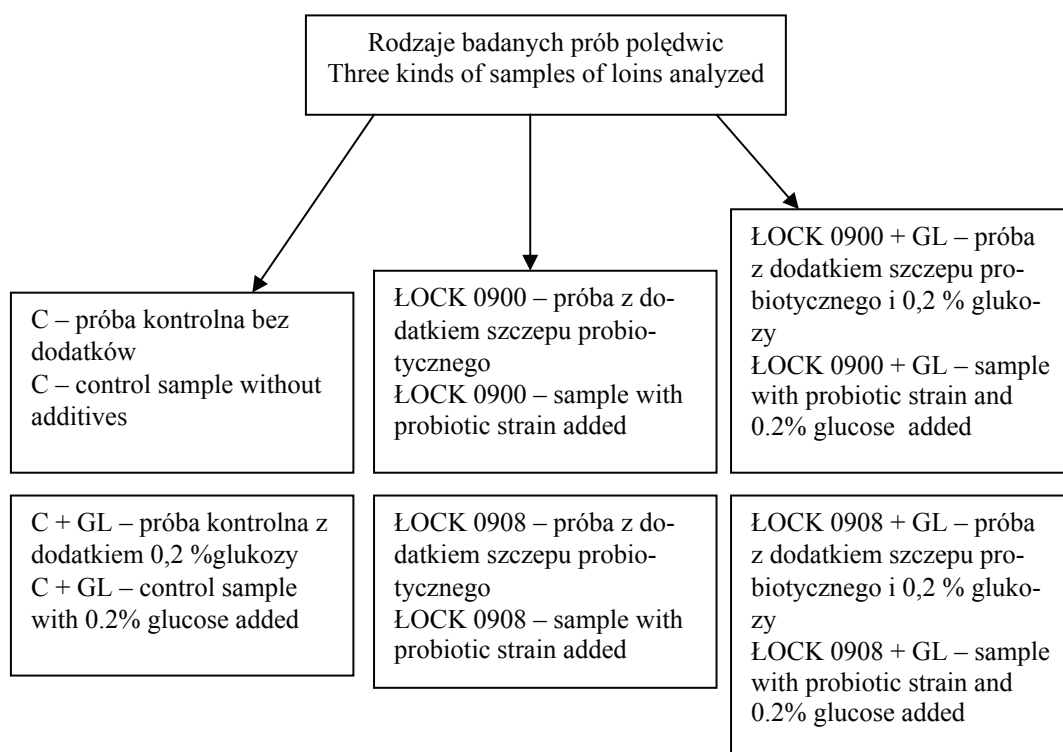
Celem podjętych badań była ocena możliwości wzrostu i przeżywalności wybranych szczepów bakterii probiotycznych w produktach mięsnych surowo dojrzewających, na przykładzie polędwicy wieprzowej.

Material i metody badań

Material do badań stanowiły surowe polędwice wieprzowe oraz dwa szczepy bakterii probiotycznych. Badane mikroorganizmy pochodziły z kolekcji Instytutu Technologii Fermentacji i Mikrobiologii Politechniki Łódzkiej: *Lactobacillus casei* ŁOCK 0900 (zgłoszenie patentowe nr P-382760) oraz *Lactobacillus casei* ŁOCK 0908 (zgłoszenie patentowe nr P-382761). Szczepy zdeponowano w Instytucie Immunologii i Terapii doświadczalnej PAN we Wrocławiu odpowiednio pod numerem B/00019 i B/00020.

Proces produkcyjny polędwic surowo dojrzewających odbywał się w pracowniach Katedry Technologii Mięsa i Zarządzania Jakością Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie.

W układzie doświadczenia zaplanowano trzy rodzaje badanych prób polędwic: dwie próby kontrolne (polędwice z dodatkiem 0,2 % glukozy i bez tego dodatku), dwie próby z dodatkiem samego szczepu probiotycznego *Lactobacillus casei* ŁOCK 0900 i *L. casei* ŁOCK 0908, próby z dodatkiem szczepu probiotycznego i 0,2 % glukozy (rys. 1).



Rys. 1. Układ doświadczenia badanych prób polędwic.

Fig. 1. Experimental Arrangement of samples of loins analyzed.

Do uprzednio zapeklowanych prób surowych polędwic wieprzowych dodawano 0,2 % glukozy (zgodnie ze schematem na rys. 1) oraz inokulum odpowiedniego szczepu bakterii probiotycznych (*Lactobacillus casei* LOCK 0900 lub *Lactobacillus casei* LOCK 0908). Liczba bakterii probiotycznych w hodowli wyjściowej, służącej do zaszczepienia badanego produktu mięsnego, po 48-godzinnej inkubacji wynosiła 9,6 log jtk/ml. Tak przygotowane polędwice poddawano procesowi dojrzewania przez 3 tygodnie w temp. 16 °C. Następnie badany produkt pakowano próżniowo i przechowywano w temp. 4 °C przez 6 miesięcy. Wykonano trzy serie doświadczenia.

Analizy mikrobiologiczne, polegające na oznaczeniu liczby bakterii kwasu mlekowego (LAB), przeprowadzono bezpośrednio po zakończeniu 3-tygodniowego procesu dojrzewania mięsa oraz po 6-miesięcznym okresie przechowywania zapakowanych próżniowo prób polędwic. Analizy mikrobiologiczne wykonywano z zastosowaniem automatycznego systemu do pomiaru liczby drobnoustrojów – TEMPO® (Biomerieux, Francja). Do oznaczeń mikrobiologicznych używano oryginalnych testów TEMPO® LAB, służących do określania liczby bakterii kwasu mlekowego w produktach żywnościowych. Test TEMPO® LAB składa się z buteleczki z podłożem hodowlanym oraz karty odczytu. Na jedną badaną próbę produktu przypada jeden test TEMPO® LAB. Podłoże hodowlane zaszczepione odpowiednim rozcieńczeniem badanej próby jest przenoszone przez automatyczny napełniacz TEMPO® do karty odczytu. Następnie karta odczytu zostaje hermetycznie zamknięta. Czas inkubacji testów zaszczepionych badaną próbą wynosił 40 h w temp. 37 °C. Namnażające się bakterie kwasu mlekowego redukują substrat w podłożu hodowlanym, wywołując powstanie sygnału fluorescencyjnego. Sygnał ten jest odczytywany przez czytnik TEMPO®. System TEMPO®, który określa liczbę bakterii kwasu mlekowego według obliczeń metody Najbardziej Prawdopodobnej Liczby (NPL), za pomocą specjalnej konstrukcji kart odczytu [4]. Każda karta odczytu zawiera 48 cel o trzech różnych objętościach (3 zestawy po 16 cel o różnicy jednego logarytmu w przypadku każdego zestawu cel). Karta odczytu ma za zadanie symulację metody NPL. Wykorzystany system oznaczeń mikrobiologicznych – Tempo® pozwala na uzyskanie poziomów wiarygodności podobnych do standardów NF ISO 15214 oraz zaleceń metod Kompendium Mikrobiologicznych Badań Żywności American Health Association [1, 17]. Wyniki badań podano w jednostkach tworzących kolonie w jednym gramie produktu [jtk/g].

Opracowanie statystyczne wyników mikrobiologicznych przeprowadzono za pomocą programu Microsoft Excel oraz Statistica 8.0. W analizie statystycznej wykorzystano test t-studenta odnoszący się do prób niezależnych.

Wyniki i dyskusja

Zadanie wprowadzenia szczepów bakterii probiotycznych do mięsa nierozdrobnionego, celem uzyskania produktu spełniającego wymagania stawiane żywności pro-

biotycznej, jest trudne z kilku powodów. Po pierwsze mięso wieprzowe jest środowiskiem, w którym może nastąpić wzrost bakterii kwasu mlekowego [8], jednak szczepy bakterii probiotycznych jako bakterie jelitowe nie wykazują bardzo dobrych cech technologicznych. Po drugie istnieje trudność technologiczna wprowadzenia szczepu bakteryjnego (forma, ilość, sposób aplikacji) do zapeklowanego elementu, jakim jest polędwica wieprzowa. Po trzecie wprowadzenie bakterii probiotycznych następuje do surowca, który nie jest jałowy, tak jak się to dzieje w przypadku fermentowanych napojów mlecznych czy soków [6]. Stwarza to problemy zarówno technologiczne, jak i analityczne. Dwa z powyższych problemów technologicznych zostały rozwiązane, jednak nadal pozostały nierozwiązane trudności analityczne. Identyfikacja wybranych szczepów probiotycznych w mięsie, z wykorzystaniem tradycyjnych metod mikrobiologicznych jest niepełna, ponieważ oznacza się ogólną liczbę bakterii kwasu mlekowego. Całkowitą pewność pełnej identyfikacji probiotyków w żywności będą mogły umożliwić nowoczesne metody polegające na genetycznej analizie charakterystycznych sekwencji nukleotydów danego szczepu bakteryjnego [3].

W prowadzonych badaniach oznaczano ogólną liczbę bakterii LAB. Po zakończeniu procesu dojrzewania mięsa liczba bakterii kwasu mlekowego w próbach kontrolnych, bez dodatków, kształtowała się na poziomie 10^5 log jtk/g. Otrzymane wyniki obrazują liczbę bakterii mlekowych znajdujących się w badanym mięsie bez dodatku szczepów probiotycznych.

W próbach polędwic z dodatkiem samego szczepu probiotycznego *Lactobacillus casei* LOCK 0900 lub *Lactobacillus casei* LOCK 0908, stwierdzono liczbę bakterii mlekowych wyższą o dwa rzędy logarytmiczne (tab. 1). Porównując powyższe wyniki badań można wywnioskować, że wzrost wybranych szczepów bakterii probiotycznych w polędwicach surowo dojrzewających jest możliwy. Wykazano to także m.in. w badaniach Klingberga i wsp. [8], którzy stwierdzili że produkty mięsne surowo dojrzewające stanowią dobre środowisko do rozwoju bakterii probiotycznych.

Bakterie kwasu mlekowego, w tym szczepy probiotyczne, wykorzystują cukry proste w procesach metabolicznych. Cukry te są niezbędne do prawidłowego przebiegu procesu fermentacji. Dodatek cukrów prostych w technologii mięsnych wyrobów fermentowanych jest konieczny ze względu na ich małą zawartość w surowcu mięsnym [10]. W badanych próbach kontrolnych z dodatkiem 0,2 % glukozy, liczba bakterii kwasu mlekowego wynosiła 10^5 log jtk/g, podobnie jak w próbach kontrolnych bez dodatku glukozy. Natomiast w próbach polędwic surowo dojrzewających z dodatkiem szczepu probiotycznego *Lactobacillus casei* LOCK 0900 i 0,2 % glukozy, liczba bakterii LAB była o trzy rzędy logarytmiczne wyższa niż w próbach kontrolnych. W polędwicach z dodatkiem szczepu *Lactobacillus casei* LOCK 0908 i 0,2 % glukozy różnica ta była mniejsza i wynosiła dwa rzędy logarytmiczne (tab. 1). Liczba bakterii mlekowych w polędwicach z dodatkiem szczepu *L. casei* LOCK 0900 i 0,2 % glukozy była

najwyższa spośród wszystkich innych badanych wariantów prób mięsa surowo dojrzewającego. Według danych literaturowych dodatek cukrów prostych powinien wynosić od 0,4 do 0,8 % [10]. Można przypuszczać, że większy dodatek glukozy do badanych polędwic surowo dojrzewających spowodowałby jeszcze korzystniejszy wzrost szczepów probiotycznych w badanych polędwicach wieprzowych.

Tabela 1

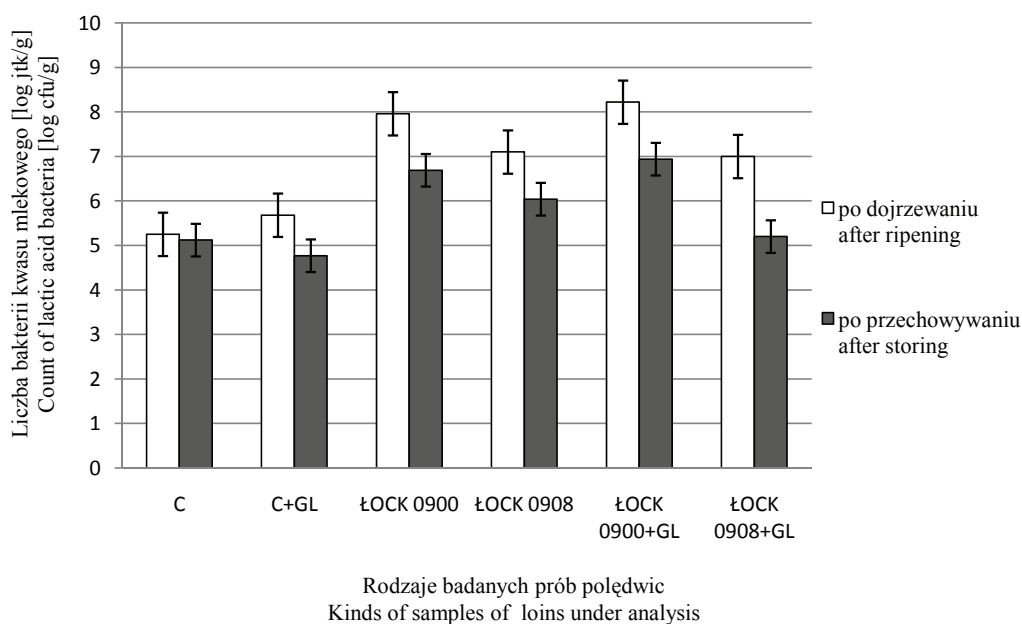
Liczba bakterii kwasu mlekowego w badanych próbach polędwic surowo dojrzewających po zakończeniu procesu dojrzewania mięsa.

Count of lactic acid bacteria in the samples of dry fermented loins under analysis after the completion of the meat ripening process.

