



ŻYWNOŚĆ

Nauka Technologia Jakość

FOOD

Science Technology Quality

Nr 2 (75)

Kraków 2011

Rok 18

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. Włodzimierz Grajek, prof. dr hab. Grażyna Jaworska,
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 2011

Printed in Poland

Wydawanie publikacji dofinansowane przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego

ISSN 1425-6959

ADRES REDAKCJI:

31-425 KRAKÓW, AL. 29 LISTOPADA 46

Nakład: 600 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 2 (75)

Kraków 2011

Rok 18

SPIS TREŚCI

Od Redakcji.....	3
DOROTA KRĘGIEL, ANNA RYGAŁA, ZDZISŁAWA LIBUDZISZ: Bakterie z rodzaju <i>Asaia</i> – nowe zanieczyszczenie smakowych wód mineralnych.....	5
ANNA STÓJ: Metody wykrywania zafałszowań win.....	17
EWA CIEŚLIK, AGNIESZKA GĘBUSIA: Żywność funkcjonalna z dodatkiem fruktanów	27
PIOTR ZARZYCKI, EMILIA SYKUT-DOMAŃSKA, IWONA WILKOWICZ: Ocena lepkości pozornej wodnych zawiesin całoziarnowej mąki owsianej o zróżnicowanej zawartości błonnika pokarmowego	38
MAŁGORZATA PIECYK, MARTA SZEMBERG: Wpływ sieciowania na wybrane właściwości skrobi z nasion grochu (<i>Pisum sativum</i>)	53
BARBARA SZYMCZAK, WOJCIECH SAWICKI, ELŻBIETA BOGUSŁAWSKA-WĄS, ANNA KORONKIEWICZ, WALDEMAR DĄBROWSKI: Występowanie <i>L. monocytogenes</i> w świeżych owocach i warzywach pochodzących z upraw ekologicznych województwa zachodniopomorskiego	67
ELŻBIETA GUJSKA, MARTA CZARNOWSKA: Wpływ warunków ekstrakcji i hydrolizy na wynik oznaczania zawartości kwasu foliowego i folianów w soku jabłkowym	77
GRZEGORZ KŁOSOWSKI, ANNA BŁAJET-KOSICKA, DAWID MIKULSKI, JAN GRAJEWSKI: Ocena możliwości redukcji stężenia mikotoksyn w procesie produkcji etanolu z ziarna kukurydzy technologią BUS i klasyczną.....	89
AGATA GÓRSKA, EWA OSTROWSKA-LIGĘZA, MAGDALENA WIRKOWSKA, JOANNA BRYŚ: Ocena parametrów utleniania kwasu linolowego z wykorzystaniem różnicowej kalorymetrii skaningowej	106
AGATA GÓRSKA, EWA OSTROWSKA-LIGĘZA, MAGDALENA WIRKOWSKA, JOANNA BRYŚ: Stabilność termiczna kompleksów inkluzyjnych kwasu linolowego z β -cyklodekstryną.....	115
KAROL MIŃKOWSKI, STANISŁAW GRZEŚKIEWICZ, MARZENA JERZEWSKA: Ocena wartości odżywczej olejów roślinnych o dużej zawartości kwasów linolenowych na podstawie składu kwasów tłuszczowych, tokoferoli i steroli	124
IWONA CHWASTOWSKA-SIWIECKA, JACEK KONDRATOWICZ, RAFAŁ WINARSKI, KATARZYNA ŚMIECIŃSKA: Wartość rzeźna oraz wybrane cechy jakościowe mięsa królików ras mięsnych	136
DOROTA KOWALSKA, PAWEŁ BIELAŃSKI, AGNIESZKA CHEŁMIŃSKA: Wpływ dodatku do paszy oleju lnianego i rybnego na profil kwasów tłuszczowych i utlenienie tłuszczu śródmięśniowego królików	148
EUGENIA GRZEŚKOWIAK, FABIAN MAGDA, DARIUSZ LISIAK: Ocena zawartości fosforu oraz jakości mięsa i przetworów mięsnych dostępnych na rynku krajowym	160
GRAŻYNA MORKIS: Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym	171
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA: Interakcje składników żywności.....	173
ANNA GREDA: Nowe książki	177
ILONA KOŁODZIEJSKA, MARIA SADOWSKA: Jubileusz 80-lecia urodzin prof. dr hab. Zdzisława Edmunda Sikorskiego	180
Technolog Żywności	184

Zamieszczone artykuły są recenzowane

Czasopismo jest referowane przez: 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 2 (75)

Kraków 2011

Vol. 18

CONTENTS

From the Editor.....	3
DOROTA KRĘGIEL, ANNA RYGAŁA, ZDZISŁAWA LIBUDZISZ: Bacteria <i>Asaia</i> sp. – the new contamination of flavoured mineral waters.....	5
ANNA STÓJ: Methods of detecting adulteration of wines	17
EWA CIEŚLIK, AGNIESZKA GĘBUSIA: Functional foods with fructans added.....	27
PIOTR ZARZYCKI, EMILIA SYKUT-DOMAŃSKA, IWONA WILKOWICZ: Evaluation of apparent viscosity of whole oat flour water slurries with different dietary fibre content.....	38
MAŁGORZATA PIECYK, MARTA SZEMBERG: Effect of cross-linking on selected properties of pea (<i>Pisum sativum</i>) starch	53
BARBARA SZYMCZAK, WOJCIECH SAWICKI, ELŻBIETA BOGUSŁAWSKA-WAŚ, ANNA KORONKIEWICZ, WALDEMAR DĄBROWSKI: Occurrence of <i>L. monocytogenes</i> in fresh fruits and vegetables from organic farms in west pomeranian region	67
ELŻBIETA GUJSKA, MARTA CZARNOWSKA: Effect of extraction and hydrolysis conditions on the determined content value of folic acid and folates in apple juice	77
GRZEGORZ KŁOSOWSKI, ANNA BŁAJET-KOSICKA, DAWID MIKULSKI, JAN GRAJEWSKI: Assessing the potential of reducing mycotoxin concentration during the production process of ethanol from maize grain using pls and classic technology.....	89
AGATA GÓRSKA, EWA OSTROWSKA-LIGEŻA, MAGDALENA WIRKOWSKA, JOANNA BRYŚ: Assessment of linoleic acid oxidation parameters using differential scanning calorimetry	106
AGATA GÓRSKA, EWA OSTROWSKA-LIGEŻA, MAGDALENA WIRKOWSKA, JOANNA BRYŚ: Thermal stability of linoleic acid - β -cyclodextrin inclusion complexes	115
KAROL MIŃKOWSKI, STANISŁAW GRZEŚKIEWICZ, MARZENA JERZEWSKA: Assessment of nutritive value of plant oils with high content of linolenic acids based on the composition of fatty acids, tocopherols, and sterols.....	124
IWONA CHWASTOWSKA-SIWIECKA, JACEK KONDRATOWICZ, RAFAŁ WINARSKI, KATARZYNA ŚMIECIŃSKA: Slaughter value and selected quality attributes of meat of meet rabbit breeds.....	136
DOROTA KOWALSKA, PAWEŁ BIELAŃSKI, AGNIESZKA CHEŁMIŃSKA: Effect of linseed & fish oil supplements in feed on fatty acid profile and intramuscular fat oxidation in rabbits ...	148
EUGENIA GRZEŚKOWIAK, FABIAN MAGDA, DARIUSZ LISIAK: Assessment of phosphorus content and quality of meat & processed meat products available in the Polish market	160
GRAŻYNA MORKIS: Food problems in Polish and EU legislation.....	171
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA: Interactions among food components	173
ANNA GREĐA: Book reviews.....	177
ILONA KOŁODZIEJSKA, MARIA SADOWSKA: The 80 th anniversary of the birth of Professor Zdzisław Edmund Sikorski	180
The Food Technologist	184

Only reviewed papers are published

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

OD REDAKCJI

Szanowni Czytelnicy,

obecny, 2 (75), numer naszego czasopisma zawiera różnorodne tematycznie artykuły naukowe, prezentujące dorobek kilku krajowych środowisk nauki o żywności. W bieżącym numerze zamieściliśmy także interesujące informacje w stałych działach, a całość wzbogaca materiał informacyjny dotyczący działalności Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności.

Powtarzamy nasz apel, w dobrze pojętym naszym wspólnym interesie, **cytujmy polskich autorów publikujących w „Żywności”** w artykułach kierowanych do czasopism zagranicznych! Zwracajmy także większą uwagę na cytowanie wcześniej opublikowanych artykułów w „ŻYWNOSCI”, w opracowaniach nadsyłanych do redakcji. Cytowanie wcześniej opublikowanych artykułów, wiążących się tematycznie z nadsyłanymi opracowaniami, jest warunkiem przyjęcia pracy do druku.

Kraków, kwiecień 2011 r.

Redaktor Naczelny



Tadeusz Sikora



KOMITET NAUK
O ŻYWNOŚCI
POLSKIEJ AKADEMII
NAUK



PAN

WYDZIAŁ NAUK O ŻYWNOŚCI
SGGW w Warszawie

oraz

POLSKIE TOWARZYSTWO TECHNOLOGÓW
ŻYWNOŚCI
Oddział Warszawski

zapraszają na

**XL Sesję Komitetu Nauk o Żywności
Polskiej Akademii Nauk**

Tradycja i nowoczesność w żywności i żywieniu

połączoną z obchodami Jubileuszu 50-lecia
Wydziału Nauk o Żywności
SGGW w Warszawie

Warszawa, 29 czerwca - 1 lipca 2011

Informacje:
www.50latwnoz.sggw.pl

Adres Komitetu Organizacyjnego:

e-mail: sesja_knoz@sggw.pl

lub

Wydział Nauk o Żywności

XL Sesja Komitetu Nauk o Żywności Polskiej Akademii Nauk

„Tradycja i nowoczesność w żywności i żywieniu”

ul. Nowoursynowska 159c, 02-776 Warszawa

DOROTA KRĘGIEL, ANNA RYGAŁA, ZDZISŁAWA LIBUDZISZ

BAKTERIE Z RODZAJU *ASAIA* – NOWE ZANIECZYSZCZENIE SMAKOWYCH WÓD MINERALNYCH

Streszczenie

Asaia sp. to rozpowszechniony w przyrodzie nowy rodzaj bakterii octowych. Ich naturalne środowisko stanowią tropikalne kwiaty, owoce i owady południowo-wschodniej Azji. Dane literaturowe wskazują na ich występowanie także w Europie, w smakowych wodach mineralnych z dodatkiem soków naturalnych lub naturalnych aromatów. Ich rozwój powoduje niekorzystne zmiany sensoryczne produktów, głównie zmętnienie, powstawanie osadów, kłaczków oraz zmiany zapachu i barwy. Ze względu na zdolności adhezyjne i tworzenie śluzów mogą także występować w składzie biofilmów, stanowiąc trudne do usunięcia zanieczyszczenie linii produkcyjnych.

Słowa kluczowe: *Asaia*, bakterie octowe, smakowe wody mineralne, wady sensoryczne

Wprowadzenie

Popularnością wśród konsumentów cieszą się wody smakowe, produkowane na bazie wód mineralnych z dodatkiem soków owocowych lub różnych aromatów pochodzenia naturalnego. Smakowe wody mineralne nie tylko gaszą pragnienie – są jednocześnie ważnym źródłem składników mineralnych i witamin, niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Jednak coraz częstszym problemem jest brak stabilności tych produktów, który objawia się niekorzystnymi zmianami sensorycznymi – zmianą zapachu, barwy, zmętnieniem, tworzeniem kłaczków (ang. flocks) lub wytrącaniem osadów. Te niekorzystne zmiany fizykochemiczne są wynikiem rozwoju drobnoustrojów zanieczyszczających. Nie jest to mikroflora jednorodna, a jej skład zależy zwykle od rodzaju aromatu, jakości wody mineralnej stosowanej do produkcji oraz innych komponentów napoju [12]. Zanieczyszczone produkty wykazują obecność charakterystycznych zmętnień, nawet do 5 w skali McFarlanda, co odpowiada liczbie komórek ponad 10^9 w ml. Zmiany sensoryczne smakowych wód mineralnych wywoływane są głównie przez bakterie octowe należące do rodzaju *Gluconobacter*. Ostatnio

Dr inż. D. Kręgiel, mgr inż. A. Rygała, prof. dr hab. Z. Libudzisz, Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, Wyzd. Biotechnologii i Nauk o Żywności, ul. Wólczańska 171/173, 90-924 Łódź

stwierdzono, że za podobne obniżenie jakości wód smakowych mogą być także odpowiedzialne bakterie octowe należące do rodzaju *Asaia* [7, 14, 15].

Bakterie kwasu octowego

Bakterie kwasu octowego AAB (ang. Acetic Acid Bacteria) to gram ujemne lub gram zmienne pałeczki, rosnące w warunkach tlenowych. Ich elipsoidalne komórki, urzęsione peritrichalnie lub polarnie, o wymiarach $0,4 \div 1 \mu\text{m} \times 0,8 \div 4,5 \mu\text{m}$, nie tworzą przetrwalników i mogą występować w różnych ugrupowaniach. Są katalazododatnie i oksydazo-ujemne. Należą do mezofili, a ich optymalna temperatura wzrostu wynosi $25 \div 30 \text{ }^\circ\text{C}$. Jednakże szczepy izolowane ze środowisk w klimacie tropikalnym wykazują optimum wzrostu nawet w temp. $37 \div 40 \text{ }^\circ\text{C}$ [17]. Optymalne pH wzrostu tych bakterii wynosi od 5 do 6,5, ale wzrost możliwy jest także w środowiskach o odczynie obniżonym nawet do $3 \div 4$ jednostek.

W pierwszej połowie XX w. opisano tylko dwa rodzaje bakterii octowych: *Acetobacter* (Beijerinck) i *Gluconobacter* (Asai). Obecnie zróżnicowanie rodzajowe i gatunkowe bakterii z rodziny *Acetobacteraceae* jest duże. W ostatnich latach opisano nowe rodzaje, np. osmofilne *Neoasaia*, wyizolowane z kwiatów czerwonego imbiru (*Alpinia purpurata*) [27] czy też *Granulibacter bethesdensis* – patogenny szczep występujący u pacjenta z przewlekłą chorobą ziarniakową [6].

Rodzina *Acetobacteraceae* obejmuje obecnie 12 rodzajów: *Acetobacter*, *Gluconobacter*, *Acidomonas*, *Gluconacetobacter*, *Asaia*, *Kozakia*, *Swaminathania*, *Saccharibacter*, *Neoasaia*, *Granulibacter*, *Tanticharoenia* i *Ameyamaea* (tab. 1).

Tabela 1

Klasyfikacja bakterii kwasu octowego.
Classification of acetic acid bacteria.

Jednostka klasyfikacyjna Classification unit	Pozycja taksonomiczna bakterii octowych Taxonomic position of acetic acid bacteria
Domena / Domain	Bakterie Bacteria
Dział / Section	<i>Proteobacteria</i>
Klasa / Class	<i>Alphaproteobacteria</i>
Rząd / Order	<i>Rhodospirillales</i>
Rodzina / Family	<i>Acetobacteraceae</i>
Rodzaj / Genus	<i>Acetobacter</i> , <i>Gluconobacter</i> , <i>Acidomonas</i> , <i>Gluconacetobacter</i> , <i>Asaia</i> , <i>Kozakia</i> , <i>Swaminathania</i> , <i>Saccharibacter</i> , <i>Neoasaia</i> , <i>Granulibacter</i> , <i>Tanticharoenia</i> i <i>Ameyamaea</i>

Źródło: / Source: [2, 4, 20, 25].

Bakterie z rodzaju *Asaia* – występowanie, właściwości biochemiczne i identyfikacja

Rodzaj *Asaia* został ustanowiony w 2000 r. jako piąty rodzaj bakterii octowych. Nazwa rodzaju pochodzi od nazwiska japońskiego bakteriologa Toshinobu Asai zajmującego się systematyką bakterii octowych [2, 3, 4]. Bakterie z rodzaju *Asaia* były po raz pierwszy wyizolowane z kwiatów drzewa storczykowego (*Bauhinia purpurea*) i kwiatów ołownika (*Plumbago*), rosnących w klimacie tropikalnym. Stwierdzono także ich obecność jako komensali w przewodzie pokarmowym komarów w Afryce i Azji [5]. Bakterie *Asaia* sp. często izolowane są z zanieczyszczonych wód aromatyzowanych, a za źródło zanieczyszczenia tymi bakteriami uznaje się naturalne soki i aromaty owocowe [7, 9, 14, 27, 28].

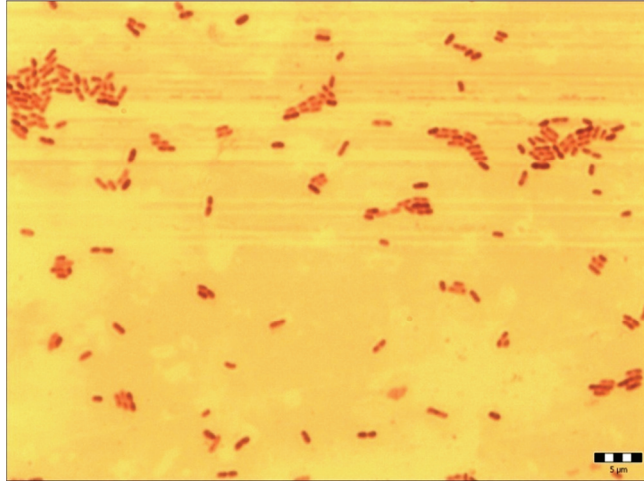
Bakterie *Asaia* sp. są gramujemnymi, tlenowymi pałeczkami o wymiarach $0,4 - 1,0 \times 0,8 - 2,5 \mu\text{m}$ (fot. 1). Większość gatunków nie tworzy kwasu z etanolu, a ich wzrost w obecności 0,35 % (v/v) kwasu octowego zostaje zahamowany lub jest bardzo słaby. W hodowlach płytkowych tworzą zwykle małe, jasnoróżowe i różowe kolonie o średnicy od 1 do 3 mm (fot. 2).

Identyfikacja bakterii z rodzaju *Asaia* jest praktycznie niemożliwa przy użyciu komercyjnych testów biochemicznych, np. API20NE, Rapid NF lub Vitek, gdyż otrzymuje się zwykle profile nieakceptowalne [23]. Moor i wsp. [14], w wyniku identyfikacji tych bakterii testem API 20NE, uzyskali profil numeryczny 5040000, który był najbliższy dla *Pasturella* sp. (78,7 %).

Obecnie wyróżnionych i opisanych zostało 8 gatunków *Asaia* sp.: *A. bogorensis*, *A. siamensis*, *A. krunghhepensis*, *A. lannaensis*, *A. spathodeae*, *A. astilbe*, *A. platycodi* i *A. prunellae* [10, 11, 22, 25, 26]. Ich sekwencje 16S rRNA zostały opublikowane i są dostępne w bazie NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov). Od pozostałych rodzajów bakterii octowych wyróżnia je nie tylko budowa genetyczna, ale również właściwości biochemiczne (tab. 2).

Optymalne pH i temperatura wzrostu tych bakterii wynoszą odpowiednio 5,5 oraz 30 °C. *Asaia* sp. izolowane ze środowisk w klimacie tropikalnym Indonezji, Tajlandii i Japonii wykazują optimum wzrostu nawet w temp. 37 °C [22]. Dane literatury opisują uzdolnienia pięciu pierwszych gatunków należących do rodzaju *Asaia* [13, 26] (tab. 3).

Pozostałe 3 gatunki z rodzaju *Asaia*: *A. astilbe*, *A. platycodi* i *A. prunellae*, wyizolowane z egzotycznych kwiatów (*Astilbe thunbergii* var. *congesta*, *Persicaria senticosa*, *Commelina communis*, *Platycodon grandiflorum*, *Prunella vulgaris*) w różnych regionach Japonii oraz opisane przez Suzuki i wsp. [22] w 2010 r., oczekują na zaakceptowanie przez Międzynarodowy Komitet do spraw Systematyki Prokariota ICSP (<http://www.bacterio.cict.fr/nonvalid.html>).



Fot. 1. Bakterie *Asaia* sp. w trwałym preparacie mikroskopowym, barwionym metodą Grama.

Photo 1. *Asaia* sp. bacteria in a solid specimen stained using a Gram method.

Źródło: badania własne / Source: the authors' own studies



Fot. 2. Wygląd kolonii bakterii octowych z rodzaju *Asaia* na pożywce agarowej z glukozą.

Photo 2. Image of the colony of *Asaia* sp. acetic acid bacteria on agar medium with glucose.

Źródło: badania własne / Source: the authors' own studies

Tabela 2

Wybrane właściwości bakterii z rodziny *Acetobacteraceae*.
Selected properties of bacteria of the *Acetobacteraceae* family.

Cecha Feature	Rodzaj / Genera						
	<i>Asaia</i>	<i>Acetobacter</i>	<i>Gluconobacter</i>	<i>Acidomonas</i>	<i>Gluconacetobacter</i>	<i>Kozakia</i>	<i>Swaminathania</i>
Urządzenie Flagellation	peritrichalne lub brak peritrichous or atrichous	peritrichalne lub brak peritrichous or atrichous	polame lub brak polar or atrichous	polame lub brak polar or atrichous	peritrichalne lub brak peritrichous or atrichous	brak atrichous	peritrichalne peritrichous
Utlenianie octanu do CO ₂ i H ₂ O Oxidation of acetate to CO ₂ and H ₂ O	w+	+	-	+	+ lub -	w+	w+
Utlenianie mlecza- nu do CO ₂ i H ₂ O Oxidation of lactate to CO ₂ and H ₂ O	w+	+	-	-	+ lub -	w+	w+
Produkcja dihydroksyacetonu z glicerolu Production of dihydroxy-acetone from glycerol	- lub w+*	- lub w+	+	-	+ lub -	+	+
Produkcja kwasu octowego na agarze etanol-CaCO ₃ Production of acetic acid on ethanol- CaCO ₃ agar	- lub w+/+	+	+	+	+	+	+
Wzrost w podłożu z 0,35% kwasu octowego (pH = 3,5) Growth in the presence of 0,35% acetic acid at pH=3,5	- lub w+	+	+	+	+	+	+
Skład zasad DNA (% mol G+C) G+C content (mol %)	59-61	53-63	54-63	63-66	55-66	56-57	57-60
Główna forma ubichinonu Major form of ubiquinone	Q-10	Q-9	Q-10	Q-10	Q-10	Q-10	Q-10

Objaśnienia: / Explanatory notes:

(+) – wynik dodatni / positive result; (-) – wynik ujemny / negative result; (w+) – słaba reakcja dodatnia / weak positive reaction; (*) – reakcja zależna od szczepu / strain-depending reaction.

Źródło: / Source: Opracowanie własne na podstawie: [2, 3, 4] / The authors' own study based on [2, 3, 4].

Tabela 3

Wybrane uzdolnienia bakterii *Asaia* sp.
Selected abilities of *Asaia* sp. bacteria.

Cecha Feature	Gatunek / Species				
	<i>A. bogorensis</i>	<i>A. siamensis</i>	<i>A. krungthepensis</i>	<i>A. lannaensis</i>	<i>A. spathodeae</i>
Utlenianie octanu i mlecza Oxidation of acetate and lactate	w+	w+	w+	w+	w+
Produkcja kwasu z etanolu Production of acid from ethanol	-	w+	-	w+	+
Produkcja kwasu z dulcytolu Production of acid from dulcitol	+	-	+	w+	-
Produkcja kwasu z D-mannitolu Production of acid from D-mannitol	+	+	w+	w+	w+
Produkcja kwasu z L-ramnozy Production of acid from L-rhamnose	+	w+	+	+	-
Skład zasad DNA (% mol G+C) G+C content (mol %)	60,2	59,3	60,3	60,8	59,8

Objaśnienia: / Explanatory notes:

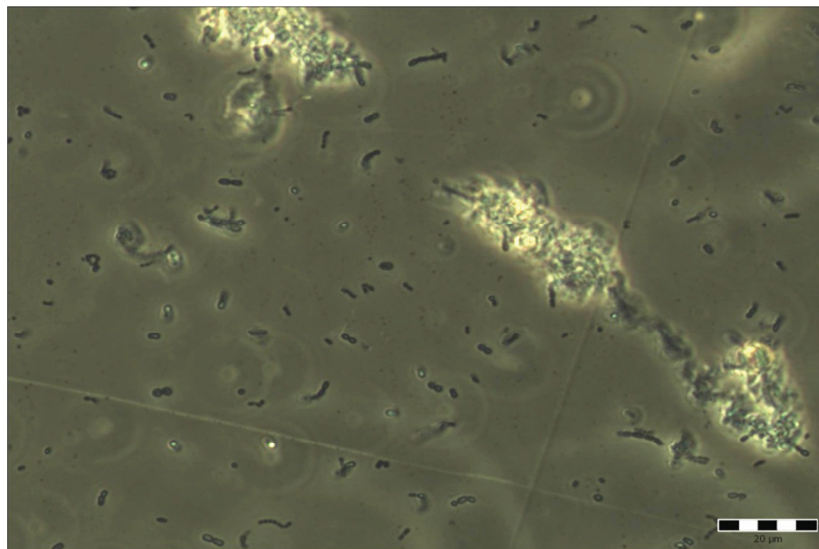
(+) – wynik dodatni / positive result; (-) – wynik ujemny / negative result; (w+) – słaba reakcja dodatnia / weak positive reaction.

Źródło: / Source:

Opracowanie własne na podstawie: [11, 13] / The authors' own study based on [11, 13].

Tworzenie egzopolimerów i właściwości adhezyjne

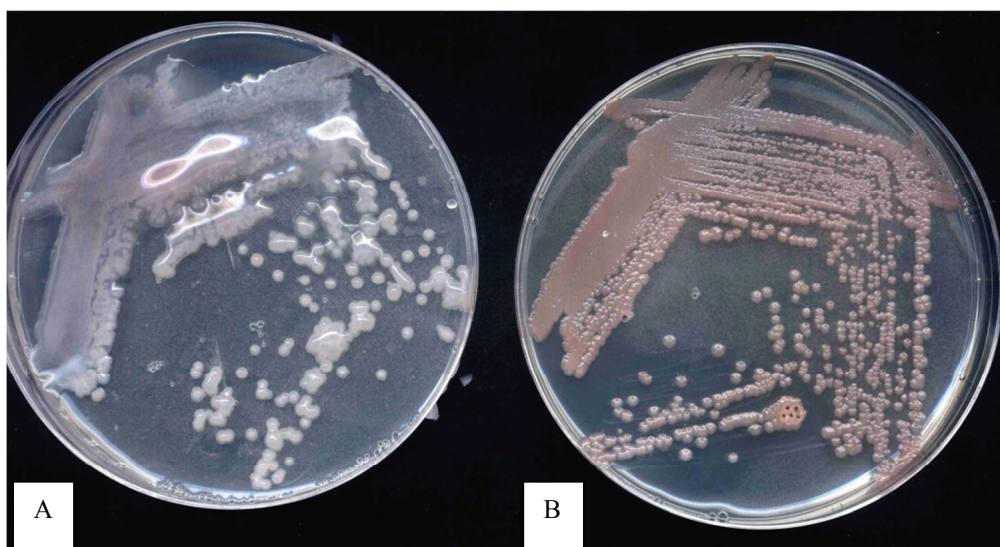
Bakterie kwasu octowego produkują związki egzopolisacharydowe, co objawia się obecnością błon lub tzw. kłaczków na powierzchni żywności lub produktów płynnych (fot. 3). Niskie pH napojów smakowych, wynoszące ok. 3,5, oraz obecność konserwantów: benzoianu, sorbinianu lub dimetylodiwęglanu, stosowanego przy rozlewie w tzw. „konserwacji na zimno”, nie zapewnia stabilności mikrobiologicznej produktów [7].



Fot. 3. Zdolność mikroorganizmów izolowanych z aromatyzowanych napojów do tworzenia zmętnień i kłaczków.

Photo 3. Ability of microorganisms isolated from flavoured drinks to form opacity and flocks.

Źródło: badania własne / Source: the authors' own studies



Fot. 4. Wygląd kolonii bakterii z rodzaju *Asaia* na pożywce agarowej z: A - sacharozą, B - glukozą (badania własne).

Photo 4. Image of *Asaia* sp. colonies on agar medium with A - saccharose, B - glucose (the authors' own studies).

Źródło: badania własne / Source: the authors' own studies

Asaia sp. nie są zdolne do tworzenia przetrwalników, zatem ich formy wegetatywne niszczone są w temp. do 100 °C. Należy jednak pamiętać, że współczynniki ciepłooporności wyznaczone w warunkach laboratoryjnych w pożywkach referencyjnych różnią się znacznie od uzyskiwanych w mediach przemysłowych, w warunkach określonego procesu technologicznego (pH, aktywność wody, prędkość przepływu, współczynnik przenikania ciepła itp.). Również tworzone przez bakterie pozakomórkowe substancje polimerowe przyczyniają się do znacznego zwiększenia oporności komórek na obróbkę cieplną.

Aromatyzowane wody mineralne z dodatkiem sacharozy stanowią środowisko stymulujące tworzenie przez bakterie różnych związków zewnątrzkomórkowych. Związki te, zwykle o charakterze polisacharydów, są źródłem monomerów oraz pierwiastków biogennych, wykorzystywanych do prowadzenia podstawowych funkcji życiowych komórki. Ponadto zmieniają one właściwości elektrostatyczne i stopień powinowactwa komórek do niepolarnych powierzchni. Ekspozycja wolnych grup funkcyjnych tych związków warunkuje wzajemne przyciąganie się komórek, co w efekcie prowadzi do tworzenia osadów, zmętnień lub kłaczków i intensyfikuje zjawisko adhezji w środowisku wodnym [9, 16].

W literaturze przedmiotu najczęściej opisuje się bakterie z rodzaju *Asaia* jako niezdolne do tworzenia śluzowych substancji pozakomórkowych [3, 4, 20]. Jednak szczepy wyizolowane przez Kato i wsp. [9] produkowały rozpuszczalny w wodzie egzopolisacharyd, którego strukturę poddano badaniom metodą spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR). Stwierdzono, że był to β -(2,6)-fruktan tworzony przez *Asaia* sp. tylko w obecności sacharozy jako źródła węgla. Tworzenie śluzowych substancji pozakomórkowych przez szczepy z rodzaju *Asaia* zostało potwierdzone w badaniach Horsakovej i wsp. [7] oraz w badaniach własnych (dane nieopublikowane) (fot. 4).

Bakterie z rodzaju *Asaia*, podobnie jak inne bakterie octowe, wykazują silne zdolności adhezyjne i tworzą biofilmy na powierzchniach stalowych i z tworzyw sztucznych. Utworzona błona biologiczna jest środowiskiem przyjaznym dla rozwoju innych rodzajów drobnoustrojów i jest trudna do usunięcia przy zastosowaniu standardowych metod mycia i dezynfekcji. Zwiększona oporność komórek biofilmu na środki dezynfekcyjne związana jest również z zahamowaniem dyfuzji takiego środka przez warstwę śluzu do docelowych komórek bakteryjnych. Jony metali dwuwartościowych, np. Ca^{+2} i Mg^{+2} , obecne w wodach mineralnych mają istotny wpływ na strukturę i trwałość utworzonych warstw biologicznych, poprzez silne działanie sieciujące, powodujące efekt wzmocnienia właściwości mechanicznych [7, 21]. W przypadku powstania takiego biofilmu, źródłem wtórnego zanieczyszczenia wód mineralnych mogą stać się całe systemy dystrybucji wody i linie rozlewnicze, powodując znaczne straty ekonomiczne. Warstwa bakterii i ich wydzielin może powodować ograniczony prze-

ływ mediów, utrudnioną wymianę ciepła, wzrost tarcia na elementach ruchomych, zapychanie się filtrów i awarie urządzeń. W produkcji napojów biofilmy są przyczyną ich wtórnego zanieczyszczenia, a obecność mikroflory zanieczyszczającej może prowadzić do mętności napoju oraz wiązać się z występowaniem niekorzystnego aromatu i smaku [18, 19].

Zagrożenie zdrowotne

Bakterie *Asaia* sp. należą do grupy ryzyka 1. (biosafety level 1), co oznacza, że stanowią grupę mikroorganizmów saprofitycznych, niewywołujących chorób u ludzi. Według danych literatury omawiane bakterie mogą jednak wywoływać oportunistyczne infekcje, gdy przedostaną się do krwioobiegu człowieka z obniżoną odpornością [24]. Udokumentowano kilka przypadków bakteriemii wywołanej przez *Asaia bogorensis* i *A. lannaensis* u osób dorosłych, przewlekle chorych, poddawanych okresowym dializom lub narkomanów oraz u dzieci chorych na kardiomiopatię lub choroby nowotworowe [1, 8]. Szczepy oportunistyczne izolowane z materiałów klinicznych mogą wykazywać zróżnicowaną oporność na typowe antybiotyki: doksycyklinę, gentamycynę lub tetracyklinę (tab. 4).

Tabela 4

Porównanie wartości minimalnej dawki hamującej (MIC) dla różnych szczepów *Asaia bogorensis*, izolowanych z materiału klinicznego.

Comparing the values of minimum inhibitory concentration (MIC) for various *Asaia bogorensis* strains isolated from clinical material.

Antybiotyk Antibiotic	MIC [mg/l]	
	Szczep 1 / Strain 1	Szczep 2 / Strain 2
Doksycyklina / Doxycycline	1,0-1,5	0,25
Gentamycyna / Gentamicin	2,0-3,0	0,25
Imipenem (cylastatyna) Imipenem (cilastatin)	32,0	6,0
Netylmycyna / Netilmicin	1,0-1,5	0,125
Tetracyklina / Tetracycline	1,0	0,25
Tigecyklina / Tigecycline	3,0	1,0
Tobramycyna / Tobramycin	4,0-8,0	1,5
Penicylina / Penicillin	> 32	brak danych / lack of data

Źródło: / Source:

Opracowanie własne na podstawie: [23, 24] / The author's own study based on [23, 24].

Szczep 1, wykazujący zdecydowanie większą oporność, wyizolowany został od pacjentki przewlekle chorej, poddawanej długotrwałej antybiotykoterapii. Nie odnotowano do tej pory ryzyka infekcji człowieka drogą pokarmową, czyli po spożyciu produktu zanieczyszczonego pałeczkami *Asaia* sp.

Podsumowanie

Wprowadzenie na rynek nowych napojów produkowanych na bazie naturalnych aromatów owocowych, często pochodzących z krajów egzotycznych, wiąże się dla producenta z ryzykiem zanieczyszczenia linii technologicznej i produktu końcowego nieznaną dotąd mikroflorą. Nowe drobnoustroje mogą zakłócić ustalone dotychczas parametry technologiczne, zapewniające odpowiednią jakość napojów.

Pomimo braku danych o udokumentowanych przypadkach infekcji u człowieka drogą pokarmową, występowanie bakterii *Asaia* sp. wiąże się ze znacznym pogorszeniem cech sensorycznych napojów, niezwykle istotnych dla konsumenta.

Poznanie parametrów wzrostu bakterii *Asaia* sp. oraz ich charakterystyki, np. ciepłoporności i wrażliwości na środki dezynfekcyjne w środowisku produkcyjnym, pozwoli na prognozowanie wystąpienia ryzyka zanieczyszczenia. Kompleksowe wykorzystanie wiedzy dotyczącej *Asaia* sp. umożliwi opracowanie nowych technologii produkcji lub modyfikacji istniejących, pozwalających na zachowanie stabilności mikrobiologicznej napojów podczas magazynowania i dystrybucji.

Literatura

- [1] Abdel-Haq N., Savaşan S., Davis M., Asmar B.I., Painter T., Salimnia H.: *Asaia lannaensis* bloodstream infection in a child with cancer and bone marrow transplantation. J. Med. Microbiol., 2009, **7** (58), 974-976.
- [2] Garrity G.M, Brenner D.J., Krieg N.R., Staley J.T. (Eds): Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, The Proteobacteria. Vol. 2, second edition, Springer – Verlag, New York 2005.
- [3] Cleenwerck I., de Vos P.: Polyphasic taxonomy of acetic acid bacteria: an overview of the currently applied methodology. Int. J. Food Microbiol., 2008, **125**, 2-14.
- [4] De Vero L., Giudei P.: Genus-specific profile of acetic acid bacteria by 16S rDNA PCR-DGGE. Int. J. Food Microbiol., 2008, **125**, 96-101.
- [5] Favia G., Ricci I., Damiani C., Raddadi N., Crotti E., Marzorati M., Rizzi A., Urso R., Brusetti L., Borin S., Mora D., Scuppa P., Pasqualini L., Clementi E., Genchi M., Corona S., Negri I., Grandi G., Alma A., Kramer L., Esposito F., Bandi C., Sacchi L., Daffonchio D.: Bacteria of the genus *Asaia* stably associate with *Anopheles stephensi*, an Asian malarial mosquito vector. Microbiology, 2007, **21** (104), 9047-9051.
- [6] Greenberg D.E., Porcella S.F., Stock F., Womg A., Conville P.S., Murray P.R., Holland S. M., Zelazny A.M.: *Granulibacter bethesdensis* gen. nov., sp. nov., a distinctive pathogenic acetic acid bacterium in the family *Acetobacteraceae*. Int. J. Sys. Evol. Microbiol., 2006, **56**, 2609-2616.
- [7] Horsakova I., Voldrich M., Cerovsky M., Dedlackova P., Sienerova P., Ulbrich P.: *Asaia* sp. as a bacterium decaying the packaged still fruit beverages. Czech. J. Food Sci., 2009, **27**, 362-365.

- [8] Juretschko S., Beavers-May T.K., Stovall S.H.: Nosocomial Infection with *Asaia lannaensis* in two pediatric patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *J. Med. Microbiol.*, 2010, **59**, 848 (in press)
- [9] Kato N., Mizuno M., Nakai Y., Nozaki K., Suga H., Kanda T., Yamanaka S., Amano Y.: Structural analysis of the water-soluble carbohydrate from *Asaia bogorensis* by NMR spectroscopy. *J. Appl. Glycosci.*, 2007, **54**, 231-233.
- [10] Katsura K., Kawasaki H., Potacharoen W., Saono S., Seki T., Yamada Y., Uchimura T., Komagata K.: *Asaia siamensis* sp. nov., an acetic acid bacterium in the alpha-proteobacteria. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2001, **51**, 559-63.
- [11] Kommanee J., Tanasupawat S., Yukphan P., Malimas T., Muramatsu Y., Nakagawa Y., Yamada Y.: *Asaia spathodeae* sp. nov., an acetic acid bacterium in the α -Proteobacteria. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 2010, **56**, 81-87.
- [12] Kręgiel D., Rygała A.: Jakość wód mineralnych i napojów – problemy mikrobiologiczne. *Przem. Spoż.*, 2011, **6** (w druku).
- [13] Malimas T., Yukphan P., Tagahashi M., Kaneyasu M., Potacharoen W., Tanasupawat S., Nakagawa Y., Tanticharoen M., Yamada Y.: *Asaia lannaensis* sp. nov., a new acetic acid bacterium in the *Alpha-Proteobacteria*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2008, **72**, 666-671.
- [14] Moore J.E., McCalmont M., Xu J., Millar B.Ch., Heaney N.: *Asaia* sp., an unusual spoilage organism of fruit-flavored bottled water. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2002, **68**, 4130-4131.
- [15] Moore J.E., Xu J., Heaney N., Millar B.C.: Spoilage of fruit-flavoured bottled water by *Gluconobacter sacchari*. *Food Microbiol.*, 2002, **19**, 399-401.
- [16] Myszka K., Czaczyk K.: Ograniczona dostępność składników odżywczych w środowisku wzrostu jako induktor zmian metabolicznych u bakterii heterotroficznych. *Post. Mikrobiol.*, 2006, **45**, 87-95.
- [17] Ndoye, B., Lebecque S., Dubois-Dauphin R., Tounkanra L., Guiro A.T., Kere C., Diawara B. and Thonart P.: Thermoresistant properties of acetic acids bacteria isolated from tropical products of Sub-Saharan Africa and destined to industrial vinegar. *Enz. Microb. Technol.*, 2006, **39**, 916-923.
- [18] Oberman H., Kręgiel D., Drewicz E.: Wpływ zakażeń mikrobiologicznych na cechy sensoryczne piwa. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2003, **10**, 17-19.
- [19] Oberman H., Kręgiel D., Drewicz E.: Wpływ zakażeń mikrobiologicznych na cechy sensoryczne piwa. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2003, **11**, 16-17.
- [20] Sengun I.Y., Karabiyikli S.: Importance of acetic acid bacteria in food industry. *Food Control*, 2011, **22**, 647-656.
- [21] Song B., Leff L.G.: Influence of magnesium ions on biofilm formation by *Pseudomonas fluorescens*. *Microbiol. Res.*, 2006, **4 (161)**, 355-361.
- [22] Suzuki R., Zhang Y., Iino T., Kosako Y., Komagata K., Uchimura T.: *Asaia astilbes* sp. nov., *Asaia platycodi* sp. nov., and *Asaia prunellae* sp. nov., novel acetic acid bacteria isolated from flowers in Japan. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 2010, **56**, 339-346.
- [23] Tuuminen T., Heinasmaki T., Kerttula T.: First report of bacteremia by *Asaia bogorensis*, in a patient with a history of intravenous-drug abuse. *J. Clin. Microbiol.*, 2006, **44**, 3048-3050.
- [24] Tuuminen T., Roggenkamp A., Vuopio-Varkila J.: Comparison of two bacteremic *Asaia bogorensis* isolates from Europe. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 2007, **26**, 523-524.
- [25] Yamada Y., Yukphan P.: Genera and species in acetic acid bacteria. *Int. J. Food Microbiol.*, 2008, **125**, 15-24.
- [26] Yamada Y., Katsura K., Kawasaki H., Widyastuti, Y., Saono S., Seki, T., Uchimura, T., Komagata, K.: *Asaia bogorensis* gen. nov., sp. nov., an unusual acetic acid bacterium in the *Alpha-Proteobacteria*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2000, **50**, 823-829.

- [27] Yukphan P., Malimas T., Potacharoen W., Tanasupawat S., Tanticharoen M., Yamada Y.: *Noeasaia chianmaiensis* gen.nov., sp. nov., a novel osmotolerant acetic acid bacterium in the *Alpha-Proteobacteria*. J. Gen. Appl. Microbiol., 2005, **51**, 301-311.
- [28] Yukphan P., Potacharoen W., Tanasupawat S., Tanticharoen M., Yamada Y.: *Asaia krungthepensis* sp. nov., an acetic acid bacterium in the *Alpha-Proteobacteria*. Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 2004, **54**, 313-316.

BACTERIA *ASAIA* SP. – THE NEW CONTAMINATION OF FLAVOURED MINERAL WATERS

S u m m a r y

Summary

Asaia sp. is a new species of acetic acid bacteria that is very common in nature. Tropical flowers, fruits, and insects in SE Asia constitute their natural environment. According to the literature data, they also occur in Europe, in flavoured mineral waters with natural juices or natural aromas added. Their development causes adverse sensory changes in the products, mainly opacity, sediments, flocks, and changes in smell or colour. Owing to their adhesive properties and the ability to form slime, they also occur as a component of bio-films and are a factor contaminating technological production lines and difficult to remove.

Key words: *Asaia*, AAB, flavoured water, organoleptic faults ☒

ANNA STÓJ

METODY WYKRYWANIA ZAFALSZOWAŃ WIN

Streszczenie

W pracy przedstawiono rodzaje zafałszowań win, takie jak: nieprawidłowa deklaracja odmiany winogron, regionu pochodzenia, winobrania, dodatek wody, cukru, glicerolu i barwienie win. Do wykrywania zafałszowań win stosuje się spektrometrię masową, jądrowy rezonans magnetyczny, atomową spektrometrię emisyjną, chromatografię gazową, chromatografię cieczową i elektroniczny nos. Analiza zafałszowań win jest narzędziem do wyeliminowania nieuczciwych producentów i utrzymania zaufania konsumentów na konkurencyjnym rynku UE.

Słowa kluczowe: zafałszowanie, wino, GC-MS, LC-MS, NMR, ICP-MS, ET

Wprowadzenie

Kontrola jakości wina jest tradycyjnie silnie związana z próbą oceny jego autentyczności [2, 22, 29]. Wino jest złożoną mieszaniną kilkuset składników występujących w różnych stężeniach. Głównymi składnikami są: woda, etanol, glicerol, cukry, kwasy organiczne, estry, aldehydy i jony nieorganiczne. Zawartość tych związków zależy m.in. od czynników, takich jak: odmiana, klimat, gleba, stopień dojrzałości winogron, sposób winifikacji [11, 13, 25, 30]. Zafałszowania win mogą polegać na: nieprawdziwej deklaracji odmiany winogron, regionu pochodzenia i winobrania, dodatku wody, cukru, glicerolu, barwieniu win [1, 6, 22, 27].

Do metod analitycznych służących do wykrywania zafałszowań win zalicza się: spektrometrię masową, jądrowy rezonans magnetyczny, atomową spektrometrię emisyjną, chromatografię gazową, chromatografię cieczową i elektroniczny nos [1, 23, 17]. Metody te są często łączone, aby uzyskać jak najwięcej informacji o winie [1, 2]. Wyniki uzyskane za pomocą tych metod podlegają statystycznej interpretacji w celu określenia zróżnicowania oraz sformułowania wniosków. Oprócz wielowymiarowej analizy wariancji i regresji stosuje się techniki rozpoznawania wzorców: metodę naj-

mniejszych kwadratów, czynnikową analizę dyskryminacyjną, badanie zmiennych kanonicznych, hierarchiczną analizę skupień oraz sztuczne sieci neuronowe [2, 18, 25, 29].

Badania autentyczności win prowadzone są w krajach z tradycjami winiarskimi. Badania win produkowanych w Polsce w ostatnich latach dotyczą głównie zawartości polifenoli i aktywności antyoksydacyjnej [13, 28]. Ponadto oznaczono zawartość składników lotnych w winach z polskich winogron i porównano je z zawartościami w winach hiszpańskich, portugalskich i francuskich [28].

Celem pracy było omówienie rodzajów zafałszowań win oraz metod ich wykrywania.

Nieprawidłowa deklaracja odmiany winogron, regionu pochodzenia i roku zbioru (winobrania)

Jednym z najbardziej istotnych problemów analitycznych w zakresie autentyczności win jest kontrola pochodzenia geograficznego. Jest to ważny problem w kontekście globalizacji rynku wina. Aby usprawnić kontrolę autentyczności win, w 2002 r. zainicjowano projekt „Stworzenie banku danych parametrów analitycznych win pochodzących z krajów trzecich”, sponsorowany przez Komisję Europejską. Wina pochodziły od nowych członków UE (Republika Czeska, Węgry i Rumunia) oraz z krajów zamorskich (południowa Afryka i Australia). Przeprowadzono kompleksowe badania 1600 win, wyprodukowanych z trzech lat zbioru winogron. W winach oznaczono 63 parametry: stosunki izotopów $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ i $^2\text{H}/^1\text{H}$ w etanolu, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ w wodzie, makroelementy, pierwiastki śladowe i pierwiastki ziem rzadkich, składniki lotne i klasyczne parametry: ekstrakt, kwasowość ogólną, związki mineralne w postaci popiołu, aminy biogeniczne. Stwierdzono, że w każdym kraju ważnym źródłem zmienności danych z trzech lat zbioru były różnice między autentycznymi winami (wyprodukowanymi na małą skalę) i tymi samymi znajdującymi się w sprzedaży (wyprodukowanymi na dużą skalę). Największą zmienność zaobserwowano w autentycznych winach, co mogło być związane z małą skalą produkcji, wpływającą na wiele parametrów w tych winach [22, 24].