Rodzaj próby Kind of sample	Liczba bakterii kwasu mlekowego [jtk/g] Count of lactic acid bacteria [cfu/g]	Średnia arytmetyczna Mean	Odchylenie standardowe Standard deviation
C – próba kontrolna bez dodatków C – control sample without additives	5,28 5,96 4,52	5,25	0,72
C + GL – próba kontrolna z 0,2 % dodatkiem glukozy C + GL – control sample with 0.2 % glucose added	6,40 5,43 5,20	5,68	0,63
ŁOCK 0900 – próba z dodatkiem szczepu probiotycznego ŁOCK 0900 – sample with probiotic strain added	7,45 8,53 7,91	7,96	0,54
ŁOCK 0900 + GL – próba z dodatkiem szczepu probiotycznego oraz 0,2 % glukozy ŁOCK 0900 + GL – sample with probiotic strain and 0.2% glucose added	7,95 8,08 8,63	8,22	0,36
ŁOCK 0908 – próba z dodatkiem szczepu probiotycznego ŁOCK 0908 – sample with probiotic strain added	7,26 7,32 6,73	7,10	0,32
ŁOCK 0908 + GL - próba z dodatkiem szczepu probiotycznego oraz 0,2 % glukozy ŁOCK 0908 + GL – sample with probiotic strain and 0.2% glucose added	7,36 7,18 6,48	7,00	0,47

Podsumowując tę część badań dotyczącą wzrostu bakterii LAB w próbach kontrolnych i w próbach z dodatkiem szczepu probiotycznego, można stwierdzić, że istnieje możliwość wzrostu szczepów bakterii probiotycznych w polędwicach wieprzowych. Wzrost bakterii probiotycznych jest stymulowany przez dodatek cukrów prostych (w tym przypadku 0,2 % glukozy). Dobranie odpowiednich warunków peklowania, stosowanych dodatków i dojrzewania umożliwi wzrost wprowadzonych szczepów bakterii probiotycznych w środowisku mięsa wieprzowego, do liczby umożliwiającej uznanie produktu za prozdrowotny.

W czasie przechowywania prób polędwic przez 6 miesięcy w warunkach beztlenowych stwierdzono obniżenie liczby bakterii kwasu mlekowego. W badanych próbach kontrolnych bez dodatków liczba bakterii LAB była na poziomie 10^5 log jtk/g. Natomiast liczba bakterii kwasu mlekowego w polędwicach z dodatkiem samego szczepu probiotycznego, zarówno *Lactobacillus casei* ŁOCK 0900, jak i *L. casei* ŁOCK 0908, obniżyła się średnio o jeden rząd logarytmiczny w porównaniu z próbami badanymi bezpośrednio po procesie dojrzewania (10^6 log jtk/g) (rys. 2).



Rys. 2. Liczba bakterii kwasu mlekowego w próbach polędwic surowo dojrzewających po procesie dojrzewania i przechowywania.

Fig. 2. The comparison of the lactic acid bacteria count at dry fermented loins samples after ripening and storage process.

Liczba bakterii kwasu mlekowego w próbach kontrolnych z dodatkiem 0,2 % glukozy wynosiła 10^4 log jtk/g, czyli była niższa o jeden rząd logarytmiczny w stosun-

ku do liczby LAB przed przechowywaniem. W próbach polędwic z dodatkiem szczepu probiotycznego *Lactobacillus casei* LOCK 0900 i 0,2 % glukozy zaobserwowano liczbę bakterii wyższą o dwa rzędy logarytmiczne, a w próbach ze szczepem *L. casei* LOCK 0908 i 0,2 % glukozy o jeden rząd logarytmiczny, w porównaniu z próbami kontrolnymi (rys. 2).

Badane próby polędwic surowo dojrzewających z dodatkiem szczepów probiotycznych *Lactobacillus casei* LOCK 0900 lub *L. casei* LOCK 0908 oraz próby z dodatkiem probiotyku i 0,2 % glukozy charakteryzowały się wysoką liczbą bakterii mlekowych, zarówno po procesie dojrzewania mięsa, jak i po półrocznym przechowywaniu. Uzyskane wyniki badań mikrobiologicznych pozwalają wnioskować, że bakterie probiotyczne *Lactobacillus casei* LOCK 0900 i LOCK 0908 rozmnażają się i przeżywają w polędwicach przechowywanych w temp. 4 °C w opakowaniach próżniowych przez 6 miesięcy.

Analiza statystyczna uzyskanych wyników mikrobiologicznych dotyczyła różnic między liczbą bakterii mlekowych w próbach kontrolnych (z dodatkiem lub bez 0,2 % glukozy) a pozostałymi próbami badawczymi, zarówno po okresie dojrzewania, jak i przechowywania (tab. 2). Założono, że liczba bakterii nie zmieni się znacząco w próbach polędwic z dodatkiem samego szczepu, jak i w polędwicach ze szczepem probiotycznym i 0,2 % glukozy, w porównaniu z próbami kontrolnymi. Wiarygodność założenia zbadano za pomocą testu t-Studenta dla prób niezależnych oraz unormowanej wartości P ($p < 0,05$). Zarówno w przypadku prób polędwic badanych po 3 tygodniach dojrzewania, jak i po 6 miesiącach przechowywania, wartości P kształtowały się poniżej umownego progu 0,05. Wyjątek stanowiły wyniki analizy statystycznej pomiędzy próbami kontrolnymi z dodatkiem 0,2 % glukozy a próbami polędwic z dodatkiem szczepu probiotycznego *Lactobacillus casei* LOCK 0908 i 0,2 % glukozy (tab. 2). Na podstawie przeprowadzonej analizy należy stwierdzić, że istnieją statystycznie istotne różnice pomiędzy liczbą bakterii kwasu mlekowego w próbach kontrolnych i w próbach z dodatkiem szczepów probiotycznych. Istotne różnice statystyczne stwierdzono też między liczbą bakterii LAB w próbach kontrolnych z dodatkiem 0,2 % glukozy i w polędwicach z dodatkiem tego samego cukru prostego i szczepu probiotycznego *L. casei* LOCK 0900. Potwierdza to wnioskowanie dotyczące możliwości wzrostu szczepów bakterii probiotycznych w polędwicach wieprzowych.

Żywność probiotyczna to nowe wyzwanie dla technologów i żywieniowców. Dotychczas brak jest prawnych wymagań dotyczących zarówno właściwości prozdrowotnych, jak i liczby bakterii w tego rodzajach produktach. W wielu publikacjach, a także wymaganiach Codex Alimentarius [5] sugeruje się jednak, że liczba bakterii w jednym gramie produktu spożywczego powinna wynosić od 10^6 do 10^9 komórek oraz powinna się utrzymywać na stałym poziomie przez cały okres przydatności produktu do spożycia. W takim przypadku, stugramowa porcja żywności zapewni wystarczającą liczbę

bakterii probiotycznych do wywołania korzystnych efektów zdrowotnych w organizmie człowieka [9, 15, 16]. Na podstawie przeprowadzonych badań można przypuszczać, że stugramowa porcja badanych poledwic surowo dojrzewających spełnia wymagania prozdrowotnego wpływu na organizm człowieka.

Tabela 2

Wyniki testu t-Studenta, odnoszące się do prób niezależnych, między liczbą bakterii mlekowych w poledwicach z dodatkiem szczepów probiotycznych a próbkami kontrolnymi (liczba stopni swobody $df = 2,00$) Results of statistical analysis, which refer to independent samples (Student's T test), between the count of lactic acid bacteria in loins with probiotic strains added and in the control samples (degrees of freedom d.f. = 2.00)

Porównane próby Samples being compared	Współczynnik t Factor t		Wartość p P value ($p < 0,05$)	
	I	II	I	II
C – próba kontrolna bez dodatków C – control sample without additives ŁOCK 0900 – próba z dodatkiem szczepu probiotycznego ŁOCK 0900 – sample with probiotic strain added	-7,50	-6,04	0,017	0,026*
C – próba kontrolna bez dodatków C – control sample without additives ŁOCK 0908 – próba z dodatkiem szczepu probiotycznego ŁOCK 0908 – sample with probiotic strain added	-7,25	-4,64	0,018	0,043*
C + GL – próba kontrolna z dodatkiem 0,2 % glukozy C + GL – control sample with 0.2% glucose added ŁOCK 0900 + GL – próba z dodatkiem szczepu probiotycznego oraz 0,2 % glukozy ŁOCK 0900 + GL – sample with probiotic strain and 0.2% glucose added	-4,68	-5,92	0,043	0,027*
C + GL – próba kontrolna z dodatkiem 0,2 % glukozy C + GL – control sample with 0.2% glucose added ŁOCK 0908 + GL – próba z dodatkiem szczepu probiotycznego oraz 0,2 % glukozy ŁOCK 0908 + GL – sample with probiotic strain and 0.2% glucose added	-5,85	-1,14	0,028	0,372

Objaśnienia: / Explanatory notes:

I – dane po procesie dojrzewania / data after ripening process; II – dane po przechowywaniu / data after storing;

*oznacza różnice statystycznie istotne / means statistically significant differences.

Przedstawione wyniki badań odnoszą się jedynie do możliwości wzrostu i przeżywalności wybranych szczepów bakterii probiotycznych w produktach mięsnych surowo dojrzewających. Stanowią one jedynie część szerszych badań realizowanych w ramach projektu finansowanego przez MNiSzW i są kontynuowane.

Wnioski

1. Stwierdzono, że szczepy bakterii probiotycznych *Lactobacillus casei* LOCK 0900 i *Lactobacillus casei* LOCK 0908 wprowadzone do zapeklowanych polędwic wieprzowych namnażają się do liczby 10^7 jtk/g, a w przypadku dodatku 0,2 % glukozy do 10^8 jtk/g.
2. Liczba bakterii probiotycznych w polędwicach przechowywanych przez 6 miesięcy była niższa o 1 – 2 rzędy logarytmiczne w porównaniu z produktami po dojrzewaniu, lecz nadal wystarczająca, by móc uznać je za produkty probiotyczne.

Praca wykonana w ramach grantu MNiSzW nr NN 312275435, pod kierownictwem prof. dr hab. Zbigniewa Dolatowskiego.

Literatura

- [1] American Public Health Association 4th Edition. Compendium of methods for the Microbiological Examination of Foods, Chapter 19, Acid-Producing Microorganisms, § 19.522 Acidified MRS Agar, 2004.
- [2] Ammor M.S., Mayo B.: Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: An update. *Meat Sci.*, 2007, **76**, 138-146.
- [3] Anonim: Bakterie probiotyczne w przetworach mięsnych. *Mięso i Wędliny*, 2007, **6**, 32-38.
- [4] Cochran W.G.: Estimation of bacterial densities by means of the „Most Probable Number”. *Biometrics*, 1950, **6**, 105-116.
- [5] Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. Raport a Joint FAO/WHO Working Group, 2002.
- [6] Heller K.J.: Probiotic bacteria in fermented foods: product characteristics and starter organisms. *American J. Clin. Nutr.*, 2005, **73**, 374S-379S.
- [7] Kenneally P.M., Leuschner R.G., Arendt E.K.: Evaluation of the lipolytic activity of starter cultures for meat fermentation purposes. *J. Appl. Microbiol.*, 1998, **84**, 839-846.
- [8] Klingberg T.D., Axelsson L., Naterstad K., Elsser D., Bude B.B.: Identification of potential starter cultures for Scandinavian-type fermented sausages. *Int. J. Food Microbiol.*, 2005, **105**, 419-431.
- [9] Libudzisz Z.: Żywność probiotyczna. W: *Mikroorganizmy w żywności i żywieniu – pod red. J. Gawęckiego i Z. Libudzisz.* Wyd. AR w Poznaniu, Poznań, 2006, s. 93.
- [10] Libudzisz Z., Kowal K.: *Mikrobiologia techniczna.* Politechnika Łódzka, Łódź 2000, ss. 99-101.
- [11] Nieto-Lozano J.C., Reguera- Useros J.I., Pelaez- Martinez M.C., Torre A.H.: Effect of bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici* against *Listeria monocytogenes* and *Clostridium perfringens* on Spanish raw meat. *Meat Sci.*, 2006, **72**, 57-61.
- [12] Oberman H.: Bakterie fermentacji mlekowej. W: *Mikrobiologia i higiena w przemyśle spożywczym – pod red. Z. Żakowskiej i H. Stobińskiej.* Politechnika Łódzka, Łódź 2000, s. 145.

- [13] Oberman H.: Bakterie fermentacji mlekowej – wczoraj i dzisiaj. W: Bakterie fermentacji mlekowej – klasyfikacja, metabolizm, genetyka, wykorzystanie – pod red. Z. Libudzisz, P. Walczak i J. Bardowskiego. Wyd. Politechniki Łódzkiej, Łódź, 2004, s. 7.
- [14] Rivera-Espinoza Y., Gallardo-Navarro Y.: Non-dairy probiotic products. Food Microbiol., 2010, **27**, 1-11.
- [15] Riuz-Moyano S., Martin A., Benito J.M., Nevado F.P., Cordoba M.: Screening of lactic acid bacteria and bifidobacteria for potential probiotic use in Iberian dry fermented sausages. Meat Sci., 2008, **80**, 715-721.
- [16] Saarela M., Mogensen G., Fondén R., Mättö J., Mattila-Sandholm T.: Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. J. Biotechnol. 2000, **84**, 197-215.
- [17] Standard NF ISO 15214:1998. Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the numeration of mesophilic lactic acid bacteria. Colony-count technique at 30 °C.
- [18] Työppönen S., Petaja E., Mattila-Sandholm T.: Bioprotectives and probiotics for dry sausages. Int. J. Food Microbiol., 2003, **83**, 233-244.
- [19] Ziarno M., Zaręba D.: Charakterystyka komercyjnych kultur startowych stosowanych w przetwórstwie mięsa. Med. Wet., 2008, **64** (9), 1078-1082.

POTENTIAL USES OF PROBIOTIC BACTERIA IN RIPENING MEAT PRODUCTS

Summary

The objective of the research conducted was to assess the potential growth and survival of selected probiotic strains in ripening meat products using an example of pork loins.

The research material comprised raw pork loins and two probiotic strains *Lactobacillus casei* LOCK 0900 (Patent No.: P-382760) and *Lactobacillus casei* LOCK 0908 (Patent No.: P-382760).

Three kinds of loin samples were analyzed in the experiment: two control samples (loins with and without 0.2% glucose additive), two samples with only *Lactobacillus casei* LOCK 0900 and LOCK 0908 probiotic strains added, and the samples with the probiotic strain and 0.2% glucose added. The loin samples prepared in this way ripened for 3 weeks at a temperature of 16°C. Then, the products analyzed were vacuum-packed and stored at 4°C during a period of 6 months. Three series of experiment were performed. Micro-biological analyses had to determine the count of lactic acid bacteria (LAB). They were made 3 weeks after the completion of the 3-week meat ripening process and 6 months after the storage of the vacuum-packed loins using TEMPO® (Biomerieux, France), i.e. an automated system of measuring the count of micro-organisms.

It was found that the probiotic strains of *Lactobacillus casei* LOCK 0900 and LOCK 0908, added to the cured pork loins, grew and achieved a count of 10⁷ log cfu/g, and in the samples with the additive of 0.2% glucose, their count was 10⁸ log cfu/g. The count of probiotic bacteria in loins stored during a period of 6 months was by 1 to 2 log levels lower compared to the products after the ripening process, but this count was still high enough to consider those products to be probiotic.

Key words: ripening meat products, pork loins, probiotics ☒

KRZYSZTOF J. DURKALEC-MICHALSKI, JOANNA M. SULIBURSKA,
ZBIGNIEW KREJPCIO, PAWEŁ BOGDAŃSKI

OCENA SPOŻYCIA ALKOHOŁU, TŁUSZCZU I SODU W WYBRANEJ GRUPIE PACJENTÓW Z PIERWOTNYM NADCIŚNIENIEM TĘTNICZYM

Streszczenie

Nadciśnienie tętnicze znacząco zwiększa ryzyko chorób układu krążenia, które stanowią główne zagrożenie zdrowia i życia człowieka. W prewencji i terapii wysokiego ciśnienia tętniczego istotną rolę odgrywa prawidłowy sposób żywienia.

Celem pracy była ocena spożycia alkoholu, tłuszczu i sodu w wybranej grupie pacjentów z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym.

W badaniu uczestniczyło 33 pacjentów z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym, bez chorób współistniejących. W celach porównawczych i właściwej interpretacji uzyskanych wyników, w badaniu wzięło również udział 35 zdrowych osób, wolontariuszy, wchodzących w skład grupy kontrolnej. W obu grupach przeprowadzono badania ankietowe dotyczące nawyków żywieniowych respondentów m.in. charakterystyki spożycia alkoholu i sodu. Przeprowadzono również ocenę sposobu żywienia na podstawie trzykrotnego 24-godzinnego wywiadu żywieniowego, z wykorzystaniem „Album fotografii produktów i potraw”. Ocenę wartości energetycznej i oszacowanie ilości wybranych składników odżywczych, występujących w całodziennych racjach pokarmowych, przeprowadzono przy użyciu komputerowego programu Dietetyk.

Stwierdzono istotnie wyższą ($p < 0,05$) podaż energii oraz większe spożycie tłuszczu, w tym nasyconych i jednonienasyconych kwasów tłuszczowych oraz NNKT, w grupie pacjentów z nadciśnieniem tętniczym pijących alkohol aniżeli u chorych niespożywających alkoholu. Wśród osób pijących alkohol stwierdzono ponadto spożycie cholesterolu przekraczające zalecane normy żywieniowe. Wśród osób z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym zaobserwowano dużą podaż sodu w diecie, w tym również częste dosalanie posiłków. W grupie kontrolnej istotności statystyczne dotyczyły większego spożycia nasyconych kwasów tłuszczowych wśród badanych spożywających alkohol.

Podsumowując, można stwierdzić, że osoby pijące alkohol spożywają również większą ilość żywieniowych czynników hipertensyjnych, jak tłuszcz (m.in. nasycone kwasy tłuszczowe, cholesterol) i sód, co może nasilać wzrost wartości ciśnienia tętniczego i znacząco utrudniać terapię.

Słowa kluczowe: nadciśnienie tętnicze, alkohol, spożycie tłuszczu, spożycie sodu

Mgr inż. K.J. Durkalec-Michalski, dr J.M. Suliburska, prof. dr hab. Z. Krejpcio, Katedra Higieny Żywienia Człowieka, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 Poznań, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu; dr n. med. P. Bogdański, Klinika Chorób Wewnętrznych, Zaburzeń Metabolicznych i Nadciśnienia Tętniczego Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, ul. Szamarzewskiego 84, 60-569 Poznań

Wprowadzenie

Nadciśnienie tętnicze znacząco zwiększa ryzyko powikłań sercowo-naczyniowych, które stanowią zagrożenie zdrowia i życia człowieka. Badania wskazują na konieczność modyfikacji stylu życia, jako czynnika warunkującego skuteczność terapii hipotensyjnej. Jednym z głównych elementów nefarmakologicznej prewencji i leczenia wysokiego ciśnienia tętniczego jest właściwy sposób żywienia [2, 11]. Racjonalne żywienie może bowiem zapobiegać, opóźniać wystąpienie lub łagodzić przebieg wielu chorób, a szczególnie chorób cywilizacyjnych, do których należy m.in. nadciśnienie tętnicze. Często u pacjentów obserwuje się jednak liczne błędy w zakresie sposobu żywienia, wynikające z niewiedzy i niewłaściwych nawyków żywieniowych [13, 19]. Znaczne kontrowersje wydaje się budzić w tym aspekcie wpływ alkoholu na stan zdrowia chorych z nadciśnieniem tętniczym. Większość zaleceń wskazuje na konieczność znacznego ograniczenia spożycia alkoholu szczególnie u osób z wysokim ciśnieniem krwi [10, 14, 17]. Szacuje się, że w Polsce u 10 % mężczyzn występowanie nadciśnienia tętniczego może wynikać z nałogowego picia alkoholu [6]. Niektóre analizy wskazują, że dawka 210 g alkoholu spożywana regularnie, w skali tygodnia, powiększa niebezpieczeństwo powstania nadciśnienia tętniczego o 20 % wśród mężczyzn i aż o 100 % wśród kobiet [3]. Wzrost ciśnienia spowodowany alkoholem wydaje się wiązać m.in. z pobudzeniem przez niego układu współczulnego i układu renina-angiotensyna-aldosteron, a także podniesieniem poziomu kortyzolu w surowicy krwi, obniżeniem stopnia wrażliwości na insulinę, zaburzeniem przeciwtransportu sodowo-potasowego, powodującym wewnątrzkomórkową kumulację sodu i w konsekwencji wapnia, co wspólnie prowadzi do zwiększenia oporu obwodowego, spowodowanego wysokim napięciem mięśni gładkich [7]. W nadciśnieniu tętniczym kontrowersje wywołuje problem wpływu małych ilości alkoholu na ten parametr. Większość badań wskazuje, że spożycie przez mężczyzn poniżej 20 - 30 g etanolu i 10 - 20 g etanolu przez kobiety nie wywołuje negatywnych efektów i jest to dawka dopuszczalna w prewencji i terapii nadciśnienia tętniczego [7, 9]. Jednak alkohol może wpływać znacząco na sposób żywienia, oddziałując m.in. na pobudzenie apetytu. Ważne, aby nie wiązało się to ze zwiększeniem podaży energii oraz udziału tłuszczu i soli w diecie, zwłaszcza w przypadku osób z nadciśnieniem tętniczym.

Celem pracy była ocena spożycia alkoholu, tłuszczu i sodu w wybranej grupie pacjentów z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym.

Material i metody badań

Badania przeprowadzono z udziałem 33 pacjentów (17 kobiet, 16 mężczyzn) Kliniki Chorób Wewnętrznych, Zaburzeń Metabolicznych i Nadciśnienia Tętniczego Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, w wieku 48 ± 12 lat, bez dodatniego wywiadu

w kierunku chorób współistniejących (cukrzyca, choroby niedokrwiennej serca, nadciśnienia lub niedoczynności tarczycy, choroby nowotworowej, zaburzonej funkcji nerek). W celu właściwej interpretacji uzyskane wyniki zestawiono z danymi otrzymanymi w analizie grupy 35 zdrowych osób, wolontariuszy, (17 kobiet i 18 mężczyzn), wchodzących w skład grupy kontrolnej, w wieku 40 ± 13 lat.

W obu grupach przeprowadzono badania ankietowe, dotyczące nawyków żywieniowych respondentów, ze szczególnym uwzględnieniem m.in. charakterystyki spożycia alkoholu i soli kuchennej. Dokonano również oceny sposobu żywienia na podstawie trzykrotnego 24-godzinnego wywiadu żywieniowego, z wykorzystaniem „Albumu fotografii produktów i potraw”. Ocenę wartości energetycznej i oszacowanie ilości wybranych składników pokarmowych, występujących w całodziennych racjach pokarmowych, przeprowadzono w komputerowym programie Dietetyk.

Analizę statystyczną przeprowadzono z użyciem programu Statistica 7.0, wykorzystując test Mann-Whitney'a, na poziomie istotności $\alpha = 0,05$.

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Etyki Badań Naukowych przy Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu nr 514/06 z dnia 6 kwietnia 2006 r.

Wyniki i dyskusja

Charakterystykę badanej grupy przedstawiono w tab. 1. Stwierdzono, że ponad połowa pacjentów deklarowała spożycie alkoholu. Największy odsetek w tej grupie stanowili mężczyźni (81 %). W przypadku kobiet z nadciśnieniem tętniczym 75 % kobiet twierdziło z kolei, że nie spożywa alkoholu. W grupie kontrolnej wyższy odsetek respondentów, aniżeli w grupie badanej, deklarował spożycie alkoholu – blisko 90 % mężczyzn i 76 % kobiet.

W tab. 2. przedstawiono wyniki dotyczące zawartości energii i wybranych składników odżywczych w diecie osób spożywających i niespożywających alkoholu. Uwagę zwraca fakt, że w przypadku pacjentek z nadciśnieniem tętniczym spożywających alkohol średnia jednorazowa dawka alkoholu, w przeliczeniu na etanol, przekroczyła zalecany w terapii hipotensyjnej próg 20 ml ($21,8 \pm 5,2$ ml). W badanej grupie mężczyzn stwierdzono z kolei spożycie w górnych granicach dawki 30 ml etanolu ($29,1 \pm 6,1$ ml), niewpływającej znacząco na poziom ciśnienia tętniczego. Spożycie alkoholu przez zdrowych respondentów w porównaniu do badanych z nadciśnieniem tętniczym było zbliżone w przypadku kobiet ($22,6 \pm 8,9$ ml) i nieco wyższe wśród mężczyzn ($34,8 \pm 19,0$ ml).

Ocena sposobu żywienia badanych osób wykazała, że pacjenci z nadciśnieniem tętniczym spożywający alkohol odznaczali się znacznie wyższym ($p < 0,05$) dziennym poborem energii aniżeli osoby niepijące alkoholu (1731 ± 743 kcal vs. 1302 ± 635 kcal). Zależności te zaobserwowano głównie między kobietami w grupie badanej

(1634 ± 484 kcal vs. 1086 ± 285 kcal, $p < 0,05$). Wśród mężczyzn zaobserwowano odwrotne relacje i osoby spożywające alkohol pobierały mniej energii aniżeli osoby niepijące zarówno w grupie badanej (1776 ± 851 kcal vs. 2093 ± 1105 kcal, $p < 0,05$), jak i kontrolnej (2158 ± 657 kcal vs. 2545 ± 950 kcal).

Tabela 1

Charakterystyka grupy badanej i kontrolnej.

Description of the polled and control groups.

Parametr Parameter		Grupa badana Polled group			Grupa kontrolna Control group		
		Ogółem Total	Kobiety Women	Mężczyźni Men	Ogółem Total	Kobiety Women	Mężczyźni Men
Liczba osób Number of persons		33	17	16	35	17	18
Wiek Age	$\bar{X} \pm SD$	48 ± 12	49 ± 12	46 ± 13	40 ± 13	39 ± 14	40 ± 13
Spożywający alkohol [% badanych] Persons who drink alcohol [% of the polled]		58	35	81	83	76	89

Pacjenci z nadciśnieniem tętniczym spożywający alkohol wykazywali również znamienne wyższe ($p < 0,05$) spożycie tłuszczu całkowitego (65,8 ± 34,1 g vs. 43,3 ± 26,9 g), co dotyczyło przede wszystkim kobiet w tej grupie (66,8 ± 22,7 g vs. 34,8 ± 11,0 g, $p < 0,05$). Osoby w grupie badanej, deklarujące spożycie alkoholu, spożywały ponadto istotnie większą ($p < 0,05$) ilość nasyconych kwasów tłuszczowych aniżeli chorzy z nadciśnieniem tętniczym niepijący alkoholu (23,5 ± 11,4 g vs. 15,9 ± 10,3 g). Podobne tendencje zaobserwowano również u zdrowych respondentów (28,8 ± 9,3 g vs. 20,7 ± 9,9 g, $p < 0,05$).

U osób z nadciśnieniem tętniczym spożywających alkohol stwierdzono również wyższe spożycie jednonienasyconych kwasów tłuszczowych (27,1 ± 16,4 g vs. 16,4 ± 12,1 g, $p < 0,05$) oraz NNKT (9,3 ± 5,3 g vs. 6,8 ± 3,5 g, $p < 0,05$). Istotne różnice w spożyciu jednonienasyconych kwasów tłuszczowych dotyczyły kobiet w grupie badanej. W tej grupie zaobserwowano dwukrotnie większe spożycie jednonienasyconych kwasów tłuszczowych przez kobiety deklaruujące spożycie alkoholu aniżeli wśród respondentek niepijących alkoholu (28,1 ± 10,2 g vs. 12,2 ± 4,4 g, $p < 0,05$). W grupie badanych kobiet pijących alkohol stwierdzono również wyższe spożycie NNKT (9,6 ± 4,9 g vs. 6,1 ± 2,9 g, $p < 0,05$).

Osoby w grupie badanej, deklarujące spożywanie alkohol, pobierały z diety również wyższą ($p < 0,05$) ilość cholesterolu (328 ± 243 mg vs. 208 ± 90 mg). Zależność tę zaobserwowano zarówno między spożywającymi i niespożywającymi alkoholu kobietami (348 ± 250 mg vs. 205 ± 104 mg, $p < 0,05$) i mężczyznami (319 ± 249 mg vs. $217,2 \pm 47,1$ mg, $p < 0,05$) z nadciśnieniem tętniczym.

Osoby spożywające alkohol spożywały z diety również większą ilość sodu aniżeli osoby niepijące alkoholu, zarówno w grupie badanej (2309 ± 1367 mg vs. 2098 ± 1536 mg), jak i w grupie kontrolnej (2724 ± 1356 mg vs. 1725 ± 848 mg). Uwagę zwraca również częstsze dosalanie potraw przez osoby spożywające alkohol, co stwierdzono zarówno wśród mężczyzn z nadciśnieniem tętniczym (1748 ± 1149 mg Na vs. 784 ± 1037 mg), jak i kobiet (1040 ± 739 mg vs. 735 ± 938 mg) oraz mężczyzn (1408 ± 911 mg vs. 0 mg) w grupie kontrolnej.

W tab. 3. zamieszczono dane dotyczące dziennej realizacji norm zapotrzebowania na energię i wybrane składniki odżywcze. Stwierdzono, że podaż energii badanych osób nie przekraczała zalecanego dziennego spożycia określonego średnimi wydatkami energetycznymi, na podstawie podstawowej przemiany materii, oznaczonej za pomocą parametrów antropometrycznych (masy ciała i wzrostu) oraz poziomu aktywności fizycznej. Podkreślić należy, że osoby z nadciśnieniem tętniczym niespożywające alkoholu pobierały znacząco mniejszą ilość energii z diety aniżeli osoby pijące alkohol ($65\% \text{RDA}$ vs. $82\% \text{RDA}$, $p < 0,05$).