Region pochodzenia geograficznego win można ustalić na podstawie pomiaru stosunku izotopów węgla i wodoru w etanolu oraz tlenu w wodzie. W procesie wzrostu i dojrzewania, na winogrona oddziałuje wiele czynników regionalnych, klimatycznych, środowiskowych i antropogenicznych, które wpływają na skład izotopowy obecnych w nich pierwiastków [22, 24, 32]. Bardzo dokładnym wskaźnikiem składu izotopowego danego pierwiastka jest stosunek izotopowy, określający ilość atomów jednego izotopu do drugiego w danej substancji. Skład izotopów węgla w etanolu oraz tlenu w wodzie można określić za pomocą spektrometrii masowej stosunków izotopowych (IRMS). Pomiary stosunków izotopów stabilnych wykonuje się w próbkach gazowych. Wyniki podawane jako delta ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{18}\text{O}$), określają odchylenie stosunku izotopów w próbce od

standardów. Natomiast skład izotopów wodoru (D/H) w etanolu można oznaczyć za pomocą jądrowego rezonansu magnetycznego (NMR) [20, 33]. Badania wykazały, że zarówno autentyczne, jak i komercyjne wina z Południowej Afryki miały istotnie wyższe stosunki izotopów wodoru w etanolu oraz tlenu w wodzie od win pochodzących z krajów europejskich, natomiast rozróżnienie win czeskich i węgierskich na podstawie (D/H) etanolu i $\delta^{18}\text{O}$ wody nie jest jednoznaczne [22, 24]. Na podstawie stosunków izotopów tlenu w wodzie win pochodzących ze stanów: Waszyngton, Oregon i Kalifornia, ze zbioru w 2002 r. stworzono model regresji, który wprowadzono do systemu informacji geograficznej (GIS). Model GIS jest pierwszym tego rodzaju, który pozwala jednoznacznie przewidzieć $\delta^{18}\text{O}$ wody w winie, zależnie od regionu i roku zbioru winogron [32].

Zafalszowania win polegające na nieprawdziwej deklaracji odmiany winogron, regionu pochodzenia i roku zbioru można ocenić poprzez analizę widma NMR metabolitów za pomocą technik statystycznych, umożliwiających klasyfikację win (PCA, PLS-DA). Pomimo stosunkowo niskiej czułości w porównaniu z innymi technikami, NMR ma wiele zalet: jest techniką niedestrukcyjną, przygotowanie próbek jest proste i zajmuje mało czasu, zbieranie danych jest szybkie, za pomocą NMR można wykryć i kompleksowo scharakteryzować wiele składników organicznych, w złożonej mieszaninie jaką jest wino [1, 25, 26, 30]. Warunki środowiska w winnicy wpływają na metabolity winogron i win. Dzięki spektroskopii ^1H NMR wyszukano różnice w metabolitach w pulpie, skórkach, pestkach i winach z trzech różnych regionów Korei Południowej. Winogrona rosnące w regionach z dużą ekspozycją na słońce i małą ilością opadów wykazały wyższe zawartości cukrów, proliny, Na, Ca i jednocześnie niższe zawartości kwasu jabłkowego, kwasu cytrynowego, treoniny, alaniny i trygoneliny w porównaniu z rosnącymi w regionach ze stosunkowo małą ekspozycją na słońce i z dużymi opadami. Wpływ warunków środowiska zaobserwowano również w winach. Wina pochodzące z najbardziej nasłonecznionego regionu Yeongcheon zawierały więcej kwasu mlekowego, proliny, glicerolu oraz mniej 2,3-butanodiolu, kwasu jabłkowego, winowego, cytrynowego i bursztynowego w porównaniu z winami pochodzącymi z regionu Chochiwon o największej ilości opadów [26]. Spektroskopia ^1H NMR była używana do wyszukania różnic w metabolitach win produkowanych z różnych odmian winogron i w różnych regionach. Uzyskano znaczne różnice między winogronami Campbell Early, Cabernet Sauvignon i Shiraz. Metabolitami, które wykorzystano do rozróżnienia win były: 2,3-butanodiol, kwas mlekowy, kwas octowy, prolina, kwas bursztynowy, kwas jabłkowy, glicerol, kwas winowy, glukoza i związki polifenolowe. Zawartość proliny w kalifornijskich winach Cabernet Sauvignon była wyższa niż w australijskich i francuskich, australijskim Shiraz i koreańskim Campbell Early [25]. Ponadto stwierdzono, że za pomocą techniki NMR można rozróżnić wina włoskie produkowane z tej samej odmiany winogron, ale w różnych regionach Włoch i w różnych latach. Dzięki ^1H NMR i ^{13}C NMR zidentyfikowano kilka ważnych składników win Aglianico pochodzących z regionu Ba-

silicata i Campania na południu Włoch. Charakterystyka NMR win polegała tylko na kilku dobrze wyodrębnionych składnikach chemicznych, takich jak: kwas bursztynowy, 2,3-butanodiol, prolina, w przypadku których sygnał NMR był łatwy do zidentyfikowania [30]. Wykonano również widma ^1H NMR ekstraktów polifenoli z 67 win z głównych regionów winiarskich w Grecji. Ekstrakty przygotowano przy użyciu żywicy adsorpcyjnej XAD-4. Polifenole tworzyły metaboliczny fingerprint winogron i w konsekwencji win, który pozwolił na odróżnienie win z różnych winnic tej samej strefy produkcyjnej i z różnych zbiorów [1].

Gleba, na której uprawia się winorośl, wpływa na zawartość pierwiastków w winie, dlatego innym cennym narzędziem do oceny pochodzenia geograficznego win jest wieloelementowa analiza pierwiastków, za pomocą spektrometrii masowej z indukcyjnie wzbudzoną plazmą (ICP-MS) [4, 9, 10, 22]. Tą metodą przeprowadzono wieloelementową analizę 112 hiszpańskich i angielskich win, pochodzących z różnych regionów. Stwierdzono, że najlepszym sposobem ciągłej nebulizacji próby była wstrzykowa analiza przepływowa (FIA). Jednoznacznie zidentyfikowano region pochodzenia win hiszpańskich oraz rozróżniono białe wina hiszpańskie i angielskie [4]. Podjęto również próbę rozróżnienia 127 białych win niemieckich pochodzących z czterech bardzo blisko położonych regionów: Baden, Rheingau, Rheinhessen i Pfalz, mających certyfikat pochodzenia. Oznaczono stężenie 13 pierwiastków: Li, B, Mg, Ca, V, Mn, Co, Fe, Zn, Rb, Sr, Cs i Pb w winach rozcieńczonych 1:20. Jako standardu wewnętrznego używano In. Dane zinterpretowano za pomocą dwóch technik rozpoznawania wzorców (QDA, drzewa klasyfikacyjne). Pierwsza technika pozwoliła na rozróżnienie regionów z dokładnością 83 %, przy czym użyto tylko 8 pierwiastków: Li, B, Mg, Fe, Zn, Sr, Cs i Pb, a możliwość przewidywania pochodzenia nowych próbek wynosiła 76 %. Dokładność drugiej techniki wynosiła 84 %, a klasyfikacji win dokonywano tylko na podstawie czterech pierwiastków: Li (bardzo mała zawartość w próbkach z Baden), Zn (anormalnie mała zawartość w próbkach z Rheingau), Mg i Sr (pierwiastki ważne do rozróżnienia próbek z Rheinhessen i Pfalz). Możliwość identyfikacji nieznanymi winami za pomocą tej techniki wynosiła 74 %. W związku ze zbyt małą dokładnością przewidywania pochodzenia próbek stwierdzono, że żadna z tych technik nie jest wystarczająca do kontroli nieprawidłowego znakowania win [9]. Natomiast inne badania zawartości pierwiastków wykazały, że można uzyskać 100 % klasyfikację win. Oznaczono 40 pierwiastków w winach z trzech ważnych regionów południowej Afryki: Stellenbosch, Robertson i Swartland, z czego 20 pierwiastków: Li, B, Mg, Al, Si, Cl, Sc, Mn, Ni, Ga, Se, Rb, Sr, Nb, Cs, Ba, La, W, Tl i U wykazywało różne zawartości w winach z tych regionów. W celu klasyfikacji win zastosowano analizę dyskryminacyjną par, która wcześniej nie była używana do oceny pochodzenia win. Klasyfikację przeprowadzono w trzech krokach, w każdym kroku sprawdzano czy wino pochodzi z danego regionu czy nie. Kombinacja pierwiastków charakteryzująca wina z poszczególnych

regionów była inna dla każdego regionu. Funkcje dyskryminacyjne uwzględniały następujące pierwiastkach: Al, Mn, Rb, Ba i W dla regionu Stellenbosch, Se, Rb, Cs i Tl dla regionu Robertson oraz Al, Mn, Rb, Sr, Ba i Tl dla regionu Swartland [10].

Pochodzenie geograficzne win wpływa na profile składników lotnych. Aromat wina tworzy ponad 1000 składników zaliczanych do różnych grup chemicznych: kwasy, alkohole, aldehydy, estry, eter, węglowodory, ketony, laktony, składniki azotowe, siarkowe, terpeny. Składniki lotne można oznaczyć za pomocą chromatografii gazowej/spektrometrii masowej (GC-MS). Poziomy stężenie składników lotnych są różne, wahają się od kilku mg/l do kilku ng/l, dlatego przed analizą próbki poddaje się ekstrakcji/zagęszczaniu za pomocą technik fazy nadpowierzchniowej: odpędzania i wyłapywania (P&T) oraz mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej (SPME) [3, 7, 15, 19]. Pierwszą technikę stosowano do analizy związków lotnych w białych winach (Airen, Chardonnay, Cigüente, Gewustraminer, Macabeo, Malvasia, Montúa, Pardina, Riesling, Viognieri Viura) i czerwonych winach (Cencibel, Garnacha, Graciano, Mencía, Merlot, Syrah, Tempranillo) pochodzących z 7 różnych regionów Hiszpanii. Większość win białych i czerwonych pogrupowano na podstawie ich pochodzenia. Przykładowo białe wina z regionu Castilla la Mancha zawierały więcej octanu izoamylu (zapach bananów), 1-propanolu i 1-butanolu (zapach gorzki), a białe wina z regionu Badajoz – izowalerianu etylu [3]. Natomiast drugą technikę ekstrakcji wykorzystano do charakterystyki zapachu czerwonego wina Mencía z oznaczeniem pochodzenia "Valdeorras DO". To wino zawiera znaczne stężenia wyższych alkoholi (96,4 % oznaczonych substancji lotnych). Estry i octany etylu dostarczają takich nut zapachowych, jak: bananowa, truskawkowa, zielonego jabłka, ananasa i gruszki, wyższe alkohole – nuty roślinne, a β -jonony – przyjemnego zapachu fiołkowego, charakterystycznego dla tego wina [19]. Techniki SPME użyto także do rozróżnienia 46 win czerwonych, różowych i mieszanych z regionu La Rioja w Hiszpanii. Wina zostały sklasyfikowane za pomocą wieloczynnikowych metod statystycznych. Dobre rezultaty osiągnięto dzięki analizie głównych składowych, hierarchicznej analizie skupień i liniowej analizie dyskryminacyjnej. Zmiennymi najbardziej dyskryminującymi były: octan 3-metylo-butylu, oktanian etylu, bursztynian dietylu, kwas heksanowy, 2-fenyloetanol i kwas dekanowy. Możliwość rozpoznawania i przewidywania wynosiła 100 % [7]. Ponadto technikę SPME wykorzystano do oceny zawartości składników lotnych w 4 innych winach hiszpańskich: Rueda, Ribeiro, Penedes i Condado de Huelva. Składniki zidentyfikowano za pomocą GC-MS, a ich zawartość oznaczono za pomocą GC-FID (detektor płomieniowo-jonizacyjny). Wino Rueda zawierało największe stężenia octanu etylu, octanu izoamylu, octanu heksylu i octanu 2-fenyloetylu. Natomiast heksanianu etylu, dekanianu etylu było więcej w winach Rueda, Ribeiro i Condado de Huelva. Dzięki analizie głównych składowych, liniowej analizie dyskryminacyjnej i sieciom neuronowym udało się rozróżnić te wina [15].

Również skład związków fenolowych w winie zależy od regionu pochodzenia, odmiany winogron, czynników środowiskowych, agrotechnicznych, stopnia dojrzałości, procesu winifikacji i wieku wina [14, 16, 21]. Profile związków fenolowych w winogronach i winach hiszpańskich Tempranillo wykonano przy użyciu wysokociśnieniowej chromatografii ciekowej (HPLC). Do detekcji pochodnych kwasu benzoowego i cynamonowego, antocyjanów, flawonoli i stilbenów, wykazujących charakterystyczną absorbancję w zakresie UV-VIS zastosowano detektor diodowy (UV-VIS-DAD), a do detekcji flawon-3-oli, mających właściwości fluorescencyjne – detektor fluorescencyjny. Ta zoptymizowana metoda może być wykorzystana do kontroli jakości win [14]. Do analizy polifenoli w różnych typach win sycylijskich Marsala użyto metody HPLC-DAD. Oprócz związków fenolowych, oznaczono także cukry i metale ciężkie. Następnie dokonano statystycznej klasyfikacji danych za pomocą kanonicznej analizy dyskryminacyjnej (CDA). Stwierdzono, że Fine Ambra Secco, Superiore Ambra Secco, Vergine, Fine Oro Dolce i Superiore Riserva Marsala mogą być poprawnie sklasyfikowane na podstawie składu polifenoli, cukrów i metali ciężkich. Ponadto jeden z modeli statystycznych wykazał, że zmiennymi z najwyższą siłą dyskryminacyjną były: tyrozol, kwas kawowy, procyjanidyna B₁, katechina, kwercetyna, kaempferol, laktoza, ramnoza, cynk, miedź i ołów [16]. Porównano także możliwości oceny wieku wina metodą HPLC-DAD i metodą elektronicznego nosa (ET). Elektroniczny nos jest definiowany jako przyrząd analityczny złożony z chemicznych sensorów selektywnych w stosunku do określonych składników i narzędzia do obróbki danych. W metodzie ET używa się prostych przyrządów, przygotowanie próby jest minimalne, metoda jest tania i szybka. Wina Madeira, tak jak inne wina z kontrolowanym pochodzeniem, są przedmiotem zafałszowań i odtwarzania. Podobnie, jak inne wina wzmocnione, mają bardzo długi „czas życia”, wysoką jakość i cenę wzrastającą wraz z ich wiekiem. Dlatego poszukuje się szybkich metod oceny wieku win Madeira. Przebadano białe (Bual, Malvasia i Vardelho) i czerwone (Tinta Negra Mole) wina Madeira mające 3, 6, 10 i 17 lat. Za pomocą HPLC-DAD oznaczono 24 składniki: polifenole, kwasy organiczne i furany. ET składał się z 26 chemicznych potencjometrycznych sensorów. W młodych winach oznaczono wyższe stężenia kwasu sinapowego i kawowego, a w winach dojrzałych – wyższe stężenia kwasu octowego, protokatechowego i wanilinowego, waniliny i trans-resweratrolu. Wina 3-letnie zawierały więcej kwasu galusowego i elagowego, wina 6-letnie – więcej kwasu jabłkowego, szczawowego, cytrynowego, p-kumarowego i epigallokatechiny. Między winami 10- i 17-letnimi występowały różnice pod względem zawartości kwasu mrówkowego i aldehydu syringowego. Obróbka statystyczna wyników za pomocą ANOVA wykazała, że metodą HPLC-DAD można oszacować odmianę winogron i wiek wina, a metodą ET – wiek wina, przy czym dokładniejszą metodą oceny wieku wina był ET [21].

Dodatek wody, cukru, glicerolu, barwienie win

Szaptalizację (dodatek cukru) stosuje się w celu zwiększenia zawartości alkoholu, co jest niezbędne dla stabilności i smakowitości win. Przepisy europejskie zezwalają na dodatek cukru tylko w niektórych strefach [6]. W trakcie fermentacji wina około 92 % cząsteczek cukru ulega fermentacji alkoholowej, w wyniku której powstaje etanol, a pozostałe 8 % – glicerolo-pirogronowej, w wyniku której powstaje glicerol. Glicerol może wspierać doznania smakowe i łagodność wina, często jest wskaźnikiem wysokiej jakości win. Ponadto wpływa na zawartość ekstraktu bezcukrowego, który jest podstawą klasyfikacji jakościowej win w wielu krajach Europy. Glicerol jest dodawany do win w celu zamaskowania ich niskiej jakości [6, 31].

Zafalszowania win polegające na rozcieńczeniu wodą, dosłodzeniu czy dodatku glicerolu można wykryć za pomocą metod izotopowych. Dodatek wody ocenia się poprzez pomiar stosunków izotopów $^2\text{H}/^1\text{H}$ i $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ w wodzie, a dodatek cukru i glicerolu poprzez pomiar stosunku izotopów $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ w cukrze, etanolu i glicerolu za pomocą metod GC-IRMS [8, 12, 31, 33]. Komisja Europejska powołała projekt Bevabs w Join Research Center we Włoszech. Celem tego projektu jest gromadzenie informacji w postaci banku danych o winach produkowanych na terenie Europy. Dane są dostarczane przez sieć laboratoriów z krajów Unii Europejskiej. W ramach projektu poddano analizie 2 wina dostarczone przez jeden z krajów UE, który miał podejrzenia odnośnie autentyczności tych win deklarowanych jako pochodzące z innego kraju UE. Wina te nie miały wskazanego roku produkcji, więc parametry izotopowe ($\delta^{13}\text{C}$ etanolu i $\delta^{18}\text{O}$ wody) porównano z wartościami z trzech ostatnich zbiorów, dla zadeklarowanego kraju pochodzenia. Pojedyncza interpretacja $\delta^{13}\text{C}$ i $\delta^{18}\text{O}$ wykazała, że analizowane parametry wątpliwych próbek mieściły się w zakresie banku danych. Jednak kombinacja wartości obydwu stosunków izotopów wskazała nieprawidłową deklarację. Wysokie wartości $\delta^{13}\text{C}$ zaobserwowane w wątpliwych winach wyjaśniono jako dodatek cukru otrzymanego z roślin należących do szlaku metabolicznego C_4 (np. cukru z trzciny cukrowej), stosowanego w celu zwiększenia zawartości alkoholu, co jest zabronione w winach z deklaracją kraju pochodzenia, a niskie wartości $\delta^{18}\text{O}$ były wskaźnikiem rozcieńczania win. W przypadku tych 2 win zafalszowanie miało na celu zwiększenie objętości poprzez dodatek wody i zwiększenie zawartości alkoholu poprzez dodatek cukru [8]. Analizy stosunków izotopów węgla w glicerolu pochodzenia roślinnego i zwierzęcego, a także w glicerolu syntetycznym wykazały istotne różnice między $\delta^{13}\text{C}$ glicerolu pochodzenia roślinnego i $\delta^{13}\text{C}$ glicerolu pochodzenia zwierzęcego. Ponadto w winach niemieckich wartości $\delta^{13}\text{C}$ glicerolu były niższe w porównaniu z $\delta^{13}\text{C}$ etanolu i cukru. Jednak na tej podstawie nie można wykryć dodatku glicerolu do win [12]. Natomiast prawdopodobnie będzie to możliwe dzięki wyrafinowanej metodzie, poprzez pomiar $\delta^{13}\text{C}$ pojedynczych atomów węgla, otrzymanych na drodze chemiczno-enzymatycznej hydrolizy wiązań w cząsteczce glicerolu. Biorąc pod uwagę znaczne różnice między ogólną wartością $\delta^{13}\text{C}$ a wartością $\delta^{13}\text{C}$ w położeniu 1 oraz mię-

dzy $\delta^{13}\text{C}$ w położeniu 1 i $\delta^{13}\text{C}$ w położeniu 2 być może uda się wykryć dodatek syntetycznego glicerolu do win. Konieczne są dalsze badania w tym kierunku [31].

Ostatnio opracowano nowatorską metodę oznaczenia stosunku izotopów $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ za pomocą chromatografii cieczowej/spektrometrii masowej stosunków izotopowych (LC-IRMS). W 35 winach hiszpańskich oznaczono $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ za pomocą dwóch metod: GC-IRMS i LC-IRMS. Zoptymalizowano kilka parametrów wpływających na oddzielenie glicerolu i etanolu od wina w metodzie GC-IRMS. Wykazano bardzo mocną korelację ($r = 0,99$) między $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ w glicerolu i etanolu otrzymanymi za pomocą dwu metod. Nowo opracowana metoda LC-IRMS jest pierwszą metodą izotopową, która pozwala na bezpośrednie oznaczenie $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ dwóch składników podczas jednej analizy, w próbce ciekłej bez konieczności izolacji etanolu i glicerolu, eliminującą trudności techniczne związane ze złożonym przygotowaniem próby. Próba jest rozcieńczana, filtrowana i wstrzykiwana [6].

Wina mogą być barwione przez dodatek ekstraktów owoców bogatych w antocyjany, np. ekstraktu z bzu czarnego. Ten rodzaj zafałszowania można stwierdzić na podstawie analizy antocyjanów metodą HPLC. W winach portugalskich z winogron Roriz zidentyfikowano takie antocyjany, jak: delfinidyno-3-glukozyd, cyjanidyno-3-glukozyd, petunidyno-3-glukozyd, peonidyno-3-glukozyd, a w ekstrakcie z bzu czarnego - cyjanidyno-3-sambubiozydo-5-glukozyd oraz koeluujące antocyjany: cyjanidyno-3-glukozyd i cyjanidyno-3-sambubiozyd. Obecność cyjanidyno-3-sambubiozydo-5-glukozydu, charakterystycznego dla bzu czarnego, na chromatogramie wina świadczyła o barwieniu win. Mimo, że gradient eluentów stosowany do rozdziału antocyjanów win nie rozdzielił cyjanidyno-3-glukozydu i cyjanidyno-3-sambubiozydu w ekstrakcie z bzu czarnego, to te antocyjany były wykorzystane do wykrywania barwienia win. Niewielki pik cyjanidyno-3-glukozydu w winie znacznie się powiększył po dodaniu ekstraktu z bzu czarnego zawierającego koeluujące antocyjany [5].

Podsumowanie

Wina, szczególnie wina markowe, z uwagi na znaczącą wartość ekonomiczną są narażone na fałszowanie. Do wykrywania zafałszowań win stosuje się wiele metod instrumentalnych. Wyniki uzyskane za pomocą tych metod poddawane są analizie statystycznej, w celu stworzenia wzorców klasyfikacyjnych. Ocena autentyczności win polega często na analizie wielu parametrów, co zwiększa szanse prawidłowej oceny wina.

Literatura

- [1] Anastasiadi M., Zira A., Magiatis P., Haroutounian S. A., Skaltsounis A.L., Mikros E.: ^1H NMR-based metabonomics for the classification of Greek wines according to variety, region, and vintage. Comparison with HPLC data. *J. Agric. Food Chem.*, 2009, **57**, 11067-11074.

- [2] Arvanitoyanins I.S., Katsota M.N., Psarra E.P., Soufleros E.H., Kallithraka S.: Application of quality control methods for assessing wine authenticity: Use of multivariate analysis (chemometrics). *Trends Food Sci. Technol.*, 1999, **10**, 321-326.
- [3] Aznar M., Arroyo T.: Analysis of wine volatile profile by purge-and-trap-gas chromatography-mass spectrometry. Application to the analysis of red and white wines from different Spanish regions. *J. Chromatogr. A*, 2007, **1165**, 151-157.
- [4] Baxter M. J., Crews H. M., Dennis M. J., Goodall I., Anderson D.: The determination of the authenticity of wine from its trace element composition. *Food Chem.*, 1997, **3 (60)**, 443-450.
- [5] Bridle P., Garcia-Viguera C.: A simple technique for the detection of red wine adulteration with elderberry pigments. *Food Chem.*, 1996, **2 (55)**, 11-113.
- [6] Cabanero A. I., Recio J. L., Ruperez M.: Simultaneous stable carbon isotopic analysis of wine glycerol and ethanol by liquid chromatography coupled to isotope ratio mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.*, 2010, **58**, 722-728.
- [7] Cabredo-Pinillos S., Cedron-Fernandez T., Saenz-Barrio C.: Differentiation of claret, rose, red and blend wines based on the content of volatile compounds by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography. *Eur. Food Res. Technol.*, 2008, **6 (22)**, 1317-1323.
- [8] Calderone G., Guillou C.: Analysis of isotopic ratios for the detection of illegal watering of beverages. *Food Chem.*, 2008, **106**, 1399-1405.
- [9] Castineira Gomez M. M., Feldmann I., Jakubowski N., Andersson J. T.: Classification of German white wines with certified brand of origin by multielement quantitation and pattern recognition techniques. *J. Agric. Food Chem.*, 2004, **52**, 2962-2974.
- [10] Coetzee P.P., Steffens F.E., Eiselen R.J., Augustyn O.P., Balcaen L., Vanhaecke F.: Multi-element analysis of South African wines by ICP-MS and their classification according to geographical origin. *J. Agric. Food Chem.*, 2005, **53**, 5060-5066.
- [11] Czech A., Malik M., Pitucha I., Woźnica A.: Porównanie zawartości związków bioaktywnych w winach czerwonych pochodzących z różnych krajów europejskich. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, **4 (65)**, 142-148.
- [12] Fronza G., Fuganti C., Grasselli P.: Determination of the ¹³C content of glycerol samples of different origin. *J. Agric. Food Chem.*, 1998, **46**, 477-480.
- [13] Gawlik M.B., Nowak Ł., Baran M.: Analiza właściwości win produkcji polskiej. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2008, **1(51)**, 15-20.
- [14] Gómez-Alonso S., García-Romero E., Hermosín-Gutiérrez I.: HPLC analysis of diverse grape and wine phenolics using direct injection and multidetection by DAD and fluorescence. *J. Food Comp. Anal.* 2007, **20**, 618-626.
- [15] Jurado J.M., Ballesteros O., Alcazar A., Pablos F., Martin M.J., Vilchez J.L., Navalon A.: Differentiation of certified brands of origins of Spanish white wines by HS-SPME-GC and chemometrics. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2008, **3 (390)**, 961-970.
- [16] La Torre G.L., La Pera L., Rando R., Lo Turco V., Di Bella G., Saitta M., Dugo G.: Classification of Marsala wines according to their polyphenol, carbohydrate and heavy metal levels using canonical discriminant analysis. *Food Chem.*, 2008, **110**, 729-734.
- [17] Monsandl A.: Progress in the authenticity assessment of wines and spirits. *Analisis Magazine*, 1997, **3 (25)**, 31-38.
- [18] Mermelstein N. H.: Analyzing wine. *Food Technol.*, 2010, **1**, 62-66.
- [19] Noguerol-Pato R., González-Barreiro C., Cancho-Grande B., Simal-Gándara J.: Quantitative determination and characterization of the main odorants of Mencía monovarietal red wines. *Food Chem.*, 2009, **117**, 473-484.

- [20] Ogrinc N., Košir I.J., Spangenberg J.E., Kidrič J.: The application of NMR and MS methods for detection of adulteration of wine, fruit juices, and olive oil. A review. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2003, **376**, 424-430.
- [21] Rudnitskaya A., Rocha S.M., Legin A., Pereira V., Marques J.C.: Evaluation of the feasibility of the electronic tongue as a rapid analytical tool for wine age prediction and quantification of the organic acids and phenolic compounds. The case-study of Madeira wine. *Anal. Chim. Acta*, 2010, **662**, 82-89.
- [22] Schlesier K., Faul-Hassek C., Forina M., Cotea V., Kocsi E., Schoula R., van Jaarsveld F., Witkowski R.: Characterisation and determination of the geographical origin of wines. Part I: overview. *Eur. Food Res. Technol.*, 2009, **230**, 1-13.
- [23] Simpkins W., Harrison M.: The state of the art in authenticity testing. *Trends Food Sci. Technol.*, 1995, **6**, 321-328.
- [24] Smeyers-Verbeke J., Jäger H., Lanteri S., Brereton P., Jamin E., Faul-Hassek C., Forina M., Römisch U.: Characterisation and determination of the geographical origin of wines. Part II: descriptive and inductive univariate statistics. *Eur. Food Res. Technol.*, 2009, **230**, 15-19.
- [25] Son H.- S., Kim K.- M., van der Berg F., Hwang G.- S., Park W.- M., Lee C.- H., Hong Y.- S.: ¹H nuclear magnetic resonance-based metabolomic characterization of wines by grape varieties and production areas. *J. Agric. Food Chem.*, 2008, **56**, 8007-8016.
- [26] Son H.- S., Hwang G.- S., Kim K.- M., Ahn H.- J., Park W.- M., van der Berg F., Hong Y.- S., Lee C.- H.: Metabolomic studies on geographical grapes and their wines using ¹H NMR analysis coupled with multivariate analysis. *J. Agric. Food Chem.*, 2009, **57**, 1481-1490.
- [27] Targoński Z., Stój A.: Zafalszowania żywności i metody ich wykrywania. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **4 (45)**, 30-40.
- [28] Tarko T., Duda-Chodak A., Sroka P., Satora P., Jurasz E.: Physicochemical and antioxidant properties of selected polish grape and fruit wines. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 2008, **7 (3)**, 35-34.
- [29] Tuszyński T., Czernicka M.: Zafalszowania żywności i napojów oraz metody ich wykrywania. *Laboratorium 2008*, **7-8**, 38-43.
- [30] Viggiani L., Castiglione Morelli M.A.: Characterization of wines by nuclear magnetic resonance: a work study on wines from the Basilicata region in Italy. *J. Agric. Food Chem.*, 2008, **56**, 8273-8279.
- [31] Weber D., Kexel H., Schmidt H. L.: ¹³C-pattern of natural glycerol: origin and practical importance. *J. Agric. Food Chem.*, 1997, **45**, 2042-2046.
- [32] West J.B., Ehleringer J.R., Cerling T.E.: Geography and vintage predicted by a novel GIS model of wine $\delta^{18}\text{O}$. *J. Agric. Food Chem.*, 2007, **55**, 7075-7083.
- [33] Wierzchnicki R.: Autentyczność win. Kontrola autentyczności win metodami Spektrometrii Masowej Izotopów Stabilnych (IRMS). *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2004, **4**, 28-29.

METHODS OF DETECTING ADULTERATION OF WINES

S u m m a r y

In the paper, some types of wine adulteration were presented, such as: misdeclaration as regards grape variety, region of origin, or vintage; adding water, sugar, glycerol, and colouring wine. To detect the adulteration of wines, the following techniques were applied: mass spectrometry, nuclear magnetic resonance, atomic emission spectrometry, gas chromatography, liquid chromatography, and electronic tongue. The analysis of wine adulteration is a tool to eliminate unfair manufacturers and to maintain the consumer confidence in the competitive EU market.

Key words: adulteration, wine, GC-MS, LC-MS, NMR, ICP-MS, ET 

EWA CIEŚLIK, AGNIESZKA GĘBUSIA

ŻYWNOŚĆ FUNKCJONALNA Z DODATKIEM FRUKTANÓW

Streszczenie

Dobrze poznany związek między składnikami diety a ogólnym stanem zdrowia człowieka pozwala wykorzystywać w sposób racjonalny odżywcze i nieodżywcze składniki żywności. Producenci żywności wzbogacają wyroby w składniki bioaktywne m.in. fruktany (inulinę i fruktooligosacharydy). Fruktany to liniowe lub rozgałęzione polisacharydy zbudowane z jednostek β -D-fruktozy (połączonej wiązaniami $\beta(2-1)$ i/lub $\beta(2-6)$ -glikozydowymi) oraz jednej, przeważnie na końcu łańcucha, cząsteczki glukozy. Oprócz licznych właściwości prozdrowotnych charakteryzują się również korzystnymi właściwościami technologicznymi – strukturotwórczymi, żelującymi, wodochłonnością, zdolnością do zastępowania cukru i tłuszczu, nadawaniem produktom cech kremowych. Z tego względu fruktany mogą znaleźć zastosowanie w wielu gałęziach przemysłu spożywczego: mleczarstwie, cukiernictwie i piekarstwie lub w przetwórstwie owocowo-warzywnym. Fruktany są powszechnie stosowane jako zagęstniki i stabilizatory. Zastosowanie ich już w niewielkich stężeniach w roztworach wodnych pozwala modyfikować ich lepkość i poprawia właściwości reologiczne. Dzięki tym cechom fruktany wykorzystuje się do produkcji deserów, kremów oraz polew cukierniczych, a także w przetwórstwie mięsnym i wędliniarskim oraz w produkcji margaryn. Obok wpływu na strukturę produktów spożywczych istotną cechą fruktanów, która przyczyniła się do zastosowania ich w produkcji żywności, jest zdolność tych dodatków do obniżania wartości energetycznej gotowego wyrobu. Jako efektywny zamiennik tłuszczu i cukru fruktany są obiecującym składnikiem żywności ułatwiającym kontrolę masy ciała.

Słowa kluczowe: żywność funkcjonalna, fruktany, inulina, oligosacharydy

Wprowadzenie

Postęp gospodarczy i naukowy krajów rozwiniętych doprowadził do istotnych zmian nawyków żywieniowych oraz stylu życia. Najczęściej spożywane są posiłki wysokoenergetyczne, bogate w nasycone tłuszcze oraz cukry, podczas gdy konsumpcja złożonych węglowodanów i błonnika pokarmowego jest niewielka. Nieprzestrzeżenie zasad racjonalnego żywienia wraz ze zmniejszeniem aktywności fizycznej doprowadziło do powstania problemów z nadwagą i otyłością, a wraz z nimi do zwiększenia

częstotliwości występowania chorób serca, cukrzycy i nadciřnienia tętniczego. Coraz więcej prac naukowych dotyczących powiązania diety z występowaniem przewlekłych chorób niezakaźnych wskazuje na niezwykle właściwości bioaktywnych składników zawartych w żywności (m.in. fruktanów), które mogą służyć utrzymaniu dobrego stanu zdrowia, a nawet jego poprawie. W rezultacie, obecnie istnieje ogromne zainteresowanie przemysłu spożywczego oraz konsumentów produktami, które mogą promować zdrowie i dobre samopoczucie. Ten rodzaj żywności nosi ogólną nazwę żywności funkcjonalnej.

Prozdrowotne właściwości fruktanów

Fruktany stanowią rozpuszczalną frakcję błonnika pokarmowego o wielu udokumentowanych właściwościach prozdrowotnych, wśród których najczęściej wymienia się działanie prebiotyczne, wpływ na profil lipidowy i redukcję poziomu cholesterolu w surowicy krwi, zwiększanie biodostępności składników mineralnych, profilaktykę i wspomaganie leczenia cukrzycy, działanie antykancerogenne oraz redukcję poziomu metabolitów, a także produkcję witamin z grupy B [11, 18, 19, 24, 29].

Fruktany, w szczególności fruktooligosacharydy oraz inulina, to w praktyce najczęściej występujące prebiotyki [1]. Są odporne na działanie enzymów trawiennych układu pokarmowego, dlatego podlegają pasażowi do jelita grubego, gdzie wykorzystywane przez bytującą w nim korzystną mikroflorę znacząco wpływają na jej namnażanie i poprawę stanu zdrowia gospodarza [1, 7, 14, 20]. Ze względu na istotną rolę w fizjologii jelita na szczególną uwagę zasługują bakterie kwasu mlekowego (np. z rodzaju *Lactobacillus*) oraz *Bifidobacterium*. Hamują one rozwój mikroorganizmów patogennych poprzez stwarzanie niekorzystnych warunków środowiskowych (obniżenie pH treści jelitowej), konkurencję z innymi drobnoustrojami o substraty oraz o miejsce adhezji na nabłonku jelitowym, a także wytwarzanie przez niektóre szczepy substancji antybiotycznych. Wzbogacenie diety zwierząt laboratoryjnych w oligosacharydy zmniejszyło w stolcu liczbę drobnoustrojów z rodzaju *Salmonella*, natomiast dodatek inuliny i oligofruktozy ograniczył rozwój *Candida* w jelicie cienkim. Stwierdzono także niższą umieralność zwierząt zainfekowanych *Listeria monocytogenes* oraz *Salmonella typhimurium*, których dietę wcześniej suplementowano inuliną i oligofruktozą. Bakterie jelitowe metabolizują fruktany do kwasu octowego, propionowego i masłowego, a stężenie krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych w kątnicy, okrężnicy i kale zależy od długości łańcucha fruktanów. Dzięki uwzględnieniu tej zależności w produkcji żywności możliwe jest odpowiednie dobranie bakterii probiotycznych oraz prebiotyków w celu regulowania jakościowego i ilościowego składu krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych powstających w jelicie grubym [7, 14, 20].

Powstająca w wyniku fermentacji ilość kwasu octowego i propionowego wywiera wpływ na produkcję cholesterolu, ponieważ octan jest stymulatorem, a propionian

inhibitorem jego syntezy. Jednak głównym mechanizmem działania fruktanów w obniżaniu poziomu cholesterolu w surowicy krwi jest wiązanie kwasów żółciowych w jelicie cienkim, a przez to zwiększenie ich wydalania. W rezultacie ograniczeniu ulega pula soli żółciowych, które mogą być wykorzystywane do produkcji cholesterolu, oraz utrudnione jest wchłanianie lipidów. Cholesterol zostaje wykorzystany do syntezy kwasów żółciowych, a nie do syntezy lipoprotein. Hamuje to rozwój blaszki miażdżycowej i chroni przed rozwojem chorób układu krążenia [14]. W badaniach z udziałem zwierząt laboratoryjnych karmionych wysokowęglowodanową dietą z 10 % dodatkiem fruktooligosacharydów stwierdzono znaczne zmniejszenie zawartości triacylogliceroli i fosfolipidów. Wykazano również zapobiegawcze działanie fruktooligosacharydów przeciwko stłuszczeniu wątroby [20]. Zmniejszenie ryzyka miażdżycy i innych chorób układu krążenia jest bezpośrednio skorelowane z dyslipidemią, zwłaszcza z hipertriacylglycerydemią i opornością na insulinę, które związane są z wysokokaloryczną dietą, przede wszystkim bogatą w węglowodany. W tych przypadkach, regularne spożywanie fruktanów ogranicza ryzyko wystąpienia chorób układu krążenia [7].

Ponadto fruktany mają korzystny wpływ na przyswajanie składników mineralnych z diety. Liczne dane literaturowe wskazują na poprawę biodostępności wapnia, magnezu, żelaza, miedzi, cynku i fosforu. W wyniku fermentacji fruktanów pH w jelicie ulega obniżeniu, przez co wzrasta stężenie składników mineralnych w postaci jonowej oraz szybkość dyfuzji przez błony komórkowe. W wyniku połączenia z krótkołańcuchowymi kwasami tłuszczowymi powstają łatwo rozpuszczalne sole, ponadto obecność fruktanów powoduje przerost błony śluzowej jelita grubego, zwiększając jego zdolność wchłaniania składników mineralnych [9, 20]. Wpływ fruktanów na przyswajanie składników mineralnych uzależniony jest także od długości ich łańcucha. Scholz-Ahrens i Schrezenmeir [21], w badaniach wpływu fruktanów na absorpcję wapnia, magnezu, miedzi, żelaza, cynku i fosforu, wykazali silniejsze działanie inuliny lub mieszanki inuliny i oligruktofruktozy w porównaniu z działaniem samej oligofruktozy. W innych badaniach z udziałem zwierząt laboratoryjnych korzystne oddziaływanie na biodostępność składników mineralnych stwierdzono, dodając zaledwie 5 g fruktooligosacharydów na kilogram sporządzanej diety. Wystąpiło zwiększone wchłanianie składników mineralnych oraz wzrost masy kostnej zwierząt [20]. Liczne wyniki badań dowodzą, że spożywanie kompozycji krótko- i długołańcuchowych fruktanów wpływa korzystnie na zwiększenie masy kostnej również w okresie dojrzewania [7].

Długość łańcucha spożywanych z dietą fruktanów wpływa również na ilość i wzajemne proporcje produkowanych krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych, a przez to na ograniczenie zmian nowotworowych komórek jelita grubego. Krótkołańcuchowe fruktooligosacharydy fermentowane są szybciej i jako pierwsze wspomagają rozwój korzystnej mikroflory, natomiast z rozkładem inuliny związane jest wytwarzanie większych ilości maślanu, co oprócz ograniczenia zmian nowotworowych ma

szczególne znaczenie w profilaktyce wrzodziejącego zapalenia okręćnicy [24]. Powstający w procesie fermentacji kwas mlekowy jest dobrym substratem wykorzystywanym przez komórki nabłonka, przez co również ogranicza ich przemiany nowotworowe. Ponadto krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe nasilają rozpad zmienionych nowotworowo komórek ściany jelitowej, szczególnie w początkowej fazie kancerogenezy [1]. Dodatkowo produkty fermentacji fruktanów hamują rozwój bakterii gnilnych, których enzymy wpływają na rozrost komórek nowotworowych i powstawanie rakotwórczych nitrozoamin [9]. Dieta bogata w produkty pochodzenia zwierzęcego oraz uboga w błonnik jest związana z większym ryzykiem występowania raka jelita grubego, ponieważ niektóre produkty rozkładu białek i metabolity cholesterolu wykazują działanie kancerogenne. Spożywanie z dietą fruktanów ogranicza ryzyko wystąpienia zmian nowotworowych. Modyfikując skład mikroflory oraz zakwaszając treść jelitową wykazują właściwości wstrzymujące jej bakteryjny rozkład do potencjalnych kancerogenów [1, 20]. Ze względu na działanie profilaktyczne chorób końcowego odcinka przewodu pokarmowego istnieje rosnące zainteresowanie możliwością wpływania na mikroflorę jelitową w celu zwiększenia liczby *Bifidobacterium* i *Lactobacillus* oraz jednocześnie stymulowania produkcji krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych oraz mleczanu w okręćnicy [17].

Namnażanie bifidobakterii związane jest również ze wzbogaceniem organizmu w kwas foliowy lub kwas nikotynowy oraz witaminy B₁, B₂, B₆ [9]. Ponieważ fruktany nie powodują gwałtownego wzrostu poziomu glukozy w surowicy krwi oraz wykazują niższą niż sacharoza kaloryczność (1,0 - 1,5 kcal·g⁻¹ w porównaniu do 4,0 kcal·g⁻¹ w przypadku sacharozy) mogą z powodzeniem być stosowane przez diabetyków oraz osoby stosujące diety redukcyjne. Nie są rozkładane w jamie ustnej, przez co nie stanowią pożywki dla obecnych w jamie ustnej bakterii. Wspomagają również działanie układu odpornościowego [7, 9]. Dane literaturowe wskazują na możliwość zastosowania inuliny i fruktooligosacharydów w zmniejszaniu objawów zarówno wrzodziejącego zapalenia jelita grubego, jak i choroby Crohna, które dotyczą około 500 na 100 000 osób i coraz częściej występują w krajach zachodnich [15, 22].

Korzystny wpływ diety bogatej we fruktany przyczynił się do zmiany preferencji konsumenckich i poszukiwania produktów bogatych w ten składnik. Dzięki temu można zaobserwować znaczący wzrost zainteresowania fruktanami wśród producentów żywności wzbogacanej.

Zastosowanie fruktanów w przemyśle spożywczym

W produkcji żywności funkcjonalnej nośnikami substancji bioaktywnych są grupy produktów najczęściej kupowanych i regularnie spożywanych (np. przetwory mleczne, produkty zbożowe, napoje owocowe), ponieważ długotrwałe i regularne spożywanie tego rodzaju żywności sprzyja oczekiwanym efektom. Do niedawna trakto-

wano fruktany jako polisacharydy towarzyszące błonnikowi, jednak w 1998 r. inulina i oligofruktoza zostały uznane przez General Referee for Dietary Fiber and Complex Carbohydrates of AOAC International za część błonnika pokarmowego. Fruktany znajdują zastosowanie w wielu gałęziach przemysłu spożywczego (mleczarski, cukierniczy, piekarski, owocowo-warzywny, tłuszczowy, mięsny), ponieważ oprócz cennych walorów prozdrowotnych, charakteryzują się także korzystnymi właściwościami technologicznymi. Fruktany o krótkiej i średniej długości łańcucha wykorzystywane są do produktów o jednorodnej strukturze (np. wyrobów piekarskich i produktów zbożowych), podczas gdy preparaty długołańcuchowe znajdują zastosowanie w wyrobach, w których istotna jest lepkość (sosy, dressingi, konserwy mięsne). Coraz większe zainteresowanie przemysłu spożywczego wzbudzają inulina i oligofruktoza. Inulina wykorzystywana jest głównie do otrzymywania produktów o małej zawartości tłuszczu, podczas gdy oligofruktoza jest stosowana w niskokalorycznych produktach owocowych, jak również do zrównoważenia słodczy i zamaskowania pozostałości bardzo intensywnego posmaku słodzika stosowanego w środkach spożywczych [9,10, 23].

Właściwości technologiczne inuliny wynikają przede wszystkim z jej zdolności do tworzenia żeli. Zastosowana w dużych stężeniach w wodzie wytwarza sieć żelową. Układ ten jest stabilny fizycznie i wykazuje właściwości lepkoplastyczne i tiksotropowe. Właściwości reologiczne cząsteczkowych żeli inulinowych są inne od tych, które wykazują niekrystalizujące polisacharydy, a ich charakterystyka jest bliższa sieciom kryształów tłuszczowych. Ze względu na te właściwości inulina jest wykorzystywana jako substytut tłuszczu, nadaje produktom gęstą, kremową strukturę oraz gładkość i łagodny smak [2, 10]. Przydatność inuliny jako zamiennika tłuszczu jest ograniczona w produktach kwaśnych o długim terminie przydatności do spożycia, ponieważ przy pH poniżej 4,5 zachodzi jej hydroliza do fruktozy [10].