Stwierdzono również, że wśród osób z nadciśnieniem tętniczym pijących alkohol udział tłuszczu w dziennej podaży energii był większy aniżeli u osób niepijących i przekraczał zalecany w tej jednostce chorobowej próg 30% energii w diecie ($34,2\%$ vs. $29,9\%$, $p < 0,05$). Powyższe różnice dotyczyły przede wszystkim kobiet w grupie badanej ($36,8\%$ vs. $28,8\%$, $p < 0,05$). Wśród mężczyzn z nadciśnieniem tętniczym, bez względu na specyfikę spożycia alkoholu, udział tłuszczu w diecie przekraczał 30% energii. W przypadku nasyconych kwasów tłuszczowych większy ich udział w diecie stwierdzono również wśród osób w grupie badanej spożywających alkohol ($12,2\%$ vs. 11%), głównie u kobiet (13% vs. $10,9\%$). Podobne tendencje zaobserwowano w grupie kontrolnej, w której osoby pijące alkohol odznaczały się wyższym udziałem nasyconych kwasów tłuszczowych w diecie ($12,7\%$ vs. $10,7\%$). W diecie osób spożywających alkohol stwierdzono także większy udział jednonienasyconych kwasów tłuszczowych, zarówno w grupie badanej ($14,1\%$ vs. $11,3\%$), jak i kontrolnej ($13,2\%$ vs. $10,3\%$). Nie stwierdzono natomiast wpływu spożycia alkoholu na udział NNKT w diecie. Osoby z nadciśnieniem tętniczym, które spożywały alkohol odznaczały się większym poborem cholesterolu ($110\% \text{RDA}$ vs. $70\% \text{RDA}$, $p < 0,05$) i sodu ($402\% \text{RDA}$ vs. $365\% \text{RDA}$) w diecie, przekraczającym poziom zalecanego dziennego spożycia. Należy wspomnieć jednak, że wśród wszystkich badanych osób stwierdzono wysoką podaż sodu w diecie, którą dodatkowo potęgowano poprzez dosalanie spożywanych potraw.

Tabela 2

Zawartość energii i wybranych składników odżywczych w diecie, w zależności od spożywania alkoholu przez badane osoby.
Content of energy and selected nutrients in the diet depending on alcohol consumption by the polled.

Grupa /Group		Parametr Parameter	EtOH [ml]	Energia [kcal] Energy [kcal]	Tłuszcz [g] Fat [g]	NKT [g] UFAs [g]	JTK [g] MUFAs	NNKT [g] EFAs [g]	Cholesterol [mg] Cholesterol [g]	Sód [mg] Sodium [g]	Dosłanie [mg Na] Increased salting
Osoby deklarujące niepicie alkoholu / Persons who declare not to drink alcohol											
Grupa badana Polled group	$\bar{X} \pm SD$	-	1302 ± 635 ^a	43,3 ± 26,9 ^d	15,9 ± 10,3 ^f	16,4 ± 12,1 ⁱ	6,8 ± 3,5 ^l	208 ± 90 ^m	2098 ± 1536	1848 ± 1195	
	Mediana Median	-	1105	33,1	13,4	13,4	5,6	185	1467	1960	
Kobiety Women	$\bar{X} \pm SD$	-	1086 ± 285 ^b	34,8 ± 11,0 ^e	13,1 ± 6,2 ^g	12,2 ± 4,4 ^k	6,1 ± 2,9 ^j	205 ± 104 ⁿ	1526 ± 857	2138 ± 1100	
	Mediana Median	-	1038	32,7	13,3	13,1	5,7	177	1240	1960	
Mężczyźni Men	$\bar{X} \pm SD$	-	2093 ± 1105 ^c	74,8 ± 50,8	26,3 ± 18,6	31,7 ± 22,0	9,4 ± 5,5	217 ± 47,1 ^o	4195 ± 2108 ^u	784 ± 1037 ^v	
	Mediana Median	-	1764	59,4	19,5	26,2	8,6	195,3	3891	392	
Grupa kontrolna Control group	$\bar{X} \pm SD$	-	1698 ± 812	54,2 ± 25,4	20,7 ± 9,9 ^b	19,5 ± 10,2	7,3 ± 2,9	691 ± 980	1725 ± 848 ^r	490 ± 819 ^y	
	Mediana Median	-	1436	62,6	23,9	21,2	7,3	244	1552	0	
Kobiety Women	$\bar{X} \pm SD$	-	1201 ± 276	44,7 ± 25,3	19,1 ± 12,4 ⁱ	15,4 ± 8,4	5,9 ± 2,2	139 ± 122	1492 ± 522 ^s	735 ± 938 ^w	
	Mediana Median	-	1194	43,2	18,9	15,1	5,4	139	1492	490	
Mężczyźni Men	$\bar{X} \pm SD$	-	2545 ± 95	63,2 ± 1,0	22,2 ± 2,0	26,7 ± 9,1	10,1 ± 1,8	1796 ± 1047 ^p	2192 ± 1458 ^t	- ^x	
	Mediana Median	-	2545	63,2	22,5	28,7	10,1	1796	2192	-	

Osoby deklarujące picie alkoholu / Persons who declare to drink alcohol											
Grupa badana Polled group	$\bar{X} \pm SD$	26,8 ± 6,6	1731 ± 743 ^a	65,8 ± 34,1 ^d	23,5 ± 11,4 ^f	27,1 ± 16,4 ⁱ	9,3 ± 5,3 ^l	328 ± 243 ^m	2309 ± 1367	1816 ± 1177	
	Mediana Median	28	1540	61,3	20,6	24,8	8,4	221	1871	1960	
Kobiety Women	$\bar{X} \pm SD$	21,8 ± 5,2	1634 ± 484 ^b	66,8 ± 22,7 ^e	23,6 ± 10,3 ^g	28,1 ± 10,2 ^k	9,6 ± 4,9 ^j	348 ± 250 ⁿ	2341 ± 1423	1960 ± 1335	
	Mediana Median	20	1550	68,5	20,2	30,1	8,7	309	1702	1960	
Mężczyźni Men	$\bar{X} \pm SD$	29,1 ± 6,1	1776 ± 851 ^c	65,4 ± 39,1	23,4 ± 12,3	26,7 ± 18,9	9,1 ± 5,7	319 ± 249 ^o	2294 ± 1402 ^q	1748 ± 1149 ^u	
	Mediana Median	28	1541	57,4	22,2	21,2	7,0	215	1968	1960	
Grupa kontrolna Control group	$\bar{X} \pm SD$	29,3 ± 16,2	2039 ± 602	74,5 ± 26,8	28,8 ± 9,3 ^b	29,9 ± 12,9	9,4 ± 5,1	358 ± 236	2724 ± 1356 ^r	1243 ± 845 ^v	
	Mediana Median	28	1940	66,5	30,4	26,4	7,6	264	2700	980	
Kobiety Women	$\bar{X} \pm SD$	22,6 ± 8,9	1895 ± 515	73,3 ± 23,7	30,2 ± 9,5 ⁱ	29,1 ± 11,2	8,2 ± 3,5	250 ± 153	2160 ± 967 ^s	1040 ± 739 ^w	
	Mediana Median	26	1821	67,4	30,9	26,4	7,1	226	2319	1176	
Mężczyźni Men	$\bar{X} \pm SD$	34,8 ± 19,0	2158 ± 657	75,5 ± 29,8	27,6 ± 9,3	30,6 ± 14,5	10,4 ± 5,9	445 ± 259 ^p	3182 ± 1479 ^t	1408 ± 911 ^x	
	Mediana Median	28	2044	65,4	27,3	27,0	8,3	437	3059	980	

EtOH- jednorazowa dawka wypijanego alkoholu przeliczona na etanol/ single dose of alcohol drunk converted into ethanol;

NKT- nasycone kwasy tłuszczowe / SFAs – saturated fatty acids;

JKT- jednonienasycone kwasy tłuszczowe / MUFAs – mono-unsaturated fatty acids;

NNKT- niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe / EFAs - Essential unsaturated fatty acids;

a - x – różnice statystycznie istotne przy $p < 0,05$ / statistically significant differences at $p < 0,05$

Tabela 3

Procent realizacji norm zapotrzebowania na energię i wybrane składniki odżywcze.
 Percent rate of the fulfilled energy demand norms and selected nutrients.

Grupa Group	Energia [% RDA] Energy [% DA]	Tłuszcz [% energii] Fat [% energy]	NKT [% energii] UFAs [% energy]	JTK [% energii] MUFAs [% energy]	NNKT [% energii] EFAs [% energy]	Cholesterol [% RDA]	Sód w diecie [% RDA] Sodium in diet [%RDA]
Osoby deklarujące niepicie alkoholu / Persons who declare not to drink alcohol							
Grupa badana Polled group	65 ^a	29,9 ^d	11,0	11,3 ⁱ	4,7	70 ^m	365
Kobiety Women	57 ^b	28,8 ^e	10,9 ^f	10,1 ^j	5,0	69 ⁿ	265 ^s
Mężczyźni Men	94 ^c	32,1	11,3	13,6	4,2	72 ^o	729 ^t
Grupa kontrolna Control group	67	28,7	10,9 ^g	10,3 ^k	3,9	230 ^p	300 ^u
Kobiety Women	63	33,5	14,3	11,5 ^l	4,4	46 ^q	259 ^y
Mężczyźni Men	79	22,4	7,9 ^h	9,5 ^l	3,6	598 ^r	381 ^w

Osoby deklarujące picie alkoholu / Persons who declare to drink alcohol									
Grupa badana Polled group	82 ^a	34,2 ^d	12,2	14,1 ⁱ	4,8	110 ^m	402		
Kobiety Women	99 ^b	36,8 ^e	13,0 ^f	15,5 ^j	5,3	116 ⁿ	407 ^s		
Mężczyźni Men	74 ^c	33,1	11,9	13,5	4,6	106 ^o	400 ^t		
Grupa kontrolna Control group	89	32,9	12,7 ^g	13,2 ^k	4,1	119 ^p	474 ^u		
Kobiety Women	95	34,8	14,4	13,8 ^l	3,9	84 ^q	376 ^v		
Mężczyźni Men	84	31,5	11,5 ^h	12,8 ^l	4,3	148 ^r	554 ^w		

NKT- nasycone kwasy tłuszczowe / SFAs – saturated fatty acids;

JKT- jednonienasycone kwasy tłuszczowe / MUFAs – mono-unsaturated fatty acids;

NNKT- niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe / EFAs - Essential unsaturated fatty acids;

a - w – różnice statystycznie istotne przy $p < 0,05$ / statistically significant differences at $p < 0,05$

Źródło: / Source: [4]

Spożycie alkoholu zalicza się do czynników zwiększających ryzyko wzrostu ciśnienia tętniczego. Niniejsze badania wskazują ponadto, że potencjalnie szkodliwy wpływ alkoholu w tej jednostce chorobowej należy wiązać również z zaobserwowanymi wśród osób spożywających alkohol: wyższą podażą energii oraz m.in. większym spożyciem tłuszczu całkowitego, nasyconych kwasów tłuszczowych, cholesterolu oraz sodu w diecie. Tym samym spożycie alkoholu może wpływać na ciśnienie tętnicze bezpośrednio, jak i pośrednio, poprzez zwiększenie spożycia substancji, jak m.in. sód, cholesterol i nasycone kwasy tłuszczowe, których wpływ hipertensyjny jest powszechnie znany. Huang i wsp [8] w badaniach z udziałem 2343 osób zaobserwowali dodatnią korelację ($p < 0,05$) między ciśnieniem tętniczym a spożyciem alkoholu oraz energii ogółem, a także całkowitą zawartością tłuszczu i sodu w diecie. W przypadku błonnika pokarmowego stwierdzono natomiast odwrotną zależność ($p < 0,05$) między jego spożyciem a wartościami ciśnienia tętniczego. W metaanalizie badań przeprowadzonych w latach 1966-2001, dotyczących oddziaływania czynników żywieniowych i stylu życia na ryzyko rozwoju nadciśnienia tętniczego wśród mieszkańców wybranych państw Europy Zachodniej Geleijnse i wsp. [5] dowodzą stosunkowo małego wpływu alkoholu na ciśnienie tętnicze, rzędu 2 - 3 % we wszystkich badanych populacjach. Znacznie większe działanie hipertensyjne autorzy przypisywali nadwadze, spowodowanej m.in. nadmiernym spożyciem energii (11 - 25 % ryzyka NT), a także dużemu spożyciu sodu w diecie (do 4-17 % ryzyka NT) oraz małej podaży NNKT zawartych w rybach (3 - 16 % ryzyka NT). Analizując powyższe dane, z uwzględnieniem wyników uzyskanych w niniejszych badaniach, można stwierdzić, że osoby spożywające alkohol odznaczają się również większym udziałem zarówno energii, jak i sodu w diecie. Mogło to zatem zwiększać pośredni udział alkoholu w zagrożeniu nadciśnieniem tętniczym. Uwagę zwracają także badania Psaltopoulou i wsp. [15], dowodzące dodatniej zależności między wartościami ciśnienia tętniczego a spożyciem alkoholu, mięsa i produktów zbożowych. W powyższych badaniach, z udziałem 20343 osób, u których nigdy nie stwierdzono nadciśnienia tętniczego, autorzy zaobserwowali również, że stosowana przez badanych dieta śródziemnomorska, obfitująca w oliwę z oliwek, warzywa i owoce jest ujemnie skorelowana z ciśnieniem tętniczym i dodatkowo pozwala na redukcję wzrostu ciśnienia tętniczego wywołanego działaniem alkoholu i innych żywieniowych czynników protensyjnych. Ruixing i wsp. [16] w badaniach 835 kobiet i 834 mężczyzn zaobserwowali ponadto, że determinowane przez płeć różnice w występowaniu nadciśnienia tętniczego wydają się wiązać głównie z różnicami w nawykach żywieniowych. Zaobserwowano, że występowanie wysokich wartości ciśnienia tętniczego w tej populacji było związane dodatnio m.in. ze spożyciem alkoholu oraz nadmierną podażą energii, tłuszczu ogółem i sodu w diecie. Odwrotne relacje stwierdzono z kolei w przypadku spożycia błonnika pokarmowego oraz potasu i wapnia. W badaniach występowania nadciśnienia tętniczego i obecności czynników zwiększa-

jących ryzyko jego wzrostu wśród mieszkańców wsi Boguszyce, Szuba i wsp. [18] stwierdzili, że blisko 19 % badanych deklaroowało brak spożycia alkoholu, natomiast wśród osób pijących jedynie niespełna 8 % twierdziło, że spożywa alkohol regularnie, co wydaje się wynikiem zaniżonym z powodu możliwości subiektywnej oceny respondentów. Uwagę zwraca jednak fakt, że 75 % respondentów nie przestrzegało żadnych zaleceń dietetycznych. Jedynie 4 % badanych ograniczało spożycie soli kuchennej, a 8 % deklaroowało zmniejszenie spożycia tłuszczu. Dodatkowo w badanej populacji stwierdzono małe spożycie ryb i oliwy, przy dużym spożyciu mięsa, co zwiększało udział żywieniowych czynników ryzyka nadciśnienia tętniczego. Uzyskane wyniki wydaje się tłumaczyć mała wiedza żywieniowa respondentów. Liczne błędy dietetyczne obserwuje się również wśród osób z wiedzą w zakresie prawidłowego żywienia w chorobach układu krążenia. Bogacka i wsp. [1] w badaniach pacjentów przychodni kardiologicznych, wśród których około 70 % osób miało nadciśnienie tętnicze, zaobserwowała bowiem nadmierną podaż energii oraz duże spożycie tłuszczu, mięsa i węglowodanów prostych, przy małym spożyciu owoców, warzyw i przetworów mlecznych. W tej grupie blisko połowa kobiet i 62 % mężczyzn deklaroowało okazjonalne picie alkoholu. W powyższych badaniach zaobserwowano natomiast mniejsze, aniżeli w badaniach własnych osób deklaruujących picie alkoholu, spożycie nasyconych kwasów tłuszczowych (20 ± 13 g vs. 24 ± 10 g u kobiet i 21 ± 10 g vs. 23 ± 12 g u mężczyzn) i cholesterolu (177 ± 137 mg vs. 348 ± 250 mg u kobiet i $246,6 \pm 169,2$ mg vs. 319 ± 249 mg u mężczyzn). Badania Krzycha i wsp. [12] wskazują z kolei, że wśród 532 studentów (odznaczających się podobnym odsetkiem osób pijących alkohol: 87 - 90 % badanych) osoby ze stwierdzonym nadciśnieniem tętniczym częściej aniżeli zdrowi respondenci spożywali produkty wysoko solone (40 % vs. 29 %) i bogato-tłuszczowe (78 % vs. 59 %).

Powyższe obserwacje zdają się dowodzić zasadności prowadzenia właściwej edukacji żywieniowej, zarówno wśród chorych z nadciśnieniem tętniczym, jak i wśród osób młodych, zwłaszcza z dodatnim wywiadem w kierunku chorób metabolicznych. Poczynione obserwacje dowodzą częstszego spożycia składników żywieniowych będących czynnikami ryzyka m.in.: tłuszczu ogółem, nasyconych kwasów tłuszczowych, cholesterolu i sodu oraz większej podaży energii przez osoby pijące alkohol. Konieczne wydaje się zatem podkreślenie znaczenia alkoholu jako czynnika odgrywającego istotną rolę bezpośrednią i pośrednią w rozwoju chorób układu krążenia.

Wnioski

1. Pacjenci z nadciśnieniem tętniczym deklaruujący picie alkoholu nie przekraczają dopuszczalnego progu bezpiecznego spożycia etanolu w tej jednostce chorobowej.

2. Pacjenci z nadciśnieniem tętniczym spożywający alkohol pobierają więcej energii z diety oraz spożywają większą ilość tłuszczu, nasyconych i jednonienasyconych kwasów tłuszczowych, cholesterolu oraz sodu aniżeli osoby niepijące alkoholu.
3. Pomimo zaleceń dotyczących konieczności redukcji sodu w diecie osoby z nadciśnieniem tętniczym dosalają swoje posiłki w nadmiernym stopniu.

Literatura

- [1] Bogacka A., Nawrot B., Gryza M., Balejko E., Kucharska E.: Ocena znajomości i przestrzegania zasad diety śródziemnomorskiej u pacjentów przychodni kardiologicznych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **2** (57), 128-139.
- [2] European Society of Hypertension – European Society of Cardiology Guidelines Committee: European Society of Hypertension – European Society of Cardiology guidelines for the management of arterial hypertension. *J. Hypertens.*, 2003, **21** (6), 10.1097/01.hjh.0000059051.65882.32.
- [3] Fuchs F.D., Chambless L.E., Whelton P.K., Nieto F.J., Heiss G.: Alcohol Consumption and Incidence of Hypertension: The atherosclerosis risk in communities study. *hypertension*, 2001, **37** (5), 1242-1250.
- [4] Gawęcki J., Hryniewiecki L.: *Żywność człowieka - podstawy nauki o żywieniu*. Wyd. Nauk. PWN. Warszawa 2005.
- [5] Geleijnse J.M., Kok F.J., Grobbee D.E.: Impact of dietary and lifestyle factors on the prevalence of hypertension in Western populations. *Eur. J. Public. Health.*, 2004, **14** (3), 235-239.
- [6] Głuszek J.: Niefarmakologiczne leczenie pierwotnego nadciśnienia tętniczego - uwagi praktyczne. *Family Med. Prim. Care Rev.*, 2005, **7** (3), 667-672.
- [7] Halawa B., Mazurek W.: Zmiana stylu życia w zapobieganiu i leczeniu nadciśnienia tętniczego. *Adv. Clin. Exp. Med.* 2004, **13** (5A), 67-71.
- [8] Huang F., Yin R.X., Pan S.L., Feng Q.M., Lin W.X., Li S.Q., Yang D.Z., Wu H., Yang Y.Z., Huang Y.H., Yang H.J., Chen H.: Prevalence of hypertension in the Guangxi Bai Ku Yao populations. *Chinese J. Cardiovascular Disease*, 2008, **36** (5), 458-463.
- [9] Jakubowska-Najmiger M., Piątkowski J.: Nadciśnienie tętnicze - standard terapii 2003. *Nowa Klin.*, 2003, **10** (13), 13093-13099.
- [10] Januszewicz W., Januszewicz A., Prejbisz A.: Zalecenia Brytyjskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego. *Terapia*, 2005, **13** (7/8), 11-12, 14-15.
- [11] Kozłowska-Wojciechowska M.: Czynniki żywieniowe w profilaktyce i leczeniu nadciśnienia tętniczego. *Terapia*, 2005, **13** (7/8), 17-21.
- [12] Krzych Ł., Kowalska M., Zejda J.E.: Styl życia młodych osób dorosłych z podwyższonymi wartościami ciśnienia tętniczego. *Arterial Hypertension*, 2006, **10** (6), 524-531.
- [13] Maciak A., Maniecka-Bryła I., Bryła M.: Rozpowszechnienie nadciśnienia tętniczego wśród uczestników Programu Profilaktyki Wczesnego Wykrywania Chorób Układu Krążenia w mieście średniej wielkości. *Prob. Hig. Epidemiol.*, 2009, **90** (3), 325-331.
- [14] Nakashita M., Ohkubo T., Hara A., Metoki H., Kikuya M., Hirose T., Tsubota-Utsugi M., Asayama K., Inoue R., Kanno A., Obara T., Hoshi H., Totsune K., Satoh H., Imai Y.: Influence of alcohol intake on Circadian blood pressure variation in Japanese men: the Ohasama study. *Am. J. Hypertens.*, 2009, **22** (11), 1171-1176.
- [15] Psaltopoulou T., Naska A., Orfanos P., Trichopoulos D., Mountokalakis T., Trichopoulou A.: Olive oil, the Mediterranean diet, and arterial blood pressure: the Greek European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2004, **80** (4), 1012-1018.

- [16] Ruixing Y., Jinzhen W., Shangling P., Weixiong L., Dezhai Y., Yuming C.: Sex differences in environmental and genetic factors for hypertension. *Am. J. Med.*, 2008, **121** (9), 811-819.
- [17] Ruixing Y., Weixiong L., Hanjun Y., Dezhai Y., Shuquan L., Shangling P., Qiming F., Jinzhen W., Jianting G., Yaju D.: Diet, lifestyle, and blood pressure of the middle-aged and elderly in the Guangxi Bai Ku Yao and Han populations. *Am. J. Hypertens.*, 2008, **21** (4), 382-387.
- [18] Szuba A., Poręba R., Mlynek V., Gutherc R., Nowak M., Brzozowski T., Gać P., Kolman E., Seniuta J., Łukasik M., Cedzyński Ł., Szarek D., Urbański W., Związek K., Sokół A., Kucharski W., Andrzejak R.: Występowanie, czynniki ryzyka oraz leczenie nadciśnienia tętniczego wśród mieszkańców wsi Boguszyce. *Arterial Hypertension*, 2006, **10** (2), 121-127.
- [19] Waśkiewicz A., Sygnowska E., Jasiński B., Kozakiewicz K., Biela U., Kwaśniewska M., Głuszek J., Zdrojewski T.: Wartość energetyczna i odżywcza diety dorosłych mieszkańców Polski. Wyniki programu WOBASZ. *Kard. Pol.*, 2005, **63** (6), supl.4, S1-S7.

ASSESSMENT OF ALCOHOL CONSUMPTION, FAT AND SODIUM INTAKE IN SELECTED GROUP OF OUTPATIENTS WITH PRIMARY ARTERIAL HYPERTENSION

S u m m a r y


Arterial hypertension significantly increases the risk of cardiovascular diseases presenting major threats to human life and health. In the prevention and treatment of high arterial blood tension, the proper diet plays a significant role.

The objective of this study was to evaluate the alcohol consumption, as well as the fat and sodium intakes in a selected group of adult outpatients with primary arterial hypertension.

33 outpatients with primary arterial hypertension and with no coexisting diseases participated in the survey. Also in order to compare and appropriately interpret the results obtained, 35 healthy people, the volunteers, participated in this survey as a control group. The participants of the 2 groups were polled on their dietary habits, among other things they had to characterize their consumption of alcohol and the intake of sodium. Moreover, their eating habits were assessed based on their dietary history obtained from a 24h survey conducted three times with the application of an 'Album with photos of products and dishes'. The energy value was evaluated and the amounts of selected nutrients covered by daily food rations were assessed using 'DIETETYK' computer software.

It was found that, in the group of outpatients with arterial hypertension who did not drink alcohol, the supply of energy was significantly higher ($p < 0.05$), as was the fat intake, including the intake of saturated and monounsaturated fatty acids, and essential fatty acids (EFA), compared to non-drinking outpatients. Furthermore, amidst the persons drinking alcohol, the cholesterol intake was found to exceed the recommended nutritional norms. Among the people with primary arterial hypertension, a high dietary sodium intake was reported, and those outpatients often salted more their dishes. In the control group, the statistical significances referred to a higher intake of saturated fatty acids by the polled who consumed alcohol.

The conclusion is that the persons who drink alcohol also intake higher amounts of dietary "pro-hypertension" factors, such as fat (among other things saturated fats and cholesterol) and sodium, and, therefore, the increase in their arterial blood pressure can be intensified and significantly hinder treatment.

Key words: hypertension, alcohol consumption, fat, sodium intakes 

EWA ŻARY-SIKORSKA, JERZY JUŚKIEWICZ

**WPLYW FRUKTOOLIGOSACHARYDÓW I POLIFENOLI
Z CYKORII NA PROCESY FERMENTACYJNE ZACHODZĄCE
W KOŃCOWYM ODCINKU PRZEWODU POKARMOWEGO
U SZCZURÓW DOŚWIADCZALNYCH**

Streszczenie

W wykonanym doświadczeniu badano wpływ fruktanów i polifenoli, równocześnie występujących w diecie, na funkcjonowanie końcowego odcinka przewodu pokarmowego u szczurów doświadczalnych. Zastosowano trzy diety, w tym kontrolną zawierającą 7,5 % sacharozy oraz dwie doświadczalne zawierające: 1) 7,9 % komercyjnego preparatu fruktooligosacharydów (FOS) 2) 8,3 % koncentratu FOS uzyskiwanego z korzeni cykorii, który równocześnie wprowadzał do diety polifenole na poziomie 0,05% (FOS+PP). Młode samce rasy Wistar (8 osobników w grupie) otrzymywały paszę *ad libitum* przez 4 tygodnie. Określono indywidualne spożycie paszy oraz przyrost masy ciała. W treści jelita ślepego oznaczano pH, zawartość: suchej masy, amoniaku, białka, lotnych kwasów tłuszczowych (LKT) oraz aktywność enzymów bakteryjnych. Wazono również jelito ślepe z treścią i bez treści.

Nie stwierdzono statystycznie istotnej różnicy pomiędzy grupami pod względem wielkości spożycia paszy oraz przyrostu masy ciała. Spożycie pasz zawierających preparat FOS komercyjny i preparat FOS+PP z korzeni cykorii spowodowało znaczny wzrost masy ściany i treści jelita ślepego ($P < 0,05$) w stosunku do grupy kontrolnej. Istotnie niższe ($P < 0,05$) wartości pH i mniejsze stężenie amoniaku w treści jelita ślepego odnotowano u zwierząt żywionych paszami doświadczalnymi. Badane preparaty istotnie podwyższyły pulę LKT, zwłaszcza istotnie zwiększając zawartość kwasu propionowego i masłowego w przeliczeniu na 100 g masy ciała. W grupie FOS+PP odnotowano istotny wzrost koncentracji LKT w treści jelita ślepego ($P < 0,05$ vs grupy FOS i K). Diety doświadczalne korzystnie modyfikowały aktywność bakteryjnej β -glukozydazy oraz β -glukuronidazy.

Słowa kluczowe: FOS, polifenole, LKT, enzymy bakteryjne, szczur, cykoria

Dr inż. E. Żary-Sikorska, Katedra Technologii Żywności, Wydział Rolnictwa i Biotechnologii, Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy w Bydgoszczy, ul. Kordeckiego 20, 85-225 Bydgoszcz; dr hab. J. Juśkiewicz, Zakład Biologicznych Funkcji Żywności, Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN w Olsztynie, ul. Tuwima 10, 10-747 Olsztyn

Wprowadzenie

W ostatnim dwudziestolecu w społeczeństwach zamożnych obserwuje się coraz silniejszą tendencję do popularyzowania prozdrowotnego stylu życia, w tym związanego z prawidłowym odżywianiem. Tendencja ta wywiera silny wpływ na wzrost zainteresowania składnikami prozdrowotnymi żywności, które wywierają korzystny wpływ na jedną lub więcej funkcji w organizmie, dzięki czemu mogą obniżać ryzyko chorób, poprawiać zdrowie lub samopoczucie [18].

Korzenie cykorii (*Cichorium intybus* L.) stanowią bogate źródło fruktanów, w tym krótkołańcuchowych fruktooligosacharydów (FOS), a także polifenoli, zwłaszcza kwasów dikawoilochinowych oraz kwasu chlorogenowego [12]. Wymienione grupy związków mogą wykazywać wielowymiarowy wpływ na procesy fermentacyjne w końcowym odcinku przewodu pokarmowego, m.in. na aktywność glikolityczną czy zawartość wybranych kwasów tłuszczowych w treści jelita ślepego.

Tematem wielu publikacji naukowych jest badanie fizjologicznej reakcji organizmu w odpowiedzi na spożycie diety zawierającej pojedynczy czynnik doświadczalny, dla przykładu frakcję błonnika pokarmowego lub związki fenolowe [7, 10]. Jednocześnie niewiele prac opisuje skutki równoczesnego podawania wraz z dietą zarówno błonnika pokarmowego, jak i związków fenolowych [11].

Celem podjętych badań było określenie wpływu preparatu uzyskanego z korzeni cykorii, zawierającego zarówno FOS, jak i polifenole na wybrane parametry w końcowym odcinku przewodu pokarmowego u szczurów doświadczalnych.