Fruktooligosacharydy znajdują powszechne zastosowanie w przemyśle spożywczym, zwłaszcza mleczarskim. Wykorzystanie oligosacharydów w tej branży początkowo wynikało z naukowo udowodnionych właściwości prebiotycznych fruktooligosacharydów. Zaowocowało to pojawieniem się na rynku wielu napojów fermentowanych, w których zastosowanie fruktooligosacharydów wraz z probiotyczną mikroflorą doprowadziło do pojawienia się napojów synbiotycznych. Wykazują one cechy żywności funkcjonalnej, przez co są pożądane przez konsumentów [30]. Badania wskazały na dodatkowe technologiczne korzyści wynikające z zastosowania fruktooligosacharydów do produkcji jogurtów. Stwierdzono polepszenie konsystencji i smaku, a także zmniejszenie tendencji do synerezy i zwiększenie stabilności już przy 1 % dodatku inuliny. Zastosowanie fruktooligosacharydów umożliwia produkcję niskotłuszczowego jogurtu z jednoczesnym zachowaniem wrażenia produktu tłustego i o pełnych cechach [9]. Wszółek [30] oceniła wpływ dodatku inuliny na cechy jakościowe biojogurtów. Dowiodła, że bardzo wyraźnie zaznaczył się wpływ inuliny na teksturę i cechy senso-

ryczne. Wykazała, że najkorzystniejszym wyglądem, smakiem i konsystencją cechował się jogurt z 1 % dodatkiem inuliny. Wpływ tego dodatku na teksturę jogurtów tłumaczy się utrudnionym powstawaniem wiązań między micelami kazeiny podczas koagulacji kwasowej. Stwierdzono również, że ze wzrostem udziału inuliny, większa jest lepkość jogurtów, co wynika z jej zwiększonej koncentracji w fazie wodnej żelu – serwatce. W środowisku kwaśnym niewielka ilość inuliny ulega hydrolizie, co prowadzi do częściowej utraty właściwości technologicznych. Straty wywołane hydrolizą wynoszą: podczas pasteryzacji do 1 %, podczas inkubacji do 2 %, podczas przechowywania przez 28 dni w temperaturze 10 °C do 5 % oraz straty związane z fermentacją przez kultury jogurtowe do 2 % (przy czym w pierwszej kolejności do tego celu zużywana jest laktoza). Warto zauważyć, że zarówno ogólna liczba bakterii probiotycznych, jak i ich przeżywalność była wyższa w przypadku jogurtów z dodatkiem inuliny [10]. Przydatność inuliny, częściowo hydrolizowanej gumy guar i beta-glukanu otrzymanego z owsa była przedmiotem badań Brennan i Tudorica [4]. Oceniano możliwość zastosowania wymienionych związków do produkcji odtłuszczonych jogurtów, badano ich wpływ na teksturę, właściwości reologiczne i sensoryczne. Porównywano jogurty otrzymane z mleka pełnego, mleka odtłuszczonego oraz kontrolne jogurty odtłuszczone. Dowiedziono, że dodatek już 0,5 % beta-glukanu poprawia synerżę otrzymanego produktu w takim stopniu, że może być porównywalny z jogurtem z mleka pełnego. Inulina i guma guar również wykazywały takie właściwości przy 2 % dodatku, jednak pod względem właściwości sensorycznych najlepiej oceniono produkt z dodatkiem inuliny. Wszystkie dodatki oceniono pozytywnie pod względem możliwości wykorzystania jako węglowodanowych zamienników tłuszczu do wytwarzania żywności o cechach produktu „pełnego, tłustego” [4].

Inulina może zastępować również tłuszcz i cukier w lodach, jogurtach owocowych, deserach mlecznych, serkach twarogowych lub dżemach, nie powodując wzrostu poziomu glukozy we krwi po ich spożyciu [9, 20]. Zastosowanie inuliny do produkcji lodów powoduje wzrost ich lepkości i napowietrzenia, zwiększa także ich odporność na topnienie. Pozwala otrzymać gładką i jednolitą konsystencję, ograniczając powstawanie szorstkiej tekstury lodów podczas zmian temperatury w czasie przechowywania. Dzięki zastosowaniu inuliny zawartość tłuszczu można ograniczyć nawet o 99 % [10]. Do produkcji lodów wzbogaconych w bakterie probiotyczne do najczęściej wymienianych w literaturze prebiotyków o właściwościach krioprotekcyjnych (zapobiegających uszkodzeniom komórek w trakcie ich zamrażania i rozmrażania) należą galaktooligosacharydy, a przede wszystkim fruktooligosacharydy, polidekstroza i inulina. W badaniach wykazano, że wzbogacanie lodów probiotycznych inuliną w stężeniu zaledwie 2 % poprawia przeżywalność bakterii *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*. Zaprojektowane lody charakteryzowały się korzystnymi cechami sensorycznymi i fizycznymi [26]. Ponadto otrzymane produkty cechowała niższa wartość kaloryczna

w porównaniu z wyrobami tradycyjnymi, ponieważ kaloryczność inuliny zawiera się w zakresie 1 - 1,5 kcal/g [20, 25].

Fruktooligosacharydy, dzięki swoim właściwościom technologicznym, mogą być wykorzystywane jako żelujące środki teksturotwórcze. Polepszają konsystencję, nadając wyrobom cechy produktu kremowego. Znajdują zastosowanie do wyrobu czekolad i batonów dietetycznych, maskując przy tym nieprzyjemny smak sztucznych substancji słodzących [9]. Inulina jest umiarkowanie rozpuszczalna w wodzie, charakteryzuje się neutralnym smakiem, bez dodatkowych posmaków i zapachów [2]. Właściwości preparatów błonnikowych zbadała Waszkiewicz-Robak [28], porównując produkowane przemysłowo hydrokoloidy polisachrydowe o charakterze błonnika (np. guar częściowo hydrolizowany, mączkę chleba świętojańskiego, pektynę wysoko metylowaną), preparaty z cykorii (inulinę i fruktooligosacharydy), preparaty z soi, fasoli, owsa i jabłek. W porównaniu z pozostałymi, preparaty z cykorii charakteryzowały się najmniejszą zdolnością absorpcji wody, lepszą zdolnością do absorpcji tłuszczu, całkowitą rozpuszczalnością w wodzie, niewielką lepkością 1 % roztworu oraz niewielkim wpływem na pH roztworu. W przeciwieństwie do innych preparatów, 1 % roztwór inuliny i fruktooligosacharydów nie powodował zmiany walorów sensorycznych, podczas gdy hydrokoloidy powodowały posmak metaliczny, kwaśny lub mdły, a pozostałe – posmak charakterystyczny dla źródła ich pochodzenia [28].

Zastosowanie w przemyśle może mieć również oligofruktoza otrzymana w procesie częściowej hydrolizy inuliny. Niższy stopień polimeryzacji powoduje, że oligofruktoza nadaje produktom lekko słodki smak. W połączeniu ze słodzikami oligofruktoza wpływa na tworzenie lepszej konsystencji i walorów smakowych wyrobu. Wzmacnia smak dodatków owocowych, a przy tym posmak jest niemal niezauważalny. Dzięki zdolności pochłaniania wody zmniejsza aktywność wodną, przez co jest czynnikiem modyfikującym temperaturę wrzenia i zamarzania roztworów [2].

Wykorzystanie fruktanów do produkcji wyrobów piekarskich i ciastkarskich pozwala na zmniejszenie ich kaloryczności, zwiększenie objętości i poprawę tekstury. Inulinę można stosować w piekarstwie, gdzie z powodzeniem może zastępować tłuszcz, przyczyniając się do poprawy jakości i trwałości pieczywa i ciast [23]. Dodatek fruktooligosacharydów poprawia cechy sensoryczne ciast, wpływając na ich teksturę, kruchość i wilgotność. Umożliwia zmniejszenie kaloryczności, a podczas wyrabiania zwiększa wodochłonność ciast. Najczęstsze zastosowanie znajduje inulina i oligofruktoza, a wykorzystuje się je jako dodatek do pieczywa pszennego oraz ciast drożdżowych i kruchych [9]. Im wyższy był dodatek fruktooligosacharydów tym mniejszą twardością charakteryzował się miękisz chleba. Natomiast dodatek inuliny do pieczywa mieszanego wpłynął niekorzystnie na jego teksturę, zwiększając twardość. W przypadku chleba wypiekanego z dodatkiem mączki topinamburowej za najkorzystniejszy uznano 8 - 10 % dodatek tego składnika [8].

W cukiernictwie inulina może być zastosowana do produkcji beztłuszczowych lukrów i elementów dekoracyjnych. Do lukrów i ozdób tłuszcz dodawany jest w celu spulchnienia i stabilizacji piany oraz nadania charakterystycznych cech sensorycznych. Podobne cechy może wyrobom nadać inulina w połączeniu ze spulchniającym emulgatorem po rozpuszczeniu w wodzie i silnym ścieniu. Inulinę zastosować można również do produkcji polew, w których polepsza plastyczność i skraca zastyganie produktu. Dodatkowo pomaga ograniczyć rekrytalizację cukru, przez co istotnie zmniejsza ziarnistość polewy. Fruktany mogą być również stosowane do produkcji makaronu. Dodatek inuliny oraz błonnika pszennego wywiera znaczący wpływ na właściwości skrobi oraz poprawę cech kulinarnych. Czas gotowania makaronu z dodatkami tylko nieznacznie różnił się od czasu gotowania próby kontrolnej. Poprawie uległa wytrzymałość makaronu na rozgotowanie, a ilość suchej masy przechodzącej do wody w czasie gotowania zmniejszyła się. Badania wykazały, że optymalny dodatek inuliny wynosił 4 % [13].

Przetwory owocowe i warzywne mogą być także wykorzystywane jako nořniki różnych dodatków funkcjonalnych. Bardzo dobrze do tego celu nadają się soki (szczególnie przecierowe), które nawet bez ich wzbogacania zawierają znaczące ilości takich składników, jak: błonnik pokarmowy, beta karoten, witamina C, likopen oraz naturalne składniki nieodżywcze (związki fenolowe, glukozynolany, fosforany inozytolu, kumaryny, terpeny, indole). Próbę wzbogacenia soków owocowych podjęli Cieřlik i wsp. [6], wykazując, że dodatek soku z topinamburu lub preparatów inuliny z fruktooligosacharydów do soków standardowych (bez sacharozy) powodował obniżenie jakości sensorycznej, jednak kompozycje tych soków z dodatkiem sacharozy otrzymywały ocenę wyższą od soku standardowego [6]. Próbę wzbogacenia soku owocowo-warzywnego w bakterie probiotyczne *Lactobacillus acidophilus* oraz inulinę podjęły Trzaskowska i Kołozyn-Krajewska [27]. Wykazały, że dodatek inuliny wspomagał wzrost bakterii probiotycznych, a jednocześnie nie wpływał znacząco na wartość sensoryczną gotowego produktu. Otrzymany sok, jako produkt synbiotyczny wykazuje dwojakie korzystne oddziaływanie oraz charakteryzuje się nowymi cechami smakowozapachowymi [27].

W badaniach Góreckiej i wsp. [12] określono stopień rozpuszczalności, lepkość oraz absorpcję oleju przez preparaty inuliny. Stwierdzono, że rozpuszczona inulina obniża punkt zamarzania wody w roztworze, a podnosi temperaturę wrzenia roztworu. Lepkość wodnych roztworów preparatów zawierających inulinę wzrastała razem ze wzrostem ich stężenia [12]. Inulinę zastosowano do produkcji majonezu niskotłuszczowego, w którym aż 50 % oleju zastąpiono tym polisacharydem dodanym w postaci preparatu. W celu poprawy właściwości fizycznych i sensorycznych wykorzystano dodatek gumy guar, ksantanu oraz ich mieszanek. Wszystkie majonezy z dodatkiem fruktanów były stabilne przy stężeniu gum spożywczych powyżej 0,11 %. Dodatek

gum spożywczych intensyfikował kremową barwę modelowego majonezu niskotłuszczowego i nieznacznie zmniejszał wrażenie tłustości wywołane obecnością inuliny. Wprowadzenie tego polisacharydu do modelowego majonezu zmniejszyło prawie o połowę jego wartość kaloryczną [3].

W przemyśle tłuszczowym fruktooligosacharydy znalazły zastosowanie do produkcji margaryn. Dzięki ich użyciu możliwe było znaczne zmniejszenie zawartości tłuszczu, przy jednoczesnym zachowaniu smarowności produktu oraz jego korzystnych cech sensorycznych. Emulsje margarynowe o dobrej jakości otrzymuje się z dodatkiem 2,5 - 4 % inuliny przy 40 % zawartości tłuszczu [10].

Dzięki zdolności wiązania wody i emulgowania tłuszczu fruktany znajdują często zastosowanie w przemyśle mięsnym. Zmniejszają straty podczas wędzenia, parzenia i gotowania oraz ograniczają wyciek w opakowaniach podczas przechowywania. Zastosowanie tych preparatów do produkcji konserw i kiełbas rozdrobnionych pozwoliło na zastąpienie części surowca tłuszczowego, a przez to na zmniejszenie kaloryczności i poprawę cech sensorycznych. W przemyśle mięsnym fruktooligosacharydy wykorzystuje się do produkcji kiełbas fermentowanych o obniżonej kaloryczności, w których dodatkowo pozwalają uzyskać miękkość i bardziej pożądaną barwę. Największą zaletą ich stosowania jest kształtowanie tekstury wyrobów oraz uzyskanie korzystnej soczystości wyrobów wędliniarskich. Dodatek inuliny do wyrobów mięsnych wynosi 4 - 7,5 % [9, 10, 11]. Wykazano jednak, że nawet 12 % dodatek fruktooligosacharydów nie obniża jakości sensorycznej a pozwala zredukować kaloryczność kiełbas nawet o 34 % [20].

Podsumowanie

Fruktany mogą pełnić w przemyśle spożywczym zarówno ważną rolę technologiczną, jak i cenne funkcje prozdrowotne, przez co są coraz szerzej wykorzystywane. Wskazane jest, aby na polskim rynku asortyment wyrobów z użyciem fruktanów systematycznie się zwiększał, stanowiąc czynnik wspomagający profilaktykę wielu schorzeń dietozależnych oraz znajdując zastosowanie w prewencji otyłości. Zachęcając konsumenta do zapoznawania się z wartością odżywczą produktów spożywczych, żywność funkcjonalna może przyczynić się do propagowania elementów zdrowego stylu życia.

Literatura

- [1] Bartnikowska E.: Co producent i konsument powinni wiedzieć o fruktanach. *Przegl. Piek. Cuk.*, 2010, **2**, 12-16.
- [2] Bortkun O.: Sacharydy i substancje słodzące w produkcji żywności. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2002, **4**, 17.

- [3] Bortnowska G., Makiewicz A.: Przydatnořć technologiczna gumy guar i ksantanu do produkcji majonezu niskotłuszczowego z dodatkiem inuliny. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 2006, **5**, 135-146.
- [4] Brennan C.S., Tudorica C.M.: Carbohydrate-based fat replacers in the modification of the rheological, textural and sensory quality of yoghurt: comparative study of the utilization of barley beta-glucan, guar gum and inulin. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2008, (**43**) **5**, 824-833.
- [5] Caceres E., Garcia M.L., Toro J., Selgas M.D.: The effect of fructooligosaccharides on the sensory characteristics of cooked sausages. *Meat Sci.*, 2004, **68**, 87-96.
- [6] Cieřlik E., Florkiewicz A., Filipiak-Florkiewicz A.: Jakořć soków owocowych z dodatkiem fruktanów. *Żyw. Człow. Metab.*, 2003, **3-4**, 1027-1030.
- [7] Delgado G.T.C., Tamashiro W.M.S.C., Pastore G.M.: Immunomodulatory effects of fructans. *Food Res. Int.*, 2010, **43**, 442-457.
- [8] Filipiak-Florkiewicz A.: Wpływ fruktanów na twardořć miękiszcu chleba. *Żyw. Człow. Metab.*, 2003, **3-4**, 978-982.
- [9] Florowska A., Krygier K.: Zastosowanie nietrawionych oligosacharydów w produktach spożywczych. *Przem. Spoż.*, 2004, **5**, 44-47.
- [10] Florowska A., Krygier K.: Inulina jako zamiennik tłuszczu w produktach spożywczych. *Przem. Spoż.*, 2007, **5**, 18-21.
- [11] Górecka D., Konieczny P., Gramza-Michałowska A.: Inulina – znaczenie żywieniowe i technologiczne. *Przem. Spoż.*, 2009, **10**, 22-27.
- [12] Górecka D., Konieczny P., Stachowiak J., Korczak J., Tarkowska K.: Włařciwořci funkcjonalne inuliny i jej zdolnořć w zakresie sorpcji wybranych składników mineralnych. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2005, Supl., 423-427.
- [13] Jurga R.: Wzbogacanie makaronów dodatkami z błonnikiem pokarmowym. *Przełł. Zboż.-Młyn.*, 2008, **3**, 10.
- [14] Kleessen B., Hartman L., Balut M.: Oligofructose and long-chain inulin: influence on the gut microbial ecology of rats associated with a human faecal flora. *Br. J. Nutr.*, 2001, **2**, 291-300.
- [15] Leenen C.H.M., Dieleman L.A.: Inulin and oligofructose in chronic inflammatory bowel disease. *J. Nutr.*, 2007, (**137**) **11** Suppl., 2572S-2575S.
- [16] Oliveira R.P.S., Florence A.C.R., Silva R.C., Perego P., Converti A., Gioielli L.A., Oliveira M.N.: Effect of different prebiotics on the fermentation kinetics, probiotic survival and fatty acids profiles in nonfat symbiotic fermented milk. *Int. J. Food Microbiol.*, 2009, **128**, 467-472.
- [17] Pompei A., Cordisco L., Raimondi S., Amaretti A., Pagnoni U.M., Matteuzzi D., Rossi M.: *In vitro* comparison of the prebiotic effects of two inulin-type fructans. *Anaerobe* 2008, **14**, 280-286.
- [18] Rault-Nania M.H., Demougeot C., Gueux E., Berthelot A., Dzimira S., Rayssiguier Y., Rock E., Mazur A.: Inulin supplementation prevents high fructose diet-induced hypertension in rats. *Clin. Nutr.*, 2008, (**27**) **2**, 276-282.
- [19] Roberfroid M.B.: Inulin-type fructans: Functional food ingredients. *J. Nutr.*, 2007, (**137**) **11** Suppl., 2493S-2502S.
- [20] Sangeetha P.T., Ramesh M.N., Prapulla S.G.: Recent trends in the microbial production, analysis and application of fructooligosaccharides. *Trends Food Sci. Technol.*, 2005, **16**, 442-457.
- [21] Scholz-Ahrens K.E., Schrezenmeir J.: Inulin and oligofructose and mineral metabolism: The Evidence from Animal Trials. *J. Nutr.*, 2007, **137** (**11**) Suppl., 2513-2523.
- [22] Seifert S., Watzl B.: Inulin and oligofructose: Review of experimental data on immune modulation. *J. Nutr.*, 2007, (**137**) **11**, Suppl., 2563S-2567S.
- [23] Skowronek M., Fiedurek J.: Inulina i inulinazy – wlařciwořci, zastosowania, perspektywy. *Przem. Spoż.*, 2003, **03**, 18-20.

- [24] Stewart M.L., Timm D.A., Slavin J.L.: Fructooligosaccharides exhibit more rapid fermentation than long-chain inulin in vitro fermentation system. *Nutr. Res.*, 2008, **28**, 329-334.
- [25] Sucharzewska D.: Właściwości i przydatność fruktanów do produkcji wyrobów ciastkarskich. *Przegl. Piek. Cuk.*, 2007, **7**, 59-31.
- [26] Szosland-Fołyn A.: Lody synbiotyczne – zastosowanie probiotyków i prebiotyków. *Przegl. Piek. Cuk.*, 2008, **2**, 96-97.
- [27] Trząskowska M., Kołożyn-Krajewska D.: Możliwości zastosowania probiotyków i prebiotyków do produkcji soków warzywno-owocowych. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2005, **4**, 37-38.
- [28] Waszkiewicz-Robak B.: Właściwości funkcjonalne wybranych składników prozdrowotnych jako składników żywności specjalnego żywieniowego przeznaczenia. *Post. Techn. Przetw. Spoż.*, 2002, **2**, 29-33.
- [29] Wong J.M.W., Jenkins D.J.A.: Carbohydrate digestibility and metabolic effects. *J. Nutr.*, 2007, **(137)** **11** Suppl., 2539S-2546S.
- [30] Wszolek M.: Wpływ dodatku inuliny na cechy jakościowe biojogurtów. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 1999, **4** (**21**), Supl., 176-184.

FUNCTIONAL FOODS WITH FRUCTANS ADDED

S u m m a r y

A well-known correlation between diet and general health state of man makes it possible to rationally utilize nutritional and non-nutritional food ingredients. Food manufacturers enrich their products with bioactive compounds, among other things, with fructans (inulin and oligofructoses). Fructans are linear or branched polymers composed of β -D-fructose units (joined by β (2-1) and/or β (2-6)-glycoside bonds) and of one glucose molecule that is usually at the end of the chain. Besides their many pro-health properties, the fructans are characterized by some useful technological properties such as: ability to form structure and to gelate, high water holding capacity, ability to replace fat or sugar, ability to impart cream texture/consistency to food products. Therefore, they may be utilized in many branches of food industry: dairying, confectionery and bakery, or fruit and vegetable processing. Commonly, the fructans are applied as thickening agents and stabilizers. It is possible to modify their viscosity and improve their rheological properties when using them in aqueous systems at low concentration levels. Owing to those properties, the fructans are utilized to make desserts, creams and coating glazes, as well as in the meat processing industry and the production of margarines. Beside their impact on the structure of food products, which has contributed to their use in the food production industry throughout the world, the fructans have one more significant quality, namely the ability to decrease the energy value of the ready-made food product. As an effective fat & sugar replacing food component, the fructans are a promising food ingredient appearing helpful in controlling the body weight.

Key words: functional food, fructans, inulin, oligosaccharides ☒

PIOTR ZARZYCKI, EMILIA SYKUT-DOMAŃSKA, IWONA WILKOWICZ

OCENA LEPKOŚCI POZORNEJ WODNYCH ZAWIESIN CAŁOZIARNOWEJ MAKI OWSIANEJ O ZRÓŻNICOWANEJ ZAWARTOŚCI BŁONNIKA POKARMOWEGO

Streszczenie

W pracy przedstawiono wyniki badań lepkości pozornej wodnych zawiesin całościarnowej mąki owsianej. Mąki całościarnowe otrzymano z przemiału 6 odmian owsa o zróżnicowanej zawartości błonnika pokarmowego i jego składników, w szczególności frakcji rozpuszczalnej SDF, w tym (1-3) (1-4) β -D-glukanów. W badaniach reologicznych użyto 10 i 15 % zawiesin mąki owsianej, zastosowano zmienny czas stabilizacji zawiesin (0,5 - 2 h), po którym dokonywano pomiaru, oraz zmienny gradient prędkości ścinania (200 - 1200 s^{-1}). Pomiary lepkości pozornej wykonano, wykorzystując reometr rotacyjny o współosiowym układzie cylindrów – RM 180 Mettler Rheomat.

Stwierdzono niestabilność lepkości pozornej badanych zawiesin mąki owsianej w czasie ich stabilizacji (0,5 - 2 h). Nastąpił znaczny wzrost lepkości wraz z upływem czasu stabilizacji zawiesin. Wykazano zmienny wpływ gradientu prędkości ścinania na lepkość pozorną zawiesin zależny od stosowanego czasu stabilizacji. Analiza korelacji (Pearsona, $p \leq 0,05$) pomiędzy zawartością poszczególnych frakcji błonnika pokarmowego a lepkością pozorną zawiesin wykazała, że lepkość zawiesin była w największym stopniu skorelowana z zawartością (1-3) (1-4) β -D-glukanów.

Słowa kluczowe: mąka owsiana razowa, błonnik pokarmowy, (1-3) (1-4) β -D-glukany, lepkość pozorna

Wprowadzenie

Produkty owsiane, ze względu na dużą zawartość rozpuszczalnej frakcji błonnika pokarmowego, należą do grupy wyrobów błonnikowych o szczególnych właściwościach fizjologicznych. Wykazano, że produkty te, ze względu na zawartość (1→3) (1→4) β -D-glukanów, mają zdolność stabilizowania poziomu glukozy we krwi, przyczyniają się do obniżenia poziomu cholesterolu ogólnego, cholesterolu o niskiej (LDL) i bardzo niskiej gęstości (VLDL) oraz podniesienia poziomu cholesterolu o wysokiej gęstości (HDL) [6, 7, 8]. Powszechnie uznaje się, że dwie główne cechy błonnika

Dr inż. P. Zarzycki, dr inż. E. Sykut-Domańska, mgr I. Wilkowicz, Katedra Inżynierii i Technologii Zbóż, Wydz. Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Skromna 8, 20-704 Lublin

owsianego odpowiedzialne za efekt fizjologiczny to zdolność do tworzenia lepkich roztworów oraz podatność na fermentację [4, 10, 12, 16]. Lepkość błonnika pokarmowego wynika w znacznej mierze z zawartości rozpuszczalnej frakcji, w tym gum, pektyn oraz (1-3) (1-4) β -D-glukanów [9]. Wood i wsp. [20] wykazali, że lepkość odpowiada w około 79 - 96 % za redukcję poposiłkowego stężenia glukozy we krwi. Autorzy ci przyznają jednak, że zależność ta nie ma charakteru liniowego, a do nieznacznego zmniejszenia stężenia glukozy we krwi potrzebny był relatywnie duży wzrost lepkości. Ważną rolę lepkości w redukcji poziomu glukozy we krwi potwierdziły także badania przeprowadzone przez Reppasa i Dressmana [15] oraz Brenelliego i wsp. [2]. Badania przeprowadzone przez Danielsona i wsp. [3] wykazały, że lepkość odgrywa także istotną rolę w redukcji stężenia cholesterolu w surowicy krwi. Uznaje się, że taki efekt fizjologiczny, związany z lepkością treści pokarmowej, wynika m.in. ze spowolnienia opróżniania żołądka, spowolnienia dyfuzji i absorpcji składników w jelicie cienkim oraz ograniczenia kontaktu pomiędzy składnikami żywności a enzymami w układzie trawiennym [5, 13, 16].

Istotna rola błonnika pokarmowego w diecie człowieka powoduje, że niezwykle ważne staje się określenie jego zawartości i właściwości zarówno w produktach końcowych, jak również na poszczególnych etapach produkcji [14]. Czasochłonność oraz kosztowność dotychczas stosowanych metod chemicznych i enzymatycznych wymusza poszukiwanie szybszych i tańszych metod pozwalających w prosty sposób określić zawartość błonnika pokarmowego [14]. Jedną z możliwości jest badanie właściwości reologicznych materiału [19]. Podejmowane były np. prace mające na celu określenie przydatności pomiarów lepkości ekstraktów jęczmiennych do szacowania zawartości (1 \rightarrow 3) (1 \rightarrow 4) β -D-glukanów w produktach przemiału ziarna jęczmienia [14]. Metoda ta, ze względu na swoją prostotę i szybkość, mogłaby znaleźć zastosowanie przy wstępnej selekcji materiału lub bieżącej kontroli procesu produkcji. Trudność może wynikać z faktu, że o lepkości ekstraktów niekoniecznie decydować będzie tylko jeden składnik [19]. Lepkość może się zmieniać w dość istotny sposób w zależności od warunków prowadzenia pomiaru. Istotny wpływ może mieć sposób przygotowania próbki do badań, zastosowany gradient prędkości ścinania, temperatura, stężenie, czas pomiaru, masa cząsteczkowa, stopień rozdrobnienia materiału, pH itp. [4, 17].

Praca niniejsza miała na celu określenie właściwości reologicznych wodnych zawiesin całościarnowych mąk owsianych przy użyciu reometru rotacyjnego. Podjęto próbę oceny wpływu parametrów pomiaru, takich jak: stężenie zawiesiny, czas stabilizacji i gradient prędkości ścinania na zmiany lepkości pozornej zawiesin. Określono również siłę korelacji pomiędzy zawartością błonnika pokarmowego całkowitego (TDF), rozpuszczalnego (SDF), nierozpuszczalnego (IDF) oraz (1 \rightarrow 3) (1 \rightarrow 4) β -D-glukanów a lepkością pozorną zawiesin całościarnowych mąk owsianych.

Material i metody badań

W badaniach użyto 6 odmian owsa, w tym 5 odmian nagonasiennych (*Avena nuda*) i 1 oplewioną (*Avena sativa*), pochodzących z sekcji badawczej Hodowli Roślin w Strzelcach. Doboru odmian dokonano na podstawie wcześniejszych badań Sykut-Domańskiej [18]. Głównym kryterium selekcji była zawartość poszczególnych frakcji błonnika pokarmowego. Zastosowane w badaniach odmiany charakteryzowały się zróżnicowaną zawartością całkowitego błonnika pokarmowego (TDF), w tym rozpuszczalnego (SDF), nierozpuszczalnego (IDF) oraz (1→3) (1→4) β-D-glukanów. Ziarno owsa oplewionego poddawano ręcznemu procesowi obłuszczenia i wykorzystywano w dalszych badaniach. Mąki całościarnowe otrzymywano w wyniku przemiału ziarna owsa przy użyciu młynka laboratoryjnego, o szczelinie roboczej 0,2 mm.

Zawartość TDF, SDF i IDF w otrzymanych całościarnowych mąkach owsianych określano zgodnie z metodami: AOAC, Method 991.43; AOAC Method 985.29; AACC, Method 32-07; AACC, Method 32-21; AACC, Method 32-05. Przy oznaczeniu (1→3) (1→4) β-D glukanów zastosowano metody: AACC Method 32-23 i AOAC Method 995.16. Powyższe analizy przeprowadzono wg procedur i z wykorzystaniem enzymów firmy Megazyme w 3 powtórzeniach, a wyniki przedstawiono w tab. 1.

Tabela 1

Zawartość błonnika pokarmowego i jego składników w całościarnowych mąkach owsianych [% s.m.].
Content of dietary fibre and its components in whole oat flours [% d.m.].

Mąka owsiana całościarnowa Whole oat flour	(1-3) (1-4) β-D glukany (1-3) (1-4) β-D glucans	TDF	SDF	IDF
1	5,04 ± 0,20	19,61	5,99 ± 0,51	13,62 ± 0,56
2	5,08 ± 0,08	19,07	6,21 ± 0,33	12,85 ± 0,01
3	4,65 ± 0,07	18,73	5,79 ± 0,10	12,94 ± 0,31
4	3,93 ± 0,03	15,88	5,89 ± 0,08	9,99 ± 0,07
5	3,08 ± 0,14	15,79	4,6 ± 0,07	11,19 ± 0,17
6	4,23 ± 0,06	17,52	6,3 ± 0,14	11,22 ± 0,20

Objaśnienia/ Explanatory notes:

TDF – błonnik pokarmowy całkowity / total dietary fibre; SDF – błonnik pokarmowy rozpuszczalny / soluble dietary fibre; IDF – błonnik pokarmowy nierozpuszczalny / insoluble dietary fibre; ± odchylenie standardowe / standard deviation

Otrzymane całościarnowe mąki owsiane użyto do sporządzenia 10 i 15 % wodnych zawiesin – w wodzie destylowanej o temp. 50 °C. Zawiesiny stabilizowano

w ciągu od 0,5 do 2 h, przetrzymując je w łaźni wodnej wstrząsanej (typ 357, częstotliwość 200 obr./min, amplituda 3) w temp. 50 °C. Lepkość pozorną powyższych zawiesin mierzono, stosując każdorazowo zmienny gradient prędkości ścinania w zakresie od 200 do 1200 s⁻¹, ze skokową zmianą wartości co 200 s⁻¹. Właściwości reologiczne zawiesin całościarnowej mąki owsianej badano, wykorzystując reometr rotacyjny Mettler Rheomat RM 180 z oprogramowaniem RSI Orchestrator wersja V6.5.8., stosując jako system pomiarowy współosiowy układ cylindrów (średnice cylindrów: 32,54 mm i 30 mm). Badania reologiczne przeprowadzono w 3 powtórzeniach.

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej z wykorzystaniem programu statystycznego SAS ver. 9.2. Obliczono wartości średnie, odchylenia standardowe oraz zweryfikowano istotność różnic pomiędzy wartościami średnimi (test Duncana, $p \leq 0,05$). Obliczono także współczynniki korelacji liniowej (Pearsona, $p \leq 0,05$) pomiędzy lepkością pozorną zawiesin, o stężeniu 10 i 15 % a zawartością poszczególnych składników błonnika pokarmowego.

Wyniki i dyskusja

Wodne zawiesiny całościarnowej mąki owsianej wykazywały niestabilność lepkości pozornej w badanym przedziale czasowym (0,5 - 2 h). Wyniki pomiarów wskazują na znaczny wzrost lepkości pozornej zawiesin wraz z upływem czasu ich stabilizacji (tab. 2 i 3). Zakres zmian był zróżnicowany i zależny od stężenia zawiesin oraz stosowanego gradientu prędkości ścinania. Po 2 h stabilizacji większe zmiany lepkości wystąpiły w zawiesinach mąk owsianych o stężeniu 15 % aniżeli w 10 %, szczególnie przy niskich gradientach prędkości ścinania (tab. 2 i 3). Ze wzrostem gradientu prędkości ścinania, niezależnie od stosowanego stężenia zawiesin (10 i 15 %), następowało zmniejszenie zakresu zmian lepkości w czasie. Zakres zmian lepkości, po 2 h stabilizacji 10 % zawiesin mąk owsianych, przy gradiencie prędkości ścinania wynoszącym 200 s⁻¹, mieścił się w przedziale od 32 do 189 % (w odniesieniu do lepkości zawiesin po 0,5 h stabilizacji). Natomiast po zwiększeniu gradientu prędkości ścinania do 1200 s⁻¹, zakres zmian lepkości wynosił już tylko od 32 do 63 %. Analogiczne zależności stwierdzono w przypadku zawiesin mąk owsianych o stężeniu 15 %. Zakresy zmian lepkości, po 2 h stabilizacji, kształtowały się od 44 do 109 % i od 15 do 33 %, odpowiednio przy gradiencie prędkości ścinania 200 i 1200 s⁻¹.

Tabela 2

Wyniki pomiarów lepkości pozornej [Pa·s] 10 % wodnych zawiesin całościarnowej mąki owsianej.
Measurement results of apparent viscosity [Pa·s] of 10 % whole oat flour water slurries.

Mąka owsiana całościarnowa Whole oat flour	Czas stabilizacji [h] / Stabilization time [h]			
	0,5	1	1,5	2
Gradient prędkości ścinania 200 s ⁻¹ / Shear rate gradient 200 s ⁻¹				
1	0,0094 ± 0,0005a	0,0116 ± 0,0006a	0,0165 ± 0,0009a	0,0222 ± 0,0023a
2	0,0088 ± 0,0013a	0,0109 ± 0,0007a	0,0140 ± 0,0003bc	0,0162 ± 0,0011c
3	0,0074 ± 0,0010b	0,0086 ± 0,0007b	0,0101 ± 0,0016d	0,0133 ± 0,0011d
4	0,0071 ± 0,0006b	0,0094 ± 0,0006b	0,0156 ± 0,0027ab	0,0205 ± 0,0016b
5	0,0066 ± 0,0008b	0,0075 ± 0,0010c	0,0085 ± 0,0010d	0,0088 ± 0,0006e
6	0,0067 ± 0,0006b	0,0093 ± 0,0005b	0,0125 ± 0,0013c	0,0166 ± 0,0013c
Gradient prędkości ścinania 400 s ⁻¹ / Shear rate gradient 400 s ⁻¹				
1	0,0090 ± 0,0001a	0,0119 ± 0,0003a	0,0159 ± 0,0009a	0,0216 ± 0,0023a
2	0,0083 ± 0,0015a	0,0105 ± 0,0010b	0,0143 ± 0,0004b	0,0162 ± 0,0009c
3	0,0072 ± 0,0005b	0,0081 ± 0,0011d	0,0100 ± 0,0013d	0,0133 ± 0,0010d
4	0,0065 ± 0,0006bc	0,0091 ± 0,0004c	0,0153 ± 0,0024ab	0,0196 ± 0,0013b
5	0,0056 ± 0,0004d	0,0061 ± 0,0004e	0,0071 ± 0,0005e	0,0076 ± 0,0004e
6	0,0063 ± 0,0004cd	0,0094 ± 0,0007c	0,0124 ± 0,0008c	0,0160 ± 0,0016c
Gradient prędkości ścinania 600 s ⁻¹ / Shear rate gradient 600 s ⁻¹				
1	0,0096 ± 0,0002a	0,0117 ± 0,0004a	0,0158 ± 0,0008a	0,0209 ± 0,0017a
2	0,0083 ± 0,0013bc	0,0109 ± 0,0009b	0,0143 ± 0,0002b	0,0163 ± 0,0011c
3	0,0088 ± 0,0005ab	0,0088 ± 0,0007d	0,0105 ± 0,0011d	0,0133 ± 0,0009d
4	0,0077 ± 0,0004cd	0,0094 ± 0,0004cd	0,0149 ± 0,0020ab	0,0189 ± 0,0013b
5	0,0067 ± 0,0008e	0,0071 ± 0,0003e	0,0084 ± 0,0006e	0,0086 ± 0,0002e
6	0,0074 ± 0,0006de	0,0097 ± 0,0007c	0,0127 ± 0,0005c	0,0157 ± 0,0016c

c.d. Tab. 2

Gradient prędkości ścinania 800 s ⁻¹ / Shear rate gradient 800 s ⁻¹				
1	0,0110 ± 0,0003a	0,0120 ± 0,0010a	0,0157 ± 0,0009a	0,0200 ± 0,0014a
2	0,0097 ± 0,0011b	0,0119 ± 0,0005a	0,0150 ± 0,0008a	0,0167 ± 0,0010b
3	0,0090 ± 0,0006b	0,0103 ± 0,0008b	0,0112 ± 0,0006c	0,0128 ± 0,0018c
4	0,0091 ± 0,0006b	0,0111 ± 0,0006ab	0,0145 ± 0,0012ab	0,0185 ± 0,0016a
5	0,0076 ± 0,0012c	0,0085 ± 0,0009c	0,0099 ± 0,0005c	0,0104 ± 0,0004d
6	0,0089 ± 0,0003b	0,0106 ± 0,0014b	0,0134 ± 0,0018b	0,0153 ± 0,0024b
Gradient prędkości ścinania 1000 s ⁻¹ / Shear rate gradient 1000 s ⁻¹				
1	0,0116 ± 0,0001a	0,0132 ± 0,0002a	0,0155 ± 0,0008a	0,0191 ± 0,0011a
2	0,0112 ± 0,0011ab	0,0128 ± 0,0006a	0,0146 ± 0,0001b	0,0161 ± 0,0003c
3	0,0106 ± 0,0003bc	0,0118 ± 0,0006b	0,0124 ± 0,0007d	0,0140 ± 0,0006d
4	0,0103 ± 0,0005c	0,0117 ± 0,0003b	0,0153 ± 0,0013ab	0,0179 ± 0,0010b
5	0,0091 ± 0,0008d	0,0103 ± 0,0004c	0,0111 ± 0,0005e	0,0115 ± 0,0005e
6	0,0103 ± 0,0003c	0,0118 ± 0,0005b	0,0134 ± 0,0003c	0,0153 ± 0,0015c
Gradient prędkości ścinania 1200 s ⁻¹ / Shear rate gradient 1200 s ⁻¹				
1	0,0126 ± 0,0002a	0,0144 ± 0,0002a	0,0162 ± 0,0004a	0,0187 ± 0,0011a
2	0,0118 ± 0,0011b	0,0141 ± 0,0006a	0,0157 ± 0,0001a	0,0166 ± 0,0002c
3	0,0113 ± 0,0003bc	0,0124 ± 0,0005b	0,0136 ± 0,0009c	0,0153 ± 0,0003d
4	0,0109 ± 0,0006cd	0,0127 ± 0,0002b	0,0159 ± 0,0007a	0,0178 ± 0,0009b
5	0,0092 ± 0,0010e	0,0106 ± 0,0003c	0,0115 ± 0,0006d	0,0122 ± 0,0003e
6	0,0105 ± 0,0001d	0,0128 ± 0,0006b	0,0149 ± 0,0003b	0,0162 ± 0,0007c

Objaśnienia/ Explanatory notes:

Różnice pomiędzy wartościami średnimi w kolumnach, oznaczonymi różnymi literami, są statystycznie istotne (test Duncana, $p \leq 0,05$) / Differences between the mean values shown in columns and denoted by different letters are statistically significant (Duncan test, $p \leq 0.05$); ± odchylenie standardowe/standard deviation

Tabela 3

Wyniki pomiarów lepkości pozornej [Pa·s] 15 % wodnych zawiesin całościarnowej mąki owsianej.
Apparent viscosity [Pa·s] of 15 % whole oat flour water slurries.

Mąka owsiana całościarnowa Whole oat flour	Czas stabilizacji [h] / Stabilization time [h]			
	0,5	1	1,5	2
Gradient prędkości ścinania 200 s ⁻¹ / Shear rate gradient 200 s ⁻¹				
1	0,0144 ± 0,0006b	0,0378 ± 0,0003a	0,0722 ± 0,0009b	0,0878 ± 0,0006b
2	0,0089 ± 0,0007d	0,0278 ± 0,0004b	0,0477 ± 0,0009d	0,0658 ± 0,0013d
3	0,0091 ± 0,0007d	0,0228 ± 0,0006d	0,0417 ± 0,0010e	0,0716 ± 0,0011c
4	0,0187 ± 0,0005a	0,0235 ± 0,0005cd	0,0538 ± 0,0007c	0,0593 ± 0,0002e
5	0,0131 ± 0,0011c	0,0158 ± 0,0009e	0,0189 ± 0,0003f	0,0190 ± 0,0013f
6	0,0097 ± 0,0008d	0,0244 ± 0,0009c	0,0922 ± 0,0007a	0,1163 ± 0,0003a
Gradient prędkości ścinania 400 s ⁻¹ / Shear rate gradient 400 s ⁻¹				
1	0,0143 ± 0,0003b	0,0335 ± 0,0006a	0,0604 ± 0,0010b	0,0739 ± 0,0006b
2	0,0101 ± 0,0004d	0,0272 ± 0,0006b	0,0443 ± 0,0008d	0,0604 ± 0,0008d
3	0,0092 ± 0,0002e	0,0222 ± 0,0006d	0,0385 ± 0,0009e	0,0623 ± 0,0006c
4	0,0181 ± 0,0005a	0,0224 ± 0,0005d	0,0487 ± 0,0009c	0,0535 ± 0,0007e
5	0,0119 ± 0,0004c	0,0145 ± 0,0004e	0,0172 ± 0,0005f	0,0163 ± 0,0004f
6	0,0101 ± 0,0002d	0,0238 ± 0,0003c	0,0756 ± 0,0010a	0,0965 ± 0,0006a
Gradient prędkości ścinania 600 s ⁻¹ / Shear rate gradient 600 s ⁻¹				
1	0,0143 ± 0,0002b	0,0315 ± 0,0003a	0,0538 ± 0,0003b	0,0651 ± 0,0003b
2	0,0103 ± 0,0003de	0,0268 ± 0,0002b	0,0415 ± 0,0004d	0,0569 ± 0,0004c
3	0,0098 ± 0,0004e	0,0219 ± 0,0007c	0,0363 ± 0,0003e	0,0564 ± 0,0004c
4	0,0174 ± 0,0002a	0,0213 ± 0,0002c	0,0450 ± 0,0004c	0,0502 ± 0,0003d
5	0,0118 ± 0,0003c	0,0142 ± 0,0003d	0,0163 ± 0,0004f	0,0159 ± 0,0003e
6	0,0105 ± 0,0005d	0,0218 ± 0,0016c	0,0663 ± 0,0004a	0,0833 ± 0,0005a
Gradient prędkości ścinania 800 s ⁻¹ / Shear rate gradient 800 s ⁻¹				
1	0,0124 ± 0,0017b	0,0304 ± 0,0006a	0,0495 ± 0,0004b	0,0593 ± 0,0006b
2	0,0123 ± 0,0015b	0,0278 ± 0,0024b	0,0398 ± 0,0008d	0,0540 ± 0,0002c
3	0,0113 ± 0,0006b	0,0221 ± 0,0010c	0,0345 ± 0,0004e	0,0531 ± 0,0003d
4	0,0172 ± 0,0009a	0,0207 ± 0,0006c	0,0423 ± 0,0006c	0,0475 ± 0,0008e
5	0,0125 ± 0,0008b	0,0144 ± 0,0008d	0,0166 ± 0,0011f	0,0157 ± 0,0004f
6	0,0106 ± 0,0024b	0,0225 ± 0,0009c	0,0593 ± 0,0008a	0,0745 ± 0,0006a

c.d. Tab. 3

Gradient prędkości ścinania 1000 s ⁻¹ / Shear rate gradient 1000 s ⁻¹				
1	0,0157 ± 0,0001b	0,0289 ± 0,0002a	0,0463 ± 0,0002b	0,0545 ± 0,0002b
2	0,0129 ± 0,0001d	0,0262 ± 0,0002b	0,0385 ± 0,0003d	0,0510 ± 0,0002c
3	0,0125 ± 0,0001f	0,0218 ± 0,0001c	0,0333 ± 0,0001e	0,0493 ± 0,0002d
4	0,0171 ± 0,0001a	0,0204 ± 0,0001d	0,0397 ± 0,0002c	0,0449 ± 0,0003e
5	0,0139 ± 0,0001c	0,0154 ± 0,0001e	0,0165 ± 0,0001f	0,0160 ± 0,0001f
6	0,0128 ± 0,0001e	0,0218 ± 0,0001c	0,0538 ± 0,0003a	0,0669 ± 0,0003a
Gradient prędkości ścinania 1200 s ⁻¹ / Shear rate gradient 1200 s ⁻¹				
1	0,0169 ± 0,0001b	0,0281 ± 0,0001a	0,0437 ± 0,0002b	0,0511 ± 0,0002b
2	0,0144 ± 0,0001d	0,0260 ± 0,0005b	0,0372 ± 0,0001d	0,0489 ± 0,0002c
3	0,0137 ± 0,0001e	0,0217 ± 0,0001c	0,0324 ± 0,0001e	0,0465 ± 0,0003d
4	0,0182 ± 0,0001a	0,0201 ± 0,0001e	0,0381 ± 0,0001c	0,0426 ± 0,0001e
5	0,0151 ± 0,0001c	0,0168 ± 0,0001f	0,0177 ± 0,0001f	0,0174 ± 0,0001f
6	0,0143 ± 0,0001d	0,0213 ± 0,0001d	0,0503 ± 0,0002a	0,0621 ± 0,0003a

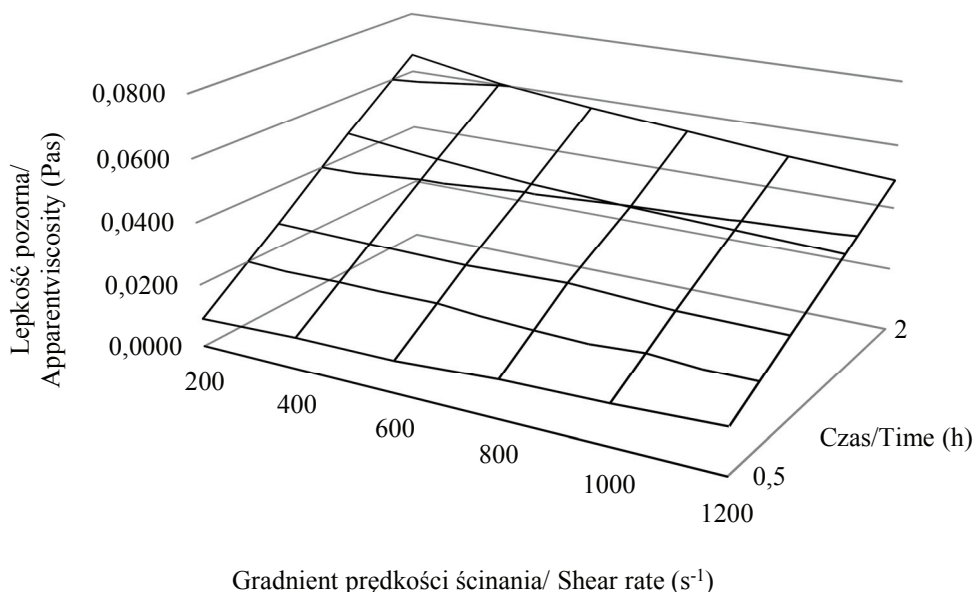
Objaśnienia/ Explanatory notes:

Różnice pomiędzy wartościami średnimi w kolumnach, oznaczonymi różnymi literami, są statystycznie istotne (test Duncana, $p \leq 0,05$)/Differences between the mean values shown in columns and denoted by different letters are statistically significant (Duncan test, $p \leq 0.05$); ± odchylenie standardowe/standard deviation.