Materialy i metody badań

Doświadczenie przeprowadzono na 24 młodych samcach szczurów rasy Wistar (trzy grupy doświadczalne liczące po 8 osobników), przez 4 tygodnie, stosując półsyntetyczne diety: kontrolną (zawierającą 7,5 % sacharozy) (grupa K), doświadczalną z dodatkiem 7,9 % fruktooligosacharydów (grupa FOS, preparat komercyjny - WPCI, Tokio) oraz doświadczalną z dodatkiem 8,3 % koncentratu FOS uzyskiwanego z korzeni cykorii, który równocześnie wprowadzał do diety polifenole na poziomie 0,05 % (grupa FOS+PP). Ilości preparatów były tak dobrane, aby zawartość FOS w diecie wynosiła 7,5 % (tab. 1).

Szczury żywiono *ad libitum*. Zwierzęta przebywały w indywidualnych klatkach, w standardowych warunkach: w temp. 21 - 22 °C, wilgotności względnej powietrza 50 - 70 % oraz intensywnej wentylacji pomieszczeń ($15 \times h^{-1}$). Cykl jasność/ciemność wynosił 12 h/12 h. Dobór zwierząt do doświadczenia oraz warunki ich utrzymania były zgodne z powszechnie obowiązującymi zasadami [16]. W czasie całego doświadczenia kontrolowano spożycie diety i przyrosty masy ciała. W końcowej fazie doświadczenia zwierzęta usypiano przy użyciu 20 % roztworu uretanu (Sigma) w soli fizjologicznej.

Tabela 1

Skład diet [%].

Composition of diets [%].

Składnik Compound	Dieta kontrolna Control diet	Dieta z udziałem FOS Diet containing FOS	Dieta z udziałem FOS+PP Diet containing FOS+PP
Kazeina / Casein	14,8	14,8	14,8
DL-metionina DL-methionine	0,2	0,2	0,2
Sacharoza / Sucrose	7,5	-	-
Celuloza / Cellulose	0,6	0,6	0,6
Olej sojowy / Soybean oil	5,0	5,0	5,0
Smalec / Lard	5,0	5,0	5,0
Cholesterol / Cholesterol	0,5	0,5	0,5
Skł. mineralne / Mineral comp.	3,5	3,5	3,5
Witaminy / Vitamins	2,0	2,0	2,0
Preparat FOS FOS preparation	-	7,9	-
Preparat FOS+PP FOS + PP preparation	-	-	8,3
Skrobia kukurydziana Maize starch	60,9	60,5	60,1

Następnie pobierano krew oraz narządy wewnętrzne. Wypreparowane jelita cienkie, ślepe i okrężnicę ważono i mierzono pH treści jelitowej. Następnie pobierano próbki treści jelita ślepego oraz okrężnicy do oznaczenia zawartości suchej masy treści oraz białka w treści. W treści jelita ślepego określano ponadto aktywność enzymów bakteryjnych oraz zawartość amoniaku i lotnych kwasów tłuszczowych. Amoniak oznaczano metodą Conway'a, polegającą na wyparciu amoniaku z treści jelitowej przez nasycony roztwór węglanu potasu i związanie go przez kwas borowy, a następnie miareczkowanie boranu amonowego kwasem siarkowym wobec wskaźnika Ma Zanzaga. Zawartość białka w próbach oznaczano wg Lowry i wsp. [8]. Aktywność enzymów bakteryjnych oznaczano zmodyfikowaną metodą Andrieux i wsp. [1]. Aktywność β -glukuronidazy, α - i β -galaktozydazy, α - i β -glukozydazy mierzono kolorymetrycznie ilością uwolnionego *p*- lub *o*-nitrofenolu z odpowiednich substratów. Zawartość lotnych kwasów tłuszczowych w treści jelita ślepego oznaczano metodą chromatografii gazowej. Próby rozcieńczano wodą dejonizowaną, wirowano przy 10 000 obr./min przez 5 min i supernatantu używano do nastrzykiwania na szczyt kolumny. Do analiz używano chromatografu Schimadzu GC-14A z kolumną szklaną 2,5 m \times 2,6 mm za-

wierającą 10 % SP-1200/1 % H₃PO₄ na 80/100 Chromosorb WAW. Temperatura kolumny wynosiła 110 °C, temp. detektora FID 180 °C i temp. w komorze nastroju 195 °C.

Wyniki badań opracowano statystycznie z zastosowaniem jednoczynnikowej analizy wariancji ANOVA i testu Duncana wielokrotnego rozstępu przy $P \leq 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Zastosowanie w dietach dodatku komercyjnego preparatu FOS oraz koncentratu FOS uzyskiwanego z korzeni cykorii, wprowadzającego do diety frakcję fenolową, nie wywołało istotnych zmian wielkości spożycia pasz oraz przyrostów masy ciała szczurów doświadczalnych (tab. 2). Zbliżone wyniki uzyskano w badaniach, w których również stosowano łącznie w diecie doświadczalnej włókno pokarmowe oraz frakcję fenolową [17, 21]. Nie stwierdzono istotnego wpływu diet doświadczalnych na parametry analizowane w jelicie cienkim. Zawartość w dietach doświadczalnych komercyjnego preparatu błonnikowego i preparatu błonnikowo-fenolowego z cykorii wywołało efekt troficzny w postaci zwiększonej masy ściany oraz treści jelita ślepego (tab. 2), co potwierdziło tezę Zduńczyka i wsp. [21], że jednoczesne spożywanie frakcji fenolowej oraz włókna pokarmowego o właściwościach prebiotycznych optymalizuje przebieg procesów fermentacyjnych w jelicie grubym, które mogą być zaburzone przez frakcję fenolową obecną w diecie.

W grupach doświadczalnych (FOS) i (FOS+PP) odnotowano istotny ($P < 0,05$) wzrost zawartości białka w treści jelita ślepego oraz istotne obniżenie pH oraz koncentracji amoniaku w treści jelita ślepego (tab. 2), który jest wypadkową procesów jego syntezy oraz absorpcji przez bakterie i komórki jelitowe. Równowaga pomiędzy tymi procesami jest szczególnie ważna, gdyż wysoka koncentracja amoniaku może powodować zmiany w metabolizmie i budowie morfologicznej komórek nabłonka jelitowego, prowadząc w efekcie do procesu kancerogenezy [9].

W grupie FOS+PP odnotowano najwyższą koncentracją lotnych kwasów tłuszczowych ogółem, a także kwasu octowego oraz propionowego w treści jelita ślepego ($P < 0,05$ vs grupy FOS i K) (tab. 3).

Stężenie kwasu izo-masłowego oraz izo-walerianowego w treści jelita ślepego uległo istotnemu zmniejszeniu w obu grupach doświadczalnych, a koncentracja kwasu masłowego uległa istotnemu wzrostowi na skutek zastosowania w dietach komercyjnego preparatu błonnikowego oraz błonnikowo-fenolowego z cykorii (tab. 3). Kwas masłowy, propionowy i octowy mają znaczący wpływ stymulujący procesy proliferacji komórek nabłonka jelit, w tym kwas masłowy odznacza się największą skutecznością, a kwas propionowy najmniejszą [2, 14].

Tabela 2

Parametry fizjologicznego oddziaływania fruktanów.
Parameters of physiological effect by fructans.

Parametr fizjologiczny Physiological parameter	Dieta kontrolna Control diet	FOS	FOS+PP	SEM
Masa ciała początkowa / Initial body weight [g]	103,2	102,9	103,1	0,85
Masa ciała końcowa / Final body weight [g]	273,1	261,6	276,4	3,40
Przyrost masy ciała / Body weight gain [g]	169,8	158,7	173,3	2,96
Spożycie diety / Consumption of diet [g]	444,3	432,8	457,5	5,87
FCR [g/g]	2,62	2,74	2,65	0,03
pH żołądka / pH of stomach	3,66	3,77	3,56	0,08
pH jelita cienkiego / pH of small intestine	6,02	6,17	6,27	0,09
pH jelita ślepego / pH of caecum	7,15 ^a	6,44 ^b	6,46 ^b	0,11
pH okrężnicy / pH of colon	6,85 ^a	6,48 ^b	6,60 ^{ab}	0,07
Jelito cienkie: / Small intestine [g/100 g mc]:				
- masa tkanki / weight of tissue	1,688	1,636	1,633	0,07
- masa treści / weight of contents	0,803	1,040	0,898	0,06
Jelito ślepe: / Caecum:				
- masa tkanki / weight of tissue [g/100 g mc]	0,277 ^c	0,542 ^a	0,443 ^b	0,03
- masa treści / weight of contents [g/100 g mc]	1,171 ^b	1,684 ^a	1,738 ^a	0,10
- zawartość suchej masy w treści / content of dry mass in the contents [%]	16,78 ^b	18,79 ^a	17,73 ^{ab}	0,42
- zawartość amoniaku w treści / content of ammonia in the contents [mg/100 g]	36,97 ^a	29,28 ^b	28,13 ^b	1,22
- zawartość białka w treści / content of protein in the contents [mg/100 g]	0,138 ^b	0,218 ^a	0,254 ^a	0,01
Okrężnica: / Colon				
- masa tkanki / weight of tissue [g/100 g mc]	0,396 ^b	0,519 ^a	0,456 ^{ab}	0,01
- zawartość suchej masy w treści / content of dry mass in the contents [%]	16,02	16,82	16,58	0,38
- zawartość białka w treści / content of protein in the contents [mg/g]	0,244 ^b	0,349 ^a	0,344 ^a	0,01

Tabela 3

Zawartość kwasów tłuszczowych w treści jelita ślepego [$\mu\text{mol/g}$ treści] oraz w przeliczeniu na 100 g masy ciała [$\mu\text{mol}/100$ g mc].

Content of fatty acids in the caecal contents [$\mu\text{mol/g}$ contents] and converted per 100 g of body weight [$\mu\text{mol}/100$ g of bw]

Kwas tłuszczowy / Fatty acid	Dieta kontrolna Control diet	FOS	FOS+PP	SEM
[$\mu\text{mol/g}$ treści / contents]				
Octowy / Acetic	60,05 ^{ab}	57,06 ^b	65,99 ^a	1,71
Propionowy / Propionic	17,13 ^b	18,34 ^b	25,50 ^a	1,23
Izo-masłowy / Isobutyric	0,81 ^a	0,32 ^b	0,37 ^b	0,07
Masłowy / Butyric	8,16 ^b	13,27 ^a	12,18 ^a	0,64
Izo-walerianowy / Isovaleric	1,47 ^a	0,88 ^b	0,79 ^b	0,09
Walerianowy / Valeric	1,49	1,32	1,27	0,09
Ogółem / Total	89,12 ^b	91,19 ^b	106,08 ^a	2,69
[$\mu\text{mol}/100$ g mc / bw]				
Octowy / Acetic	69,36 ^b	98,05 ^{ab}	112,24 ^a	6,70
Propionowy / Propionic	19,50 ^b	31,73 ^a	44,58 ^a	3,39
Izo-masłowy / Isobutyric	0,88	0,49	0,63	0,08
Masłowy / Butyric	9,95 ^b	22,39 ^a	21,04 ^a	1,68
Izo-walerianowy / Isovaleric	1,74	1,41	1,36	0,14
Walerianowy / Valeric	1,69	2,39	2,24	0,25
Ogółem / Total	103,12 ^b	156,45 ^a	182,10 ^a	11,39

Zastosowanie preparatu FOS oraz FOS+PP w dietach istotnie ($P < 0,05$) zwiększyło produkcję (pulę) LKT w jelicie ślepy, w tym kwasu propionowego oraz masłowego w przeliczeniu na 100 g masy ciała ($\mu\text{mol}/100$ g mc) (tab. 3). W przypadku niestrawnych oligo- i polisacharydów wskazuje się, że pula LKT, która uwzględnia ilość treści w jelicie, bardziej precyzyjnie i lepiej opisuje procesy fermentacyjne w jelitach [4, 22]. Zmniejszenie stężenia amoniaku w treści jelita ślepego, a także stwierdzony wzrost koncentracji oraz puli LKT w jelicie ślepy świadczą o korzystnym wpływie zastosowanego preparatu FOS+PP z cykorii na procesy fermentacyjne prowadzone przez mikroflorę jelitową. Jednym ze skutków wzrostu koncentracji LKT jest odnotowane w przeprowadzonym doświadczeniu zakwaszenie treści jelitowej w końcowych odcinkach przewodu pokarmowego w grupach doświadczalnych, co stanowi czynnik ochronny przed niepożądanymi zmianami w biodostępności toksycznych produktów

przemian metabolicznych, a także jest czynnikiem limitującym rozwój niekorzystnej mikroflory jelit [5, 19].

Diety doświadczalne wpłynęły na istotne ($P < 0,05$ vs K) obniżenie aktywności bakteryjnej β -glukozydazy oraz β -glukuronidazy w treści jelita ślepego (tab. 4). Poziom aktywności drugiego z wymienionych enzymów jest ważnym biomarkerem podwyższonego ryzyka wystąpienia chorób nowotworowych [15].

Tabela 4

Aktywność glikolityczna w treści jelita ślepego [U/g treści].

Glycolytic activity in the caecal contents [U/g contents].

Enzymy jelita ślepego Enzymes in caecum	Dieta kontrolna Control diet	FOS	FOS+PP	SEM
α -glukozydaza / α -glycosidase	0,81	1,12	0,96	0,08
β -glukozydaza / β - glycosidase	0,25 ^a	0,11 ^b	0,16 ^b	0,02
α -galaktozydaza / α -galactosidase	0,35	0,35	0,38	0,04
β -galaktozydaza / β - galactosidase	2,24	3,99	3,05	0,42
β -glukuronidaza / β -glucuronidase	0,97 ^a	0,67 ^b	0,77 ^b	0,08

Jednocześnie zastosowane preparaty doświadczalne nie wywołały istotnych zmian aktywności pozostałych oznaczonych enzymów (α -glukozydazy, α -galaktozydazy, β -galaktozydazy) (tab. 4). Oddziaływanie polifenoli na aktywność glikolityczną mikroflory jelitowej może być silnie zróżnicowane, od hamującego [3], poprzez neutralny, do silnie promującego [6] przy jednocześnie dobrze udokumentowanym, pozytywnym oddziaływaniu prebiotycznych fruktanów na aparat enzymatyczny mikroflory jelitowej [13, 20].

Wnioski

1. Zastosowany dodatek preparatu błonnikowo-fenolowego z cykorii do diety nie spowodował ograniczenia pozytywnego wpływu FOS na ekosystem przewodu pokarmowego szczurów doświadczalnych.
2. Istotny wzrost stężenia oraz puli lotnych kwasów tłuszczowych w jelicie ślepym, przy jednoczesnym spadku koncentracji amoniaku w treści jelita ślepego, świadczy o korzystnym wpływie stosowanego preparatu błonnikowo-fenolowego uzyskiwanego z korzeni cykorii na procesy fermentacyjne prowadzone przez mikroflorę jelitową.
3. Diety doświadczalne korzystnie modyfikowały aktywność bakteryjnej β -glukozydazy oraz β -glukuronidazy.

Praca została wykonana w ramach grantu P06T00730.

Literatura

- [1] Andrieux C., Pacheco E.D., Bouchet B., Gallan D., Szylił O.: Contribution of the digestive tract microflora to amyloamylase starch degradation in the rat. *Br. J. Nutr.*, 1992, **67**, 489-499.
- [2] Blottière H.M., Buecher B., Galmiche J.P., Cherbut Ch.: Molecular analysis of the effect of short-chain fatty acids on intestinal cell proliferation. *Proc. Nutr. Society*, 2003, **62**, 101-106.
- [3] Bravo L., Saura-Calixto F., Goni I.: Effects of dietary fibre and tannins from apple pulp on the composition of faeces in rats. *Br. J. Nutr.*, 1992, **67**, 463-473.
- [4] Campbell J.M., Fahey Jr. G.C., Wolf B.W.: Selected indigestible oligosaccharides affect large bowel mass, cecal and fecal short-chain fatty acids, pH and microflora in rats. *J. Nutr.*, 1997, **127**, 130-136.
- [5] Galisteo M., Duarte J., Zarzuelo A.: Effects of dietary fibers on disturbances clustered in the metabolic syndrome. *J. Nutr. Biochem.*, 2008, **19**, 71-84.
- [6] Goñi I., Jimenez-Escrig A., Gudiel M., Saura-Calixto F.: Artichoke (*Cynara scolymus* L.) modifies bacterial enzymatic activities and antioxidant status in rat cecum. *Nutr. Res.*, 2005, **25**, 607-615.
- [7] Li D., Kim J., Jin Z., Zhou J.: Prebiotic effectiveness of inulin extracted from edible burdock. *Anaerobe.*, 2008, **14**, 29-34.
- [8] Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J.: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 1951, **193**, 265-275.
- [9] Lynch M.B., Sweeney T., Callan J.J., O'Doherty J.V.: The effect of dietary crude protein concentration and inulin supplementation on nitrogen excretion and intestinal microflora from finisher pigs. *Livestock Science*, 2007, **109**, 204-207.
- [10] Manach C., Mazur A., Scalbert A.: Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases. *Current Opinions in Lipidology*, 2005, **16**, 77-84.
- [11] Martin-Carrón N., Saura-Calixto F., Goñi I.: Effect of dietary fibre- and polyphenol-rich grape products on lipidaemia and nutritional parameters in rats. *J. Sci. Food Agric.*, 2000, **80**, 1183-1188.
- [12] Mulinacci N., Prucher D., Peruzzi M., Romani A., Pinelli P., Giaccherini C., Vincieri F.F.: Commercial and laboratory extracts from artichoke leaves: estimation of caffeoyl esters and flavonoidic compounds. *J. Pharm. Biomed. Analysis*, 2004, **34**, 349-357.
- [13] Mussatto S.I., Mancilha I.M.: Non-digestible oligosaccharides: a review. *Carbohydrate Polymers*, 2007, **68**, 587-597.
- [14] Pellikaan W.F., Verdonk J.M.A.J., Shim S.B., Verstegen M.W.A.: Adaptive capacity of faecal microbiota from piglets receiving diets with different types of inulin-type fructans. *Livestock Science*, 2007, **108**, 178-181.
- [15] Pool-Zobel B., Van Loo J., Rowland I., Roberfroid M.B.: Experimental evidences on the potential of prebiotic fructans to reduce the risk of colon cancer. *Br. J. Nutr.*, 2002, **87**, 273-281.
- [16] Rakowska M., Szkiłłądziowa W., Kunachowicz H.: Wartość biologiczna białka żywności. WNT, Warszawa 1978.
- [17] Schmidt B., Nebojsa, Poulev A., Raskin I.: Toxicological evaluation of a chicory root extract. *Food Chem. Toxicol.*, 2007, **45**, 1131-1139.
- [18] Sibbel A.: The sustainability of functional foods. *Social Sci. Med.*, 2007, **64**, 554-561.
- [19] Topping D.L., Clifton P.M.: Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. *Physiological Reviews*, 2001, **81**, 1031-1064.
- [20] Tuohy K.M., Rouzaud G.C.M., Brück W.M., Gibson G.R.: Modulation of the human gut microflora towards improved health using prebiotics – assessment of efficacy. *Current Pharmaceutical Design*, 2005, **11**, 75-90.

- [21] Zduńczyk Z., Juśkiewicz J., Estrella I.: Cecal parameters of rats fed diets containing grapefruit polyphenols and inulin as single supplements or in a combination. *J. Nutr.*, 2006, **22**, 898-904.
- [22] Zduńczyk Z., Juśkiewicz J., Wróblewska M., Król B.: Physiological effects of lactulose and inulin in the caecum of rats. *Arch. Anim. Nutr.*, 2004, **58**, 89-98.

**EFFECT OF FRUCTOOLIGOSACCHARIDES AND PHENOLS FROM CHICORY ON
FERMENTATION PROCESSES ONGOING IN FINAL SECTION OF ALIMENTARY TRACT
IN EXPERIMENTAL RATS**

S u m m a r y

In the experiment accomplished, the effect was studied of fructans and polyphenols, concurrently occurring in a diet, on the functioning of the final section of alimentary tract in experimental rats. Three diets were applied: one control diet (K) with 7.5 % of sucrose and two experimental diets containing: 1) 7.9 % of commercial fructooligosacharride preparation (FOS) and 2) 8.3 % of FOS concentrate made from chicory roots that also enriched the diet with 0.05 % of polyphenols (FOS+PP). Young male Wistar rats (8 rats per group) were *ad libitum* fed for 4 weeks. The individual feed consumption level and body weight gains of rats were determined. In the caecal contents, the following parameters were measured: pH, dry matter, ammonia, Lowry's protein, volatile fatty acids (VFA), and activity of bacterial enzymes. Also, the caecum with and without contents was weighed.

No statistically significant differences were found between the groups as regards the feed consumption level and body weight gains in rats. The consumption level of feed products containing commercial FOS and the FOS+PP preparation made from chicory roots caused the weight of caecum wall and of its contents to significantly increase ($P < 0.05$) compared to the control group. Significantly lower ($P < 0.05$) pH values and a lower ammonia concentration in the caecal contents were found in the animals fed with experimental diets. The preparations analysed significantly increased the SCFA quota, especially, they significantly increased the content of propanoic acid and butyric acid when converted to 100 g of body weight. In the FOS+PP group, a significant increase in the concentration of VFA was found in the caecal contents ($P < 0.05$ vs FOS and K). The experimental diets beneficially modified the activity of bacterial β -glucosidase and β -glucuronidase.

Key words: FOS, polyphenols, SCFA, bacterial enzymes, rat, chicory ☒

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 31 sierpnia 2010 r.

1. Ustawa z dn. 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia (Dz. U. 2010 r. Nr 136, poz. 914).

Został opublikowany jednolity tekst ustawy z dn. 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia.

Ustawa określa wymagania i procedury niezbędne dla zapewnienia bezpieczeństwa żywności i żywienia zgodnie z przepisami rozporządzenia (WE) nr 178/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 28 stycznia 2002 r. ustanawiającego ogólne zasady i wymagania prawa żywnościowego, powołującego Europejski Urząd do Spraw Bezpieczeństwa Żywności oraz ustanawiającego procedury w sprawie bezpieczeństwa żywności oraz określa wymagania zdrowotne żywności w zakresie nieuregulowanym w rozporządzeniach Unii Europejskiej i wymagania dotyczące przestrzegania zasad higieny: żywności, materiałów i wyrobów przeznaczonych do kontaktu z żywnością w zakresie nieuregulowanym w rozporządzeniach UE.

2. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 7 lipca 2010 r. w sprawie wymagań weterynaryjnych przy produkcji produktów mlecznych o tradycyjnym charakterze (Dz. U. 2010 r. Nr 135, poz. 910).

W rozporządzeniu zostały określone wymagania weterynaryjne, jakie powinny być spełnione przy produkcji redykołki, oscypka i bryndzy podhalańskie w zakładach zlokalizowanych w regionach o szczególnych ograniczeniach geograficznych. Regiony o szczególnych ograniczeniach geograficznych to obszary o niekorzystnych warunkach gospodarowania typu górskiego oraz typu ze specyficznymi

utrudnieniami. W zakładach produkujących produkty mleczne o tradycyjnym charakterze można odstąpić od spełniania wymagań określonych w rozporządzeniu (WE) nr 852/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r. w sprawie higieny środków spożywczych oraz można odstąpić od spełniania wymagań określonych w rozporządzeniu (WE) nr 852/2004.

3. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dn. 9 sierpnia 2010 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie wprowadzenia do obrotu i stosowania w żywności na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej określonych substancji dodatkowych (Dz. U. 2010 r. Nr 153, poz. 1032).

Wprowadzona zmiana dotyczy substancji dodatkowej E 242 (dimetylodiwęglanu) stosowanego w fermentowanych napojach winiarskich o zawartości cukru nie mniejszej niż 5 g/l.

Ustawa z dn. 30 kwietnia 2010 r. o instytutach badawczych (Dz. U. 2010 r. Nr 96, poz. 618).

Od 30 października 2010 r. obowiązuje nowa ustawa o instytutach badawczych. ☒

HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA, ANNA WOCIÓR

WSPÓŁCZESNY LEKSYKON WIEDZY O ŻYWNOSCI

Prezentujemy 45. część haseł *Współczesnego leksykonu wiedzy o żywności*. Druk leksykonu rozpoczęliśmy w *Żywności* nr 3 (28), 2001.

AKTYWNOŚĆ CYTOLITYCZNA / CYTOLYTIC ACTIVITY – aktywność skierowana na destrukcję komórek lub patogenicznych jednokomórkowych mikroorganizmów

ALLEL / ALLEL – jedna z wersji genu w określonym miejscu (locus) na danym chromosomie homologicznym. Allele tego samego genu różnią się jednym lub kilkoma nukleotydami. Występowanie więcej niż jednej wersji danego genu określa się jako polimorfizm. Dzięki zdegenerowaniu kodu genetycznego tylko część tych różnic przekłada się na różnice w budowie kodowanych białek. Powoduje to zróżnicowanie właściwości cząsteczek białka kodowanego przez różne allele tego samego genu

EMULSOID / EMULSOID – koloid liofobowy, ma zdolność adsorbowania na powierzchni cząsteczek rozpuszczalnika. Jeżeli rozpuszczalnikiem jest woda, koloid taki określa się hydrofilowym, np. białko, żelatyna, $\text{Fe}(\text{OH})_3$, $\text{Al}(\text{OH})_3$

ENHANCER / ENHANCER – sekwencja w DNA wspomagająca i regulująca transkrypcję informacji genetycznej. Inaczej nazywana sekwencją wzmacniającą

LOCUS (l. mnoga loci) / LOCUS – określony obszar chromosomu zajmowany przez gen. W obrębie chromosomu znajduje się wiele różnych loci, stanowią one rodzaj logicznych pojemników na samodzielne, strukturalizowane fragmenty in-

formacji genetycznej, nazywane genami. W określonym *locus* mogą znaleźć się różne warianty związanego z nim genu (różniące się sekwencją nukleotydów w DNA); warianty te są nazywane allelami

METEORYZM / METEORISM – termin wskazujący na nagromadzenie powietrza w niektórych odcinkach układu pokarmowego, co jest spowodowane nadmiernym nagromadzeniem gazów

PARAFARMACEUTYKI / PARAPHARMACEUTICALS – środki uzupełniające terapię, które ze względu na skład i mechanizm działania powinny wywierać określone efekty, ale to działanie nie zostało udowodnione w badaniach klinicznych. Do grupy parafarmaceutyków zalicza się preparaty ziołowe, steroidy roślinne, aromaterapeutyki i leki homeopatyczne

ROZTWORY IZOOSMOTYCZNE / ISOOSMOTIC SOLUTIONS – wykazują to samo ciśnienie osmotyczne przy tych samych stężeniach, niezależnie od typu i właściwości substancji rozpuszczonej. Oznacza to, że w przypadku rozdzielania roztworów izoosmotycznych błoną półprzepuszczalną, tyle samo cząsteczek rozpuszczalnika przejdzie na jedną, jak i na drugą stronę błony. Izoosmotyczny z krwią jest 0,9 % roztwór chlorku sodu w wodzie, zwany roztworem fizjologicznym

SUSPENSOID / SUSPENSOID – koloid liofobowy, nie adsorbuje cząsteczek rozpuszczalnika na powierzchni. Jeżeli rozpuszczalnikiem jest woda, koloid taki określa się hydrofobowym, np. zole metali (Au, G) rozpuszczonych w fazie ciekłej

TERMODYSOCJACJA / THERMODISSOCIATION – rozpad cząsteczek na jony lub rodniki pod wpływem temperatury ☒

NOWE KSIĄŻKI

Bioactive Components in Milk and Dairy Products

[Bioaktywne komponenty występujące w mleku i produktach mlecznych]

Young W. Park (Editor)

Wydawnictwo: Wiley-Blackwell, 2009, ISBN 978-0-8138-1982-2, stron 440

Zamówienia: www.eu.wiley.com

W książce omówiono bioaktywne składniki występujące w mleku i produktach mlecznych pochodzących od różnych gatunków zwierząt, w tym.: krów, kóz, bawolic, owiec, kłaczy, wielbłądziej i in. Omawiając mleko i produkty mleczne poszczególnych gatunków zwierząt autorzy zamieścili informacje nt. takich składników oraz metod ich izolacji, jak: bioaktywne proteiny i peptydy, bioaktywne związki tłuszczowe, oligosacharydy, czynniki wzrostu, minerały, witaminy, hormony, nukleotydy i in. Spośród produktów mlecznych omówiono kazeinę, kazeiniany oraz sery, jogurty, kumys, kefir i serwatkę.

Książka może okazać się pomocna dla tych, którzy poszukują informacji nt. żywieniowych oraz prozdrowotnych właściwości mleka i produktów mlecznych oraz technologii tych wyrobów z mleka poszczególnych gatunków zwierząt mlecznych. Skierowana jest w szczególności do technologów żywności, nauczycieli akademickich, producentów mleka i wyrobów mlecznych, specjalistów zajmujących się sprawami żywności funkcjonalnej, alergią, biotechnologów oraz studentów kierunków: technologia żywności, żywienie człowieka, nauki o żywności, towaroznawstwo żywności.