Uzyskane wyniki wskazują, jak niezwykle istotne jest zachowanie stałego czasu pomiędzy sporządzeniem zawiesin mąki owsianej a pomiarem ich lepkości pozornej. Analogiczne wnioski prezentowane są w pracy Mager i wsp. [14]. Autorzy wykazali, że lepkość kwaśnych ekstraktów jęczmiennych mierzona bezpośrednio po sporządzeniu była wyższa niż lepkość ekstraktów po 6 h stabilizacji. Widoczne różnice dotyczące kierunku zmian lepkości pomiędzy badaniami wspomnianych autorów a badaniami własnymi mogą wynikać z przyjętego w badaniach własnych krótszego przedziału czasowego, w którym dokonywano pomiarów.

Niezależnie od stosowanego stężenia zawiesin całościarnowej mąki owsianej, po 0,5 h ich stabilizacji, wykazywały one cechy cieczy dylatacyjnej charakteryzującej się wzrostem lepkości wraz ze wzrostem gradientu prędkości ścinania (tab. 2 i 3). Wydłużanie czasu stabilizacji prowadziło do stopniowej zmiany charakteru cieczy z dylatacyjnego na pseudoplastyczny. Zmiany te następowały z różną szybkością w odniesieniu do poszczególnych próbek, przy czym zwiększenie stężenia zawiesiny z 10 do 15 % znacząco przyspieszyło ten proces. W przypadku 15 % stężenia już po 1 h stabilizacji prawie wszystkie zawiesiny, oprócz próbki nr 5, wykazywały cechy cieczy pseudoplastycznej tj. zmniejszenie lepkości wraz ze wzrostem gradientu prędkości ścinania (tab. 3). Na rys. 1. przedstawiono poglądowo zmiany lepkości pozornej zacho-

dzące w poszczególnych próbkach, na przykładzie zawiesiny całościarnowej mąki owsianej nr 2 o najwyższej zawartości (1→3) (1→4) β-D-glukanów. Zmiany takie są charakterystyczne także dla pozostałych próbek.



Rys. 1. Wpływ gradientu prędkości ścinania oraz czasu stabilizacji na lepkość pozorną na przykładzie 15 % zawiesiny całościarnowej mąki owsianej bogatej w (1-3) (1-4) β-D glukany (próbna nr 2, tab. 3).

Fig. 1. Effect of shear rate gradient and stabilization time on apparent viscosity exemplified by 15% whole oat flour water slurries rich in (1-3) (1-4) β-D glucans (sample no. 2, Tab. 3).

W tab. 4. i 5. przedstawiono współczynniki korelacji (Pearsona, $p \leq 0,05$) pomiędzy lepkością pozorną zawiesin całościarnowej mąki owsianej o stężeniu 10 i 15 % a zawartością poszczególnych frakcji błonnika pokarmowego. Stwierdzono, że lepkość zawiesin skorelowana była w największym stopniu z zawartością (1-3) (1-4) β-D-glukanów. Najwyższe współczynniki korelacji, pomiędzy zawartością (1-3) (1-4) β-D-glukanów a lepkością pozorną, wystąpiły w przypadku 10 % zawiesin mąki owsianej, przy zastosowaniu czasu stabilizacji w zakresie od 0,5 do 1 h i wyższych gradientach prędkości ścinania (1000 - 1200 s⁻¹). Wartości te kształtowały się na poziomie $r = 0,97$ i $r = 0,96$ odpowiednio w odniesieniu do czasu stabilizacji 0,5 i 1 h oraz gradientu prędkości ścinania 1000 s⁻¹; $r = 0,94$ i $r = 0,91$ odpowiednio w przypadku czasu stabilizacji 0,5 i 1 h oraz gradientu prędkości ścinania 1200 s⁻¹ (tab. 4).

Tabela 4

Współczynniki korelacji pomiędzy lepkością pozorną 10 % zawiesin całościarnowej mąki owsianej (n = 6) a zawartością frakcji błonnika pokarmowego.

Coefficients of correlation between apparent viscosity of 10% water slurries of whole oat flour (n = 6) and the content of dietary fibre fraction.

Frakcje błonnika pokarmowego Dietary fibre fraction	Czas stabilizacji [h] / Stabilization time [h]							
	0,5		1		1,5		2	
Gradient prędkości ścinania 200 s ⁻¹ / Shear rate gradient 200 s ⁻¹								
(1-3) (1-4) β-D glukan	0,83	p=0,042	0,85	p=0,034	0,59	p=0,218	0,59	p=0,221
TDF	0,82	p=0,045	0,73	p=0,1	0,36	p=0,486	0,37	p=0,473
SDF	0,43	p=0,392	0,72	p=0,105	0,68	p=0,14	0,71	p=0,112
IDF	0,79	p=0,064	0,55	p=0,262	0,12	p=0,815	0,12	p=0,821
Gradient prędkości ścinania 400 s ⁻¹ / Shear rate gradient 400 s ⁻¹								
(1-3) (1-4) β-D glukan	0,92	p=0,009	0,85	p=0,032	0,66	p=0,15	0,66	p=0,158
TDF	0,90	p=0,014	0,73	p=0,1	0,42	p=0,412	0,44	p=0,385
SDF	0,56	p=0,244	0,79	p=0,061	0,77	p=0,073	0,76	p=0,08
IDF	0,82	p=0,044	0,51	p=0,296	0,15	p=0,776	0,18	p=0,729
Gradient prędkości ścinania 600 s ⁻¹ / Shear rate gradient 600 s ⁻¹								
(1-3) (1-4) β-D glukan	0,87	p=0,025	0,88	p=0,019	0,67	p=0,146	0,66	p=0,153
TDF	0,86	p=0,026	0,76	p=0,08	0,43	p=0,389	0,45	p=0,374
SDF	0,52	p=0,288	0,8	p=0,054	0,76	p=0,081	0,75	p=0,086
IDF	0,80	p=0,057	0,55	p=0,263	0,18	p=0,734	0,20	p=0,706
Gradient prędkości ścinania 800 s ⁻¹ / Shear rate gradient 800 s ⁻¹								
(1-3) (1-4) β-D glukan	0,85	p=0,031	0,87	p=0,023	0,69	p=0,127	0,61	p=0,196
TDF	0,77	p=0,07	0,68	p=0,138	0,48	p=0,339	0,39	p=0,443
SDF	0,67	p=0,141	0,85	p=0,033	0,76	p=0,077	0,69	p=0,128
IDF	0,62	p=0,187	0,43	p=0,396	0,23	p=0,666	0,16	p=0,767
Gradient prędkości ścinania 1000 s ⁻¹ / Shear rate gradient 1000 s ⁻¹								
(1-3) (1-4) β-D glukan	0,97	p=0,002	0,96	p=0,003	0,63	p=0,182	0,63	p=0,182
TDF	0,87	p=0,026	0,85	p=0,031	0,38	p=0,462	0,41	p=0,417
SDF	0,78	p=0,065	0,81	p=0,053	0,72	p=0,107	0,69	p=0,127
IDF	0,68	p=0,137	0,66	p=0,157	0,13	p=0,811	0,18	p=0,73
Gradient prędkości ścinania 1200 s ⁻¹ / Shear rate gradient 1200 s ⁻¹								
(1-3) (1-4) β-D glukan	0,94	p=0,005	0,91	p=0,011	0,73	p=0,1	0,70	p=0,118
TDF	0,85	p=0,032	0,77	p=0,071	0,48	p=0,337	0,48	p=0,333
SDF	0,71	p=0,115	0,83	p=0,043	0,86	p=0,029	0,80	p=0,057
IDF	0,70	p=0,125	0,55	p=0,254	0,19	p=0,723	0,22	p=0,678

Objaśnienia/ Explanatory notes:

TDF – błonnik pokarmowy całkowity / total dietary fibre; SDF – błonnik pokarmowy rozpuszczalny / soluble dietary fibre; IDF – błonnik pokarmowy nierozpuszczalny / insoluble dietary fibre. Współczynnik korelacji statystycznie istotny na poziomie $p \leq 0,05$ / Correlation coefficient statistically significant at $p \leq 0.05$.

Tabela 5

Współczynniki korelacji pomiędzy lepkością pozorną 15 % zawiesin całościarnowej mąki owsianej (n = 6) a zawartością frakcji błonnika pokarmowego.

Coefficients of correlation between apparent viscosity of 15% water slurries of whole oat flour (n = 6) and the content of dietary fibre fraction.

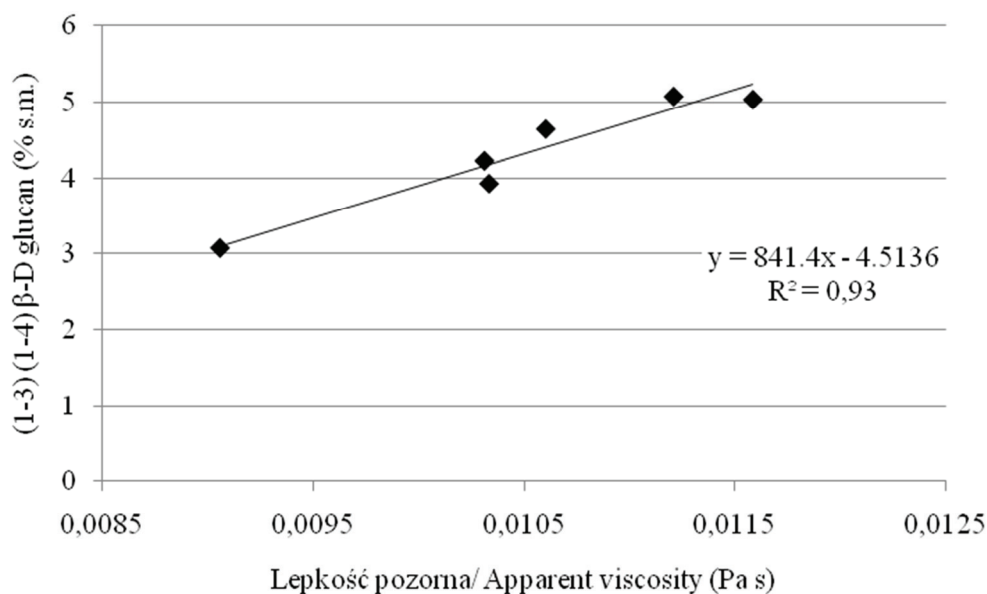
Frakcje błonnika pokarmowego Dietary fibre fraction	Czas stabilizacji [h] / Stabilization time [h]			
	0,5	1	1,5	2
Gradient prędkości ścinania 200 s ⁻¹ / Shear rate gradient 200 s ⁻¹				
(1-3) (1-4) β-D glucan	-0,37 p=0,473	0,82 p=0,047	0,46 p=0,358	0,60 p=0,21
TDF	-0,52 p=0,285	0,77 p=0,071	0,35 p=0,491	0,52 p=0,288
SDF	-0,22 p=0,669	0,63 p=0,177	0,80 p=0,058	0,86 p=0,03
IDF	-0,52 p=0,286	0,64 p=0,172	0,07 p=0,899	0,24 p=0,647
Gradient prędkości ścinania 400 s ⁻¹ / Shear rate gradient 400 s ⁻¹				
(1-3) (1-4) β-D glucan	-0,21 p=0,684	0,88 p=0,019	0,51 p=0,302	0,64 p=0,17
TDF	-0,42 p=0,411	0,81 p=0,051	0,38 p=0,46	0,54 p=0,266
SDF	-0,05 p=0,923	0,74 p=0,093	0,85 p=0,034	0,90 p=0,016
IDF	-0,47 p=0,343	0,63 p=0,176	0,07 p=0,89	0,25 p=0,637
Gradient prędkości ścinania 600 s ⁻¹ / Shear rate gradient 600 s ⁻¹				
(1-3) (1-4) β-D glucan	-0,19 p=0,722	0,92 p=0,01	0,54 p=0,269	0,68 p=0,141
TDF	-0,39 p=0,445	0,84 p=0,035	0,40 p=0,438	0,56 p=0,249
SDF	-0,03 p=0,958	0,72 p=0,106	0,87 p=0,023	0,93 p=0,008
IDF	-0,45 p=0,368	0,68 p=0,135	0,08 p=0,878	0,25 p=0,63
Gradient prędkości ścinania 800 s ⁻¹ / Shear rate gradient 800 s ⁻¹				
(1-3) (1-4) β-D glucan	-0,27 p=0,604	0,95 p=0,004	0,57 p=0,239	0,70 p=0,12
TDF	-0,53 p=0,277	0,87 p=0,023	0,41 p=0,415	0,57 p=0,234
SDF	-0,09 p=0,864	0,76 p=0,077	0,89 p=0,017	0,94 p=0,005
IDF	-0,59 p=0,214	0,7 p=0,121	0,10 p=0,858	0,26 p=0,615
Gradient prędkości ścinania 1000 s ⁻¹ / Shear rate gradient 1000 s ⁻¹				
(1-3) (1-4) β-D glucan	-0,16 p=0,768	0,94 p=0,005	0,61 p=0,2	0,72 p=0,105
TDF	-0,34 p=0,512	0,88 p=0,02	0,45 p=0,373	0,58 p=0,223
SDF	-0,05 p=0,921	0,74 p=0,094	0,91 p=0,011	0,96 p=0,003
IDF	-0,38 p=0,459	0,72 p=0,106	0,13 p=0,81	0,27 p=0,605
Gradient prędkości ścinania 1200 s ⁻¹ / Shear rate gradient 1200 s ⁻¹				
(1-3) (1-4) β-D glucan	-0,13 p=0,812	0,94 p=0,006	0,61 p=0,197	0,73 p=0,1
TDF	-0,32 p=0,54	0,9 p=0,016	0,45 p=0,371	0,59 p=0,216
SDF	0 p=1	0,68 p=0,14	0,91 p=0,011	0,96 p=0,002
IDF	-0,38 p=0,46	0,77 p=0,076	0,13 p=0,81	0,28 p=0,596

Objaśnienia: / Explanatory notes:

TDF – błonnik pokarmowy całkowity / total dietary fibre; SDF – błonnik pokarmowy rozpuszczalny / soluble dietary fibre; IDF – błonnik pokarmowy nierozpuszczalny / insoluble dietary fibre. Współczynnik korelacji statystycznie istotny na poziomie $p \leq 0,05$ / Correlation coefficient statistically significant $p \leq 0,05$.

Wydłużanie czasu stabilizacji (1,5 - 2 h) zawiesin o stężeniu 10 % wpływało na stopniowe zmniejszanie współczynnika korelacji. Po 1,5-godzinnej stabilizacji nie stwierdzono już istotnej korelacji ($p \leq 0,05$) pomiędzy lepkością a zawartością (1-3) (1-4) β -D-glukanów przy żadnym ze stosowanych gradientów prędkości ścinania. W przypadku 10 % zawiesin mąki owsianej po 0,5 h ich stabilizacji wystąpiła także istotna korelacja ($p \leq 0,05$) pomiędzy zawartością TDF a lepkością pozorną (tab. 4). Nie stwierdzono natomiast istotnej korelacji liniowej ($p \leq 0,05$) pomiędzy SDF i IDF a lepkością pozorną zawiesin o stężeniu 10 %.

Na rys. 2. przedstawiono zależność pomiędzy zawartością (1-3) (1-4) β -D-glukanów a lepkością pozorną 10 % zawiesin całościarnowej mąki owsianej, uwzględniającą parametry, przy których uzyskano najwyższy współczynnik korelacji, czas stabilizacji 0,5 h i gradient prędkości ścinania 1000 s^{-1} . Ponadto wyznaczono równanie regresji oraz określono współczynnik determinacji R^2 (rys. 2). Zawartość (1-3) (1-4) β -D-glukanów w produktach owsianych była objaśniona w około 93 % lepkością wodnych zawiesin całościarnowej mąki owsianej o stężeniu 10 % ($R^2 = 0,93$). Uzyskane zależności są zbliżone do wyników otrzymanych przez Mager i wsp. [14].



Rys. 2. Zależność pomiędzy zawartością (1-3) (1-4) β -D-glukanów a lepkością pozorną 10 % zawiesin razowych mąk owsianych – gradient prędkości ścinania 1000 s^{-1} , czas stabilizacji 0,5 h.

Fig. 2. Dependency between the content of (1-3) (1-4) β -D glucans and apparent viscosity of 10 % whole oat flour water slurries – shear rate gradient 1000 s^{-1} , stabilization time being 0.5 h.

Zwiększenie stężenia zawiesin całościarnowej mąki owsianej do 15 % nie powodowało zwiększenia siły zależności pomiędzy zawartością (1-3) (1-4) β -D-glukanów a ich lepkością pozorną (tab. 5). W porównaniu z wynikami 10 % zawiesin, nie stwierdzono istotnej korelacji ($p \leq 0,05$) pomiędzy zawartością (1-3) (1-4) β -D-glukanów a lepkością przy 0,5-godzinnej stabilizacji. Po 1 h stabilizacji znacząco wyższy współczynnik korelacji, w porównaniu z 10 % zawiesinami, uzyskano tylko przy gradencie prędkości ścinania 800 s^{-1} (wzrost z $r = 0,87$ do $r = 0,95$). W pozostałych przypadkach (gradient prędkości ścinania 200, 400, 600, 1000 i 1200 s^{-1}) współczynniki korelacji były zbliżone do wyników odnoszących się do 10 % zawiesin (tab. 4 i 5). Istotny współczynnik korelacji ($p \leq 0,05$) pomiędzy zawartością TDF a lepkością pozorną próbek o stężeniu 15 % stwierdzono po 1 h ich stabilizacji przy stosowaniu gradientu prędkości ścinania w zakresie $600 - 1200 \text{ s}^{-1}$.

W przypadku próbek o stężeniu 15 % stwierdzono także istotny współczynnik korelacji ($p \leq 0,05$) pomiędzy lepkością pozorną zawiesin a SDF po czasie stabilizacji wynoszącym 1,5 i 2 h. Wyższe wartości współczynników korelacji uzyskano po 2 h stabilizacji próbek o stężeniu 15 %. Wartości te mieściły się w zakresie od $r = 0,86$ do $r = 0,96$ i zwiększały się w zależności od zastosowanego gradientu prędkości ścinania (tab. 5). Analogicznie, jak w przypadku 10 % zawiesin mąk owsianych, również w odniesieniu do próbek o stężeniu 15 % nie stwierdzono istotnych współczynników korelacji ($p \leq 0,05$) pomiędzy lepkością pozorną a zawartością IDF (tab. 5).

W badaniach przeprowadzonych przez Svihus i wsp. [16] nie wykazano istotnej korelacji ($p \leq 0,05$) pomiędzy zawartością SDF a lepkością wodnych ekstraktów owsianych. Porównując wyniki badań własnych z wynikami Mager i wsp. [14] oraz Svihus i wsp. [17] można stwierdzić, że pomiary lepkości pozornej w zawiesinach całościarnowej mąki owsianej umożliwiają szacowanie zawartości błonnika pokarmowego i jego składników, podobnie jak pomiary lepkości w ekstraktach owsianych.

Wnioski

1. Stwierdzono, że wodne zawiesiny całościarnowych mąk owsianych wykazują niestabilność lepkości pozornej, która jest zależna od stężenia próbek, czasu ich stabilizacji i stosowanego w czasie pomiarów gradientu prędkości ścinania. Wykazano, że lepkość pozorna próbek mierzona po 2 h stabilizacji zawiesin jest wyższa od lepkości próbek mierzonej po 0,5 h stabilizacji.
2. Gradient prędkości ścinania wywiera różnokierunkowy wpływ na lepkość pozorną wodnych zawiesin całościarnowej mąki owsianej, w zależności od stosowanego czasu stabilizacji i stężenia. Podczas stabilizacji w zakresie od 0,5 do 1,5 h i stężeniu 10 % oraz przy czasie stabilizacji 0,5 h i stężeniu 15 % zawiesiny wykazywały właściwości cieczy dylatacyjnej. W pozostałych okresach stabilizacji badane zawiesiny wykazywały cechy cieczy pseudoplastycznej.

3. Lepkość pozorna wodnych zawiesin całościarnowej mąki owsianej jest skorelowana w największym stopniu z zawartością (1-3) (1-4) β -D-glukanów, co potwierdzono współczynnikami korelacji (Pearsona, $p \leq 0,05$).
4. Nie stwierdzono istotnej korelacji liniowej (Pearsona, $p \leq 0,05$) pomiędzy lepkością pozorną zawiesin całościarnowej mąki owsianej a zawartością nierozpuszczalnej frakcji błonnika pokarmowego.
5. Pomiary lepkości wodnych zawiesin całościarnowej mąki owsianej umożliwiają szacowanie zawartości (1-3) (1-4) β -D-glukanów w odmianach owsa pochodzenia krajowego. Zalecane parametry pomiaru lepkości pozornej to: 10 % stężenie próbki, gradient prędkości ścinania 1000 s^{-1} , temp. zawiesin $50 \text{ }^\circ\text{C}$ oraz czas stabilizacji 0,5 h. Współczynnik korelacji (Pearsona) pomiędzy lepkością pozorną zawiesin a zawartością (1-3) (1-4) β -D-glukanów w przypadku ww. parametrów pomiaru wynosił $r = 0,97$.

Literatura

- [1] Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists (AACC), St. Paul, Minnesota, 2000.
- [2] Brenelli S.L., Campos S.D.S., Saad M.J.A.: Viscosity of gums in vitro and their ability to reduce postprandial hyperglycemia in normal subjects. *Brazilian J. Med. Biol. Res.*, 1997, **30**, 1437-1440.
- [3] Danielson A.D., Newman R.K., Newman C.W., Berardinelli J.G.: Lipid levels and digesta viscosity of rats fed a high-fiber barley milling fraction. *Nutr. Res.*, 1997, **17**, 515-522.
- [4] Dikeman Ch.L., Fahey G.C. Jr.: Viscosity as related to dietary fibre. A review. *Critical Reviews in Food Sci. Nutr.*, 2006, **46**, 649-663.
- [5] Edwards C.A., Blackburn N.A., Draigner L., Davidson P., Tomlin J., Sugden K., Johnson I.T., Read N.W.: Viscosity of food gums determined in vitro related to their hypoglycemic actions. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1987, **46**, 72-77.
- [6] Friedrich M.: The effects of diet enrichment with hull-less oat cultivar on glucose, lipid, lipoprotein, fibrinogen, and estradiol contents in the blood of post-mastectomy women. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2003, **12** (53), 69-74.
- [7] Gallaher D. G., Hassel A. C.: The role of viscosity in the cholesterol-lowering effect of dietary fiber. In: *Dietary Fiber in Health and Disease*, Eagan Press, St. Paul, Minnesota, USA, 1995, pp. 106-114.
- [8] Gerhardt A.L., Gallo N.G.: Full-fat rice bran and oat bran similarly reduce hypercholesterolemia in humans. *J. Nutr.*, 1998, **128**, 865-869.
- [9] Hallfrisch J., Behall K.: Mechanisms of the effects of grains on insulin and glucose responses. *J. Am. Coll. Nutr.*, 2000, **19**, 320-325.
- [10] Jenkins D.J.A., Marchie A., Augustin L.S.A., Ros E., Kendall C.W.C.: Viscous dietary fibre and metabolic effect. *Clin. Nutr.*, 2004, **1** Suppl., 39-49.
- [11] Knuckles B.E., Chin M.M., Betschart A.A.: β -glucan – enriched fraction from laboratory – scale dry milling and sewing of barley and oats. *Cereal Chem.*, 1992, **69** (2), 198.
- [12] Lambo A.M., Öste R., Nyman M.E.G.: Dietary fibre in fermented oat and barley β -glucan rich concentrates. *Food Chem.*, 2005, **89**, 283-293.


- [13] Leclère C.J., Champ M., Boillot J., Guille G., Lecannu G., Molis C., Bornet F., Krempf M., Delort-Laval J., Galmiche J-P.: Role of viscous guar gums in lowering the glycemic response after a solid meal. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1994, **59**, 914-921.
- [14] Mager M., Kiryluk J., Szmyt Z., Konieczna E.: Określenie możliwości szacowania zawartości β -glukanów w produktach przemiału ziarna jęczmienia przez pomiar lepkości ich ekstraktów. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2003, **4 (37)**, 97-103
- [15] Reppas C., Dressman J.B.: Viscosity modulates blood glucose response to nutrient solutions in dogs. *Diabet. Res. Clin. Prac.*, 1992, **17**, 81-88.
- [16] Sadiq Butt M., Tahir-Nadeem M., Khan M.K.I., Shabir R., Butt M.S.: Oat: unique among the cereals. *Eur. J. Nutr.*, 2008, **47**, 68-79.
- [17] Svihus B., Edvardsen D.H., Bedford M.R., Gullord M.: Effect of methods of analysis and heat treatment on viscosity of wheat, barley and oats. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2000, **88**, 1-12.
- [18] Sykut-Domańska E.: Badanie wartości technologicznej dostępnych odmian i rodów owsa nagonasiennego i oplewionego (*Avena nuda*, *Avena sativa*) na cele spożywcze. Rozprawa doktorska. UP Lublin, 2010.
- [19] Vis R.B., Lorenz K.: β -Glucans: Importance in brewing and methods of analysis. *Lebensm. Wiss. U-Technol.*, 1997, **30**, 331-336.
- [20] Wood P.J., Braaten J., Scott F.W., Riedel K.D., Wolynetz M.S., Collins M.W.: Effect of dose and modification of viscous properties of oat gum on plasma glucose and insulin following an oral glucose load. *Br. J. Nutr.*, 1994, **72**, 731-743.

EVALUATION OF APPARENT VISCOSITY OF WHOLE OAT FLOUR WATER SLURRIES WITH DIFFERENT DIETARY FIBRE CONTENT

S u m m a r y

The paper presents the results of a research into the apparent viscosity of flour water slurries of whole oat flour. The whole oat flours were produced by grinding 6 oat varieties showing a different content of dietary fibre and its components, especially of the soluble dietary fraction (SDF) including (1-3) (1-4) β -D glucans. 10 and 15 % oat flour slurries were rheologically analysed; after the time-varying stabilization of slurries (0.5 - 2 h), the measurements were taken; the shear rate gradient varied (200-1200 s^{-1}). The apparent viscosity was measured using a spindle-type rotational rheometer with coaxial cylinders, i.e. a RM 180 Mettler Rheomat model.

It was found that the apparent viscosity of oat flour water slurries analyzed was instable during the stabilization (0.5 – 2 h). A significant increase in the viscosity occurred along with the elapsing of the stabilization time of slurries. It was proved that the impact of shear rate gradient on the apparent viscosity changed and depended on the stabilization time applied. The correlation (Pearson, $p \leq 0.05$) between the content of individual dietary fibre fractions and the apparent viscosity of slurries was analyzed and it was proved that the viscosity of slurries was correlated, to the highest degree, with the content of (1-3) (1-4) β -D-glucans.

Key words: whole oat flour, dietary fibre, (1-3) (1-4) β -D-glucans, apparent viscosity 

MAŁGORZATA PIECYK, MARTA SZEMBERG

WPLYW SIECIOWANIA NA WYBRANE WŁAŚCIWOŚCI SKROBI Z NASION GROCHU (*PISUM SATIVUM*)

Streszczenie

Skrobię izolowano z obłuszczonych i zmielonych nasion grochu odmiany Poa i Roch. Otrzymane preparaty niemodyfikowane (PSNM) poddawano modyfikacji chemicznej trimetafosforanem. W wyniku przeprowadzonej modyfikacji chemicznej do skrobi został podstawiony fosfor w ilości 50 mg/100 g w s.m. skrobi (Poa) i 80 mg/100 g w s.m. skrobi (Roch).

Skrobia z nasion grochu odmiany Poa charakteryzowała się około dwukrotnie wyższą strawnością (43 %) niż skrobia z nasion odmiany Roch (21 %). Pod wpływem modyfikacji nastąpił niewielki wzrost strawności skrobi w obu preparatach, zmniejszenie zawartości amylozy w skrobi i zmniejszenie powierzchni właściwej skrobi. Ponadto stwierdzono zmniejszenie się rozpuszczalności skrobi i zdolności wiązania wody w porównaniu ze skrobią wyjściową.

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

Wprowadzenie

Nasiona roślin strączkowych są źródłem wielu składników odżywczych oraz związków o dużej aktywności biologicznej. Pomimo dużej zawartości skrobi (22 - 45 %) charakteryzują się one niskim indeksem glikemicznym [4, 5, 18]. Jest to spowodowane małą przyswajalnością skrobi, która według licznych autorów wynika z obecności nienaruszonych struktur tkankowych otaczających ziarenka skrobi, wysokim udziałem amylozy (25 - 65 %), dużą zawartością rozpuszczalnych frakcji błonnika o dużej lepkości, typem krystaliczności C i silnymi interakcjami między łańcuchami amylozy [2, 18, 40].

Pomimo korzyści wynikających z obecności w diecie nasion roślin strączkowych, związanych nie tylko z zawartością skrobi o korzystnych walorach, ale również z powodu obecności wielu składników o dużej aktywności biologicznej, ich spożycie

Dr inż. M. Piecyk, mgr inż. M. Szemberg, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Jakości Żywności, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa

w Polsce nie jest duże, co wynika m.in. z długotrwałego przygotowywania nasion do konsumpcji, efektu gazotwórczego oraz niskich walorów sensorycznych. W literaturze zwraca się uwagę na zastosowanie nasion roślin strączkowych jako surowca do otrzymywania preparatów i izolatów białek i skrobi oraz błonnika będącego produktem procesów, którym poddawana jest skrobia [11]. Wśród nasion strączkowych najczęściej wykorzystywany jest do tego celu groch, z którego izolowana jest zarówno skrobia, jak i białka znajdujące zastosowanie w produkcji żywności [33]. Wykorzystanie ich w przemyśle w stosunku do analogicznych preparatów skrobiowych pozyskiwanych z innych źródeł jest niewielkie. Jednak niektóre badania wskazują, że skrobia wyizolowana z grochu charakteryzuje się mniejszą strawnością niż zawarta w nasionach. Piecyk i Godlewska [31] wykazały, w badaniach jednej odmiany grochu, że strawność skrobi po wyizolowaniu była mniejsza (44 %) niż zawartej w mące (58,7 %) i tendencja ta nie zmieniała się również po skleikowaniu. Niską strawność natywnej skrobi (od 15 do 35 %) wyizolowanej z nasion roślin strączkowych wykazali również Chavan i wsp. [1]. Na dobre właściwości żywieniowe skrobi grochu wskazują również badania prowadzone *in vivo* przez Seewi i wsp. [37], które wykazały, że zastosowane posiłki z wyizolowaną skrobią grochu (zupa z dodatkami smakowymi poddana gotowaniu przez 5 min) powodowały mniejszą hiperglikemię (-47 %) i hiperinsuline mię (-54 %) w porównaniu ze skrobią kukurydzianą modyfikowaną i niemodyfikowaną.

Niewielki udział skrobi grochowej w przemyśle spożywczym wynika z tego, że o jej zastosowaniu w produktach decydują właściwości funkcjonalne, a w przypadku natywnych skrobi z nasion strączkowych są one ograniczone. W zależności od końcowego zastosowania, jedną lub więcej tych właściwości, które mogą zostać uznane za niepożądane lub niewystarczające, można poprawić, stosując modyfikacje skrobi roślin strączkowych [3]. Tradycyjne metody modyfikacji skrobi obejmują zmiany jej struktury cząsteczkowej i nadcząsteczkowej w toku przemian fizycznych, chemicznych, enzymatycznych [23] bądź też kombinacji tych metod, przy czym najczęściej stosowane są metody chemiczne, gdyż są one najefektywniejsze [22]. Jedną z metod modyfikacji chemicznych jest sieciowanie, w wyniku którego otrzymywane są m.in. fosforany di-skrobiowe. Dostępne informacje na temat właściwości skrobi roślin strączkowych poddanych sieciowaniu nie są wystarczające, aby można było wnioskować o ich przydatności w przemyśle [33]. Jedyne informacje pochodzą z publikacji Deshpande i wsp. [3] oraz Hoovera i Sosulskiego [16], które dotyczyły skrobi poddanych modyfikacji tlenochlorkiem fosforu.

Jak wiadomo rodzaj użytego reagenta i warunki modyfikacji, jak również pochodzenie skrobi mają wpływ na właściwości skrobi modyfikowanej. Dlatego celem pracy było wyizolowanie skrobi z polskich odmian grochu i określenie wpływu

sieciowania skrobi trimetafosforanem sodu (TMF) na jej strawność oraz właściwości funkcjonalne.

Material i metody badań

Material badawczy stanowiła mąka z nasion grochu (*Pisum sativum*) dwóch odmian Poa i Roch, z której izolowano skrobię. W tym celu prowadzono ekstrakcję białek w środowisku o pH 10, następnie przemywano osad wodą i trzykrotnie alkoholem etylowym o wzrastającym stężeniu (30, 50 i 70 %), po czym suszono w temp. 22 - 25 °C, mielono i przesiewano przez sita o średnicy oczek 0,08 mm w celu uzyskania jednolitej granulacji końcowego produktu. Otrzymane preparaty niemodyfikowane (PSNM) poddawano modyfikacji chemicznej TMF w pH 10 wg metody Lima i Seiba [25]. W tym celu przygotowano roztwór składający się z siarczanu sodu (7,5 g), TMF (3 g) i wody (150 cm³), którego pH doprowadzano do 10 za pomocą 0,1 M NaOH. Do roztworu dodawano preparat skrobiowy (150 g) i po wymieszaniu korygowano pH zawiesiny do 10. Następnie doprowadzano masę zawiesiny do 500 g przez dodanie wody i mieszano przez 1 h w temp. 22 - 25 °C. Zawiesinę suszono w temp. 40 °C do końcowej zawartości wody na poziomie 10 - 15 %, a następnie ogrzewano przez 2 h w temp. 130 °C. Po ochłodzeniu do temp. pokojowej preparat rozpuszczano w wodzie destylowanej (350 cm³) i wirowano (1500 g, 10 min). Czynność tę powtarzano trzykrotnie i na koniec doprowadzano pH zawiesiny do 6,5, po czym suszono ją w temp. 40 °C, otrzymując preparaty skrobi modyfikowanej chemicznie (PSMCH). Jednocześnie w ten sam sposób przygotowywano skrobię (PSM), ale bez czynnika modyfikującego TMF, aby określić ubytek natywnego fosforu i wyznaczyć faktyczny stopień wbudowania fosforu podczas modyfikacji. Jego ilość oznaczano we wszystkich preparatach po uprzedniej mineralizacji na mokro metodą Fiske-Subbarowa.

We wstępnych badaniach przeprowadzono charakterystykę chemiczną, oznaczając zawartość skrobi polarymetrycznie oraz znormalizowanymi metodami zawartość azotu i związków mineralnych w postaci popiołu. Oznaczano również pozorną zawartość amylozy metodą spektrofotometryczną z jodem [29], mierząc absorbancję przy długości fali $\lambda = 635$ nm oraz oznaczano powierzchnię właściwą skrobi na podstawie zmniejszenia absorbancji roztworu 0,6 % błękitu metylenowego ($\lambda = 600$ nm) w wyniku zaadsorbowania barwnika na powierzchni skrobi [7].

W preparatach modyfikowanych i próbkach wyjściowych oznaczano zdolność wiązania wody i rozpuszczalność wg Leacha i wsp. [21].

Strawność skrobi *in vitro* oznaczano metodą Muir i O'Dea [30] zmodyfikowaną przez Galińskiego i wsp. [10]. Przygotowywano równolegle dwie naważki preparatów zawierające około 100 mg skrobi, które mieszano z 0,15 cm³ śliny, a następnie dodawano do nich 1cm³ roztworu pepsyny (1 g / 0,02 M HCl, pH 2,0), po czym inkubowano

w temp. 37 °C przez 30 min. Po ochłodzeniu roztwór neutralizowano 0,1 M NaOH, i dodawano 5 cm³ buforu octanowego (0,2 M, pH 4,9). Do jednej z próbek (oznaczanie skrobi łatwo trawionej – RDS i wolnej glukozy – FG) dodawano 1 cm³ mieszaniny trawiącej (25 U amyloglukozydazy, Merck, 75 U/mg, oraz 10 mg pankreatyny, Sigma, P 1500) i inkubowano 6 h w temp. 37 °C, po czym wirowano (1500 g, 10 min). Supernatant zbierano, natomiast osad trzykrotnie przemywano buforem octanowym (1,5 cm³), za każdym razem odwirowując. Supernatant z pierwszego wirowania i przemywania łączono i wykorzystywano do oznaczenia (RDS+FG). W drugiej równoległej próbie oznaczano skrobię całkowitą i wolną glukozę (TS + FG). W tym przypadku prowadzono trawienie po dodaniu mieszaniny trawiącej przez 17 h w temp. 37 °C, a następnie kontynuowano po dodaniu Termamylu 120L (0,1 cm³, 30 min, t = 100 °C). Po odwirowaniu zbierano supernatant, a osad rozpuszczano w DMSO (1 cm³, 60 min, t = 100 °C). Rozpuszczony osad łączono z supernatantem, dodawano 2 cm³ mieszaniny trawiącej i inkubowano (60 min, t = 50°C), po czym odwirowano. Glukozę uwolnioną podczas trawienia oznaczano po reakcji z kwasem dinitrosalicylowym, mierząc absorbancję w spektrofotometrze (Shimadzu, UV-1201V) przy $\lambda = 550$ nm. Po hydrolizie wyliczano stosunek RDS+FG/TS + FG. Końcową wartość wyrażano w procentach.

Wszystkie analizy wykonano w trzech powtórzeniach, a otrzymane wyniki podano analizie statystycznej przy użyciu programu Statgraphics wersja Plus 4.1. Ocenę istotności różnic pomiędzy wartościami średnimi wykonano testem LSD przy $p < 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Modyfikacji poddano preparaty PSNM, charakteryzujące się dość dużą zawartością skrobi, zbliżoną w obu odmianach, która wynosiła 82,70 % s.m. w PSNM z Poa i 81,78 % s.m. z odmiany Roch (tab. 1). Jednak uzyskane wartości są mniejsze od rezultatów uzyskanych przez Morada i wsp. [28] w badaniach preparatów skrobiowych otrzymanych z różnych roślin strączkowych (od 90,8 % w bobie do 91,3 - 91,5 % w soczewicy i grochu żółtym) oraz uzyskanych w badaniach grochu tj. 92,5 % [31]. Może to świadczyć o niedokładnym usunięciu substancji towarzyszących, na co wskazuje m.in. oznaczona wysoka zawartość azotu, która wynosiła w PSNM z odmiany Poa 0,30 % natomiast z odmiany Roch 0,58 %, podczas gdy w literaturze w wyizolowanej skrobi grochu podawana jest na poziomie np. 0,19 % [39] czy nawet 0,07 - 0,09 % [1]. Podobnie zawartość popiołu była wyższa w porównaniu z danymi literaturowymi, ponieważ wynosiła 1,11 % w PSNM z Poa i 0,97 % w PSNM z odmiany Roch, podczas gdy Hoover i Sosulski [15] podają znacznie mniejszą zawartość popiołu w wyizolowanej skrobi z nasion roślin strączkowych, która mieści się w granicach 0,05 -

0,67 %. Podobną zawartość popiołu w skrobi grochu (ok. 0,5 %) podaje Gujska i wsp. [12], a Morad i wsp. [28] - 0,62 %.

Duża zawartość popiołu w porównaniu z danymi literaturowymi może wskazywać na obecność w preparatach skrobiowych pozostałości łusek nasiennych bogatych w składniki mineralne, natomiast duża zawartość azotu w badanych preparatach wskazuje na niecałkowite usunięcie białek. Izolacja skrobi z nasion grochu jest trudna z powodu obecności nierozpuszczalnych białek oraz błonnika, które ograniczają sedymentację i opadają ze skrobią. Stosowana na skalę przemysłową klasyfikacja pneumatyczna jest mniej skuteczna niż izolacja mokra stosowana w laboratoriach. Jednak ta ostatnia wymaga wielokrotnego przemywania wodą połączonego z traktowaniem roztworami alkalicznymi w celu dokładnego usunięcia białek [12]. Pominięcie wstępnego przemywania wodą w izolacji skrobi w porównaniu z poprzednimi badaniami [32] skutkowało mniej skutecznym usunięciem składników towarzyszących.

Tabela 1

Charakterystyka preparatów niemodyfikowanych (PSNM).
Profile of non-modified preparations (PSNM).

Źródło skrobi Source of starch	Wilgotność [%] Moisture [%]	Zawartość skrobi [% s.m.] Content of starch [% d.m.]	Zawartość popiołu [% s.m.] Content of ash [% d.m.]	Zawartość azotu [% s.m.] Content of nitrogen [% d.m.]
Groch odmiany Poa Poa pea variety	9,36 ^a (± 0,16)	82,70 ^a (± 0,38)	1,11 ^a (± 0,04)	0,38 ^a (± 0,01)
Groch odmiany Roch Roch pea variety	5,77 ^c (± 0,17)	81,78 ^c (± 0,01)	0,97 ^c (± 0,06)	0,58 ^c (± 0,01)

Objaśnienia: / Explanatory notes:

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

W wyniku zastosowanej modyfikacji skrobi trimetafosforanem sodu nastąpiło wbudowanie w jej łańcuchy reszt fosforanowych, jednak efektywność tego procesu zależała od odmiany nasion, z których była izolowana. Przeprowadzone badania wskazują, że proces modyfikacji przebiegał efektywniej w skrobi z nasion odmiany Roch niż z odmiany Poa (tab. 2).

W literaturze podawane są różne ilości fosforu wbudowanego podczas modyfikacji trimetafosforanem. Może się ona wahać od 2 mg fosforu [9] do 75 mg [8]. Porównując uzyskane wyniki z danymi literaturowymi można stwierdzić, że proces modyfi-

kacji przebiegał z dużą efektywnością. Stopień modyfikacji skrobi jest uzależniony od warunków, takich jak: pH, temperatura, rodzaj i dawka reagenta, także od rodzaju modyfikacji oraz od rodzaju skrobi i jej powierzchni właściwej [9, 25]. Duży wpływ na stopień wbudowania fosforu do cząsteczek skrobi ma pH oraz rodzaj reagenta. Według Lima i Seiba [25] w pH = 10,0 przy zastosowaniu TMF podczas reakcji sieciowania, czyli w takich warunkach, które były zastosowane w pracy, najlepiej zachodzi proces wbudowywania reszt kwasu fosforowego.

Tabela 2

Zawartość fosforu w preparatach skrobi niemodyfikowanych (PSNM), modyfikowanych bez TMF (PSM) i z TMF (PSMCH).

Content of phosphorus in non-modified starch preparations (PSNM), in modified without TMF (PSM) and with TMF (PSMCH).

Źródło skrobi Source of starch	Zawartość fosforu [mg/100 g s.m. skrobi] Content of phosphorus [mg/100 g d.m. of starch]		
	PSNM	PSM	PSMCH
Groch odmiany Poa Poa pea variety	89 ^a (± 1)	87 ^a (± 2)	137 ^b (± 1)
Groch odmiany Roch Roch pea variety	81 ^a (± 1)	70 ^b (± 2)	150 ^c (± 1)

Objaśnienia: / Explanatory notes:

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

Badania wskazują również na wpływ rodzaju nasion na ilość wbudowanego fosforu [5, 9]. Jednym z czynników może być różnica wielkości i budowy ziarenek skrobiowych, a zwłaszcza wielkości powierzchni właściwej, która decyduje o reaktywności chemicznej skrobi. Na podstawie uzyskanych wyników można zauważyć, że powierzchnia właściwa miała wpływ na stopień modyfikacji, ponieważ w skrobi z odmiany Roch, której powierzchnia była większa (4,83 m²/g) niż z odmiany Poa (4,13 m²/g) obserwowano większy stopień wbudowania fosforu. Porowatość ziaren skrobiowych pozostaje w dość ścisłej zależności z ich reaktywnością zachodzącą pod wpływem czynników fizycznych, chemicznych i enzymatycznych. Po modyfikacji obserwowano zmniejszenie się powierzchni właściwej skrobi w obu PSMCH, przy czym było ono większe w skrobi z nasion odmiany Poa (o 47 %) niż Roch (o 27 %). Badania powierzchni ziaren skrobi ziemniaczanej sieciowanej POCl₃, prowadzone techniką SEM, nie wykazały większych zmian, ponieważ pozostawały one nadal gład-

kie i podobne do ziaren natywnych [19]. Jednak badania powierzchni właściwej skrobi wykazały, że podczas fosforylacji jej wielkość się zwiększa w przypadku skrobi ziemniaczanej pszennej i owsianej, natomiast w kukurydzianej pozostaje bez zmian [6], a więc zmiany te w dużym stopniu zależą od pochodzenia skrobi.

Tabela 3

Charakterystyka chemiczna preparatów skrobiowych niemodyfikowanych (PSNM) i modyfikowanych (PSMCH).
Chemical profile of non-modified starch preparations (PSNM) and modified starch preparations (PSMCH).

Źródło skrobi Source of starch	Rodzaj preparatu Type of preparation	Zawartość amylozy [% s.m. skrobi] Content of amylose [% d.m. of starch]	Powierzchnia właściwa [m ² /g] Specific surface [m ² /g]
Groch odmiany Poa Poa pea variety	PSNM	30,10 ^a (± 0,11)	4,13 ^a (± 0,18)
	PSMCH	28,23 ^b (± 0,18)	2,18 ^b (± 0,18)
Groch odmiany Roch Poa pea variety	PSNM	33,14 ^c (± 0,16)	4,83 ^c (± 0,21)
	PSMCH	23,93 ^d (± 0,10)	3,48 ^d (± 0,17)

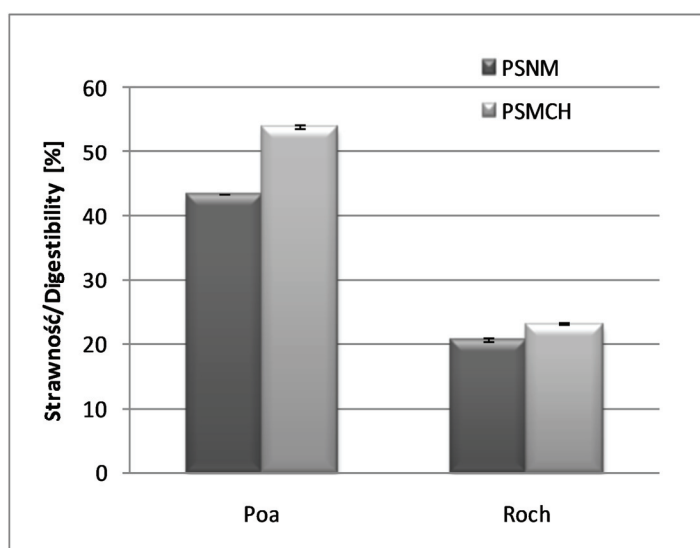
Objaśnienia: / Explanatory notes:

± – odchylenie standardowe / standard deviation;

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

Przeprowadzone badania PSNM wykazały istotne różnice odmianowe pod względem zawartości amylozy (tab. 3), która wynosiła 30,10 % w skrobi z grochu odmiany Poa i 33,14 % w skrobi z grochu odmiany Roch, ale są one zbliżone do wartości podawanych przez różnych autorów [1, 12, 34, 39]. W wyniku sieciowania nastąpiło znaczne zmniejszenie zawartości amylozy. W skrobi z nasion odmiany Poa wynosiła ona 28,23 %, natomiast z odmiany Roch – 23,93 %. Zmniejszanie się zawartości amylozy podczas fosforylacji w skrobi stwierdzili Fortuna i Juszczak [6], przy czym stopień ubytku zależał od jej pochodzenia botanicznego. Największy ubytek amylozy występował w skrobi ryżowej (z 23,4 do 16,9 %). Jednocześnie wymienieni autorzy stwierdzili zmniejszenie jej w skrobi przygotowanej w analogiczny sposób, jak skrobi fosforylowanej, ale bez czynnika modyfikującego. Autorzy tłumaczyli to wpływem warunków modyfikacji tj. środowiska alkalicznego i temperatury. Zmniejszanie się ilości amylozy w procesie fosforylacji skrobi ryżu zaobserwowali również Lin i wsp. [26]. Stwierdzili oni, że zmiana temperatury modyfikacji, wpływająca na wzrost pod-

stawienia fosforem, powodowała jednocześnie większe zmniejszenie zawartości amylozy. Dlatego prawdopodobnie większa efektywność modyfikacji skrobi z odmiany Roch wpłynęła na większy ubytek ilości amylozy. Należy również wziąć pod uwagę fakt, że wyniki uzyskiwane zastosowaną w pracy metodą Morrisona i Laigneleta [29] pozwalają na wyznaczenie tzw. pozornej zawartości amylozy, ponieważ tłuszcz związany ze skrobią może wpływać na uzyskiwane rezultaty i w efekcie wyniki te mogą być obciążone pewnym błędem.



Rys. 1. Strawność skrobi w preparatach skrobiowych niemodyfikowanych (PSNM) i modyfikowanych chemicznie (PSMCH).

Fig.1. Digestibility of starch in non-modified preparations (PSNM) and in chemically modified preparations (PSMCH).

Strawność skrobi w PSNM z nasion odmiany Poa kształtowała się na poziomie 43,4 %, natomiast odmiany Roch była o połowę mniejsza i wynosiła 20,7 % (rys. 1). Otrzymane wyniki są zbliżone do rezultatów uzyskanych przez Marconiego i wsp. [27] w badaniach skrobi zawartej w surowych nasionach roślin strączkowych (27,5 i 35,6 %) oraz przez Sandhu i Lima [35] w badaniach skrobi wyizolowanej z nasion (21,1 - 49,7 %), a jednocześnie niższe od otrzymanych w badaniach skrobi z nasion strączkowych przez Chunga i wsp. [2] tj. 81,6 - 91,9 %. Znaczne różnice pomiędzy przytoczonymi badaniami wynikają nie tylko z różnego pochodzenia skrobi, ale są spowodowane różnorodnością stosowanych metod oznaczania strawności wykorzystujących enzymy o różnym stężeniu i pochodzeniu [17]. Jednak liczne badania wykazały, że skrobia zawarta w nasionach roślin strączkowych charakteryzuje się małą strawnością, co jest spowodowane obecnością nienaruszonych struktur tkankowych otaczają-

cych ziarenka skrobi, wysokim udziałem amylozy (25 - 65 %), dużą zawartością rozpuszczalnych frakcji błonnika o dużej lepkości, typem krystaliczności C i silnymi interakcjami między łańcuchami amylozy [2, 17, 40].

Modyfikacja wpłynęła w niewielkim stopniu, choć istotnie, na wzrost strawności w obu przypadkach i w efekcie strawność skrobi z nasion odmiany Poa wynosiła 53,9 %, a Roch 23,1 %.

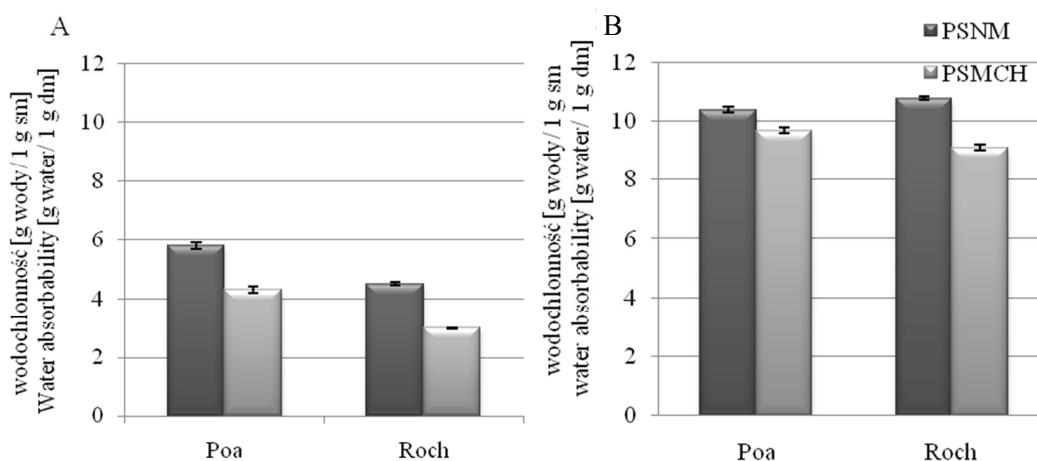
Poszukiwanie metod modyfikacji skrobi, które umożliwiłyby obniżenie jej indeksu glikemicznego poprzez zwiększenie udziału skrobi wolno trawionej i skrobi odpornej zwróciły również uwagę na skrobie modyfikowane chemicznie. Przeprowadzone w ostatnich latach badania zarówno skrobi handlowych, jak i otrzymanych w laboratoriach, wskazują na niewielkie zmiany strawności lub szybkości trawienia w stosunku do skrobi natywnych [13, 20, 38]. Badania te dotyczyły skrobi ziemniaczanej, kukurydzianej i tapiokowej, jednak trudno ich rezultaty porównywać ze względu na stosowane różne metody oznaczania strawności. W badaniach Le Than i wsp. [20], podczas trawienia α -amylazą trzustkową oraz glukoamylazą w ciągu 16 h w przypadku fosforanów diskrobiowych, nie wykazano znaczących różnic w porównaniu ze skrobią niemodyfikowaną, a pod koniec trawienia była ona na tym samym poziomie. Podobne rezultaty uzyskali Wolf i wsp. [38], którzy w badaniach strawności, metodą Muir i Odea, skrobi woskowej nie stwierdzili zmian w porównaniu ze skrobią niemodyfikowaną. Natomiast większe różnice obserwowali Han i BeMiller [13] w badaniach sieciowanej skrobi kukurydzianej. Badając udział poszczególnych frakcji skrobi po procesie modyfikacji stwierdzili zmniejszenie strawności po 120 min trawienia (o 12,8 %) w wyniku utworzenia się skrobi odpornej. Jednocześnie obserwowali korzystne zmiany we frakcjach skrobi szybko trawionej i wolno trawionej, gdyż stwierdzili wzrost udziału tej ostatniej frakcji, korzystnej pod względem żywieniowym. Natomiast jedyne badania strawności fosforanów diskrobiowych otrzymanych ze skrobi wyizolowanej z nasion strączkowych przeprowadzone przez Hoovera i Sosulskiego [16] wykazały zmniejszenie się strawności po modyfikacji.

Obserwowany w pracy wzrost strawności sieciowanej skrobi grochowej może wynikać ze zmian w strukturze skrobi. Według Zhou i wsp. [40] jednym z takich czynników hamujących działanie α -amylazy jest powstawanie nowych obszarów krystalicznych podczas hydrolizy w wyniku retrogradacji amylozy, a powstające struktury są bardziej odporne na trawienie. Dlatego obserwowane w PSMCH znaczne zmniejszenie zawartości amylozy mogło mieć decydujący wpływ na wzrost strawności skrobi. Ponadto badania ^{31}P NMR sieciowanej skrobi pszennej przeprowadzone przez Sang i wsp. [36] wskazują, że po modyfikacji TMF w skrobi oprócz estrów diskrobiowych powstawać mogą również monofosforany. Po potraktowaniu tych skrobi wodorotlenkiem sodu (pH 12) hydrolizie ulegają monofosforany, czemu towarzyszy niewielki wzrost strawności. Dlatego prawdopodobne jest, że zastosowane w pracy warunki mo-

dyfikacji prowadzące z jednej strony do niewielkiego usunięcia natywnych monofosforanów i do otrzymania głównie estrów diskrobiowych, z drugiej strony miały również wpływ na wzrost strawności skrobi.

Zdolność wiązania wody w preparatach wyjściowych kształtowała się w temp. 60 °C na poziomie 5,8 g H₂O/g próbki PSNM z nasion odmiany Poa i 4,5 g H₂O/g próbki PSNM z odmiany Roch (rys. 2). Podobne rezultaty w badaniach skrobi grochu uzyskał również Li i Yeh [24], tj. ok. 5 g H₂O/g w 55 °C, ok. 10 g H₂O/g w 75 °C oraz 13 g H₂O/g w 95 °C. Modyfikacja skrobi wpłynęła istotnie na zmniejszenie zdolności wiązania wody przez preparaty skrobiowe i jej wartość zmniejszyła się do 4,33 g H₂O/g próbki PSMCH z nasion Poa i 2,98 g H₂O/g próbki PSMCH z odmiany Roch.

Wodochłonność wszystkich badanych preparatów w temp. 80 °C zwiększyła się tj. w PSNM z nasion odmiany Poa wynosiła 10,39 g H₂O/g próbki, natomiast z odmiany Roch 10,79 g H₂O/g próbki. W preparatach modyfikowanych z TMF również obserwowano jej wzrost do 9,96 g H₂O/g próbki (Poa) i do 9,10 g H₂O/g próbki (Roch), ale była ona mniejsza niż w PSNM.



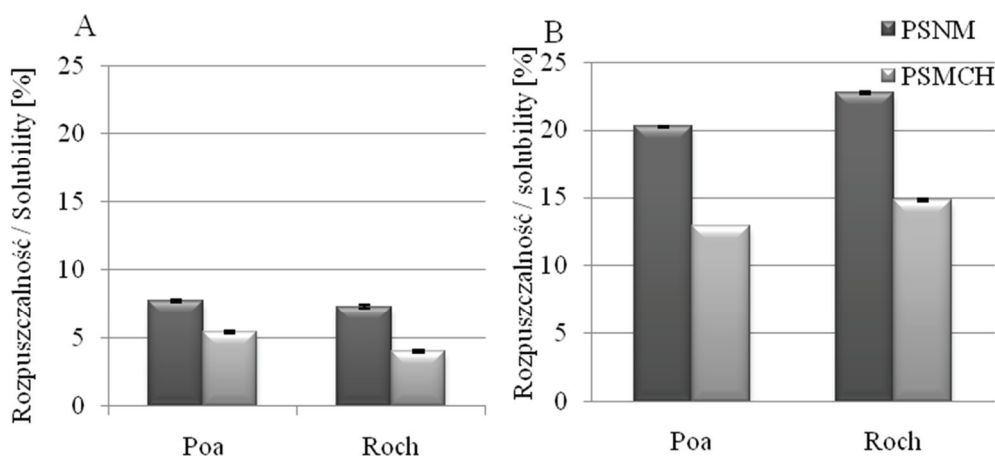
Rys. 2. Wodochłonność preparatów skrobiowych niemodyfikowanych (PSNM) i modyfikowanych chemicznie (PSMCH) w temperaturze 60 °C (A) i 80 °C (B).

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

Zmniejszanie się wodochłonności skrobi w wyniku sieciowania znajduje potwierdzenie w literaturze, przy czym wielkość obniżenia jest uzależniona od pochodzenia botanicznego skrobi, która była poddana modyfikacji. Badania skrobi ziemniaczanej i pszennej poddanej sieciowaniu TMF wykazały zmniejszenie zdolności wiązania wody w obu przypadkach, przy czym było ono większe w przypadku skrobi ziemniaczanej i zwiększało się wraz ze wzrostem podstawienia fosforem [9]. Natomiast badania

skrobi fasolowej modyfikowanej tlenochlorkiem fosforu wykazały niewielkie zwiększenie zdolności wiązania wody po modyfikacji [3]; autorzy ci nie sprawdzali jednak efektywności procesu modyfikacji, a jak wskazują poprzednie przytoczone badania ma ona kluczowe znaczenie dla tej właściwości skrobi.

Rozpuszczalność skrobi niemodyfikowanej z odmiany Poa kształtowała się na poziomie 7,75 % w temp. 60 °C, natomiast z odmiany Roch była mniejsza i wynosiła 7,32 %. Dane literaturowe podają różne wartości rozpuszczalności skrobi z roślin strączkowych. Hoover i Sosulski [15] otrzymali preparaty skrobiowe z nasion fasoli, których rozpuszczalność w temp. 60 °C była mniejsza od tych otrzymanych w pracy i wynosiła 3,5 %. Natomiast Gujska i wsp. [12] otrzymali preparaty z grochu i fasoli, których rozpuszczalność w temp. 60 °C wynosiła odpowiednio około 0,5 i 1,5 %. Skrobie natywne roślin strączkowych charakteryzują się więc małą rozpuszczalnością w porównaniu ze skrobią z innych źródeł np. skrobia ziemniaczana wykazuje rozpuszczalność na poziomie 10 %, ale wartości uzyskane w niniejszej pracy są zbliżone do podawanej rozpuszczalności skrobi pszennej tj. około 7 % [9].



Rys. 3. Rozpuszczalność preparatów skrobiowych niemodyfikowanych (PSNM) i modyfikowanych chemicznie (PSMCH) w temperaturze 60 °C (A) i 80 °C (B).

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

Modyfikacja wpłynęła na zmniejszenie rozpuszczalności w temp. 60 °C obu PSMCH i wynosiła 5,43 % (Poa) i 4,01 % (Roch). Wzrost temp. z 60 do 80 °C spowodował prawie 3-krotny wzrost rozpuszczalności skrobi w obu preparatach niemodyfikowanych – do 20,26 % (Poa) i do 22,73 % (Roch). Wzrost temp. z 60 do 80 °C spowodował również wzrost rozpuszczalności skrobi w PSMCH, ale była ona mniejsza niż w preparatach niemodyfikowanych.

Dane literaturowe potwierdzają mniejszą rozpuszczalność skrobi sieciowanej w stosunku do skrobi natywnych w obydwu badanych wartościach temperatury np. po modyfikacji tlenochlorkiem fosforu Deshpande i wsp. [3] dowiedli zmniejszenia rozpuszczalności skrobi w temp. 60 °C z 4 do 2,5 %. Również sieciowanie skrobi z innych źródeł wpływa na zmniejszenie rozpuszczalności, co wykazała w badaniach skrobi ziemniaczanej i pszennej Fortuna [9].

Na zdolność wiązania wody oraz rozpuszczalność skrobi mają wpływ takie czynniki, jak: obecność kompleksów amylozy z tłuszczami, struktura molekularna amylopektyny, siła związania sieci miceli oraz długość łańcuchów amylopektyny [12, 14]. Sieciowanie skrobi zwiększa integralność jej ziaren poprzez wytworzenie wiązań między łańcuchami skrobi. Wraz ze zwiększaniem się usieciowania skrobi zmniejsza się jej rozpuszczalność i zdolność wiązania wody [9, 20, 25].

Podsumowanie

Sieciowanie skrobi wyizolowanej z grochu trimetafosforanem sodu wpłynęło na:

- niewielki wzrost strawności skrobi w obu preparatach,
- ubytek ilości amylozy w skrobi i zmniejszenie powierzchni właściwej skrobi.
- zmniejszenie się rozpuszczalności skrobi i zdolności wiązania wody w porównaniu ze skrobią wyjściową.

Literatura

- [1] Chavan U.D., Shahidi F., Hoover R., Perera C.: Characterization of beach pea (*Lathyrus maritimus* L.) starch. Food Chem., 1999, **65**, 61-70
- [2] Chung H.-J., Liu Q., Donner E., Hoover R., Warkentin T.D., Vandenberg B.: Composition, molecular structure, properties, and in vitro digestibility of starches from newly released Canadian pulse cultivars. Cereal Chem., 2008, **85**, 471-479.
- [3] Deshpande S.S., Sathe S.K., Rangnekar P.D., Salunkhe D.K.: Functional properties of modified black gram (*Phaseolus mungo* L.) Starch. J. Food Sci., 1982, **47**, 1528-1533, 1602.
- [4] Englyst H.N., Veenstra J., Hudson G.J.: Measurement of rapidly available glucose (RAG) in plant foods: a potential *in vitro* predictor of the glycaemic response. Br. J. Nutr., 1996, **75**, 327-337.
- [5] Fortuna T., Juszcak L., Pałasiński M.: Change in the granule porosity on modification of starch. Żywność. Technologia. Jakość, 1998, **17**, 124-130.
- [6] Fortuna T., Juszcak L.: Susceptibility of various starches to phosphorylation. Pol. J. Food Nutr. Sci., 1997, **47**, 19-25.
- [7] Fortuna T., Januszewska R., Wąchlewski T.: Metoda kolorymetrycznego oznaczania powierzchni właściwej skrobi różnego pochodzenia. Zesz. Nauk. AR w Krakowie. Technol. Żywności, 1996, **8**, 6-9.
- [8] Fortuna T., Juszcak L., Tobiasz E.: Characterisation of barley starches and their modified preparation. Pol. J. Food Nutr. Sci., 2001, **2**, **51**, 63-67.
- [9] Fortuna T.: Wpływ czasu trwania modyfikacji na właściwości fosforanów dwuskrobiowych. Zesz. Nauk. AR w Krakowie, 1996, **309**, 51-63.

- [10] Galiński G., Gawęcki J., Lewandowicz G.: Strawność *in vitro* skrobi natywnych i modyfikowanych bez i z dodatkiem środków słodzących. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2000, **3** (24), 69-77.
- [11] Guillon F., Champ M. M.-J.: Carbohydrate fractions of legumes: uses in human nutrition and potential for health. Br. J. Nutr., 2002, **88**, S3, 293-S306
- [12] Gujska E., Reinhard W., Khan K.: Physicochemical properties of Field Pea, Pinto and Navy Bean starches. J. Food Sci., 1994, **59** (4), 634-636, 651.
- [13] Han J.-A., BeMiller J.N.: Preparation and physical characteristic of slowly digesting modified food starches. Carbohydr. Polym., 2007, **67**, 366-374.
- [14] Hoover R., Ratnayake W.S.: Starch characteristics of black bean, chick pea, lentil, navy bean and pinto bean cultivars grown in Canada. Food Chem., 2002, **78**, 489-498.
- [15] Hoover R., Sosulski F.: Composition, structure, functionality and chemical modification of legume starches: a review. Can. J. Physiol. Pharm., 1991, **69**, 79-92.
- [16] Hoover R., Sosulski F.: Effect of cross-linking on functional properties of legume starches. Starch, 1986, **38**, 149-155.
- [17] Hoover R., Zhou Y.: *In vitro* and *in vivo* hydrolysis of legume starches by α -amylase and resistant starch formation in legumes – a review. Carbohydr. Polym., 2003, **54**, 401-417.
- [18] Jenkins D.J., Kendall C.W., Augustin L.S., Franceschi S., Hamidi M., Marchie A., Jenkins A.L., Axelson M.: Glycemic index: overview of implications in health and disease. Am J Clin Nutr., 2002, **76**, 266-273.
- [19] Kaur L., Singh J., Singh N.: Effect of cross-linking on some properties of potato (*Solanum tuberosum* L.) starches. J. Sci. Food Agric., 2006, **86**, 1945-1954.
- [20] Le Than J., Błaszczak W., Lewandowicz G.: Digestibility vs structure of food grade modified starches. EJPAU, 2007, **10** (3), #10.
- [21] Leach H.W., Mc Cowen L.D., Schoch T.J.: Structure of the starch granule. I. Swelling and solubility patterns of various starches. Cereal Chem., 1959, **36**, 534-537.
- [22] Leszczyński W.: Zróżnicowanie właściwości skrobi. Przem. Spoż., 2001, **3**, 38-40.
- [23] Lewandowicz G., Grajek W.: Możliwość modyfikacji skrobi metodami inżynierii genetycznej. Przem. Spoż., 2004, **11**, 16-20, 50.
- [24] Li J.-Y.; Yeh A.-I.: Relationships between thermal, rheological characteristics and swelling power for various starches. J. Food Eng., 2001, **50**, 141-148
- [25] Lim S., Seib P. A.: Preparation and pasting properties of wheat and corn starch phosphates. Cereal Chem., 1993, **2**, 70, 137-144.
- [26] Lin Q., Xiao H., Zhao J., Li L., Yu F.: characterization of the pasting, flow and rheological properties of native and phosphorylated rice starch. Starch, 2009, **61**, 709-715.
- [27] Marconi E, Ruggeri S., Cappelloni M., Leonardi D, Carnovale E.: Physicochemical, nutritional, and microstructural characteristics of chickpeas (*Cicer arietinum* L.) and common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) following microwave cooking. J. Agric. Food Chem., 2000; **48** (12), 5986-94.
- [28] Morad M.M., Leung H.K., Hsu D.L., Finney P.L.: Effect of germination on physicochemical and bread-baking properties of yellow pea, lentil and Faba bean flours and starches. Cereal Chem., 1980, **57** (6), 390-396.
- [29] Morrison W.B., Laignelet B.: An important colorimetric procedure for determining apparent and total amylose in cereal and other starches. J. Cereal Sci., 1983, **1**, 19-20.
- [30] Muir J.G., O'Dea K.: Measurement of resistant starch: factor affecting the amount of starch escaping digestion *in vitro*. Am. J. Clin. Nutr., 1992, **56**, 123-127.
- [31] Piecyk M., Godlewska M., Wpływ izolacji i obróbki termicznej na strawność skrobi grochu. Nauka, Przym. Technol., 2009, **3**, 4, 134.

- [32] Piecyk M., Konarzewska M., Sitkiewicz I.: Wpływ modyfikacji hydrotermicznej typu annealing na wybrane właściwości skrobi grochu (*Pisum sativum*). *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, 5, (66), 58-71.
- [33] Ratanayake W.S., Hoover R., Warkentin T.: Pea starch: composition, structure and properties – a review. *Starch*, 2002, 54, 217-234.
- [34] Ratnayake W.S., Hoover R., Shahidi F., Perera C., Jane J.: Composition, molecular structure and physicochemical properties of starches from four field pea (*Pisum sativum* L.) cultivars. *Food Chem.*, 2001, 74, 789-202.
- [35] Sandhu K.S., Lim S-T.: Digestibility of legume starches as influenced by their physical and structural properties. *Carbohydr. Polym.*, 2008, 71, 245-252.
- [36] Sang Y., Seib P.A., Herrera A.I., Prakash O., Shi Y-Ch.: Effects of alkaline treatment on the structure of phosphorylated wheat starch and its digestibility. *Food Chem.*, 2010, 118, 323-327.
- [37] Seewi G., Gnauck G., Stute R., Chantelau E.: Effects on parameters of glucose homeostasis in healthy humans from ingestion of leguminous versus maize starches. *Eur. J. Nutr.*, 1999, 38, 183-189.
- [38] Wolf B.W., Bauer L.L., Fahey G.C., Jr: Effect of chemical modification on *in vitro* rate and extent of food starch digestion: an attempt to discover a slowly digested starch. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, 47, 4178-4183.
- [39] Wronkowska M., Juśkiewicz J., Soral-Śmietana M.: Nutritional and physiological effects of native and physically- modified starches of different origin on rats. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2002, 52, 62-67.
- [40] Zhou Y., Hoover R., Liu Q.: Relationship between α -amylase degradation and the structure and physicochemical properties of legume starches. *Carbohydr. Polym.*, 2004, 57, 299-31.

EFFECT OF CROSS-LINKING ON SELECTED PROPERTIES OF PEA (*PISUM SATIVUM*) STARCH

S u m m a r y

The starch was isolated from ground and shelled seeds of two pea (*Pisum sativum*) varieties: Poa and Roch. The non-modified preparations obtained (NMSP) were chemically modified using a sodium trimetaphosphate (TMF). As a result of this chemical modification performed, a phosphorus was substituted in the Poa starch in the amount of 50 mg/100 g d.m. starch and into the Roch starch in the amount of 80 mg/100 g d.m. starch.

The Poa pea starch was characterized by a digestibility value that was almost twice as high as the digestibility of the Roch pea starch (43 % and 21 %, respectively). The modification applied caused the digestibility of starch in the two preparations to slightly increase, and both the content of amylose in starch and the specific surface of starch to decrease. Moreover, it was found that the solubility of starch and its water holding capacity decreased compared to the initial starch.

Key words: pea starch, chemical modification, solubility, water absorption, digestibility ☒

BARBARA SZYMCZAK, WOJCIECH SAWICKI, ELŻBIETA BOGUSŁAWSKA-WĄS, ANNA KORONKIEWICZ, WALDEMAR DĄBROWSKI

WYSTĘPOWANIE *L. MONOCYTOGENES* W ŚWIEŻYCH OWOCACH I WARZYWACH POCHODZĄCYCH Z UPRAW EKOLOGICZNYCH WOJEWÓDZTWA ZACHODNIOPOMORSKIEGO

Streszczenie

Zgodnie z rozporządzeniem Komisji (WE) nr 1441/2007 z dnia 5.12.2007 r. w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych nie ma obowiązku badania świeżych owoców i warzyw w kierunku obecności *L. monocytogenes*, mimo że jest coraz więcej informacji o izolacji tych bakterii z surowców roślinnych. Jakość owoców i warzyw w Polsce ocenia się na podstawie wzrokowej oceny świeżości, wyglądu zewnętrznego i ewentualnie zapleśnienia surowca.

Celem pracy była ocena występowania *L. monocytogenes* w świeżych owocach i warzywach oraz porównanie różnych metod identyfikacji tych bakterii.

Przebadano 220 próbek (w tym: 80 owoców i 140 warzyw), które pochodziły zarówno z lokalnych punktów sprzedaży detalicznej, jak również z upraw nawożonych obornikiem.

Na podstawie identyfikacji przeprowadzonej zgodnie z PN-EN ISO 11290-2:2000 *Listeria* sp. stwierdzono w 50 % prób buraków ćwikłowych, 25 % marchwi, 15 % pomidorów i ziemniaków oraz 5 % pietruszki i 25 % truskawek. Natomiast techniką multiplex PCR *L. monocytogenes* stwierdzono w 10 % prób truskawek, 5 % pietruszki i 15 % ziemniaków. Badania biochemiczne nie mogą stanowić ostatniego etapu identyfikacji *L. monocytogenes* ze względu na duże rozbieżności wyników z rezultatami badań przeprowadzonych metodami biologii molekularnej. Wykazano zależność pomiędzy występowaniem *L. monocytogenes* w owocach i warzywach a rodzajem zastosowanego nawożenia. *Listeria* sp. i *L. monocytogenes* izolowano tylko z tych prób owoców i warzyw, które uprawiano na terenach nawożonych obornikiem. Ze względu na częstość występowania *L. monocytogenes* w owocach i warzywach pochodzących z upraw ekologicznych istnieje konieczność weryfikacji i wprowadzenia obowiązkowych badań kontrolnych również tych surowców roślinnych.

Słowa kluczowe: antropopresja, *L. monocytogenes*, nawożenie, uprawy ekologiczne, owoce, warzywa

Dr inż. B. Szymczak, dr inż. W. Sawicki, dr inż. E. Bogusławska-Wąs, dr inż. A. Koronkiewicz, prof. dr hab. W. Dąbrowski, Katedra Mikrobiologii i Biotechnologii Stosowanej, Wydz. Nauk o Żywności i Rybactwa, ul. Papieża Pawła VI 3, 71-459 Szczecin

Wprowadzenie

Owoce i warzywa są podstawowym źródłem: witaminy C i prowitaminy A (β -karotenu), składników mineralnych (mikro- i makroelementów), błonnika pokarmowego, niektórych witamin z grupy B, związków terpenowych, flawonowych, garbników, chitonów i fitoncycydów, dlatego powinny stanowić podstawowy składnik diety każdego człowieka. Żywieniowcy zalecają spożywanie owoców i warzyw pięć razy dziennie. Mimo wyraźnego wzrostu spożycie owoców i warzyw w Polsce, w porównaniu z krajami Unii Europejskiej, jest nadal małe (konsumpcja owoców jest o ponad 20 kg mniejsza niż zalecana przez Instytut Żywności i Żywienia). W 2002 r. według FAO Polska była krajem o najmniejszej konsumpcji owoców, ponieważ spożycie było ponad trzykrotnie mniejsze niż w Grecji czy Słowenii (kraje o najwyższej konsumpcji owoców). Pod względem spożycia warzyw Polska należy do czołówki krajów europejskich. Roczne spożycie warzyw na jednego mieszkańca wynosi około 111 kg/os. [7].

Źródłem zanieczyszczenia owoców i warzyw jest gleba i mikroorganizmy w niej występujące. Rodzaj mikroorganizmów i ich liczba w surowcach zależą od: populacji obecnej w glebie, sposobu nawadniania, stosowanych nawozów oraz czystości wody stosowanej do mycia warzyw i higieny linii technologicznych. Jakość owoców i warzyw w Polsce ocenia się najczęściej na podstawie wizualnej oceny świeżości, wyglądu zewnętrznego i ewentualnie zapleśnienia surowca [5].

Ze względu na duże zanieczyszczenie środowiska naturalnego, które ma wpływ na jakość produkowanej żywności, coraz większego znaczenia nabierają surowce roślinne z upraw ekologicznych. Zgodnie z rozporządzeniem Rady nr 834/2007 z dnia 28 czerwca 2007 r. [21] w sprawie produkcji ekologicznej i znakowania produktów ekologicznych, jednym z podstawowych kryteriów spełniających warunki gospodarstwa ekologicznego jest całkowity zakaz stosowania nawozów mineralnych i środków ochrony roślin. Dlatego najczęściej stosowanym nawozem naturalnym jest obornik, który może być źródłem wielu patogenów, w tym również *L. monocytogenes*. Drobnoustrój ten przedostając się do gleby może zanieczyścić owoce i warzywa, zwłaszcza dotyczy to warzyw korzennych, które są w bliskim kontakcie z glebą.

W literaturze odnotowano kilka przypadków zachorowań na listeriozę po spożyciu surowych warzyw. Najbardziej znany jest przypadek listeriozy, której źródłem zakażenia była kapusta nawożona obornikiem pochodzącym od owiec chorych na listeriozę (34 przypadki listeriozy okołoporodowej i 7 przypadków u ludzi dorosłych) [22]. Znane są również przypadki zachorowań na listeriozę w USA po spożyciu sałatek przygotowanych z surowych warzyw [11] czy pieczarek w Szwecji [15].

Celem pracy była ocena występowania bakterii *Listeria* sp. i *L. monocytogenes* w świeżych owocach i warzywach pochodzących z upraw ekologicznych woj. zachodniopomorskiego oraz porównanie różnych metod identyfikacji tych bakterii (m.in.

zdolności do rozkładu węglowodanów, hemolizy, testów CAMP, API i multiplex PCR).

Material i metody badań

Przedmiotem badań było: 220 prób owoców i warzyw zakupionych w różnych placówkach sprzedaży detalicznej i pochodzących z upraw ekologicznych, gdzie do nawożenia wykorzystuje się wyłącznie obornik. Materiał badawczy, w ilości 1 kg z każdego sortymentu, pobierano bezpośrednio z upraw ekologicznych, co eliminowało kontaminację związaną z transportem i przechowywaniem. Ogółem przebadano 80 prób owoców, po 20 próbek z każdego sortymentu: borówki amerykańskiej, borówki czernicy, maliny i truskawki oraz 140 próbek warzyw, w tym po 20 z każdego sortymentu: buraków ćwikłowych, kapusty, marchwi, pietruszki, pomidorów, sałaty oraz ziemniaków. Przed analizą owoce i warzywa dokładnie myto pod bieżącą wodą, następnie odszypułkowały (w przypadku truskawek), natomiast warzywa obierano sterylnym nożem do jarzyn (burak ćwikłowy, marchew, pietruszka, ziemniak) i ponownie płukano pod bieżącą wodą.

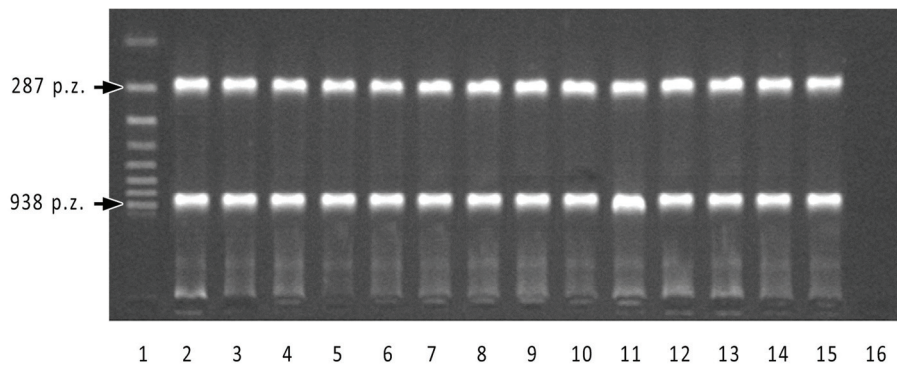
Do analiz pobierano 25 g próbki z powierzchniowej warstwy warzyw, natomiast owoce pobierano do badań w całości. Badania wykonywano horyzontalną metodą wykrywania obecności i oznaczania liczby *L. monocytogenes*, zgodnie z PN-EN ISO 11290-2:2000 [18], z uwzględnieniem zmian zawartych w PN-EN ISO 11290-2:2000/A1 [19]. Ponadto wykonywano identyfikację testami CAMP, API (BioMerièux, Francja) i multiplex PCR. Jako próby wzorcowej użyto szczepów *L. monocytogenes* CEB 3176 wyizolowanych w Instytucie Pasteura w Paryżu oraz *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) i *Rhodococcus equi* (PCM 559) pochodzących z Kolekcji Mikroorganizmów we Wrocławiu. Do wstępnej identyfikacji biochemicznej wybierano losowo po 5 kolonii z każdej próby, charakterystycznie rosnącej na podłożu selektywnym LSA (Oxoid, Anglia).

Reakcję multiplex PCR prowadzono w objętości 50 µl mieszaniny reakcyjnej zawierającej 500 mM KCl, 100 mM Tris-HCl (pH 8,3 w 25 °C), 2,5 mM MgCl₂, 0,3 mM każdego nukleotydu, 30 pM/ml każdego startera, 2,5 U *Taq* DNA polimerazy (Eppendorf) oraz 5 µl matrycy DNA w termocyklerze Mastercycler Gradient (Eppendorf). Profil termiczny składał się z następujących etapów: wstępna denaturacja – 60 s/95 °C oraz 35 cykli obejmujących: denaturację – 30 s/94 °C, przyłączanie starterów – 20 s/51 °C i wydłużanie – 30 s/72 °C. Amplifikacja kończyła się wydłużaniem – 8 min/72 °C.

Tabela 1

Lista starterów stosowanych w badaniach.
List of primers used in the research.

Starter Primer	Sekwencja (5'-3') Sequence (5'-3')	Przeznaczenie/gen docelowy Destination/target gene	Produkt PCR Product PCR	Źródło Reference
U1	CAG CMG CCG CGG TAA TWC	Identyfikacja do rodzaju <i>Listeria</i> /16S rRNA	938 p. z.	[2]
LI1	CTC CAT AAA GGT GAC CCT			
Iap1	CGA ATC TAA CGG CTG GCA CA	Identyfikacja do gatunku <i>L. monocytogenes</i> / iap	287 p. z.	[12]
Iap2	GCC CAA ATA GTG TCA CCG CT			



Ścieżki: 1 – marker XVI (Roche, Niemcy), 2 – szczep/strain CEB 3176 (szczep wzorcowy/model strain), 3 – szczep/strain T2/1, 4 – szczep/strain T6/23, 5 – szczep/strain P3/43, 6 – szczep/strain P3/44, 7 – szczep/strain P3/45, 8 – szczep/strain Z2/32, 9 – szczep/strain Z2/33, 10 – szczep/strain Z2/35, 11 – szczep/strain Z3/39, 12 – szczep/strain Z3/40, 13 – szczep/strain Z4/50, 14 – szczep/strain Z4/52, 15 – szczep/strain Z4/53, 16 – próba kontrolna (bez DNA)/control sample (without DNA). Ścieżki/Paths: od 2 do 15 (between 2 and 15) *L. monocytogenes*

Rys. 6. Identyfikacja rodzajowa i gatunkowa szczepów w kierunku przynależności do rodzaju *Listeria* na podstawie amplifikacji fragmentów sekwencji genów 16S rRNA (938 p.z.) i *iap* (287 p.z.).

Fig. 6. Identification of strains and species believed to belong to the *Listeria* genus based on the amplification of fragments of 16S rRNA gene sequences (938 bp) and *iap* (287 bp).

Rezultatem amplifikacji były produkty wielkości: 938 p.z. stwierdzające przynależność do rodzaju *Listeria* i 287 p.z. do gatunku *L. monocytogenes* (tab. 1, rys. 1).

Uzyskane produkty reakcji PCR rozdzielano elektroforetycznie w 2 % żelu agarozowym (Prona Agarose Plus, Belgia), barwionym bromkiem etydyny (Bio-Rad, USA) (0,5 µl/ml). Ostatnim etapem była wizualizacja żelu w świetle UV (Gel-Doc 2000 Bio-Rad, USA) i archiwizacja otrzymanych elektroforogramów. Wielkość produktu oceniano, porównując z markerem masowym XVI (Roche, Niemcy).

Wyniki i dyskusja

Spośród 220 przebadanych prób: owoców (80) i warzyw (140) *Listeria* sp. stwierdzono w 25 % przebadanych prób truskawek, 50 % buraków ćwikłowych, 25 % marchwi, 15 % pomidorów i ziemniaków oraz 5 % pietruszki, potwierdzonych na podstawie identyfikacji biochemicznej zgodnie z normą PN-EN ISO 11290-1 (tab. 2).

Na podstawie prowadzonego wywiadu z rolnikami próby, te pochodziły wyłącznie z terenów nawożonych obornikiem. Wykluczono możliwość zanieczyszczenia wtórnego w trakcie transportu, bo pobierano próby bezpośrednio od rolników, bądź zakupiono w lokalnych punktach sprzedaży detalicznej, a następnie przewożono do laboratorium mikrobiologicznego.

Listeria sp. i *L. monocytogenes* nie stwierdzono w próbach: borówki amerykańskiej, borówki czernicy, maliny, kapusty i sałaty. Na podstawie przeprowadzonej identyfikacji biochemicznej gatunkami *Listeria* izolowanymi najczęściej z owoców i warzyw były: *L. innocua* (burak ćwikłowy – 35 % i truskawka – 25 %) i *L. grayi* (burak ćwikłowy – 25 %, ziemniak -15 %) (tab. 2).

Wykazano bardzo duże rozbieżności w wynikach identyfikacji *L. monocytogenes* uzyskanych na podstawie testów CAMP, API i multiplex PCR (tab. 3). Na podstawie identyfikacji testami CAMP *L. monocytogenes* potwierdzono w próbach buraków ćwikłowych – 25 %, pomidorów – 5 % i truskawek – 15 %. Znacznie częściej potwierdzano ten drobnoustrój testami API: pietruszka – 25 %, marchew – 20 %, burak ćwikłowy – 15 % i truskawka – 5 %. Natomiast techniką multiplex PCR *L. monocytogenes* potwierdzono w 10 % przebadanych próbach truskawek, 5 % pietruszki i 15 % ziemniaków. Próby warzyw, z których izolowano ten patogen pochodziły z upraw ekologicznych, gdzie jedynym stosowanym nawozem był obornik, a dodatkowo pola mogły być odwiedzane przez zwierzęta dzikie, takie jak: jelenie, sarny czy dziki. Na podstawie identyfikacji multiplex PCR nie stwierdzono występowania *Listeria* sp. i *L. monocytogenes* w próbach buraków ćwikłowych, marchwi, kapusty, pomidorów i sałaty (tab. 3).

Tabela 2

Identyfikacja biochemiczna bakterii z rodzaju *Listeria* izolowanych z owoców i warzyw.
Biochemical identification of *Listeria* strains isolated from fruits and vegetables.

Próba Sample	Liczba prób dodatnich/ ¹ Number of positive tests/ ¹	Liczba prób dodatnich zidentyfikowanych biochemicznie (na podstawie rozkładu węglowodanów i hemolizy) jako: ¹ Number of positive samples identified biochemically (distribution of carbohydrates, haemolysis) as: ¹					
		<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. innocua</i>	<i>L. ivanovii</i>	<i>L. grayi</i>	<i>L. welshimeri</i>	<i>L. seeligeri</i>
Truskawka Strawberry n=20	5/25 %	0	5/25 %	1/5 %	2/10 %	1/5 %	0
Burak ćwikłowy Beetroot n=20	10/50 %	0	7/35 %	2/10 %	5/25 %	0	1/5 %
Marchew Carrot n=20	5/25 %	1/5 %	3/15 %	1/5 %	2/10 %	0	0
Pomidor Tomato n=20	3/15 %	0	2/10 %	0	2/10 %	1/5 %	0
Pietruszka Persley n=20	1/5 %	0	1/5 %	0	0	0	0
Ziemniak Potato n=20	3/15 %	0	3/15 %	0	3/15 %	1/5 %	0

¹ odsetek przebadanych prób / per cent rate of samples analyzed.

L. monocytogenes jest drobnoustrojem izolowanym z różnych grup żywności, w tym również z owoców i warzyw świeżych, mrożonych i przetworzonych. W związku z promowaniem upraw ekologicznych popularnym nawozem wykorzystywanym w gospodarstwach ekologicznych i sadach jest obornik. W badaniach Beuchat [3] wykazano zależność pomiędzy stosowaniem naturalnych nawozów organicznych a występowaniem bakterii *L. monocytogenes* w surowcach roślinnych. Badania potwierdziły, że zanieczyszczenie owoców i warzyw jest związane z czynnikiem antropogenicznym (nawożenie, nawadnianie, przechowywanie, transport itp.). Istotny wpływ na występowanie bakterii chorobotwórczych, w tym pałeczek *Listeria* sp. ma sposób nawożenia gleby, ponieważ główne źródło zanieczyszczenia stanowi obornik. W publikacjach na temat *Listeria* sp. i *L. monocytogenes* w owocach i warzywach nie ma dokład-

nych informacji dotyczących sposobu nawożenia gleby. Dodatkowym źródłem zanieczyszczenia bakteriami *Listeria* sp. i *L. monocytogenes* są dzikie zwierzęta (ich odchody) żerujące na polach uprawnych.

Tabela 3

Występowanie *L. monocytogenes* zidentyfikowanych na podstawie testów CAMP, API i multiplex PCR. Occurrence of *L. monocytogenes* identified on the basis of CAMP, API and multiplex PCR tests.

Próba/Sample	Liczba prób zidentyfikowanych testami CAMP jako <i>L. monocytogenes</i> Number of samples identified as CAMP test <i>L. monocytogenes</i> ¹	Liczba prób zidentyfikowanych testami API jako <i>L. monocytogene</i> Number of samples identified test API <i>L. monocytogenes</i> ¹	Liczba prób zidentyfikowanych jako <i>L. monocytogenes</i> potwierdzonych multiplex PCR Number of samples identified as evidenced by multiplex PCR <i>L. monocytogenes</i> ¹
Truskawka Strawberry n=20	3/15 % ¹	1/5 % ¹	2/10 % ¹
Burak ćwikłowy Beetroot n=20	5/25 %	3/15	0
Marchew Carrot n=20	0	4/20 %	0
Pomidor Tomato n=20	1/5 %	0	0
Pietruszka Persley n=20	0	5/25 %	1/5 %
Ziemniak Potato n=20	0	0	3/15 %
Razem Total n=120	9/45 %	13/10,8 %	6/5 %

¹ odsetek przebadanych prób

¹ per cent rate of samples tested

Jak wykazała Kordowska-Wiater [13], występowanie *L. monocytogenes* w warzywach (fasolka szparagowa, por, jarmuż, marchew, pietruszka) stwierdzono w 10,8 % przebadanych prób. Aguado i wsp. [1] w 1,2 % przebadanych prób mrożonych warzyw, głównie: fasoli, pomidorów, kalafiorów, groszku, marchwi i karczochów potwierdzili obecność *Listeria* sp. Garcia-Gimeno i wsp. [8] oznaczyli *L. monocytoge-*

nes w 21 na 70 prób świeżych mieszanek warzywnych gotowych do spożycia. Heisick i wsp. [10] wykazali, że 25,8 % prób ziemniaków i 30,3 % rzodkiewki zanieczyszczonych było *L. monocytogenes*. Natomiast Wong i wsp. [23] stwierdzili, że na 49 przebadanych próbach warzyw 12,2 % zanieczyszczonych było pałeczkami *L. monocytogenes*. W badaniach własnych wykazano, że *L. monocytogenes* występuje tylko w tych owocach i warzywach, które mają bezpośrednią styczność z glebą i pochodzą wyłącznie z upraw ekologicznych. Podobnie Francis i O'Beirne [6] oraz MacGowan i wsp. [14] informują o występowaniu pałeczek *L. monocytogenes* w ziemi uprawnej i warzywach. W badaniach własnych wykazano, że *L. monocytogenes* występuje w 10 % przebadanych próbach truskawek, 5 % pietruszki i 15 % ziemniaków pozyskiwanych z upraw ekologicznych. Doyle [4], Beuchat [3] i Olivier [16] dowiedli możliwości zanieczyszczenia surowca roślinnego w czasie transportu i obrotu. Gunasen i wsp. [9] wykazali, że 33 % przebadanych prób kapusty i 50 % sałaty przebadanych na Sri Lance zanieczyszczonych było *L. monocytogenes*.

Obecnie jakość mikrobiologiczna produktów żywnościowych podlega wymaganiom zawartym w rozporządzeniu Komisji (WE) nr 1441/2007 z dnia 5.12.2007 roku [20] w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych, w którym nie uwzględniono badania świeżych owoców i warzyw pod względem występowania *L. monocytogenes*. Rozporządzenie to określa tylko kryteria bezpieczeństwa i higieny produkcji owoców i warzyw krojonych, gotowych do spożycia, które nie powinny zawierać bakterii *Salmonella* (w 25 g), a dopuszczalne zanieczyszczenie *E. coli* wynosi 100 jtk/g.

Ze względu na wzrastającą ilość spożywanych świeżych owoców i warzyw, promowanie żywności pochodzącej z tzw. upraw ekologicznych, gdzie obornik stanowi jedyny dopuszczalnie stosowany nawóz, a ponadto może być źródłem zanieczyszczenia *L. monocytogenes* oraz wzrastającą liczbę zachorowań na listeriozę, istnieje potrzeba kontroli świeżych owoców i warzyw w kierunku *L. monocytogenes*.