Gluten-Free Food Science and Technology

[Nauka i technologia żywności bezglutenowej]

Eimear Gallagher (Editor)

Wydawnictwo: Wiley-Blackwell, 2009, ISBN 978-1-4051-5915-9, stron 256

Zamówienia: www.eu.wiley.com

Obserwuje się wzrost zachorowań na celiakię i okresowe nietolerancje glutenu, co wpływa na zwiększenie zapotrzebowanie na wyroby bezglutenowe. Występujące na rynku produkty bezglutenowe są często niskiej jakości i o krótkim terminie przydatności do spożycia. Charakteryzują się nieakceptowanymi niekiedy cechami smakowymi.

Stanowi to wyzwanie zarówno dla technologów zajmujących się produktami zbożowymi oraz piekarzy, jak również dla naukowców prowadzących badania nad zamiennikami glutenu w produkcji bezglutenowych wyrobów piekarskich.

W książce zaprezentowano właściwości glutenu, w tym funkcjonalne. Oceniono także wartość odżywczą produktów bezglutenowych. Przedstawiono różnorodne składniki, które mogą zostać użyte do zastąpienia glutenu. Wskazano, jak kombinacje tych składników mogą modyfikować reologiczne właściwości produktów.

Książka skierowana jest do technologów żywności, naukowców zajmujących się sprawami żywności i żywienia oraz studentów studiujących na kierunkach technologia żywności, żywienie człowieka, towaroznawstwo żywności, piekarzy oraz stowarzyszeń/społeczności osób chorych na celiakię.

Glucose Syrups: Technology and Applications

[Syropy glukozy: technologia i zastosowanie]

Peter Hull

Wydawnictwo: Wiley-Blackwell, 2010, ISBN 978-1-4051-7556-2, stron 392

Zamówienia: www.eu.wiley.com

Syropy glukozy otrzymywane są z surowców skrobiowych tj. kukurydzy, pszenicy i ziemniaków. Stanowią alternatywę dla cukru i znajdują szerokie zastosowanie w produkcji: wyrobów cukierniczych, piwa, napojów bezalkoholowych, napojów dla sportowców, dżemów, sosów, lodów, jak również lekarstw i w fermentacji przemysłowej.

Książka dostarcza niezbędnych informacji na temat produkcji i zastosowania syropów glukozy. Autor, mający 40-letnie doświadczenie w przedsiębiorstwie produkującym glukozę, przekazuje wiele wartościowych i praktycznych wskazówek na temat procesu wytwarzania tych syropów. W rozdziale poświęconym zastosowaniu syropów glukozy zamieszczono receptury, natomiast w załączniku przedstawiono propozycję powszechnie wykonywanych obliczeń i przydatne informacje z tego zakresu. Technolodzy żywności mogą skorzystać z wiedzy zawartej w książce przy wyborze najbardziej odpowiedniego syropu glukozy do konkretnego zastosowania, jak również wykorzystać podane przez autora receptury. Uzupełnieniem książki jest słownik terminów uwzględniający międzynarodową terminologię stosowaną w przemyśle cukrowniczym.

Calorimetry in Food Processing: Analysis and Design of Food Systems

[Kalorymetria w produkcji żywności: analiza i projektowanie systemów żywnościowych]

Gönül Kaletunç (Editor)

Wydawnictwo: Wiley-Blackwell, 2009, ISBN 978-0-8138-1483-4, stron 412

Zamówienia: www.eu.wiley.com

W książce przedstawiono podstawowe zasady kalorymetrii oraz omówiono szereg jej zastosowań. Scharakteryzowano zmiany w żywności zachodzące pod wpływem temperatury tj. żelowanie i krystalizację skrobi, przemiany zachodzące w tłuszczach, denaturację białek, inaktywację mikroorganizmów w żywności i materiałach biologicznych. Wskazano na zasadność użycia kalorymetrii jako narzędzia do określania wymogów technologicznych, mających na celu ocenę skuteczności procesu przetwarzania żywności. Książka jest skierowana do studentów, naukowców i technologów pracujących w zakładach produkujących i przetwarzających żywność.

Opracowała: *Anna Gręda*

XV JUBILEUSZOWA SESJA MŁODEJ KADRY NAUKOWEJ PTTŻ „JAKOŚĆ I PROZDROWOTNE CECHY ŻYWNOSCI”

XV Jubileuszowa Sesja Młodej Kadry Naukowej Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności pt. „Jakość i prozdrowotne cechy żywności” odbyła się w dniach 20 - 21 maja 2010 r. we Wrocławiu.

Organizatorami konferencji byli: Wydział Nauk o Żywności Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu oraz Sekcja Młodej Kadry Naukowej PTTŻ. Współorganizatorami konferencji byli: Zarząd Główny i Oddział Wrocławski PTTŻ. Patronat honorowy nad konferencją objął JM Rektor Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu prof. dr hab. inż. Roman Kołacz.

XV Sesja Sekcji Młodej Kadry Naukowej „Jakość i prozdrowotne cechy żywności” była kolejną z cyklu sesji adresowanych do młodych pracowników naukowych oraz słuchaczy studiów doktoranckich. Głównym celem tej sesji było umożliwienie prezentacji uzyskanych wyników badań własnych, nowych metod analitycznych i innowacyjnych rozwiązań z zakresu nauki o żywności, a także nawiązywanie kontaktów pomiędzy poszczególnymi ośrodkami naukowymi.

W Sesji udział wzięło 149 osób, 12 profesorów oraz 137 młodych uczestników reprezentujących 17 ośrodków naukowych, w tym: Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy w Bydgoszczy, Akademię im. J. Długosza w Częstochowie, Politechnikę Gdańską, Uniwersytet Rolniczy im. H. Kołłątaja w Krakowie, Uniwersytet Ekonomiczny w Krakowie, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Politechnikę Łódzką, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN w Olsztynie, Olsztyńską Szkołę Wyższą im. J. Rusieckiego, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Szkołę Główną Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego w Warszawie, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Uniwersytet Ekonomiczny we Wrocławiu oraz Powiatowy Szpital Specjalistyczny w Zbydniowie.

Program obejmował 3 sesje referatowe, 2 sesje posterowe, a także forum obejmujące wykłady zaproszonych gości konferencji. W jego ramach wykłady wygłosili specjaliści z zakresu nauk o żywności: prof. dr hab. Nina Baryłko-Pikielna, prof. dr Anto-

ni Rutkowski ze Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, a także prof. dr hab. Czesław Wawrzęczyk oraz prof. dr hab. Wiesław Kopec z Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Pozostałe prace były prezentowane wyłącznie przez doktorantów i młodych pracowników nauki.

Tematyka sesji dotyczyła zapewnienia szeroko rozumianej jakości i bezpieczeństwa żywności na etapie pozyskiwania, przetwórstwa i obrotu handlowego. Prezentowane prace naukowe dotyczyły zarówno udoskonalania procesów technologicznych, przetwarzania żywności, problemów z zakresu analizy żywności, jak i opracowywania nowych produktów oraz zarządzania jakością w produkcji żywności i łańcuchu dostaw, a także tematów pokrewnych.

Podczas sesji referatowych ogłoszono 20 komunikatów, a 125 prac zaprezentowano na plakatach. Spośród przedstawionych prac wyróżniono:

I. Komunikaty prezentowane na sesjach referatowych:

- Mirosława Feleszko (Uniwersytet Przyrodniczy w Wrocławiu): Wpływ odmiany jabłek na zmętnienie i barwę naturalnie mętnych soków;
- Tomasz Szablewski (Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu): Zagrożenie występowania pleśni oraz mikotoksyn w jajach konsumpcyjnych;
- Katarzyna Neffe (Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie): Możliwości zastosowania bakterii probiotycznych w produktach mięsnych surowo dojrzewających;
- Grzegorz Kielbowicz (Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu): Wzbogacanie lecytyny w skoniugowany kwas linolowy (CLA) na drodze enzymatycznej estryfikacji.

II. Komunikaty plakatowe:

- Dariusz Kowalczyk (Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie): Wpływ jadalnej powłoki białkowo-woskowej na jakość przechowalniczą winogron (*Vitis Vinifera* L.);
- Krzysztof Durkalec-Michalski (Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu): Ocena spożycia alkoholu, tłuszczu i soli w wybranej grupie pacjentów z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym.

Uczestnicy konferencji mieli możliwość opracowania wyników swoich badań w formie prac do druku. Wyróżnione prace są publikowane w czasopiśmie „Żywność. Nauka. Technologia. Jakość” oraz w „Acta Scientiarum Polonorum Biotechnologia”; pozostałe prace będą opublikowane w formie monografii.

Komitet Organizacyjny przygotował również wystawę z okazji jubileuszu XV-lecia działalności Sekcji MKN, jej dorobek i działalność przedstawiła w formie wystąpienia ustnego przewodnicząca SMKN – dr inż. Katarzyna Marciniak-Łukasiak.

Sesja była doskonałą okazją do nawiązania i rozszerzenia kontaktów pomiędzy pracownikami z różnych ośrodków naukowych.

Joanna Kawa-Rygielska

TECHNOLOG ŻYWNOŚCI

INFORMATOR POLSKIEGO TOWARZYSTWA TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI

Rok 20 Nr 5

listopad 2010

DZIAŁALNOŚĆ TOWARZYSTWA

Oddział Wrocławski

W pierwszym półroczu 2010 r. działalność Oddziału Wrocławskiego PTTŻ przejawiała się w następujących formach:

1. Zebrania, podczas których wygłoszono referaty:
 - dr inż. Ewa Tomaszewska-Ciosk: „Sposób otrzymywania nośnika do unieruchamiania mikroorganizmów”,
 - prof. dr hab. Waldemar Rymowicz: „Biosynteza erytrytolu z glicerolu przez drożdże”.
2. Symposium Naukowe n.t. „Substancje biologicznie aktywne w żywności” (15.04.2010 r.), którego Organizatorami byli: Oddział Wrocławski PTTŻ oraz Dolnośląski Oddział Wojewódzki Stowarzyszenia Naukowo-Technicznego Inżynierów i Techników Przemysłu Spożywczego. Wygłoszono referaty:
 - dr inż. Mirosław Anioł: „Flawonoidy jako potencjalne składniki preparatów o działaniu prozdrowotnym i leczniczym”,
 - dr inż. Anna Bąkowska-Barczak: „Antocyjany – naturalny środek na choroby cywilizacyjne”,
 - prof. dr hab. Tadeusz Trziszka: „Bioaktywne substancje treści jaj i możliwości ich aplikacji jako nutraceutyki oraz preparaty biomedyczne”,
 - dr inż. Joanna Wyka: „Wpływ fitoestrogenów pokarmowych na organizm człowieka”.
3. XV Jubileuszowa Sesja Młodej Kadry Naukowej PTTŻ pt. „Jakość i prozdrowotne cechy żywności”, 20-21 maja 2010 r., Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu. Organizatorami byli: Wydział Nauk o Żywności Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu oraz Sekcja Młodej Kadry Naukowej PTTŻ. Współorganizatorzy konferencji: Zarząd Główny i Oddział Wrocławski PTTŻ.
4. VI Konferencja Naukowa „Ziemiak spożywczy i przemysłowy oraz jego przetwarzanie”, Szklarska Poręba, 10-13 maja 2010 r. Organizatorem była Katedra Technologii Rolnej i Przechowywania Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu przy współudziale Sekcji Węglowodanów Oddziału Wrocławskiego PTTŻ.

Oddział Olsztyński

W dniu 1 lipca 2010 r. odbyło się seminarium naukowe zorganizowane przez Oddział Olsztyński PTTŻ oraz Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN w Olsztynie, w którym uczestniczyło 30 osób. Wygłoszono 3 referaty:

- prof. Wilfried Andlauer (University of Applied Sciences Valais (Hes-So Valais), Institute of Life Technologies, Sion, Szwajcaria): "Plant phenolics in animal organism",
- mgr Zbyszko Lubiewski (Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności Wydziału Nauk o Żywności i Żywieniu Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu): „Ekonomiczne aspekty produkcji biodiesla”,
- dr hab. inż. Grażyna Lewandowicz, prof. UP w Poznaniu (Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności Wydziału Nauk o Żywności i Żywieniu Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu): „Odpady z przetwórstwa ziemniaczanego jako surowce do produkcji bioetanolu”.

W tym samym dniu (1 lipca 2010 r.) odbyło się także pierwsze spotkanie Zarządu Oddziału Olsztyńskiego PTTŻ z doktorantami UWM oraz IRZiBŻ PAN w Olsztynie. Spotkanie to miało na celu wstępne powołanie komitetu organizacyjnego XVI Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, która odbędzie się w przyszłym roku w Olsztynie. Oddział Olsztyński PTTŻ jest głównym organizatorem tej Sesji.

WAŻNIEJSZE MIĘDZYKRAJOWE I KRAJOWE
KONFERENCJE NAUKOWE W 2010 r.

Maj

- 24 – 27 OLSZTYN = V Konferencja Naukowa nt. "Właściwości geometryczne, mechaniczne i strukturalne surowców i produktów spożywczych".** Organizatorzy: Katedra Inżynierii Rolniczej WNT UWM w Olsztynie, Oddział Nauki o Żywności IRZiBŻ PAN w Olsztynie, Katedra Inżynierii Mechanicznej i Agrofizyki UR w Krakowie, Komitet Agrofizyki PAN, Komitet Techniki Rolniczej PAN.
Kontakt: mgr Justyna Biedulska
<http://www.uwm.edu.pl/wnt/ptaolsztyn>
Tel./fax (89) 523453
e-mail: justyna.biedulska@uwm.edu. pl
- 26 - 27 KIRY k. Zakopanego = Sympozjum Naukowe nt. „Wykorzystanie drobnoustrojów i ich metabolitów w produkcji i utrwalaniu żywności”.** Organizatorami Sympozjum są: Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności Wydziału Nauk o Żywności SGGW w Warszawie oraz Oddział Warszawski PTTŻ.
Kontakt: dr inż. Anna Chlebowska-Śmigiel
Tel.: (22) 593 76 51; Fax: (22) 593 76 81
e-mail: anna_chlebowska_smigiel@sggw.pl

Czerwiec

6 - 10 POZNAŃ = 13th International Lupin Conference – “Lupin crops – an opportunity for today, a promise for the future”. Conference is organized under the auspices of the International Lupin Association by the Polish Lupin Association and the Institute of Plant Genetics, Polish Academy of Sciences.
Kontakt: <http://www.igr.poznan.pl>
e-mail: ilc2011@igr.poznan.pl

29.06. - 01.07. WARSZAWA = XL Sesja Komitetu Nauk o Żywności PAN nt. „Tradycja i nowoczesność w żywności i żywieniu”. Organizatorzy: KNoŻ PAN, Wydział Nauk o Żywności SGGW, Oddział Warszawski PTTŻ
Kontakt: <http://50ltawnoz.sggw.pl/index.php>
e-mail: konferencja_knoz@sggw.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.**

Material zawarty w Nr 5 (72)/2010 Biuletynu podano według stanu informacji do 1 października 2010 r. Materiały do Nr 65 (73) /2010 prosimy nadsyłać do 1 grudnia 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**