Wnioski

1. Bakterie *L. monocytogenes* izolowano tylko z owoców i warzyw pochodzących z upraw ekologicznych.
2. Badania biochemiczne wykonane na podstawie PN-EN ISO 11290-2:2000 nie mogą stanowić ostatniego etapu identyfikacji *L. monocytogenes* ze względu na duże rozbieżności wyników z badaniami przeprowadzonymi metodami biologii molekularnej.
3. Najbardziej wiarygodną metodą identyfikacji *L. monocytogenes* jest multiplex PCR.
4. Ze względu na częstość występowania *L. monocytogenes* w świeżych owocach i warzywach pochodzących z upraw ekologicznych istnieje konieczność weryfika-

cji i wprowadzenia obowiązkowych badań kontrolnych również tych surowców roślinnych.

Praca finansowana ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach projektu badawczego nr N N312 234438

Literatura

- [1] Aguado V., Vitas A.L., Garcia-Jalon I.: Characterization of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* from vegetable processing plant by RAPD and REA. *Int. J. Food Microbiol.*, 2004, **90**, 341-347.
- [2] Border P.M., Howard J.J., Plastow G.S., Siggins K.W.: Detection of *Listeria* species and *Listeria monocytogenes* using polimerase chain reaction. *Letters and Applied Microbiol.*, 1990, **11**, 158-162.
- [3] Beuchat L.R. : *Listeria monocytogenes*: incidence on vegetables. *Food Control*, 1996, **7**, 223-228.
- [4] Doyle M.P.: Fruits and vegetables safety- microbiological considerations. *Hortscience*, 1990, **25**, 1478-1481.
- [5] Duszkiewicz-Reinhard W., Grzybowski R., Sobczak E.: Teoria i ćwiczenia z mikrobiologii ogólnej i technicznej, Wyd. SGGW, Warszawa 1999.
- [6] Francis G.A., O'Beirne D.: Effects of acid adaptation on the survival of *Listeria monocytogenes* on modified atmosphere packaged vegetables. *Int. J. Food Sci. Technol*, 2001, **36**, 477-487.
- [7] Filipiak T.: Produkcja oraz spożycie owoców i warzyw w Polsce. *Roczn. Nauk.* 2005, tom **VIII**, zeszyt 3.
- [8] Garcia-Gimeno R.M., Zurera-Cosano G., Amaro-Lopez M.: Incidence, survival and growth of *Listeria monocytogenes* in ready-to-use mixed vegetables salads in Spain. *J. Food Safety*, 1996, **16**, 75-86.
- [9] Gunasena D.K., Kodikara C.P., Ganepola K., Widanapathirana S.: Occurrence of *Listeria monocytogenes* in food in Sri Lanka. *J. Nation. Sci Council of Sri Lanka*, 1995, **23**, 107-114.
- [10] Heisick J.E., Wagner D.E., Nierman M.L., Peeler J.T.: *Listeria* spp. found on fresh market product. *Applied Environ. Microbiol.*, 1989, **55**, 1925-1927.
- [11] Ho J.L., Shands K.N., Freidland G., Eckind P. & Fraser D.W.: An outbreak of type 4b *Listeria monocytogenes* infection involving patients from eight Boston hospitals. *Archives Internal. Medicine*, 1986, **146**, 520-524.
- [12] Jatou K., Sahli R., Bille J.: Development of polymerase chain reaction assays for detection of *Listeria monocytogenes* in clinical cerebrospinal fluid samples. *J. Clin. Microbiol.*, 1992, **30**, 1931-1936.
- [13] Kordowska-Wiater M., Janas P., Sosnowska B., Waśko A., Nowak A., Kluza B.: Występowanie bakterii patogennych oraz drobnoustrojów wskaźnikowych zanieczyszczenia fekalnego w mrożonych warzywach. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **2 (51)**, 134-144.
- [14] MacGowan A.P., Bowker K., McLauchlin J., Bennett P.M. Reeves D.S.: The occurrence and seasonal changes in the isolation of *Listeria* spp. in shop bought food stuffs, human faeces, sewage and soil from urban sources. *Int. J. Food Microbiol.*, 1994, **21**, 325-334.
- [15] Nguyen-The, Karlin F.: The microbiology of minimally processed fresh fruits and vegetables. *Crit. Rev. Food Sci.Nutr.*, 1994, **34**, 371-401.
- [16] Olivier S.P., Jayarao B.M., Almeida R.A.: Foodborne pathogens in milk and dairy farm environment: food safety and public health implication. *Foodborne Pathogens Disease.*, 2005, **2**, 115-129.

- [17] Porto E., Eiroa M.: Occurrence of *Listeria monocytogenes* in vegetables. Dairy Food Environ. Sanitation, 2001, **21**, 282-286.
- [18] PN-EN ISO 11290-2:2000. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda wykrywania obecności i oznaczania liczby *Listeria monocytogenes*.
- [19] PN-EN ISO 11290-2:2000/A1. Zmiana do polskiej normy. Dotyczy PN-EN ISO 11290-2. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda wykrywania obecności i oznaczania liczby *Listeria monocytogenes*.
- [20] Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1441/2007 z dnia 5 grudnia 2007 r. w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych. Dz. U. 2007 r. Nr 61, poz 417.
- [21] Rozporządzenie Rady (WE) nr 834/2007 z dnia 28 czerwca 2007 r. w sprawie produkcji ekologicznej i znakowania produktów ekologicznych i uchylające rozporządzenie (EWG) Nr 2092/91.
- [22] Schlech W.F., Lavigne P.M., Bortolussi R.A., Alleri A.C., Haldane E.V., Wort A.J., Hightower A.W., Johnson S.E.: Epidemic listeriosis – evidence for transmission by food. New Eng. J. Med., 1983, **308**, 203-206.
- [23] Wong H.C.H., Chao W., Lee S.: Incidence and characterization of *Listeria monocytogenes* in foods available in Taiwan, Appl. Environ. Microbiol., 1990, **56 (10)**, 3101-3104.

OCURRENCE OF *L. MONOCYTOGENES* IN FRESH FRUITS AND VEGETABLES FROM ORGANIC FARMS IN WEST POMERANIAN REGION

S u m m a r y

Pursuant to the Commission Directive (EC) No. 1441/2007 of 05.12.2007 on microbiological criteria for foodstuffs, there is no obligation to inspect fresh fruits and vegetables whether or not they contain *L. monocytogenes* although there are more and more reports on finding these bacteria in plant materials. The quality of fruits and vegetables in Poland is assessed based on the visual evaluation of freshness and external appearance of the material, and on checking if this material does not get mouldy.

The objective of this paper was to assess the occurrence of *L. monocytogenes* in fresh fruits and vegetables and to compare different methods of identifying these bacteria.

220 samples were analyzed (80 fruits and 140 vegetables); all of them originated from both the local retail outlets and the agricultural farms using manure as a fertilizer.

Based on the identification performed according to PN EN ISO 11290-2:2000, *Listeria* sp was found in 50 % of beetroot samples, in 25 % of carrot, in 15 % of tomatoes and potatoes, and in 5% of parsley and in 25 % of strawberries. And when using a multiplex PCR technique, *L. monocytogenes* was found in 10 % of the strawberry samples, in 5 % parsley, and in 15 % potatoes. Biochemical analyses should not be the final phase of identifying *L. monocytogenes* because there are wide discrepancies between the results of this analysis and the results of research conducted using the molecular biology methods. A correlation was shown between the presence of *L. monocytogenes* in fruits and vegetables and the type of fertilizer used. *Listeria* sp and *L. monocytogenes* were isolated only from the samples of fruits and vegetables grown in farms where soils were manured. Owing to the frequency of *L. monocytogenes* occurrence in fruits and vegetables from certified farms running organic farming, it is vital to revise the control screening of plant materials and to make it obligatory.

Key words: anthropopression, *L. monocytogenes*, manuring, fruits organic farming, vegetables ☒

ELŻBIETA GUJSKA, MARTA CZARNOWSKA

WPLYW WARUNKÓW EKSTRAKCJI I HYDROLIZY NA WYNIK OZNACZANIA ZAWARTOŚCI KWASU FOLIOWEGO I FOLIANÓW W SOKU JABŁKOWYM

Streszczenie

Soki owocowe fortyfikowane witaminami mogą stać się wygodnym źródłem składników biologicznie aktywnych, w tym kwasu foliowego i naturalnie obecnych w owocach jego pochodnych, folianów. Związki te wykazują jednak niską stabilność chemiczną, co znacznie utrudnia ich oznaczanie. Na podstawie danych literaturowych i badań własnych można stwierdzić, że każdy materiał biologiczny wymaga zastosowania odmiennych warunków przeprowadzenia efektywnej ekstrakcji i hydrolizy badanych składników przed oznaczeniem ich metodą HPLC. Celem badań była ocena wpływu warunków ekstrakcji (pH buforu, czas/temperatura) i hydrolizy (ilość plazmy krwi szczura RP jako źródła koniugazy folianowej) na oznaczenie zawartości kwasu foliowego i folianów w badanym materiale. Największą zawartość kwasu foliowego (32,62 - 34,53 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ soku) uzyskano, prowadząc ekstrakcję w buforze fosforanowym o $\text{pH} = 7,0$ w temp. $100\text{ }^\circ\text{C}$ przez 15 min. Największą natomiast zawartość formy metylowej (4,23 - 4,29 μg $5\text{CH}_3\text{FH}_4/100\text{ ml}$ soku) oznaczono, prowadząc ekstrakcję w buforze fosforanowym o $\text{pH}=6,1$, w temp. $100\text{ }^\circ\text{C}/15\text{ min}$. Różny dodatek plazmy krwi szczura – przy tych samych warunkach ekstrakcji – nie wpłynął istotnie ($\alpha = 0,05$) na wynik oznaczenia zarówno kwasu foliowego, jak i formy $5\text{CH}_3\text{FH}_4$.

Słowa kluczowe: sok jabłkowy, kwas foliowy, foliany, hydroliza, ekstrakcja, HPLC

Wprowadzenie

Kwas foliowy (kwas pteroinoglutaminowy) należy do rodziny rozpuszczalnych w wodzie witamin z grupy B [3, 9, 13, 31]. Naturalnie w żywności występują jego zredukowane pochodne, formy wieloglutaminowe, foliany. Nazwa foliany dotyczy szeregu związków, w których kwas pteroinowy jest związany z jedną lub większą liczbą, nawet do siedmiu, reszt kwasu glutaminowego [24]. Poszczególne związki różnią się między sobą: stopniem utlenienia pierścienia pterydynowego, rodzajem grup jednowęglowych (metylowa, formylowa, forminowa, metylenowa, metynowa) występujących w pozycjach N-5 i N-10 oraz liczbą reszt kwasu glutaminowego [26, 31]. Foliany,

Dr hab. inż. Elżbieta Gujska, mgr inż. Marta Czarnowska, Katedra Towaroznawstwa i Badań Żywności, Wydz. Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Pl. Cieszyński 1, 10-957 Olsztyn

w przeciwieństwie do kwasu foliowego, wykazują niską stabilność chemiczną. Kwas foliowy jest formą najbardziej odporną na chemiczną degradację i z tego względu, jako związek syntetyczny, stosowany jest w suplementach diety i preparatach farmaceutycznych [1, 2, 8, 32].

Foliany występujące naturalnie w żywności, w przewodzie pokarmowym ulegają dekonjugacji do monoglutaminianów przy udziale aktywowanej przez cynk hydrolazy pteroinoglutaminowej. W takiej postaci są wchłaniane do komórek śluzówki jelita, gdzie większość z nich jest redukowana przez reduktazę dihydrofolianową (DHFR) do di- i tetrahydrofolianów. Także w wątrobie foliany są redukowane przez DHFR przede wszystkim do formy 5-metylo-tetrahydrofolianu. Następnie transportowane są do tkanek i ulegają w nich przekształceniu do poliglutaminianów, jak i z żółcią do krążenia wątrobowo-jelitowego [11, 25].

Główna rola, jaką pełni kwas foliowy i jego pochodne w ludzkim organizmie, sprowadza się do przenoszenia jednostek jednowęglowych niezbędnych w wielu reakcjach metabolicznych (biosynteza puryn, przemiany niektórych aminokwasów). Biorą udział w szeregu reakcji syntezy komponentów DNA, RNA i białek. Stanowią źródło grup metylowych (forma 5-metyltetrahydrofolian) niezbędnych w procesie remetylacji homocysteiny do metioniny [5, 31, 32].

Stopień wykorzystania w organizmie folianów z różnego rodzaju produktów waha się w zakresie od 25 do 50 % [9, 11]. Wyniki badań z ostatnich lat wskazują, że biodostępność folianów z owoców, warzyw oraz wątroby może stanowić nawet 80 % biodostępności kwasu foliowego [24]. Kwas foliowy może wchłaniać się nawet w 100 %, gdyż jako monoglutaminian nie wymaga hydrolizy [25].

Spożycie folianów przez osoby dorosłe, według zaleceń żywieniowych, powinno wynosić od 300 do 400 µg/dzień, zależnie od kraju [6, 11, 25]. Instytut Medycyny w USA ustalił średnią zalecaną normę spożycia RDA folianów na 320 µg/dzień [11]. Zalecane dzienne spożycie folianów dla kobiet w ciąży obowiązujące w Polsce to 450 µg/dzień.

Nieprawidłowa dieta jest główną przyczyną wystąpienia niedoboru folianów w organizmie. Na niedobory tej witaminy szczególnie narażone są młode kobiety, które ograniczają spożycie pokarmów bogatych w foliany, aby utrzymać szczupłą sylwetkę [24]. Wyniki wielu badań potwierdzają, że zbyt mała ilość folianów w diecie młodych kobiet wpływa negatywnie nie tylko na ich stan zdrowia, ale także potomstwo [15]. Niedobór tej witaminy w organizmie przyszłych matek zwiększa np. ryzyko wystąpienia wad cewy nerwowej [2, 10, 21]. Inne skutki niedoboru kwasu foliowego i folianów w diecie to homocysteinemia, zmiany miażdżycowe, zwiększone ryzyko wystąpienia nowotworów szyjki macicy, jelita grubego, płuc, przełyku, trzustki, anemie, zaburzenia funkcjonowania układu nerwowego, zwiększone ryzyko wystąpienia choroby Parkinsona i Alzheimerera u osób starszych [11, 15, 16, 21, 32].

W celu zwiększenia spożycia kwasu foliowego i folianów zaleca się: zwiększenie spożycia produktów naturalnie bogatych w foliany, jak również produktów fortyfikowanych kwasem foliowym, wprowadzenie obowiązku wzbogacania podstawowej żywności kwasem foliowym (mąki, płatki śniadaniowe) czy przyjmowanie suplementów kwasu foliowego [6, 17]. Pierwszym krajem, który w 1998 r. wprowadził obowiązek fortyfikowania produktów zbożowych kwasem foliowym były Stany Zjednoczone [10, 21]. Badania z lat 1995 - 2005 przeprowadzone w krajach, w których obowiązkiem jest wzbogacanie kwasem foliowym wybranych produktów żywnościowych (USA, Chile, Kanada) wskazują, że jest to jedna ze skuteczniejszych metod zapobiegania wystąpienia defektu cewy nerwowej. Fortyfikacja żywności kwasem foliowym wzbudza jednak kontrowersje. Wiadomo, że nadmierna ilość tego związku w organizmie, szczególnie ludzi starszych, może maskować diagnozę deficytu witaminy B₁₂ [11, 20, 25, 32] i przyspieszać tym samym neurologiczne komplikacje, wchodzić w reakcję z innymi lekami, a także wspomagać rozwój nowotworów [18]. Zarejestrowano także przypadki bardzo silnej alergii na syntetyczny kwas foliowy [26]. W Polsce nie ma obowiązku dodawania do żywności kwasu foliowego, jednak na rynku dostępne są produkty nim wzbogacone.

Różny stopień stabilności folianów w surowcach naturalnych i w produktach utrudnia proces analityczny [5, 30]. Badania przeprowadzone przez niezależne zespoły wykazały, że każdy materiał biologiczny wymaga zastosowania innych parametrów do przeprowadzenia efektywnej ekstrakcji i hydrolizy przed oznaczeniem zawartości folianów metodą mikrobiologiczną lub HPLC [22, 27, 29]. Autorzy sugerują także konieczność poprawienia tabel dotyczących zawartości folianów w żywności, które były oznaczane wcześniej stosowanymi metodami [1, 12, 15]. Bardzo istotny jest sposób pozyskiwania omawianych związków: odpowiednio dobrane warunki ekstrakcji, hydrolizy, oczyszczania ekstraktów przed rozdziałem metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej HPLC. Ogrzewanie próbki prowadzi do denaturacji białek, które wiążą foliany oraz enzymów, które katalizują ich degradację czy też przemiany w inne formy. Co więcej foliany w produktach spożywczych występują w postaci związków poliglutaminowych, które należy poddać dekonjugacji do mono- lub diglutaminianów, stosując hydrolazę γ -glutamylową, potocznie nazywaną koniugazą folianową. Najczęściej stosowanymi źródłami tego enzymu są: plazma ludzka, plazma krwi szczura, nerka świni czy trzustka kurczęcia [1, 2, 8, 14, 28].

Z uwagi na wzrastającą liczbę dostępnych na rynku produktów fortyfikowanych i ich znaczenie dla zdrowia człowieka, pojawia się zapotrzebowanie na wiarygodną, szybką metodę oznaczenia zawartości dodanego kwasu foliowego i naturalnie występujących folianów. Zawartość folianów jest powszechnie oznaczana długotrwałą i pracochłonną – niemającą zastosowania w praktyce przemysłowej – metodą mikrobiologiczną. Niewątpliwą zaletą metody HPLC jest to, że pozwala na separację i ilo-

ściowe oznaczenie różnych form folianów [2]. W literaturze brakuje porównywalnych danych dotyczących wpływu temperatury i czasu ekstrakcji, pH buforu oraz źródła pochodzenia hydrolazy γ -glutamylowej na stabilność kwasu foliowego i folianów w ekstrakcie.

Celem podjętych badań było określenie wpływu różnych warunków ekstrakcji i hydrolizy na zawartość folianów w soku owocowym.

Material i metody badań

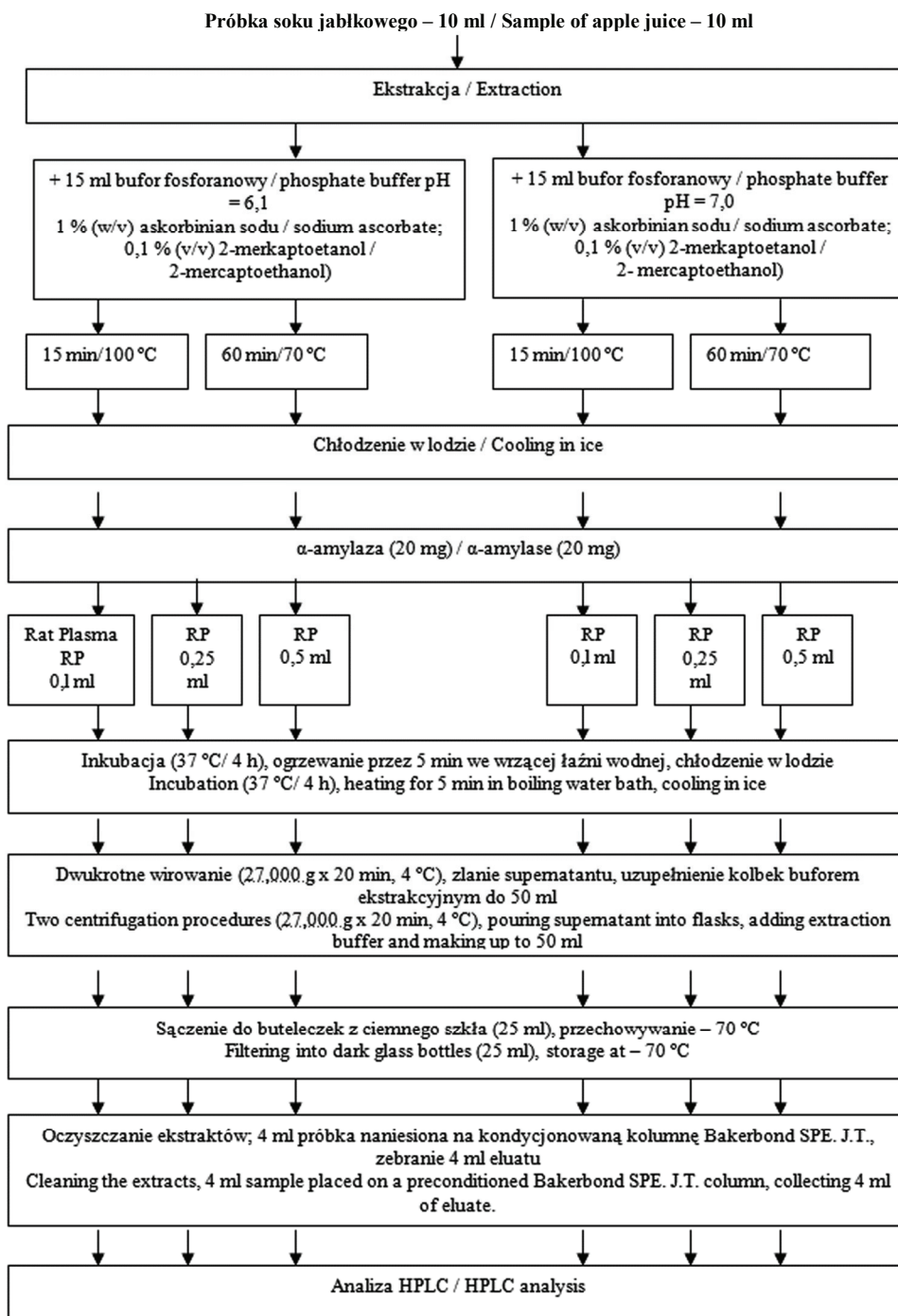
Material badawczy stanowił klarowany sok jabłkowy z deklarowaną na opakowaniu zawartością kwasu foliowego w ilości 30 $\mu\text{g}/100$ ml. Sok zakupiono w hipermarkecie na rynku olsztyńskim. Oznaczenia wykonano na 4 próbach w trzech powtórzeniach.

Wzorcami były: kwas foliowy (PGA), 5-metylotetrahydrofolian ($5\text{CH}_3\text{FH}_4$), tetrahydrofolian (FH_4) zakupione w firmie Sigma Aldrich i przygotowane według metody opisanej przez Koningsa [19]. Stężenie standardów obliczano przy użyciu współczynników absorpcji molarnej podanych przez Blakleya [4].

Enzym α -amylazę (E.C. 3.2.1.1, A-6211) zakupiono w firmie Sigma Aldrich. Jako źródło hydrolazy γ -glutamylowej zastosowano plazmę krwi szczura; 50 ml świeżej plazmy krwi szczura (Europa Bioproducts Ltd, Cambridge) dializowano 12 h w temp. 4 °C, w celu usunięcia endogennych folianów, stosując 0,05 M bufor fosforanowy o pH = 6,1 z dodatkiem 0,1 % 0,1 M 2-merkaptetanolu [14]. W czasie dializy bufor zmieniano trzykrotnie. Plazmę krwi szczura przechowywano w małych porcjach (1 ml) w temp. -70 °C nie dłużej niż 3 miesiące.

Przygotowanie próbki do analizy ma decydujący wpływ na zawartość folianów w ekstrakcie i oznaczanie za pomocą HPLC. Na stopień zniszczenia folianów może mieć wpływ: pH buforu użytego do ekstrakcji, rodzaj zastosowanych antyoksydantów dodanych do buforu w celu przeciwdziałania utlenianiu zredukowanych form folianów czy też forma występujących folianów w badanej próbce [13, 27]. Na podstawie danych literaturowych [1, 2, 12, 14, 22, 26, 28] dotyczących oznaczania folianów w różnych surowcach i produktach spożywczych wybrano następujące warunki ekstrakcji i hydrolizy:

- do ekstrakcji stosowano bufor fosforanowy 0,1 M o pH = 6,1 i 7,0,
- czas i temperatura ekstrakcji: 15 min/100 °C; 60 min/ 70 °C,
- źródło hydrolazy γ -glutamylowej: plazma krwi szczura (RP) w ilościach 0,1; 0,25; 0,5 ml.



Rys. 1. Schemat procesu przygotowania próbek.

Fig. 1. Diagram showing the preparation procedure of samples.

Przygotowanie próbek obejmujące ekstrakcję i ilość dodanej plazmy krwi szczura do dekonjugacji przedstawiono na rys. 1. W czasie przygotowywania próbki były chronione przed utlenianiem się folianów poprzez przedmuchiwanie azotem, przygotowywanie przy przyciemnionym świetle oraz chłodzenie w lodzie każdorazowo po ogrzewaniu. Próbki przygotowano w trzech powtórzeniach.

Oczyszczanie próbek przeprowadzono w kolumnach Bakerbond spe J. T. [Baker 7091- 03 (czwartorzędowa amina)], bezpośrednio przed analizą HPLC [14]. Kolumny kondycjonowano 5 ml metanolu i 5 ml wody. Następnie przez kolumnę przepuszczano 4 ml ekstraktu próbki (przepływ 1 kropla/min). W celu usunięcia składników zanieczyszczających, kolumny przepłukiwano 5 ml wody. Foliiany i kwas foliowy wymywano 0,1 M octanem sodu zawierającym 10 % (m/v) chlorku sodu cz.d.a., 1 % (m/v) kwasu askorbinowego i 0,1 % (v/v) 0,1 M 2-merkaptoetanolu. Pierwsze porcje eluatu (0,7 ml) wylewano, a następne 4 ml zbierano do kalibrowanych probówek i наносono na szczyt kolumny HPLC.

Rozdział folianów prowadzono w kolumnie chromatograficznej Phenomenex Synergi 4 u Hydro-RP 80A, C18 (250×4,6 mm, 4 μm) według metody opisanej przez Jasterbovą i wsp. [14] przy użyciu chromatografu cieczowego Shimadzu seria LC-10A. Zastosowano chromatografię gradientową z odwróconymi fazami, z przepływem 1 ml/min. Fazę ruchomą stanowił acetonitryl i 30 mM bufor fosforowy o pH = 2,3. Objętość próbki 50 μl, temp. kolumny 25 °C, temp. w autosamplerze 8 °C. Gradient rozpoczął się od 5 % udziału (v/v) acetonitrylu i był tak utrzymywany przez pierwsze 8 min przed zwiększeniem do 17,5 % (v/v) acetonitrylu w ciągu 17 min. Całkowity czas rozdziału wynosił 41 min. Długość fali wzbudzenia w detektorze fluorescencyjnym wynosiła 290 nm, zaś długość fali emisji 360 nm. Długość fali w detektorze spektrofotometrycznym (UV-VIS) z matrycą fotodiod wynosiła 290 nm. Piki były identyfikowane na podstawie czasu retencji wzorca i próbki. Obliczenia zawartości kwasu foliowego oraz poszczególnych form folianów dokonywano na podstawie wzorca ze znaną zawartością folianów, наносzonego kilkakrotnie na szczyt kolumny chromatograficznej podczas całej serii oznaczeń.

Wyniki przedstawiono jako wartości średnie z trzech powtórzeń. Poddano je analizie statystycznej, stosując trójczynnиковą analizę wariancji. Istotność różnic pomiędzy wartościami średnimi oceniano testem Duncana. Analizę statystyczną wykonywano przy użyciu programu Statistica 2008.

Wyniki i dyskusja

Na podstawie rozdziału chromatograficznego wzorca kwasu foliowego i poszczególnych form folianów w badanych układach modelowych, w próbkach soku zidentyfikowano kwas foliowy oraz jedną formę folianów: 5-metylotetrahydrofolian ($5\text{CH}_3\text{FH}_4$). Uzyskane wyniki przedstawiono w tab. 1. Przeprowadzone badania po-

zwoliły na określenie wpływu różnych warunków ekstrakcji na zawartość kwasu foliowego i folianów w badanym soku. Największą zawartość kwasu foliowego (32,62 - 34,53 $\mu\text{g}/100$ ml soku) oznaczono przy zastosowaniu ekstrakcji w buforze fosforanowym o $\text{pH} = 7,0$ przez 15 min w 100°C . Wartości te różniły się istotnie ($\alpha = 0,05$) od wyników uzyskanych przy zastosowaniu innych wariantów warunków ekstrakcji ($\text{pH} = 7,0$, 60 min/ 70°C ; $\text{pH} = 6,1$, 15 min/ 100°C ; $\text{pH} = 6,1$, 60 min/ 70°C), przy których zawartość kwasu foliowego mieściła się w przedziale od 22,91 do 28,13 $\mu\text{g}/100$ ml soku.

Tabela 1

Zawartość kwasu foliowego i $5\text{CH}_3\text{FH}_4$ w soku jabłkowym, oznaczona w różnych warunkach ekstrakcji i hydrolizy [$\mu\text{g}/100$ ml soku].

Content of folic acid and $5\text{CH}_3\text{FH}_4$ in apple juice as determined under different conditions of extraction and hydrolysis [$\mu\text{g}/100$ ml juice].

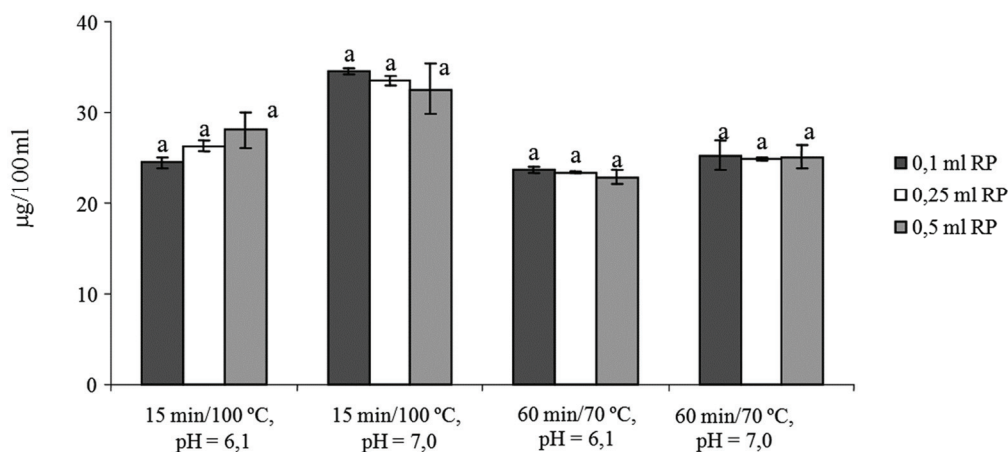
Warunki ekstrakcji i hydrolizy Conditions of extraction and hydrolysis				Kwas foliowy Folic acid [$\mu\text{g}/100$ ml]	$5\text{CH}_3\text{FH}_4$ 5-methyltetra- hydrofolian [$\mu\text{g}/100$ ml]
pH buforu buffer pH	Czas Time [min]	Temperatura Temperature [$^\circ\text{C}$]	Ilość dodanej hydrolazy γ -glutamylowej [ml] Added amount of γ -glutamyl hydrolase [ml]		
6,1	15	100	0,1	24,49 \pm 0,66 ab*	4,28 \pm 0,35 e*
6,1	15	100	0,25	26,31 \pm 0,56 bc	4,29 \pm 0,18 e
6,1	15	100	0,5	28,13 \pm 1,95 c	4,23 \pm 0,14 e
7,0	15	100	0,1	34,53 \pm 0,54 d	2,84 \pm 0,16 b
7,0	15	100	0,25	33,53 \pm 0,53 d	2,81 \pm 0,24 b
7,0	15	100	0,5	32,62 \pm 2,83 d	2,75 \pm 0,08 b
6,1	60	70	0,1	23,74 \pm 0,40 ab	3,91 \pm 0,09 de
6,1	60	70	0,25	23,47 \pm 0,12 ab	3,55 \pm 0,30 cd
6,1	60	70	0,5	22,91 \pm 0,75 a	3,51 \pm 0,01 c
7,0	60	70	0,1	25,34 \pm 1,59 ab	2,03 \pm 0,00 a
7,0	60	70	0,25	24,87 \pm 0,18 ab	1,98 \pm 0,03 a
7,0	60	70	0,5	25,16 \pm 1,30 ab	2,05 \pm 0,06 a

Objaśnienia: / Explanatory notes:

* – wartość średnia \pm odchylenie standardowe / mean value \pm standard deviation.

Wartości średnie oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ($\alpha = 0,05$) / Mean values denoted by the same letter do not differ statistically significantly ($\alpha = 0,05$).

Statystycznie istotne ($\alpha = 0,05$) zróżnicowanie zawartości oznaczonej formy $5\text{CH}_3\text{FH}_4$ uzyskano we wszystkich zastosowanych warunkach ekstrakcji. Największą zawartość $5\text{CH}_3\text{FH}_4$ (4,23 - 4,29 $\mu\text{g}/100$ ml soku) uzyskano przy prowadzeniu ekstrakcji w buforze fosforanowym o $\text{pH} = 6,1$ przez 15 min/ 100°C . Najmniejszą natomiast zawartość $5\text{CH}_3\text{FH}_4$ (1,98 - 2,05 $\mu\text{g}/100$ ml soku) oznaczono, kiedy ekstrakcja prowadzona była w buforze o odczynie obojętnym, tj. $\text{pH} = 7,0$ przez 60 min w 70°C . Wyniki te były co najmniej dwukrotnie niższe od najwyższych wartości uzyskanych w doświadczeniu, w którym zastosowano bufor o lekko kwaśnym odczynie, tj. 6,1 i krótkim czasie ogrzewania (15 min) w temp. 100°C . Istotnie wyższe wyniki oznaczeń naturalnej formy folianów uzyskano, stosując do ekstrakcji bufor fosforanowy o $\text{pH} = 6,1$; zarówno w temperaturze 100, jak i 70°C . Można sądzić, że czas ogrzewania był także czynnikiem w istotny sposób wpływającym na destrukcję folianów, ponieważ wyższe wyniki oznaczeń uzyskano w próbkach poddanych ogrzewaniu przez 15 min w temp. 100°C , aniżeli przez 60 min w temp. niższej, tj. 70°C , zarówno w przypadku próbek ekstrahowanych buforem o $\text{pH} = 7,0$, jak i $\text{pH} = 6,1$.



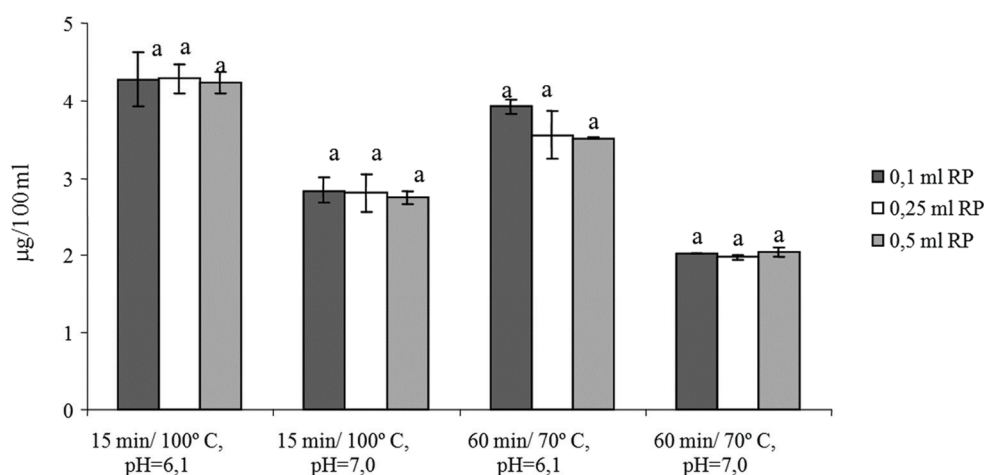
* Wartości średnie oznaczone tymi samymi literami, w tych samych warunkach ekstrakcji, nie różnią się statystycznie istotnie ($\alpha = 0,05$) / Mean values denoted by the same letter, under the same extraction conditions, do not differ statistically significantly ($\alpha = 0.05$).

Rys. 2. Wpływ dodatku hydrolazy γ -glutamylowej z plazmy krwi szczura (RP) na zawartość kwasu foliowego w soku jabłkowym.

Fig. 2. Effect of added γ -glutamyl hydrolase from blood plasma of rats (RP) on content of folic acid in apple juice.

Przeprowadzone badania umożliwiły sprawdzenie, czy ilość dodanej koniugazy foliowej, której źródło stanowiła plazma krwi szczura (RP), ma istotny wpływ na ilość oznaczanych folianów i kwasu foliowego. Dotychczas różni badacze stosowali

dodatek tego enzymu w różnych ilościach w zależności od materiału biologicznego [1, 12, 13, 14, 17, 23]. W badaniach – w tych samych warunkach ekstrakcji – każdorazowo stosowano dodatek różnych ilości RP, tj. 0,1; 0,25 i 0,5 ml, do 10 ml próbek soku. Wyniki oznaczania zawartości kwasu foliowego wskazują na brak istotnych różnic ($\alpha = 0,05$) zastosowanych ilości koniugazy folianowej w tych samych warunkach ekstrakcji i hydrolizy (rys. 2).



* Wartości średnie oznaczone tymi samymi literami, w tych samych warunkach ekstrakcji, nie różnią się statystycznie istotnie ($\alpha = 0,05$) / Mean values denoted by the same letters, under the same extraction conditions do not differ statistically significantly ($\alpha = 0.05$).

Rys. 3. Wpływ dodatku hydrolazy γ -glutamylowej z plazmy krwi szczura (RP) na zawartość $5\text{CH}_3\text{FH}_4$ w soku jabłkowym.

Fig. 3. Effect of added γ -glutamyl hydrolase from blood plasma of rats (RP) on content of $5\text{CH}_3\text{FH}_4$ in apple juice.

Nie stwierdzono także istotnego wpływu ($\alpha = 0,05$) dodatku różnych ilości enzymu na zawartość naturalnej formy folianu – $5\text{CH}_3\text{FH}_4$ (rys. 3).

Analiza wariancji wykazała, że na zmiany oznaczonej ilości kwasu foliowego i formy $5\text{CH}_3\text{FH}_4$ statystycznie istotny wpływ miały: pH buforu zastosowanego do ekstrakcji oraz czas i temperatura ekstrakcji, natomiast ilość dodanego enzymu nie miała istotnego wpływu (tab. 2).

Tabela 2

Wyniki analizy wariancji (F) określające wpływ pH buforu, ilości dodanego enzymu oraz czasu i temperatury ekstrakcji na zawartość kwasu foliowego i 5CH₃FH₄ w soku jabłkowym.

Results of variance analysis (F-values) identifying the effect of pH of buffer, quantity of enzyme, time & temperature on the content of folic acid and 5CH₃FH₄.

Rodzaj zmiennej Type of variable	Zawartość kwasu foliowego Content of folic acid	Zawartość 5CH ₃ FH ₄ Content of 5-methyltetrahydrofolian
pH buforu pH of Buffer	81***	465***
Ilość enzymu Quantity of enzyme	0,05	1,3
Czas/temperatura Time/temperature	129***	92***

***istotne na poziomie $p < 0,001$ / significant at $p < 0.001$

Wnioski

1. Warunki ekstrakcji i hydrolizy odgrywają istotną rolę w oznaczaniu kwasu foliowego i folianów. Przeprowadzone badania wskazują na konieczność zastosowania innych parametrów ekstrakcji i hydrolizy (pH, czas i temperatura ekstrakcji) do oznaczeń dodanego syntetycznego kwasu foliowego i folianów.
2. Zaadaptowanie metody oznaczania kwasu foliowego i folianów w sokach owocowych pozwoli na objęcie pełniejszą kontrolą produktów fortyfikowanych kwasem foliowym, biorąc pod uwagę także zawartość naturalnie obecnych w nich folianów. Jest to konieczne ze względu na brak uregulowań prawnych dotyczących wzbogacania żywności i suplementacji diety kwasem foliowym w Polsce i w Unii Europejskiej oraz w związku z pojawiającymi się kontrowersjami dotyczącymi wpływu nadmiaru kwasu foliowego na organizm człowieka.

Literatura

- [1] Arcot J., Shrestha A.: Folate: methods of analysis. Trends Food Sci. Technol., 2005, **16**, 253-266.
- [2] Arcot J., Shrestha A., Gusanov U.: Enzyme protein binding assay for determining folic acid in fortified cereal foods and stability of folic acid under different extraction conditions. Food Control, 2002, **13**, 245-252.
- [3] Blake Ch.J.: Analytical procedures for water-soluble vitamins in foods and dietary supplements: a review. Anal. Bioanal. Chem., 2007, **389**, 63-76.
- [4] Blakely R.L.: The biochemistry of folic acid and related pteridines. Amsterdam 1969.
- [5] Bree A., Dusseldrop M., Brouwer A., Hof K.H., Steegers-Theunissen R.P.M.: Folate intake in Europe: recommended, actual and desired intake. Eur. J. Clin. Nutr., 1997, **51**, 643-660.

- [6] Buttriss J.: Strategies designed to increase awareness about folates and health, and to increase folate intake: A review. *Trends Food Sci. Technol.*, 2005, **16**, 246-252.
- [7] Cieślak E., Florkiewicz A.: Aspekty żywieniowe soków i napojów nowej generacji, *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2001, **3**, 19-21.
- [8] Dang J., Arcot J., Shrestha A.: Folate retention in selected processed legumes. *Food Chem.*, 2000, **68**, 295-298.
- [9] Forssén K.M., Jägerstad M.I., Wigertz K., Witthöft C.M.: Folates and dairy products: A critical update. *J. Am. College Nutr.*, **2** (19), 100-110.
- [10] Green- Raleigh K., Carter H., Mulinare J., Prue Ch., Petrini J.: Trends in Folic Acid Awareness and Behaviour in the United States: The Gallup Organization for the March of Dimes Foundation Surveys, 1995-2005. *Matern. Child Health J.*, 2006, **10**, 177-182.
- [11] Gregory III J.F., Quinlivan E.P., Davis S.R.: Integrating the issues of folate bioavailability, intake and metabolism in the era of fortification. *Trends Food Sci. Technol.*, 2005, **16**, 229-240.
- [12] Gujska E., Kuncewicz A.: Determination of folate in some cereals and commercial cereal-grain products consumed in Poland using trienzyme extraction and high-performance liquid chromatography methods. *Eur. Food Res. Technol.*, 2005, **221**, 208-213.
- [13] Hefni M., Öhrvik V., Tabekha M., Witthöft C.: Folate content in foods commonly consumed in Egypt. *Food Chem.*, 2010, **121**, 540-545.
- [14] Jastrebova J., Witthöft C., Granath A., Svensson U., Jägerstad M.: HPLC determination of folates in raw and processed beetroots. *Food Chem.*, 2003, **80**, 579-588.
- [15] Jägerstad M., Jastrebova J., Svensson U.: Folates in fermented vegetables- a pilot study. *Lebensm.-Wiss. u.- Technol.*, 2004, **37**, 603-611.
- [16] Jägerstad M., Piironen V., Walker C., Ros G., Carnovale E., Holasova M., Nau H.: Increasing food folate through bioprocessing and biotechnology. *Trends Food Sci. Technol.*, 2005, **16**, 298-306.
- [17] Johnston K.E., Lofgren P.A., Tamura T.: Folate concentrations of fast foods measured by trienzyme extraction method. *Food Res. Int.*, 2002, **35**, 565-569.
- [18] Kim Y.I.: Will mandatory folic acid fortification prevent or promote cancer? *Am. J. Clin. Nutr.*, 2004, **80**, 1123-1128.
- [19] Konings E.J.M.: A validated liquid chromatographic method for determining folates in vegetables, milk powder, liver, and flour. *J. AOAC Int.*, 1999, **1** (82), 119-127.
- [20] Nathoo T., Holmes Ch.P., Ostry A.: An analysis of the development of Canadian food fortification policies: the case of vitamin B. *Health Promotion Int.*, 2005, **4**(20), 375-382.
- [21] Neuhauser M.L., Beresford S.A.A.: Folic Acid: Are Current Fortification Levels Adequate? *Nutrition*, 2001, **10**(17), 868-872.
- [22] Pfeifer C.M., Rogers L.M., Gregory III J.F.: Determination of folate in cereal-grain products using tri-enzyme extraction and combined affinity and reversed-phase liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.*, 1997, **45**, 407-413.
- [23] Phillips K.M., Wunderlich K.M., Holden J.M., Exler J., Gebhardt S.E., Haytowitz D.B., Beecher G.R., Doherty R.F.: Stability of 5-methyltetrahydrofolate in frozen fresh fruits and vegetables. *Food Chem.*, 2005, **92**, 587-595.
- [24] Pietruszka B.: Efektywność uzupełniania diety folianami na tle czynników ryzyka niedoboru folianów u młodych kobiet. *Wyd. SGGW, Warszawa* 2007.
- [25] Rampersaud G.C., Kauwell G.P.A., Bailey L.B.: Folate: A key to optimizing health and reducing disease risk in the elderly. *J. Am. College Nut.*, 2003, **1** (22), 1-7.
- [26] Smith J., Empson M., Wall C.: Recurrent anaphylaxis to synthetic folic acid. *The Lancet*, 2007, **370**, 9588.
- [27] Storozhenko S., Ravel S., Zhang G., Rébeillé F., Lambert W., van der Straten D.: Folate enhancement in staple crops by metabolic engineering. *Trends Food Sci. Technol.*, 2005, **16**, 271-281.

- [28] Strålsjö L., Arkbåge K., Witthöft C., Jägerstad M.: Evaluation of a radioprotein- binding assay (RPBA) for folate analysis in berries and milk. *Food Chem.*, 2002, **79**, 525-534.
- [29] Tamura T., Mizuno Y., Johnson K.E., Jacob R.A.: Food folate assay with protease, α -amylase and folate conjugase treatments. *J. Agric. Food Chem.*, 1997, **45**, 135-139.
- [30] Vahteristo L.T., Velimatti O., Koivistoinen P.E., Varo P.: Improvements in the analysis of reduced folate monoglutamates and folic acid in food by High-Performance Liquid Chromatography. *J. Agric. Food Chem.*, 1996, **44**, 477-482.
- [31] Vora A., Riga A., Dollimore D., Alexander K. S.: Thermal stability of folic acid. *Thermochemica Acta*, 2002, 392-393, 209-220.
- [32] Wright A.J.A., Finglas P.M., Southon S.: Proposed mandatory fortification of the UK diet with folic acid have potential risks been underestimated? *Trends Food Sci. Technol.*, 2001, **12**, 313-321.

EFFECT OF EXTRACTION AND HYDROLYSIS CONDOTIONS ON THE DETERMINED CONTENT VALUE OF FOLIC ACID AND FOLATES IN APPLE JUICE

S u m m a r y

Vitamin-fortified fruit juices may be a convenient source of biologically active compounds including the folic acid and folates, its derivatives, which naturally occur in fruits. However, those compounds show a low chemical stability, which makes the determination of their content very difficult. Based on the reference literature and the authors' own study, it has been found that any biological material needs different conditions to be applied to the effective extraction and hydrolysis of its components prior to their determination using a HPLC method. The objective of the research was to determine the effect of different conditions of extraction (pH of buffer, time/temperature) and hydrolysis (RP - quantity of plasma in the blood of rats as a source of folate conjugase) on the content of folic acid and folates in the material analyzed. The highest content of folic acid (32.62 - 34.53 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ juice) was determined when the extraction was performed using a phosphate buffer of pH = 7.0 at 100° C for 15 minutes. The highest content of methyl form (4.23 - 4.29 $\mu\text{g } 5\text{CH}_3\text{FH}_4/100\text{ml}$ juice) was determined in the case of the extraction carried out in a phosphate buffer of pH=6.1 at 100° C for 15 minutes. Different amounts of plasma in the blood of rats added under the same conditions of extraction had not any significant effect ($\alpha =0.05$) on the determined content values of both the folic acid and $5\text{CH}_3\text{FH}_4$.

Key words: apple juice, folic acid, folates, hydrolysis, extraction, HPLC 

GRZEGORZ KŁOSOWSKI, ANNA BŁAJET-KOSICKA, DAWID MIKULSKI,
JAN GRAJEWSKI

OCENA MOŻLIWOŚCI REDUKCJI STĘŻENIA MIKOTOKSYN W PROCESIE PRODUKCJI ETANOLU Z ZIARNA KUKURYDZY TECHNOLOGIĄ BUS I KLASYCZNĄ

Streszczenie

Oceniono możliwość redukcji stężenia mikotoksyn obecnych w ziarnie kukurydzy w procesie produkcji etanolu technologią klasyczną (parnik Henze'go) oraz BUS (bezcisnieniowe uwalnianie skrobi). Analizowano wpływ operacji i procesów jednostkowych oraz drożdży *Saccharomyces cerevisiae* na zmiany stężenia mikotoksyn w zacierach i wywarach. W technologii BUS wykazano zależność redukcji stężenia mikotoksyn od sposobu obróbki termicznej zacieru. Zastosowanie podgrzewaczy typu „jet-cooker” sprzyjało większej redukcji stężenia mikotoksyn, która wyniosła w odniesieniu do deoksyniwalenolu (DON) maksymalnie ok. 20 %, a fumonizyn (FUM) do 21 %. W alternatywnym wariantcie, użycie płytowych wymienników ciepła (eliminacja kontaktu pary wodnej z zacierem) skutkowało mniejszą efektywnością eliminacji mikotoksyn. W technologii klasycznej wykazano znaczną redukcję stężeń DON, zearalenonu (ZEA) i FUM pod wpływem obróbki barotermicznej. Ostateczny bilans stężenia mikotoksyn w tej technologii wykazał niemal całkowitą eliminację FUM, redukcję DON w około 77 - 97 %, natomiast ZEA od 95 do 100 %. W trakcie fermentacji nie stwierdzono wpływu tego procesu z udziałem drożdży na redukcję stężeń DON, ZEA i FUM. Rezultaty uzyskane w procesie technologicznym BUS wskazują, że nie należy oczekiwać pełnej eliminacji mikotoksyn. W specyficznych warunkach wykazano nawet trzykrotny wzrost stężenia ZEA w wysuszonym wywarze w stosunku do surowca. Powinno to skłaniać do kontroli wywaru uzyskanego z przerobu surowców zanieczyszczonych mikotoksynami, zwłaszcza w przypadku jego wykorzystania w żywieniu zwierząt.

Słowa kluczowe: biodegradacja mikotoksyn, fermentacja alkoholowa, etanol

Wprowadzenie

Coraz częściej skrobiowe surowce gorzelnicze stanowią partie produktów nieprzydatnych do wykorzystania na cele paszowe, gdyż cechuje je znaczny stopień porażenia przez patogeny grzybowe i bakteryjne. Istnieje wysokie prawdopodobieństwo

Dr inż. G. Kłosowski, mgr D. Mikulski, Zakład Biotechnologii, mgr A. Błajet-Kosicka, dr hab. J. Grajewski prof. UKW, Zakład Fizjologii i Toksykologii, Wydz. Nauk Przyrodniczych, Uniwersytet Kazimierza Wielkiego w Bydgoszczy ul. Chodkiewicza 30, 85-064 Bydgoszcz

występowania w nich podwyższonego stężenia wtórnych metabolitów tych mikroorganizmów, zwłaszcza mikotoksyn. Problem ten jest obserwowany przy towarowej uprawie kukurydzy, której zbiór na ziarno trwa nawet w początkach pory zimowej [1, 7, 25]. Po biokonwersji skrobi zawartej w surowcu na alkohol, a następnie jego oddestylowaniu, pozostaje wywar podestylacyjny o trudnym do zdefiniowania stopniu skażenia mikotoksynami lub ich metabolitami.

Mikotoksyny są wtórnymi metabolitami grzybów, należących przede wszystkim do rodzaju *Aspergillus*, *Penicillium* i *Fusarium*. Mogą powstawać w wielu surowcach rolnych w bardzo różnych warunkach. Mikotoksyny wykazują wielokierunkowe działanie toksyczne, dlatego ich obecność w surowcach gorzelnicznych stanowi potencjalne zagrożenie dla przebiegu procesu fermentacji i jakości spirytusu surowego [8, 18, 19], jak również dla zwierząt żywionych wywarem gorzelnicznym. Chociaż ostre efekty toksyczne są obserwowane tylko wyjątkowo, długotrwałe narażenie nawet na małe stężenia mikotoksyn może powodować różne niedyspozycje i dolegliwości zwierząt. Niebezpieczeństwo potęguje migracja mikotoksyn do produktów pochodzenia zwierzęcego (mleko, mięso, podroby, jaja). Metabolity grzybów pleśniowych ze względu na niewielkie rozmiary cząsteczek i różnorodne właściwości toksyczne mogą powodować w organizmach efekty: mutagenne i kancerogenne (AF – aflatoksyny, OTA – ochratoksyna A i fumonizyny – FUM), wpływać na system hormonalny (zearalenon – ZEA), uszkadzać system immunologiczny (AF, OTA i deoksyniwalenol – DON), powodować niedoczynność nerek (OTA, cytrynina) i wady rozwojowe (OTA) [27].

Zanieczyszczenie żywności może nastąpić bezpośrednio poprzez wzrost komórek grzybów pleśniowych wytwarzających toksyny na artykułach spożywczych lub też pośrednio poprzez przenikanie (droga *carry over*) mikotoksyn z paszy do organizmu zwierzęcia, a stąd do produktów spożywczych pochodzenia zwierzęcego [4, 5, 21]. Integralność i kontrola łańcucha żywnościowego obejmująca fizyczny i biologiczny wpływ środowiska na łańcuch żywnościowy/paszowy; został ujęty w 7. Programie Ramowym UE w sekcji – Żywność, Rolnictwo, Rybołówstwo i Biotechnologia. Zrealizowane badania wpisują się w ten program, uznający za priorytetowe kierunki badań nad wykorzystaniem odpadów rolno-przemysłowych i produktów ubocznych oraz poprawę jakości, w tym bezpieczeństwa żywności, napojów i pasz.

Zasadnicze znaczenie ma ustalenie, które mikotoksyny, jak często i w jakich ilościach obecne są w surowcach gorzelnicznych, co wiąże się z coraz powszechniejszym przetwarzaniem w gorzelnictwie surowców o niskich parametrach jakościowych lub wręcz odpadowych.

Znane są doniesienia naukowe o możliwości redukcji stężenia mikotoksyn w trakcie procesów mikrobiologicznych z udziałem między innymi drożdży *Saccharomyces cerevisiae* [13, 22, 26]. Istotne wydaje się zbadanie tego zagadnienia w odniesieniu do procesów fermentacyjnych w skali przemysłowej.

Toksynotwórcze grzyby pleśniowe mogą wzrastać i produkować toksyny w zbożach w czasie wegetacji roślin. Są to głównie toksyny fuzaryjne i trichoteceny np. DON, ZEA i FUM [6, 9]. Podczas magazynowania ziarniaków zboża w niewłaściwych warunkach (np.: przy wilgotności powyżej 13 %) istnieje niebezpieczeństwo tworzenia się mikotoksyn wytwarzanych przez tzw. grzyby przechowalnicze, szczególnie z rodzaju *Penicillium* i *Aspergillus*. Jedną z nich jest OTA spotykana w zbożach klimatu umiarkowanego, jak również aflatoksyna B₁ (AFB₁) wykryta w magazynowanym wilgotnym ziarnie kukurydzy [10, 20].

Znaczenie ziarna kukurydzy jako surowca dla przemysłu gorzelniczego wzrosło w Polsce znacząco w ostatnich latach. Począwszy od 1995 r. areał kukurydzy uprawianej z przeznaczeniem na ziarno zwiększył się ponad czterokrotnie. Ze względów technologicznych jest to surowiec charakteryzujący się wieloma pozytywnymi właściwościami, w tym wysoką zawartością skrobi i związaną z tym dużą wydajnością alkoholu o korzystnym składzie produktów ubocznych i właściwościach sensorycznych. Warunki klimatyczne Polski sprawiają, że w momencie zbioru ziarno kukurydzy charakteryzuje się wysoką wilgotnością, wahającą się w granicach 30 - 38 % [28]. Z tego powodu nie nadaje się do dłuższego przechowywania bez konieczności dosuszenia, co z kolei powoduje wzrost kosztów i ceny tego surowca. Niepożądane procesy mikrobiologiczne zachodzące w wilgotnym ziarnie powodują spadek wydajności alkoholu (ok. 1 dm³ EtOH/100 kg), a jednocześnie postępuje jego porażenie rozwijającymi się intensywnie pleśniami oraz zanieczyszczenie mikotoksynami silnie toksycznymi dla ludzi i zwierząt [17, 16].

W celu zwiększenia efektywności produkcji, oszczędności energii, zmniejszenia jednostkowych kosztów produkcji spirytusu surowego, zastępuje się w Polsce technologię klasyczną technologią BUS. Ziarno nie jest poddawane obróbce barotermicznej, jak ma to miejsce w technologii klasycznej, lecz rozdrabniane mechanicznie. Tym samym wyeliminowane zostaje działanie wysokiej temperatury (152 °C) na surowiec. W metodzie klasycznej niektóre mikotoksyny pod wpływem obróbki wysokotemperaturowej mogą ulegać transformacji do form pochodnych, np. DON do mniej toksycznego DOM-1 [23, 24].

Większość wykonanych i opublikowanych w Polsce badań nad zawartością mikotoksyn dotyczy oceny stopnia skażenia produktów spożywczych oraz przetworzonych przemysłowych pasz i karmy dla zwierząt. Problem skażenia mikotoksynami surowców wykorzystywanych w przemyśle fermentacyjnym oraz ich wpływ na samą fermentację i jakość produktu finalnego, jak również stopień ewentualnej biodegradacji w trakcie procesów fermentacyjnych, w tym produkcji etanolu był dotychczas przedmiotem nielicznych prac badawczych realizowanych w Polsce [8, 11, 12, 22].

Celem przeprowadzonych badań było określenie możliwości redukcji stężeń mikotoksyn zawartych w surowcu wyjściowym podczas procesu technologicznego fer-

mentacji alkoholowej prowadzonej z udziałem drożdży *Saccharomyces cerevisiae*, z uwzględnieniem poszczególnych operacji i procesów jednostkowych. W trakcie realizacji projektu dokonano oceny występowania i stopnia zanieczyszczenia mikotoksynami ziarna kukurydzy oraz oceniono pozostałości mikotoksyn w wywarze podestylacyjnym uzyskiwanym z różnych procesów technologicznych (technologia klasyczna – Henze'go oraz BUS – becznieniowego uwalniania skrobi).

Materiały i metody badań

Próbki surowca gorzelniczego – ziarno kukurydzy, jak również uzyskane z tego surowca próbki zacierów i wywarów pochodziły z warunków pełnoprodukcyjnych gorzelnii rolniczych stosujących technologię klasyczną oraz becznieniowego uwalniania skrobi (BUS). Pobrane w sposób reprezentatywny próbki surowców zabezpieczano w workach foliowych przed zmianą właściwości podczas transportu. Próbki płynne zacierów i wywarów pobierano do pojemników szklanych o pojemności 1 dm³ na poszczególnych etapach procesu produkcyjnego, po wcześniejszym wymieszaniu zawartości kadzi i zbiorników wywarowych. Pobrany materiał po przewiezieniu do laboratorium przechowywano w chłodni w temp. 4 - 8 °C (kilka do kilkunastu godzin) do momentu wykonywania ekstrakcji mikotoksyn do analiz instrumentalnych. Próbki pobierano i analizowano w dwóch powtórzeniach. Charakterystykę podstawowych parametrów surowców wykorzystywanych do produkcji w poszczególnych gorzelniach zestawiono w tab. 1.

Oznaczenie stężenia mikotoksyn wykonywano w Laboratorium Badawczym Mikotoksyn Uniwersytetu Kazimierza Wielkiego w Bydgoszczy. Mikotoksyny izolowano z surowca, zacierów oraz wywarów z zastosowaniem kolumnienek powinowactwa immunologicznego AflaTest[®], FumoniTest[™] i ZearalaTest[®] (Vicam) w przypadku aflatoksyn (AF), FUM i ZEA oraz odpowiednio Donprep[®] i Ochraprep[®] (R-Biopharm Rhône) do izolowania DON i OTA – zgodnie z procedurami przewidzianymi przez producentów kolumnienek z modyfikacjami własnymi. Mikotoksyny oznaczano metodą HPLC. Detekcję AF i OTA prowadzono z zastosowaniem detektora fluorescencyjnego (Merck-Hitachi system kolumna: LiChroCART 250-4, LiChrospher 100 RP-18; 250×4 mm, 5 µm). AF oznaczano z zastosowaniem derywatywacji pokolumnowej (system Cobra Cell) i fazy ruchomej o składzie ACN:MeOH:H₂O (1 : 1 : 3) z dodatkiem kwasu azotowego i bromku potasu jako czynnika derywatyzującego. W oznaczaniu OTA fazę ruchomą stanowił roztwór ACN i 2 % CH₃COOH (7 : 3). W obydwu przypadkach stosowano elucję izokratyczną z przepływem 1 ml/min. DON, ZEA i FUM były oznaczane przy zastosowaniu podwójnej spektrometrii mas (MS/MS, 3200 QTRAP – Applied Biosystems) [3].

Tabela 1

Zestawienie podstawowych parametrów technologicznych oraz poziom zanieczyszczenia surowca mikotoksynami.

List of major technological parameters and level of contaminating raw material by mycotoxins.

Podstawowe parametry technologiczne kukurydzy wykorzystywanej w gorzelniach Major technological parameters of maize used in distilleries	Technologia BUS PLS technology		Technologia Henze'go Henze's (classic) technology				
	Gorzelnia T Distillery T	Gorzelnia B Distillery B	Gorzelnia SY Distillery SY	Gorzelnia SŁ Distillery SŁ	Gorzelnia C Distillery C	Gorzelnia P Distillery P	
Sucha masa [SM%] Dry substance [DS%]	74,35	86,33	64,16	63,32	84,42	62,89	
Wydajność [dm ³ EtOH ze 100 kg surowca] Yield [dm ³ EtOH/100 kg of raw material]	29,0	36,75	28,0	24,5	32,5	23,5	
Poziom zanieczyszczenia mikotoksynami [ppb] Level of contamination by mycotoxins [ppb]	∑ AF	0,28	nw / nd	nw / nd	nw / nd	nw / nd	nw / nd
	OTA	nw / nd	nw / nd	nw / nd	nw / nd	<0,2	<0,2
	ZEA	18	8	8	28	156	572
	DON	452	452	351	972	3099	6059
	∑ FUM	1186	nw / nd	22	997	1518	2137

nw / nd – nie wykryto/not detected

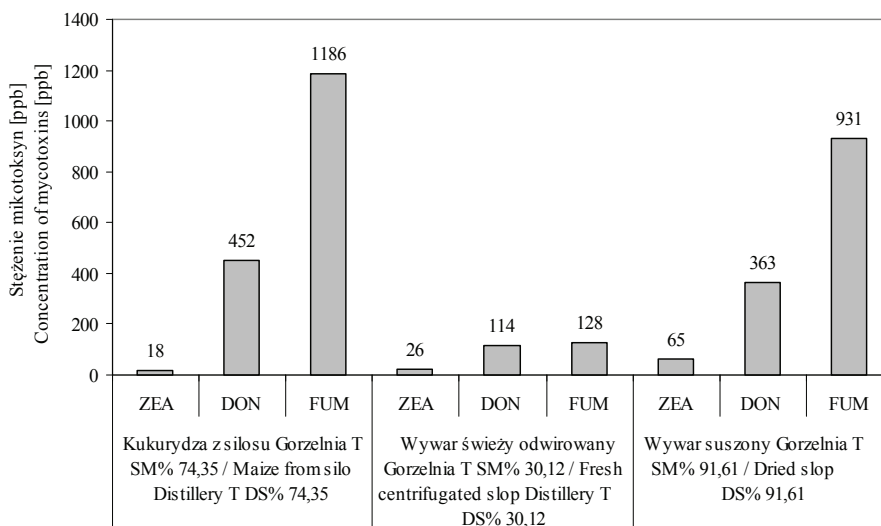
Wydajność alkoholu ze 100 kg analizowanego surowca oznaczano metodą fermentacyjną zgodnie z instrukcją analityczną CLPR [14], z modyfikacją polegającą na zastąpieniu hydrolizy kwasowo-termicznej (autoklawowanie) przez hydrolizę enzymatyczną skrobi, z użyciem handlowych amylolitycznych preparatów enzymatycznych pochodzenia mikrobiologicznego firmy Novozymes (Dania) tj.: Termamyl S.C. oraz SAN Extra. W warunkach podanej metody wydajność alkoholu ze skrobi wynosi około 91 % w stosunku do teoretycznej (71,9 %), czyli ze 100 kg czystej skrobi otrzymuje się 65,4 dm³ alkoholu. Wilgotność analizowanych próbek surowców (materiał zmielony w młynie laboratoryjnym) oraz zacierów i wywarów oznaczano w dwóch powtórzeniach, z zastosowaniem wagosuszarki firmy RADWAG typ WPS-30.

Wyniki i dyskusja

Określenie stopnia redukcji stężenia mikotoksyn w próbach zacierów i wywarów pochodzących z procesu technologicznego w gorzelniach stosujących technologię BUS

Wyniki badań, dotyczące biodegradacji mikotoksyn w procesie technologicznym w gorzelniach stosujących technologię BUS, wykazują zróżnicowanie w zależności od zakładu i występujących różnic w sposobie obróbki termicznej surowca.

Wyniki oznaczania stężenia mikotoksyn w wywarach podestylacyjnych w gorzelnii oznaczonej symbolem „T” wskazują, że czynniki występujące w procesie technologicznym pozwoliły na uzyskanie umiarkowanego efektu redukcji stężenia mikotoksyn w odniesieniu do DON i FUM (rys. 1). Ze względu na brak zanieczyszczenia surowca przez OTA i śladowe skażenie aflatoksynami, nie zachodziła możliwość oszacowania ewentualnego stopnia redukcji stężeń tych mikotoksyn.



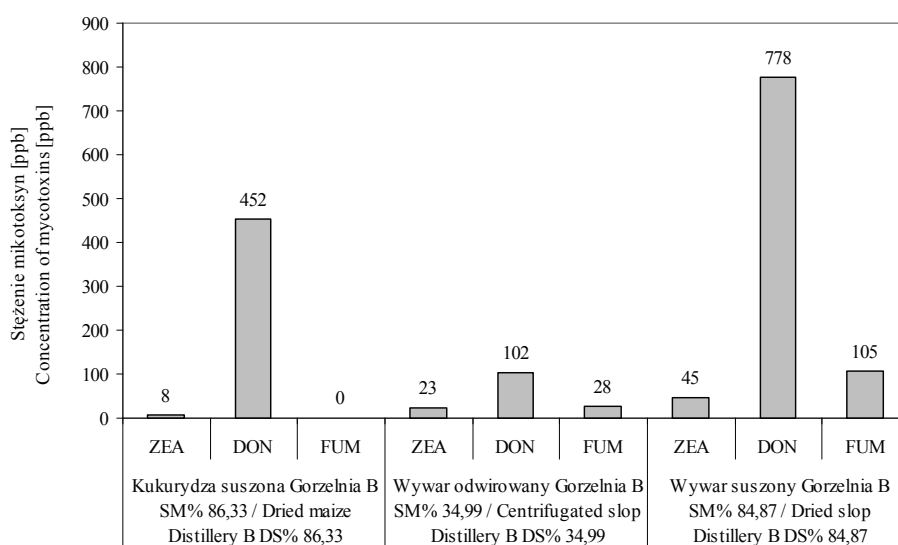
Rys. 1. Stężenie mikotoksyn w ziarnie kukurydzy z silosu i w wywarze podestylacyjnym, w gorzelnii „T”, stosującej technologię BUS oraz suszenie wywaru w suszarni bębnowej.

Fig. 1. Concentrations of mycotoxins in maize grain taken from silo and in slop after distillation, in distillery „T” where BUS technology was used and slops were dried in the drum drying device.

Redukcja stężenia DON w wywarze wysuszonym do wilgotności 8,39 % (w stosunku do stężenia w surowcu) po procesie suszenia w suszarce bębnowej kształtowała się na poziomie ok. 20 %. Stężenie fumonizyn w suchej masie wywaru wynosiło: FumB₁ – 620 ppb, FumB₂ – 319 ppb, FumB₃ – 79 ppb (łącznie – 931 ppb w świeżej masie wywaru; 1017 ppb w suchej masie). Redukcja stężenia fumonizyn w stosunku do ich stężenia w surowcu wyniosła ponad 21 %. Stężenie ZEA w wysuszonym wywa-

rze było znacząco większe niż w surowcu wyjściowym. W przeliczeniu na suchą masę surowca i wywaru wysuszonego wzrost ten był niemal trzykrotny. W stałej frakcji wywaru po odwirowaniu uzyskano 89 % spadek stężenia fumonizyn względem surowca wyjściowego. W odniesieniu do DON redukcja stężenia wynosiła bezpośrednio w próbach surowca i wywaru odwirowanego ok. 75 %. Proces suszenia (związany ze znaczną redukcją wilgotności) przyczynił się do względnego wzrostu stężenia mikotoksyn. Ponadto po uwzględnieniu faktu, że skrobia stanowiąca ponad 58 % suchej masy surowca ulega biokonwersji do etanolu i dwutlenku węgla, stężenie mikotoksyn w wysuszonym wywarze podestylacyjnym w technologii BUS może być większe w porównaniu z surowcem wyjściowym.

Odmienne wyniki uzyskano w wyniku analizy próbek z gorzelnii „B”, również stosującej technologię BUS. Odnotowano wzrost stężenia mikotoksyn w wywarze podestylacyjnym związany z zachodzącą w trakcie fermentacji biokonwersją skrobi do etanolu. Znaczne zmiany proporcji składników w surowcu i wysuszonym wywarze przyczyniły się w efekcie końcowym do relatywnego wzrostu stężenia DON, ZEA i fumonizyn w wywarze podestylacyjnym (rys. 2).



Rys. 2. Stężenie mikotoksyn w kukurydzy suszonej i w wywarze podestylacyjnym, w gorzelnii „B”, stosującej technologię BUS oraz suszenie wywaru z dodatkiem zagęszczonej frakcji ciekłej.

Fig. 2. Concentrations of mycotoxins in dried maize and in slop after distillation, in distillery „B” where BUS technology was used and slops were dried with addition of concentrated liquid fraction.

Można sądzić, że różnice w zakresie uzyskanej redukcji stężeń mikotoksyn pomiędzy zakładami zależą od sposobu pasteryzacji surowca. W gorzelnii „B” stosowane jest podgrzewanie zacieru metodą wymiennikową (wymyennik przeponowy). Metoda

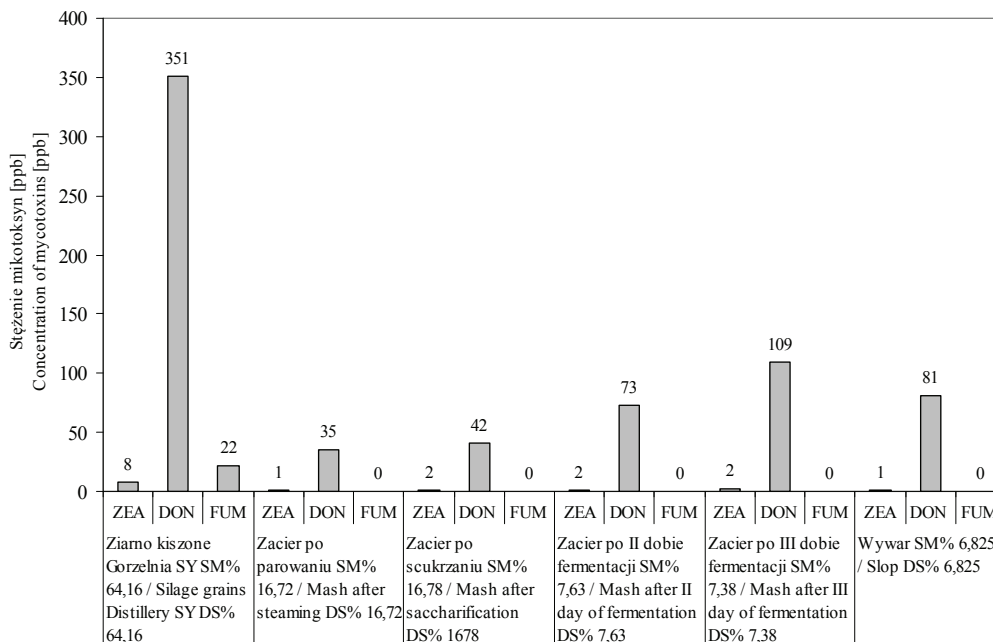
ta jest stosunkowo łagodna, co sprawia, że temperatura zacieru nie przekracza 90 °C. Nie występuje bezpośredni kontakt przegrzanej pary wodnej z surowcem. Z kolei w gorzelnii „T” stosowany jest przepływowy system podgrzewania zacieru z użyciem strumieniowych podgrzewaczy inżektorowych typu „jet-cooker”. W tego typu urządzeniu dochodzi do bezpośredniego kontaktu przegrzanej pary wodnej o wysokiej temperaturze z mieszaniną wody i surowca stanowiącej zacier. Jak wykazano we wstępie, obróbka termiczna (obejmująca oddziaływanie wysokiej temperatury na surowiec) może powodować redukcję stężenia mikotoksyn [20, 21]. Pewien wpływ na uzyskane wyniki z gorzelnii „B” ma również zagęszczanie supernatantu po wirowaniu w wyparkach próżniowych i dodawanie otrzymanego syropu do wywaru w trakcie suszenia. Ma to na celu redukcję ilości ścieków i poprawę bilansu wodno-ściekowego gorzelnii. Tym niemniej we frakcji ciekłej mogą znajdować się pewne ilości mikotoksyn, przyczyniając się również do wzrostu ich stężenia w wywarze suszonym.

Określenie stopnia redukcji stężenia mikotoksyn w próbach zacierów i wywarów pochodzących z procesu technologicznego z gorzelnii stosującej technologię klasyczną Henze’go

Wyniki badań stężenia mikotoksyn na różnych etapach procesu technologicznego (w produktach pośrednich) w gorzelniach stosujących technologię klasyczną Henze’go przedstawiono na rys. 3 - 6. Niezależnie od zakładu, należy podkreślić znaczącą redukcję stężeń mikotoksyn już na etapie obróbki zacieru w parniku, z zastosowaniem obróbki barotermicznej. Bezpośredni kontakt przegrzanej pary wodnej o temp. ok. 150 °C i ciśnieniu dochodzącym do 5 atmosfer skutkowało zauważalną redukcją stężeń DON, ZEA i fumonizyn.

Obróbka barotermiczna (parowanie) surowca w gorzelnii „SY” spowodowała redukcję stężenia DON o ok. 90 % (wyniki przeliczone na suchą masę w celu wyeliminowania efektu rozcieńczenia toksyn – co ma miejsce przy sporządzaniu zacieru – wskazują na ich redukcję o ok. 64 %) (rys. 3). Niemal identyczny efekt uzyskano w gorzelnii „C”, gdzie w zacierze po pierwszej dobie stwierdzono redukcję stężenia DON o ok. 94 % (rys. 4).

W gorzelnii „SY” po obróbce barotermicznej redukcja stężenia ZEA w zacierze i wywarze była niemal całkowita. W gorzelnii „C” (rys. 4) zmniejszenie stężenia ZEA po pierwszej dobie fermentacji wyniosło ok. 87 %. Jednak w przypadku tej toksyny należy podkreślić, że poza obróbką barotermiczną, w pewnym stopniu do redukcji stężenia mogła przyczynić się również aktywność metaboliczna mikroflory drożdżowej, prowadząca do powstawania jej metabolitów tj. α - i β -ZOL [29].



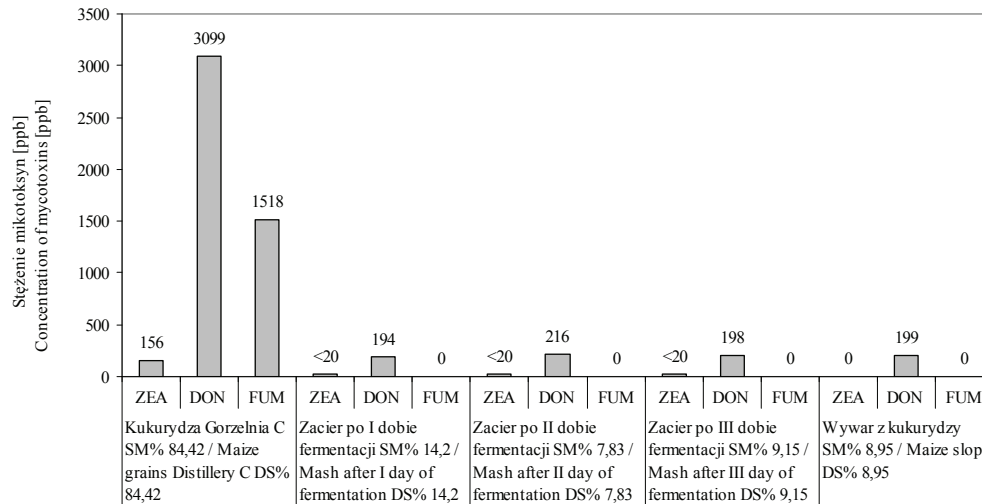
Rys. 3. Stężenie mikotoksyn w kiszonym ziarnie kukurydzy, w zacierach i w wywarze podestylacyjnym, w gorzelnii „SY”, stosującej technologię klasyczną (metoda Henze’go),

Fig. 3. Concentrations of mycotoxins in marinated maize grain, in mashes and in slop after distillation, in distillery „SY” where classic technology was used (Henze’s method).

Nie stwierdzono, aby obróbka rozparowanego surowca przy zastosowaniu enzymatycznych preparatów amylolitycznych pochodzenia mikrobiologicznego powodowała zmiany lub redukcję stężenia badanych mikotoksyn (rys. 3). Po procesie zacierań (hydrolizie) ich stężenia pozostawały praktycznie na niezmiennym poziomie.

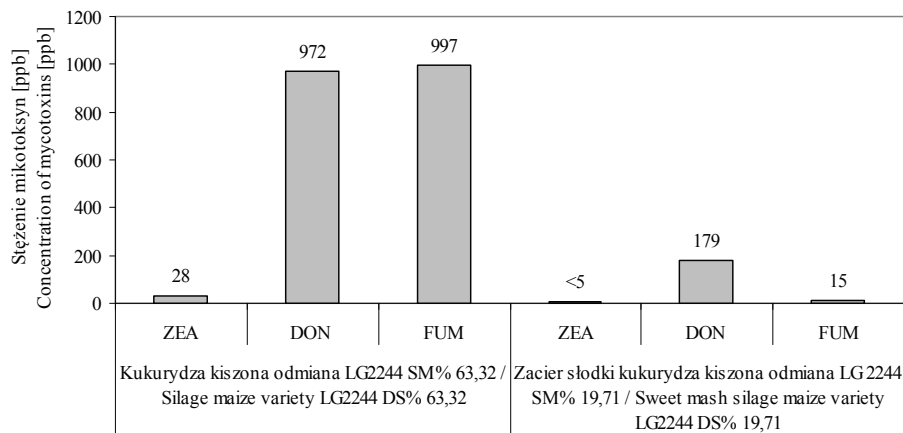
W zależności od stężenia w surowcu, całkowicie lub niemal całkowicie i trwale z procesu technologicznego wyeliminowane zostały fumonizyny dzięki procesowi parowania. Podobny efekt redukcji stężenia mikotoksyn stwierdzono również w innych zakładach stosujących technologię klasyczną z wykorzystaniem parnika Henze’go. W przypadku wyższego stężenia początkowego fumonizyn w surowcu, ich pozostałość po obróbce barotermicznej była bardzo niewielka na poziomie ok. 15 ppb. Redukcja wynosiła niemal 99 % po procesie parowaniu i hydrolizie enzymatycznej (rys. 5).

Sam proces fermentacji, z zastosowaniem drożdży gorzelnicznych *Saccharomyces cerevisiae*, nie spowodował zauważalnej redukcji stężenia badanych mikotoksyn w produktach pośrednich przerobu kukurydzy (rys. 3 i 4).



Rys. 4. Stężenie mikotoksyn w suszonym ziarnie kukurydzy, w zacierach i w wywarze podestylacyjnym, w gorzelnii „C”, stosującej technologię klasyczną (metoda Henze’go).

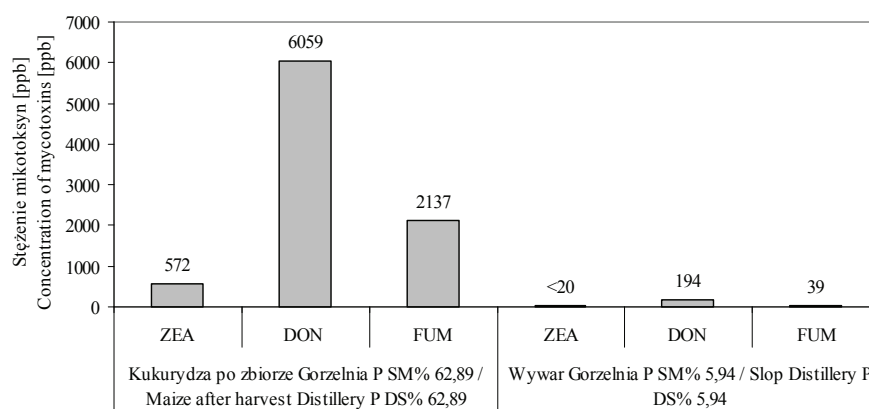
Fig. 5. Concentrations of mycotoxins in dried maize corn, in mashes and in slop after distillation, in distillery “C” where classic technology was used (Henze’s method).



Rys. 5. Stężenie mikotoksyn w kiszonym ziarnie kukurydzy i w zacierze, po obróbce barotermicznej surowca (parnik Henze’go) oraz hydrolizie enzymatycznej skrobi, z zastosowaniem preparatów amylolytycznych, w gorzelnii „SŁ”.

Fig. 4. Concentrations of mycotoxins in marinated maize grain and in mash after barothermal processing (Henze’s steamer) and after enzymatic hydrolysis of starch, using amylolytic preparations, in distillery „SŁ”.

Aktywność mikroflory drożdżowej w zakresie biodegradacji mikotoksyn była niezauważalna. Są to rezultaty podobne do uzyskanych w technologii BUS. Wpływ na brak redukcji stężenia mikotoksyn na skutek oddziaływania mikroflory drożdżowej w trakcie fermentacji może potęgować występowanie w zacierach z technologii Henze'go szkodliwych produktów reakcji karmelizacji i Maillarda, powstających w procesie obróbki barotermicznej surowca [15]. Obecność substancji szkodliwych w podłożu fermentacyjnym i konieczność neutralizacji ich toksycznego oddziaływania może zmniejszać efekt redukcji stężenia mikotoksyn przez drożdże w procesach biosorpcji i biodegradacji.

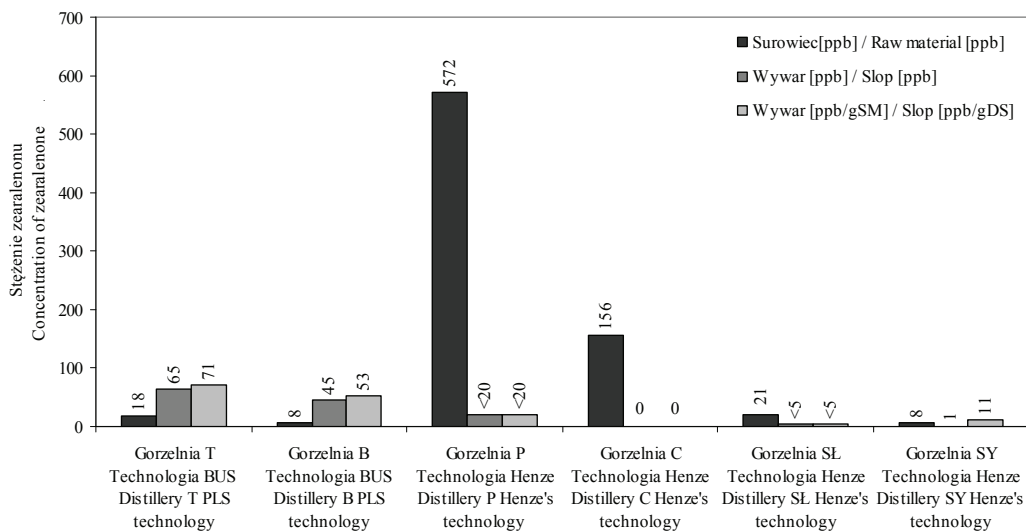


Rys. 6. Stężenie mikotoksyn w kukurydzy po zbiorze i w wywarze, po obróbce barotermicznej surowca (parnik Henze'go), hydrolizie enzymatycznej skrobi z zastosowaniem preparatów amylolytycznych oraz fermentacji, w gorzelnii „P”.

Fig. 6. Concentrations of mycotoxins in maize grain after harvesting and in mash, after barothermal processing of raw material (Henze's steamer), after enzymatic hydrolysis of starch with the use of amylolytic preparations and fermentation, in distillery „P”.

Na rys. 6. przedstawiono bilans DON, ZEA i fumonizyn w surowcu wyjściowym o stosunkowo wysokim poziomie zanieczyszczenia oraz ich pozostałość w wywarze podestylacyjnym (gorzelnia „P” stosująca technologię klasyczną). Po przeliczeniu stężenia mikotoksyn na suchą masę próbek surowca i wywaru stwierdzono redukcję stężenia mikotoksyn w wywarze wynoszącą odpowiednio, w przypadku ZEA ponad 67 %, DON – 65 % i ok. 80 % w odniesieniu do fumonizyn.

Wykonano dodatkowe bezpośrednie zestawienie stężeń mikotoksyn w surowcu wyjściowym i wywarach podestylacyjnych uwzględniające różnice zawartości suchej masy w badanych próbkach (rys. 7 - 9). Ze względu na śladowe skażenie surowca i wywarów OTA i aflatoksynami pominięto je na wykresach.

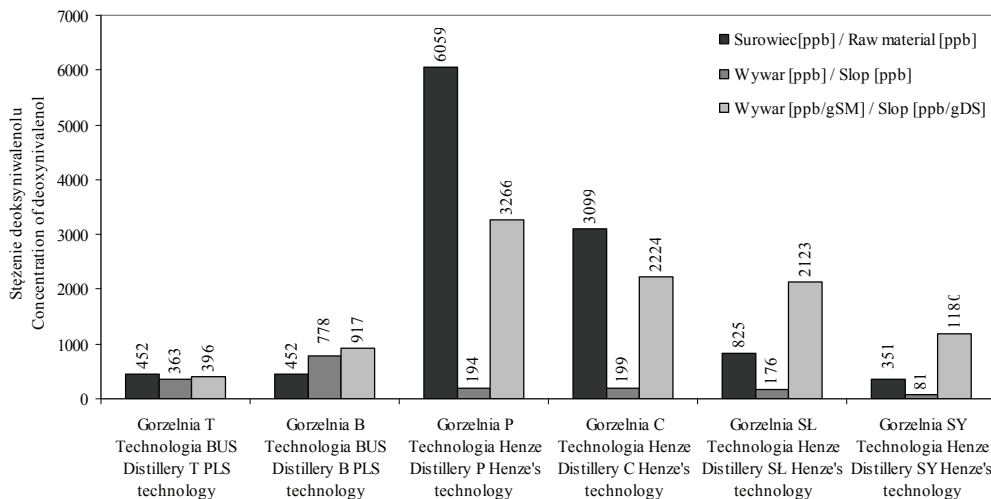


Rys. 7. Zestawienie bilansu stężenia ZEA w surowcu i w wywarze podestylacyjnym w gorzelniach stosujących technologię BUS i suszenie wywaru (sucha masa wywaru od 85 - 91 %) oraz gorzelniach stosujących technologię klasyczną bez suszenia wywaru (sucha masa wywaru 6 - 9 %).

Fig. 7. Balance of ZEA concentration in raw material and in slops after distillation, in distilleries applying BUS technology and slop drying (dry substance of slops ranging from 85 to 91 %) and in distilleries applying classic technology without drying slops (dry substance of slops: 6 - 9 %).

Z analizy wykresu (rys. 7) wynika, że w technologii BUS, w której nie jest stosowana obróbka barotermiczna, nie należy oczekiwać redukcji stężenia ZEA. Stwierdzono dodatni bilans tej toksyny w wysuszonym wywarze względem surowca wyjściowego. Ze względu na małe skażenie surowca wyjściowego również zanieczyszczenie wywaru ZEA było niewielkie. W przypadku znacznego stężenia tej toksyny w surowcu, wzrost skażenia wysuszonego wywaru może być istotny. W zależności od zakładu i poziomu zanieczyszczenia surowca redukcja stężenia ZEA w wywarze wynosiła od 95 - 100 %. Na brak możliwości uzyskania całkowitej eliminacji ZEA w procesie fermentacji zwracają uwagę również inni autorzy [2].

Na rys. 8. przedstawiono zestawienie obejmujące zmiany stężenia DON w surowcu i w wywarach. W technologii BUS, w zależności od zakładu i wspomnianych wcześniej różnic w sposobie pasteryzacji zacieru, uzyskano odmienne rezultaty. W gorzelnii „T” (strumieniowy pasteryzator typu „jet-cooker”) uzyskano ok. 35 % efekt redukcji stężenia DON w suchej masie wysuszonego wywaru (względem stężenia w surowcu).



Rys. 8. Zestawienie końcowego bilansu stężenia DON w surowcu i w wywarze podestylacyjnym w gorzelniach stosujących technologię BUS i suszenie wywaru (sucha masa wywaru od 85 – 91 %) oraz w gorzelniach stosujących technologię klasyczną bez suszenia wywaru (sucha masa wywaru 6 - 9 %).

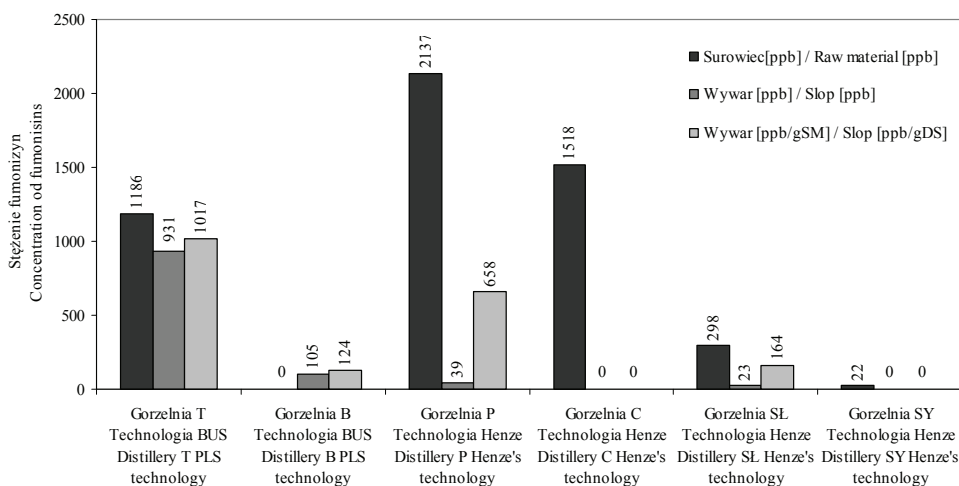
Fig. 8. Balance of the final DON concentration in raw material and slops after distillation, in distilleries applying BUS technology and slop drying (dry substance of slops: 85-91 %) and in distilleries applying classic technology without drying slops (dry substance of slops: 6 - 9 %).

W gorzelnii „B” (pasteryzacja wymiennikiem przeponowym), w której stosowano dodatkowo zawracanie zagęszczonej w wyparce ciekłej frakcji wywaru, stwierdzono wzrost stężenia DON w suchej masie wysuszonego wywaru względem surowca o ponad 70 %.

W technologii klasycznej redukcja stężeń DON w wywarze w stosunku do stężenia w surowcu wahała się w zależności od zakładu i stężenia początkowego. Wyższemu stężeniu DON w surowcu odpowiadała większa redukcja stężenia stwierdzona w wywarze podestylacyjnym wynosząca średnio 95 %. Przy niższych stężeniach DON w surowcu redukcja wynosiła już tylko ok. 78 %.

Na rys. 9. przedstawiono zestawienie obejmujące zmiany stężenia fumonizyn w suchej masie próbek surowca i wywarów. W technologii BUS, w zależności od zakładu i wspomnianych wcześniej różnic w sposobie pasteryzacji zacieru, uzyskano rezultaty podobne, jak w przypadku stężenia DON. W gorzelnii „T”, na skutek stosowania bardziej radykalnej metody obróbki termicznej, uzyskano efekt redukcji stężenia fumonizyn w wysuszonej wywarze, w przeliczeniu na suchą masę surowca wyjściowego i wywaru wyniósł ok. 37 %. W gorzelnii „B” ze względu na opisane wyżej różni-

ce technologiczne stwierdzono wzrost stężenia fumonizyn w wysuszonym wywarze względem surowca.



Rys. 9. Zestawienie końcowego bilansu stężenia fumonizyn w surowcu i w wywarze podestylacyjnym w gorzelniach stosujących technologie BUS i suszenie wywaru (sucha masa wywaru 85 - 91 %) oraz gorzelniach stosujących technologię klasyczną bez suszenia wywaru (sucha masa wywaru 6 - 9 %).

Fig. 9. Balance of the final fumonisins concentration in raw material and in slops after distillation, in distilleries applying BUS technology and slop drying (dry substance of slops: 85-91%) and in distilleries applying classic technology without drying slops (dry substance of slops: 6 - 9 %).

W technologii klasycznej redukcja stężeń fumonizyn w wywarze w stosunku do stężenia w surowcu była niemal całkowita. W dwóch przypadkach stwierdzono w wywarze nieznaczne stężenie fumonizyn na poziomie 23 - 39 ppb. We wszystkich próbach surowca i wywaru dominującą fumonizyną była forma B₁.

Wnioski

1. W technologii BUS uzyskano maksymalną redukcję stężenia DON na poziomie ok. 20 %, a fumonizyn do 21 % (odpowiednio ok. 35 % i 37 % w przeliczeniu na suchą masę surowca wyjściowego i wywaru). Wyjątek stanowi ZEA, którego stężenie w wysuszonym wywarze było niemal trzykrotnie większe niż w surowcu.
2. W technologii BUS, przy umiarkowanej redukcji mikotoksyn w procesie technologicznym, istnieje realne zagrożenie wzrostu stężenia mikotoksyn w suchej masie wywaru podestylacyjnego względem ich stężenia w surowcu.
3. W wariacie technologii BUS, w którym do pasteryzacji zacieru stosuje się przegrzaną parę wodną mającą bezpośredni kontakt z surowcem, uzyskano wyższy

- stopień redukcji DON i fumonizyn, w porównaniu rozwiązaniem wykorzystującym płaszczowe wymienniki ciepła.
4. W trakcie procesu technologicznego, zarówno w technologii BUS, jak i klasycznej, nie stwierdzono aktywności metabolicznej drożdży przejawiającej się redukcją stężenia badanych mikotoksyn w trakcie fermentacji.
 5. W technologii klasycznej obróbka barotermiczna surowca w parniku Henze'go powoduje znaczącą redukcję stężeń DON, ZEA i fumonizyn, wywierając decydujący wpływ na ostateczny ujemny bilans stężenia tych mikotoksyn w wywarze przejawiający się niemal całkowitą eliminacją fumonizyn, redukcją DON w granicach 77 - 97 % i ZEA od 95 - 100 %.

Badania wykonano w ramach projektu badawczego własnego finansowanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego Nr N311 052 31/3420. Praca naukowa finansowana ze środków na naukę w latach 2006 - 2009 jako projekt badawczy.

Literatura

- [1] Arseniak E., Góral T.: Mikotoksyny fuzaryjne w ziarnie zbóż. Forum producentów roślin zbożowych, kukurydzy i rzepaku. Zbiór referatów, Polagra-Farm Poznań 2005.
- [2] Bennet G.A., Lagoda A.A., Shotwell O.L. and Hesseltine C.M.: Utilization of zearalenone - contaminated corn for ethanol production. J. Am. Oil Chem. Soc., 1981, **58**, 974-976.
- [3] Błajet-Kosicka A., Kosicki R., Twarużek M., Grajewski J.: Application of Liquid Chromatography/Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry to mycotoxins analysis in several matrices (food- and feedstuffs, biological samples, fungi cultures). Acta Biochimica Polonica, 2008, **55**, Suppl. 2/2008, 50.
- [4] Cavret S., Lecoeur S.: Fusariotoxin transfer in animal. Food Chem. Toxicol., 2006, **44**, 444-453.
- [5] Czerwiecki L.: Mikotoksyny w żywności jako czynnik zagrożenia zdrowotnego. Żywność, Żywnienie a Zdrowie, 1997, **4**, 292-300.
- [6] D'Mello J.P.F., Placinta C.M., Macdonald A.M.C.: Fusarium mycotoxins: a review of global implications for animal health, welfare and productivity. Anim. Feed Sci. Tech., 1999, **80**, ss. 183-205.
- [7] Dorszewski P.: Porażenie kukurydzy grzybami *Fusarium* a jej przydatność do skarmiania. Kukurydza, 1998, **2(12)**, 39-40.
- [8] Dziuba E., Foszczyńska B., Zarychta P.: The effect of mycotoxins on FAN metabolism and formation of volatile compounds in malt worts. Acta Sci. Pol., Biotechnologia, 2007, **6 (3)**, 15-26.
- [9] Eriksen G. S., Pettersson H.: Toxicological evaluation of trichothecenes in animal feed. Anim. Feed Sci. Technol., 2004, **114 (1-4)**, 205-239.
- [10] Fandohan P., Zoumenou D., Hounhouigan D.J., Marasas W.F.O., Wingfield M.J., Hell K.: Fate of aflatoxins and fumonisins during the processing of maize into food products in Benin. Int. J. Food Microbiol., 2005, **98**, 249-259.
- [11] Foszczyńska B., Dziuba E.: Physiological status of brewing yeast during fermentation of worts contaminated with mycotoxins, P. 1: T-2 and ZEA. Acta Sci. Pol., Biotechnologia, 2007, **6 (1)**, 3-12.
- [12] Foszczyńska B., Dziuba E.: Physiological status of brewing yeast during fermentation of worts contaminated with mycotoxins, P. 2: DAS and OTA. Acta Sci. Pol., Biotechnologia, 2007, **6 (2)**, 25-34.

- [13] Haskard C., El-Nezami H., Kankaanpaa P., Salminen S., Ahokas J.: Surface binding of aflatoxin B₁ by lactic acid bacteria. *Appl. Environ. Microb.*, 2001, **VII**, (7) **67**, 3086-3091.
- [14] Instrukcja analityczna CLPR: Oznaczanie wydajności alkoholu z surowców zawierających skrobię. CLPR, Warszawa 1976.
- [15] Kłosowski G., Błajet-Kosicka A.: Mechanizmy powstawania oraz występowanie pirazyn w destylatach spirytusowych, jako element oceny prawidłowości obróbki termicznej surowca w procesie technologicznym. *Biotechnologia*, 2010, **1**, 140-153.
- [16] Kłosowski G., Grajewski J.: Wpływ skażenia ziarna kukurydzy deoksynivalenolem i zearalenonem na wskaźniki biotechnologiczne i wydajność fermentacji alkoholowej. W: Aktualne problemy gorzelnictwa rolniczego. Teoria i praktyka, Wyd. PM „LOGO”, Bydgoszcz 2008, ss. 61-68.
- [17] Kłosowski G., Grajewski J., Miklaszewska B.: Przydatność technologiczna oraz stopień skażenia grzybami pleśniowymi i mikotoksynami ziarna kukurydzy stosowanego w Polsce do przerobu na bioetanol. W: Aktualne problemy gorzelnictwa rolniczego. Technologie ekologiczne. Wyd. PM „LOGO”, Bydgoszcz 2007, ss. 61-68.
- [18] Kłosowski, G., Mikulski, D.: The effect of raw material contamination with mycotoxins on the composition of alcoholic fermentation volatile by-products in raw spirits. *Bioresource Technol.*, 2010, **101**, 9723-9727.
- [19] Kłosowski G., Mikulski D., Grajewski J., Błajet-Kosicka A.: The influence of raw material contamination with mycotoxins on alcoholic fermentation indicators. *Bioresource Technol.*, 2010, **101**, 3147-3152.
- [20] Lee B. H., Magan N.: Impact of environment and interspecific interactions between spoilage fungi and *Aspergillus ochraceus* on growth and ochratoxin production in maize grain. *Int. J. Food Microbiol.*, 2000, **61**, 11-16.
- [21] Perkowski J.: Aspekty żywieniowe i konsekwencje zdrowotne występowania mikotoksyn. V Międzyn. Konf. Nauk. „Mikotoksyny i Dioksyny a Środowisko”, Bydgoszcz 2000, ss. 29-38.
- [22] Piotrowska M., Żakowska Z.: The biodegradation of ochratoxin A in food products by lactic acid bacteria and baker's yeast. *Food Biotechnol.*, 2000, **17**, 307-310.
- [23] Pronyk C., Cenkowski S., Abramson D.: Superheated steam reduction of deoxynivalenol in naturally contaminated wheat kernels. *Food Control*, 2006, **17**, 789-796.
- [24] Samar M., Resnik S.L., González H.H.L., Pacin A.M., Castillo M.D.: Deoxynivalenol reduction during the frying process of turnover pie covers. *Food Control*, 2007, **18**, 1295-1299.
- [25] Sieliwanowicz B.: Żyto i kukurydza w technologii gorzelniczej BUS, zacieranie i fermentacja. W: Aktualne problemy gorzelnictwa rolniczego. Teoria i praktyka. Wyd. PM „LOGO”, Bydgoszcz 2003, ss. 5-9.
- [26] Shetty P.H., Hald B., Jespersen L.: Surface binding of Aflatoxin B₁ by *Saccharomyces cerevisiae* strains with potential decontaminating abilities in indigenous fermented foods. *Int. J. Food Microbiol.*, 2007, **113**, 41-46.
- [27] Sweeney M.J., Dobson A.D.W.: Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. *Int. J. Food Microbiol.*, 1998, **43**, 141-158.
- [28] Warzecha R.: Rejestr odmian kukurydzy. Kukurydza rośliną przyszłości. Wyd. Biznes Press, Warszawa 2005, ss. 28-37.
- [29] Zinedine A., Soriano J., M., Molto J., C., Mañes J.: Review on the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenone: An oestrogenic mycotoxin. *Food Chem. Toxicol.*, 2007, **45**, 1-18.

ASSESSING THE POTENTIAL OF REDUCING MYCOTOXIN CONCENTRATION DURING THE PRODUCTION PROCESS OF ETHANOL FROM MAIZE GRAIN USING PLS AND CLASSIC TECHNOLOGY**S u m m a r y**

The potential of reducing mycotoxin concentrations in maize grain was assessed during the process of producing ethanol with the application of classic technology (Henze's steamer) and PLS technology (Pressureless Starch Liberation). The effect of individual operations, processes, and *Saccharomyces cerevisiae* yeast on changes in the concentrations of mycotoxins in mashes and slops was analyzed. As for the PLS technology, the dependence was found between the reduction of mycotoxin concentrations and the method of how the mash was thermally processed. Owing to "jet-cooker" heaters used, the reduction degree of mycotoxin concentration was higher and amounted to, at the maximum, ca. 20 % in the case of deoxynivalenol (DON), and up to 21 % in the case of fumonisins (FUM). Alternatively, when plate heat exchangers were utilized (elimination of contact between water steam and mash), the elimination of mycotoxins was less effective. In the classic technology, a considerable reduction of concentrations of DON, zearalenone (ZEA), and FUM was found when a barothermal processing was applied. The final balance of mycotoxin concentration in this technology showed that FUM were eliminated almost completely, DON at a level between 77 - 97 %, and ZEA was reduced by about 95 - 100 %. During the fermentation process, no impact of this process with the yeast used was found on the reduction of DON, ZEA, and FUM concentrations. The results obtained when the PLS technology was applied prove that no complete elimination of mycotoxins should be expected. Under specific conditions, the ZEA concentration in dried slops was found to be three times as high as in the raw material. Therefore, it is highly advised to control the slops produced during the processing of raw materials contaminated by mycotoxins, especially when they are used in feeding animals.

Key words: mycotoxins biodegradation, alcoholic fermentation, ethanol ☒

AGATA GÓRSKA, EWA OSTROWSKA-LIGĘZA, MAGDALENA WIRKOWSKA,
JOANNA BRYŚ

OCENA PARAMETRÓW UTLENIANIA KWASU LINOŁOWEGO Z WYKORZYSTANIEM RÓŻNICOWEJ KALORYMETRII SKANINGOWEJ

Streszczenie

Szczególną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu organizmu człowieka odgrywają niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe - kwas linolowy i α -linolenowy. Jako kwasy wielonienasycone są narażone na utlenianie, na skutek czego tracą aktywność biologiczną. W wyniku ich rozpadu powstaje wiele szkodliwych dla zdrowia substancji, tj. pierwotnych i wtórnych produktów reakcji utleniania. Związki te odpowiedzialne są za powstawanie zjełczałego zapachu i smaku produktów spożywczych. Dlatego tak istotne jest badanie odporności na utlenianie, jako podstawowego wyznacznika przydatności żywieniowej i technologicznej tłuszczów.

Zakres pracy obejmował określenie parametrów termokinetycznych kwasu linolowego z wykorzystaniem testu różnicowej kalorymetrii skaningowej oraz ocenę stabilności oksydatywnej badanego kwasu. W badaniach wykorzystano dynamiczną opcję pracy aparatu DSC, stosując następujące szybkości ogrzewania próbek: 4 K/min; 5 K/min; 7,5 K/min; 10 K/min; 12,5 K/min; 15 K/min. Pomiary nieizotermicznego utleniania kwasu linolowego prowadzone z użyciem skaningowego kalorymetru różnicowego pozwoliły na sprawne wyznaczenie energii aktywacji, czynnika przedpotęgowego oraz stałej szybkości reakcji.

Słowa kluczowe: wielonienasycone kwasy tłuszczowe, parametry termokinetyczne, stabilność termooksydacyjna, różnicowa kalorymetria skaningowa

Wprowadzenie

Wielonienasycone kwasy tłuszczowe (PUFA) należą do niezbędnych składników odżywczych, są potrzebne do prawidłowego rozwoju i funkcjonowania organizmu. Wśród nich szczególne miejsce zajmują niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe (NNKT) – kwas linolowy (n-6) i α -linolenowy (n-3) [2, 16]. Kwasy te odgrywają ważną rolę jako materiał budulcowy i energetyczny oraz uczestniczą w procesach metabo-

licznych. Organizm człowieka, ze względu na brak odpowiednich układów enzymatycznych, nie potrafi ich syntezować, dlatego muszą być dostarczane z żywnością.

Kwasy wielonienasycone są szczególnie narażone na utlenianie, na skutek czego tracą właściwości biologiczne kwasów niezbędnych. Szybkość i kierunek ich utleniania zależy od wielu czynników, m.in. od temperatury stosowanej podczas procesów i operacji technologicznych oraz warunków przechowywania. W wyniku procesów oksydacyjnych powstaje wiele szkodliwych dla zdrowia substancji, tj. pierwotne i wtórne produkty reakcji utleniania: wodoronadtlenki, ketony, aldehydy, produkty polimeryzacji, izomeryzacji oraz cyklizacji. Niektóre z nich są odpowiedzialne za powstawanie zjełczałego, niepożądanego zapachu i smaku żywności [2, 15]. Należą do nich niskocząsteczkowe substancje lotne, przede wszystkim krótkołańcuchowe aldehydy oraz powstające z nich wskutek utleniania kwasy.

Nadtlenki i rodniki, tworzące się w wyniku oksydacyjnych przemian lipidów, powodują degradację wielu zawartych w żywności witamin; są przyczyną niekorzystnych i nieakceptowanych przez konsumentów zmian sensorycznych oraz biorą udział w procesach kancerogenezy, mutagenezy, stanowiąc zagrożenie dla zdrowia człowieka. Mogą reagować z innymi składnikami żywności, zmniejszając jej wartość odżywczą. Dotyczy to zwłaszcza białek. Aminokwasami najbardziej podatnymi na uszkodzenie są lizyna i aminokwasy zawierające siarkę [5]. Ich straty mają zasadnicze znaczenie, gdyż są to aminokwasy egzogenne i zmniejszenie ich zawartości istotnie ogranicza wartość odżywczą białka spożywanych produktów. Badania nad oddziaływaniem powstałych w wyniku utlenienia kwasu linolowego nadtlenków z białkami rybonukleazy, trypsyny i pepsyny wykazały znaczne straty cennych aminokwasów (metioniny, lizyny, cystyny) [4, 6]. Istotne jest zatem badanie m.in. odporności na utlenianie jako podstawowego wyznacznika przydatności żywieniowej i technologicznej tłuszczów.

Celem pracy było określenie parametrów termokinetycznych kwasu linolowego, a także ocena jego stabilności oksydacyjnej z wykorzystaniem testu różnicowej kalorymetrii skaningowej.

Material i metody badań

Przedmiotem badań był kwas *Z,Z*-oktadeka-9,12-dienowy (linolowy 18:2) (Sigma, o czystości $\geq 99\%$). W pracy określano parametry termokinetyczne kwasu linolowego, a także oceniano jego stabilność termokinetyczną. W tym celu stosowano skaningowy kalorymetr różnicowy – DSC (ang. Differential Scanning Calorimeter), Q200, TA Instruments. Aparat skalibrowano przy użyciu czystego indu. Warunki przeprowadzenia doświadczenia ustalono na podstawie danych literaturowych [7, 9]. Masa badanych próbek wynosiła 3 - 4 mg. Utlenianie próbek związku przeprowadzano w atmosferze tlenu w zakresie temperatury: 30 - 250 °C. W badaniach wykorzystano dynamiczną opcję pracy aparatu, stosując następujące szybkości ogrzewania próbek (β)

[K/min]: 4; 5; 7,5; 10; 12,5; 15. Każdy pomiar wykonano dwukrotnie. Na podstawie uzyskanych termogramów określano: temperaturę ekstrapolowanego początku utleniania – temperatura onset (T_{on}), w której układ osiąga stały stopień przereagowania oraz maksymalną temperaturę utleniania, odpowiadającą wartości maksimum pików (T_{max}). Energię aktywacji (E_a), czynnik przedpotęgowy (Z) oraz stałą szybkości reakcji utleniania (k) kwasu linolowego wyznaczano metodą Ozawy - Flynna - Walla [3, 14].

Wyniki i dyskusja

Pomiary nieizotermicznego utleniania kwasu linolowego prowadzone z użyciem skaningowego kalorymetru różnicowego pozwoliły na wyznaczenie energii aktywacji, czynnika przedwykładniczego oraz stałej szybkości reakcji. Rejestrowano powtarzalne parametry, tj. temperaturę ekstrapolowanego początku utleniania (T_{on}) oraz temperaturę odpowiadającą maksimum pików (T_{max}), z uwzględnieniem 6 szybkości ogrzewania. Uzyskane wartości przedstawiono w tab. 1.

Tabela 1

Parametry T_{on} i T_{max} uzyskane dla sześciu szybkości ogrzewania próbki w procesach termoutleniania kwasu linolowego.

Parameters T_{on} and T_{max} obtained for six rates of heating sample during the thermo-oxidative processes of linoleic acid.

Rodzaj próbki Type of sample	Szybkość ogrzewania Heating rates [K/min]	T_{on}		T_{max}	
		[°C]	[K]	[°C]	[K]
Kwas linolowy Linoleic acid	4	101,89	375,04	133,36	406,51
	5	105,71	378,86	139,55	412,70
	7,5	112,49	385,64	151,14	424,29
	10	119,27	392,42	162,39	435,54
	12,5	122,93	396,08	169,44	442,59
	15	126,62	399,77	174,90	448,05

Wyniki uzyskane w teście DSC wykazały istotny wpływ szybkości ogrzewania próbek na zarejestrowane wartości temperatury rozpoczęcia procesu utleniania oraz maksymalnej temperatury utleniania. Wraz ze wzrostem szybkości utleniania rosła wartość temperatury T_{on} i T_{max} . W ustalonych warunkach prowadzenia procesu szybkość ogrzewania próbki była stała, zatem uzyskane wartości temperatury, charakterystyczne dla danego układu, mogły być uznane jako parametry różnicujące odporność kwasu linolowego na rozkład termoutleniający. Wartości temperatury T_{on} i T_{max} uzyskane przy różnych wartościach wzrostu szybkości ogrzewania próbki odpowiadały

stałemu stopniowi przereagowania i dlatego mogły być wykorzystane do obliczenia parametrów kinetycznych.

Wykorzystując wartości temperatury T_{on} oraz T_{max} kwasu linolowego, a także szybkość ogrzewania próbki sporządzono wykresy przedstawiające zależność logarytmu szybkości ogrzewania ($\log \beta$) od odwrotności temperatury ($1/T_{on}$; $1/T_{max}$) (rys. 1 i 2).

Przedstawione na rys. 1. i 2. zależności można przedstawić w postaci równania regresji typu:

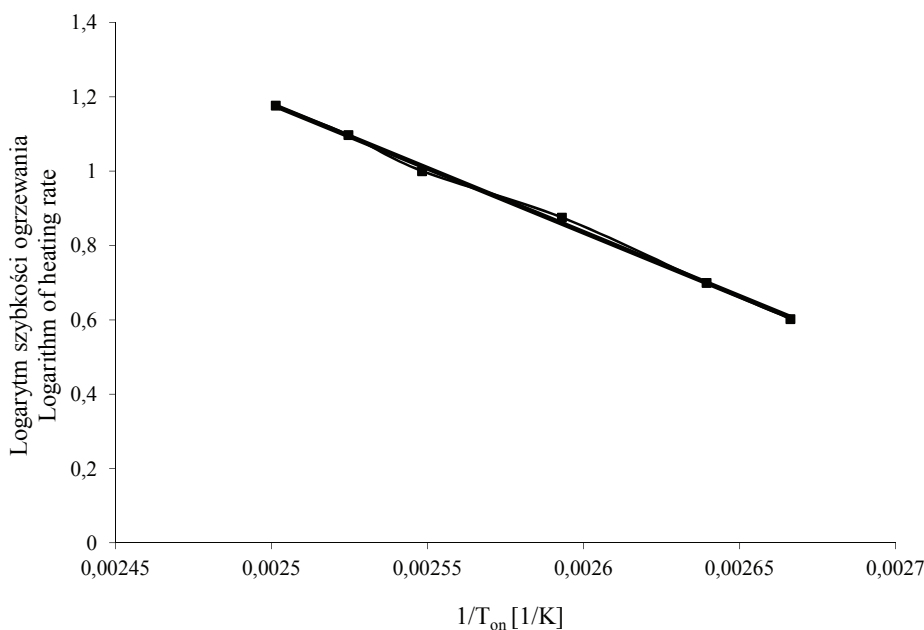
$$\log \beta = a(1/T_{on} \text{ lub } 1/T_{max}) + b \quad (1)$$

gdzie: β - szybkość ogrzewania, a - współczynnik kierunkowy prostej, b - współczynnik przesunięcia prostej, T - temperatura [K].

Współczynnik kierunkowy wyznaczony z równania (1):

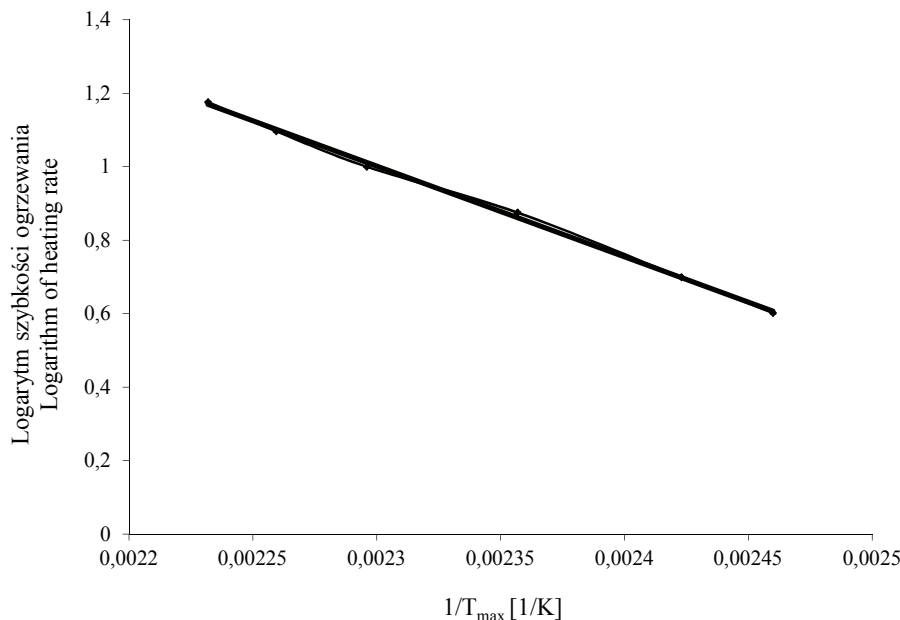
$$a = (d \log \beta / dT^{-1}) \quad (2)$$

został użyty do obliczenia wartości energii aktywacji.



Rys. 1. Temperaturowe przesunięcie onset w zależności od logarytmu szybkości ogrzewania termoutleniającego rozkładu kwasu linolowego.

Fig. 1. Temperature shift of the onset depending on the logarithm of heating rate of the thermooxidative decomposition of linoleic acid.



Rys. 2. Temperaturowe przesunięcie maksimum pików w zależności od logarytmu szybkości ogrzewania termoutleniającego rozkładu kwasu linolowego.

Fig. 2. Temperature shift of the peak maximum depending on the logarithm of heating rate of the thermo-oxidative decomposition of linoleic acid.

Jeżeli temperatura maksymalna wzrasta w sposób liniowy, wtedy do wyznaczenia energii aktywacji E_a oraz współczynnika przedpotęgowego Z można stosować metodę Ozawy - Flynna - Walla. Wykorzystując temperaturę, w której układ osiągnął stały stopień przereagowania (T_{on} , T_{max}) obliczono przybliżoną wartość energii aktywacji korzystając z równania:

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

Natomiast współczynnik przedpotęgowy obliczono z zależności:

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

Uzyskane w wyniku obliczeń kinetyczne parametry opisujące termoutleniający rozkład kwasu linolowego przedstawiono w tab. 2. Wysokie współczynniki determinacji (R^2) wskazują, że otrzymane linie trendu pokrywają się prawie w 100 % z punktami otrzymanymi podczas badań. Równie wysoki współczynnik determinacji uzyskali Kasprzycka-Guttman [7], Kowalski [9] i Litwinienko [13].

Tabela 2

Statystyczne i kinetyczne parametry charakteryzujące termoutleniający rozkład kwasu linolowego.
Statistical and kinetic parameters characterizing thermal-oxidative decomposition of linoleic acid.

Parametr Parameter	Wartości liczone z T_{on} T_{on} based values	Wartości liczone z T_{max} T_{max} based values
a	-3445,1	-2469,1
b	9,79	6,68
R^2	0,99	0,99
Energia aktywacji [kJ/mol] Activation energy [kJ/mol]	62,72	44,95
Współczynnik przedpotęgowy Z Z – Pre-exponential factor	$1,7 \times 10^8$	$1,83 \times 10^5$

Po uzyskaniu wartości E_a oraz Z , korzystając z równania Arrheniusa, obliczono wartości stałych szybkości reakcji k :

$$k = Z \exp(-E_a/RT) \quad (5)$$

gdzie: Z - współczynnik przedpotęgowy, E_a - energia aktywacji, R - stała gazowa, T - temperatura [K].

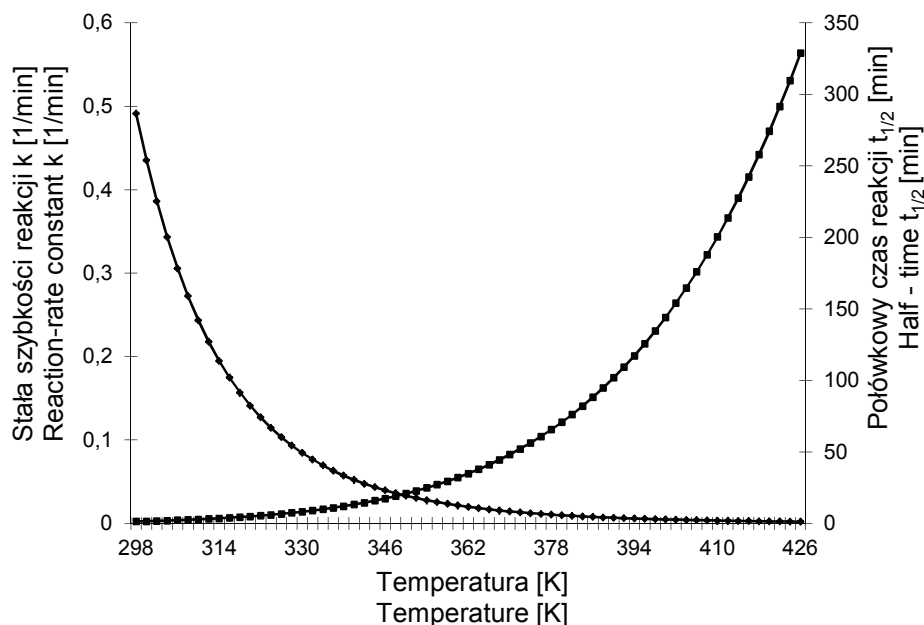
Następnie korzystając z równania:

$$t_{1/2} = \ln 2/k \quad (6)$$

wyznaczono połowkowe czasy reakcji. Uzyskane wyniki przedstawiono na rys. 3.

Uzyskana wartość E_a obliczona przy osiągnięciu temperatury onset w przypadku kwasu linolowego wyniosła 62,72 kJ/mol i była znacznie niższa od energii kwasu laurynowego (118,7 kJ/mol) i oleinowego (88,4 kJ/mol) oraz nieco wyższa od energii kwasu linolenowego (60,3 kJ/mol) [11, 12, 13].

W przypadku kwasu linolowego energia aktywacji obliczona przy osiągnięciu temperatury onset miała wyższą wartość (62,72 kJ/mol) niż przy uzyskaniu temperatury maksymalnej (44,95 kJ/mol). Podobną zależność współczynników przedpotęgowych wykazali Litwinienko i wsp. [11, 12] w badaniach z wykorzystaniem nasyconych i nienasyconych kwasów tłuszczowych oraz ich estrów. Wykazali również wyższą wartość energii aktywacji wyznaczonej przy uzyskaniu temperatury onset niż przy uzyskaniu temperatury maksymalnej. Przykładowo energia aktywacji kwasu oleinowego wynosiła przy T_{on} 88,4 kJ/mol, natomiast przy uzyskaniu T_{max} 74,5 kJ/mol; w przypadku kwasu laurynowego odpowiednio 118,7 kJ/mol i 80,2 kJ/mol. Wpływ na uzyskane różnice wartości energii aktywacji wyznaczonej przy uzyskaniu temperatury onset oraz przy uzyskaniu temperatury maksymalnej może mieć mechanizm reakcji autooksydacji. W procesach inicjacji i propagacji tworzą się pierwsze produkty utleniania, zatem wymagany jest duży nakład energetyczny [1, 11].



Rys. 3. Zależność stałej szybkości reakcji (k) i połówkowego czasu reakcji ($t_{1/2}$) od temperatury termoutleniającego rozkładu kwasu linolowego.

Fig. 3. Dependency of reaction-rate constant (k) and half-time ($t_{1/2}$) on temperature of thermal-oxidative decomposition of linoleic acid.

Uzyskane wartości k świadczą o tym, że utlenianie kwasu linolowego jest reakcją pierwszego rzędu. Z dostępnych danych literaturowych wynika, że w ustalonych warunkach inicjacji procesy utleniania tłuszczów są reakcjami pierwszego rzędu [8, 9]. Obliczona stała szybkości k kwasu linolowego przy uzyskaniu temp. 100 °C (373,15 K) wyniosła $2,65 \times 10^{-1} \text{ min}^{-1}$. Kowalski [10], analizując olej rzepakowy i słonecznikowy, uzyskał wartości k wynoszące odpowiednio $1,04 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ oraz $1,98 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$.

Na podstawie otrzymanych wartości energii aktywacji, czynnika przedpotęgowego oraz stałej szybkości reakcji można wnioskować o niskiej stabilności oksydatywnej kwasu linolowego.

Wnioski

1. Pomiary nieizotermicznego utleniania kwasu linolowego prowadzone z użyciem skaningowego kalorymetru różnicowego pozwoliły na sprawne wyznaczenie energii aktywacji, czynnika przedpotęgowego oraz stałej szybkości reakcji.

2. Obliczona energia aktywacji kwasu linolowego przy uzyskaniu temperatury onset osiągnęła wyższą wartość niż przy uzyskaniu temperatury maksymalnej. Podobną zależność uzyskano w odniesieniu do współczynników przedpotęgowych.
3. Wartości energii aktywacji, czynnika przedpotęgowego oraz stałej szybkości reakcji wskazują na niską stabilność termooksydacyjną kwasu linolowego.

Literatura

- [1] Choe E., Min D.B.: Mechanisms and factors for edible oil oxidation. *Comp. Rev. Food Sci. Food Safety*, 2006, **5**, 169 - 186.
- [2] Drozdowski B.: Lipidy. Charakterystyka ogólna tłuszczów jadalnych. W: *Chemia żywności, sacharydy, lipidy, białka – pod red. Z.E. Sikorskiego*. Wyd. V. WNT, Warszawa 2007.
- [3] Flynn J.H., Wall L.A.: A quick direct method for determination of activation energy from thermogravimetric data. *J. Polym. Sci. B, Polym. Lett.*, 1966, **4**, 323-328.
- [4] Friedman M.: Nutritional value of proteins from different food sources. *J. Agric. Food Chemistry*, 1996, **44**, 6-9.
- [5] Heś M., Korczak J., Górecka D., Gramza A., Jędrusek-Golińska A.: Stopień oddziaływania produktów utleniania tłuszczu na zmiany ilościowe dostępnej lizyny i metioniny w układach modelowych o zróżnicowanym odczynie środowiska. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2005, Supl., 455-460.
- [6] Kanner J.: Oxidative processes in meat and meat products: quality implications. *Meat Sci.*, 1994, **36**, 169-189.
- [7] Kasprzycka-Guttman T., Jarosz-Jarszewska M., Litwinienko G.: Specific heats and kinetic parameters of thermo-oxidative decomposition of peanut oil. *Thermochim. Acta*, 1995, **250**, 197-205.
- [8] Kowalski B.: Thermoanalytical investigations of edible oils and fats. I. Kinetics of thermal-oxidative decomposition of rapeseed oil. *Acta Alimen. Pol.*, 1988, **14**, 195-206.
- [9] Kowalski B.: Termokinetyczna analiza utleniania olejów i tłuszczów jadalnych. Praca habilitacyjna, Wyd. SGGW, Warszawa 1994, ss. 24-59.
- [10] Kowalski B., Ratusz K., Kowalska D., Bekas W.: Determination of the oxidative stability of vegetable oils by Differential Scanning Calorimetry and Rancimat methods. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2004, **106**, 165-169.
- [11] Litwinienko G., Daniluk A., Kasprzycka-Guttman T.: Study on autoxidation kinetics of fats by differential scanning calorimetry. 1. Saturated C12-C18 fatty acids and their esters. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2000, **39**, 7-12.
- [12] Litwinienko G., Kasprzycka-Guttman T.: Study on autoxidation kinetics of fat components by differential scanning calorimetry. 2. Unsaturated fatty acids and their esters. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2000, **39**, 13-17.
- [13] Litwinienko G.: Autoxidation of unsaturated fatty acids and their esters. *J. Therm. Anal. Calorim.*, 2001, **65**, 639-646.
- [14] Ozawa T.: Kinetic analysis of derivative curves in thermal analysis. *J. Therm. Anal.*, 1970, **2**, 301-324.
- [15] Pokorný J., Davidek J., Chocholátová V., Panek J., Bulantová H., Janitz W., Valentová H., Vierečlová M.: Interaction of oxidized ethyl linoleate with collagen. *Nahrung*, 1990, **34**, 159-169.
- [16] Ziemiański Ś., Budzyńska-Topolowska J.: *Tłuszcze pożywienia i lipidy ustrojowe*. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 1991.

ASSESSMENT OF LINOLEIC ACID OXIDATION PARAMETERS USING DIFFERENTIAL SCANNING CALORIMETRY**S u m m a r y**

Essential unsaturated fatty acids: linoleic and α -linolenic play a specific role in the proper functioning of human body. As polyunsaturated acids, they are exposed to oxidation, and, as a result, they lose their biological activity. As a consequence of their degradation, many health-destructive substances are formed, i.e. the primary and secondary oxidation products. Those compounds are responsible for the rancid smell and taste of food products. Therefore, it is so important to assess the oxidative stability since it is the main indicator of the wholesomeness and technological usefulness of fats.

The scope of the paper included the determination of thermo-kinetic parameters of linoleic acid using a differential scanning calorimetry test, as well as the assessment of oxidative stability of the acid analyzed. A dynamic option of DSC apparatus was used in the analysis and the following rates of heating samples were applied: 4 K/min; 5 K/min; 7.5 K/min; 12.5 K/min; 15 K/min. The non-isothermal process of linoleic acid oxidation was measured using a differential scanning calorimeter; owing to this, it was possible to efficiently determine the activation energy, pre-exponential factor, and the reaction-rate constant.

Key words: polyunsaturated fatty acids, thermo-kinetic parameters, thermo-oxidative stability, and differential scanning calorimetry ☒

AGATA GÓRSKA, EWA OSTROWSKA-LIGĘZA, MAGDALENA WIRKOWSKA,
JOANNA BRYŚ

STABILNOŚĆ TERMICZNA KOMPLEKSÓW INKLUZYJNYCH KWASU LINOLOWEGO Z β -CYKLODEKSTRYNĄ

Streszczenie

Kwas linolowy, jako kwas wielonienasycony, jest szczególnie narażony na niekorzystne przemiany związane z utlenianiem. W wyniku procesów oksydacyjnych powstaje wiele szkodliwych dla zdrowia substancji, tj. pierwotne i wtórne produkty reakcji utleniania. Niektóre z nich są odpowiedzialne za powstawanie zjełczalego, niepożądanego zapachu i smaku żywności. Istnieje zatem potrzeba poszukiwania skutecznych metod poprawiających stabilność oksydacyjną polienowych kwasów tłuszczowych i jednocześnie korzystnie wpływających na jakość spożywanych tłuszczów.

W pracy wykorzystano zdolność β -cyklodekstryny do tworzenia kompleksów typu „gospodarz-gość” z innymi związkami. Badania potwierdziły możliwość utworzenia trwałych kompleksów inkluzyjnych pomiędzy kwasem linolowym a β -cyklodekstryną. Uzyskane wyniki dot. próbek przetrzymywanych w wysokiej temperaturze wykazały znaczną poprawę stabilności kwasu linolowego w postaci kompleksu z β -cyklodekstryną w porównaniu z kwasem linolowym niezwiązanym w kompleks, w przypadku którego zaobserwowano znaczne ilości produktów degradacji badanego kwasu polienowego.

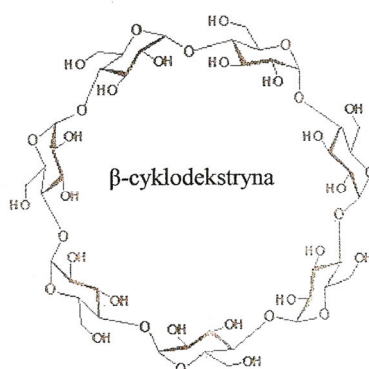
Słowa kluczowe: : wielonienasycone kwasy tłuszczowe, β -cyklodekstryna, kompleksy inkluzyjne, stabilność termooksydacyjna

Wprowadzenie

Niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe (NNKT) – kwas linolowy (*n-6*) i α -linolenowy (*n-3*) [1, 17] – odgrywają istotną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu organizmu. Ze względu na obecność w swojej strukturze wiązań podwójnych łatwo ulegają niekorzystnym, ze względów zdrowotnych i żywieniowych, reakcjom utleniania, tracąc niejednokrotnie właściwości biologiczne kwasów niezbędnych [4, 5].

Wysoka podatność kwasów nienasyconych na procesy utleniania stanowi wyzwanie do poszukiwania skutecznych metod poprawiających ich stabilność oksyda-

tywną, np. poprzez odizolowanie od niekorzystnego działania czynników zewnętrznych. Możliwości takie stwarzają cyklodekstryny. Cyklodekstryny mają kształt toroidalnych pierścieni, których wewnętrzna średnica wynosi: α -cyklodekstryny – 4,5 Å, β -cyklodekstryny – 7,0 Å, γ -cyklodekstryny – 8,5 Å. Dzięki różnym rozmiarom wnęk cyklodekstrynę cechuje selektywność kompleksowania. Pierwszorzędowe, związane z atomem C-6 glukozy grupy hydroksylowe znajdują się po zewnętrznej stronie pierścienia, a drugorzędowe grupy hydroksylowe, połączone z atomem C-2 i C-3 glukozy umiejscowione są po wewnętrznej stronie torusa (rys. 1). Istotną konsekwencją takiej budowy jest niepolarny charakter wnętrza pierścienia, wynikający z obecności hydrofobowych grup C-H oraz glikozydowych atomów tlenu. Warstwa zewnętrzna jest natomiast hydrofilowa, co powoduje dobrą rozpuszczalność cyklodekstryn w wodzie [3]. Charakterystyczny układ cząsteczki pozwala im na tworzenie kompleksów inkluzyjnych z wieloma jonami oraz związkami w celu ochrony i stabilizacji substancji czułych na działanie wilgoci, światła, temperatury lub tlenu [3, 12]. Proces ten może zachodzić zarówno w roztworze wodnym, jak i w fazie stałej. Umożliwia to powstawanie zróżnicowanych w składzie kompleksów o szerokim zastosowaniu w wielu dziedzinach, m.in. w przemyśle spożywczym [2, 7, 8, 10, 11, 14]. Wytworzenie kompleksu inkluzyjnego pomiędzy β -cyklodekstryną a związkami niestabilnymi, zawierającymi składniki lotne i podatne na utlenianie, np. związki siarkoorganiczne, aldehydy, nienasycone kwasy tłuszczowe, barwniki, aromaty znacznie poprawia stabilność produktu [3, 6, 13, 15].



Rys. 1. Budowa cząsteczki β -cyklodekstryny.

Fig.1. Structure of β -cyclodextrin.

Cyklodekstryny są związkami nietoksycznymi, niewchłanianymi w górnym odcinku przewodu pokarmowego, a do ich całkowitego rozkładu dochodzi w okrężnicy. Istotne jest również, że β -cyklodekstryna od 1998 r. znajduje się na liście produktów

GRAS (ang. generally recognized as safe) jako środek całkowicie bezpieczny w stosowaniu [16].

Celem pracy było wykorzystanie zdolności β -cyklodekstryny do utworzenia kompleksu typu „gospodarz-gość” z kwasem linolowym o wyższej odporności na utlenianie.

Material i metody badań

Przedmiotem badań był kwas *Z,Z*-oktadeka-9,12-dienowy (linolowy 18:2) (Sigma, o czystości $\geq 99\%$) oraz jego kompleks inkluzyjny z β -cyklodekstryną.

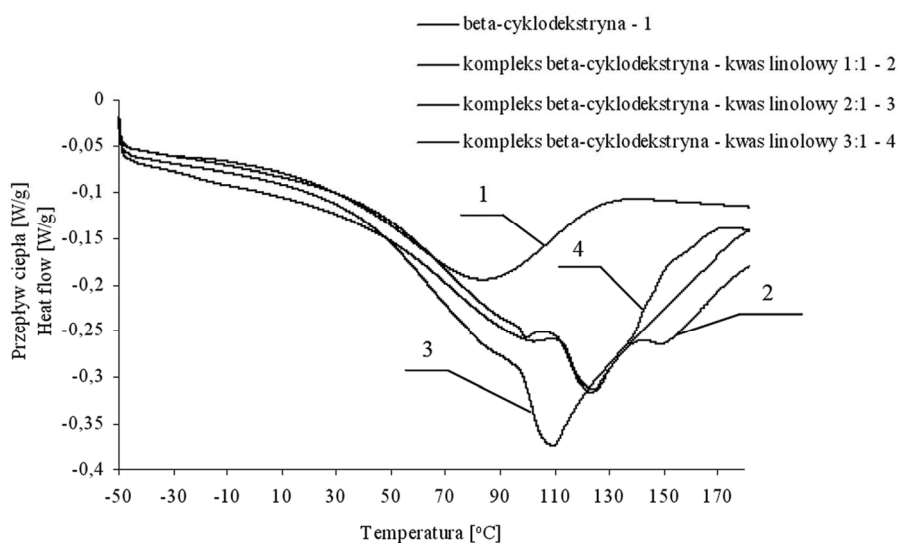
Badania obejmowały syntezę kompleksów inkluzyjnych kwasu linolowego z β -cyklodekstryną w stosunku molowym kwas linolowy/ β -cyklodekstryna – 1 : 1; 1 : 2; 1 : 3. W tym celu odważano odpowiednio 1136 mg, 2279 mg, 3408 mg β -cyklodekstryny, rozpuszczano w wodzie o temp. 50 °C, a następnie dodawano 280 mg kwasu linolowego rozpuszczonego w minimalnej ilości etanolu. Roztwór mieszano 30 min w temp. 50 °C, stopniowo oziębano do temp. 20 °C, a następnie przetrzymano przez 24 h w chłodziarce w celu zwiększenia wydajności. Powstały osad odsączano, przemywano niewielką ilością etanolu i suszono próżniowo. Powstanie kompleksów potwierdzano na podstawie kształtu krzywych DSC. Analizę termiczną uzyskanych połączeń prowadzono przy użyciu skaningowego kalorymetru różnicowego DSC, Q200, TA Instruments, ogrzewając próbki w zakresie temperatury od -50 do 200 °C z szybkością 5°C/min. Pomiarów wykonywano przy użyciu azotu. W wyniku pomiarów uzyskano termogramy przepływu ciepła [W/g] w zależności od temperatury [°C].

W celu zbadania stabilności powstałych połączeń inkluzyjnych, kwas linolowy oraz kompleksy kwas linolowy/ β -cyklodekstryna przetrzymywano w temp. 100 °C przez 2 h w suszarce, w obecności powietrza oraz pod normalnym ciśnieniem. Próbkę wyodrębniano z β -cyklodekstryny poprzez ekstrakcję heksanem. Zawartość kwasu linolowego oraz produktów jego utlenienia w ogrzewanych próbkach oznaczano z wykorzystaniem techniki GC MS po uprzednim przeprowadzeniu w estry metylowe według PN-EN ISO 5509 [9]. Użyto aparatu GC MS firmy Agilent Technologies 7890A/5975C, wyposażonego w dozownik split/splitless oraz kolumnę typu HP-5MS. Rozdział chromatograficzny prowadzono w rampie temperaturowym kolumny w zakresie 60 - 260 °C. Wyniki analizy jakościowej uzyskano na podstawie baz danych widm masowych NIST i Wiley. Wyniki analizy ilościowej przedstawiono jako procent pola powierzchni wszystkich pików na chromatogramie.

Wyniki i dyskusja

W celu poprawy stabilności oksydacyjnej kwasu linolowego wykorzystano zdolność β -cyklodekstryny do tworzenia kompleksów typu „gospodarz-gość” z innymi związkami.

Otrzymano kompleksy inkluzyjne w stosunku molowym kwas linolowy/ β -cyklodekstryna – 1 : 1; 1 : 2; 1 : 3 z wydajnością odpowiednio 70, 74 i 68 %. Powstanie kompleksów potwierdzono na podstawie kształtu krzywych DSC (rys. 2).



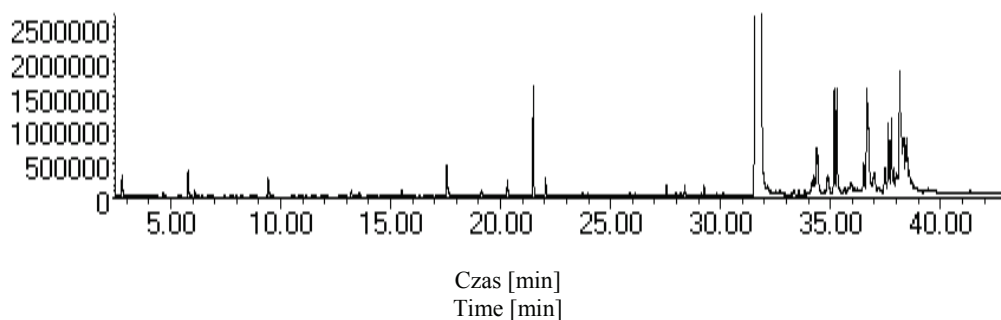
Rys. 2. Krzywe DSC β -cyklodekstryny i jej kompleksów z kwasem linolowym.

Fig. 2. DSC curves of β -cyclodextrin and its complexes with linoleic acid.

Wyniki uzyskane w przypadku próbek przetrzymywanych w wysokiej temperaturze wykazały znaczną poprawę stabilności kwasu linolowego w postaci kompleksu z β -cyklodekstryną w porównaniu z kwasem linolowym niezwiązanym w kompleks, w przypadku którego zaobserwowano znaczne ilości produktów degradacji badanego kwasu polienowego (rys. 3, tab. 1). Szczególną trwałością wyróżniał się kompleks kwas linolowy/ β -cyklodekstryna 1 : 2 (rys. 4 i 5).

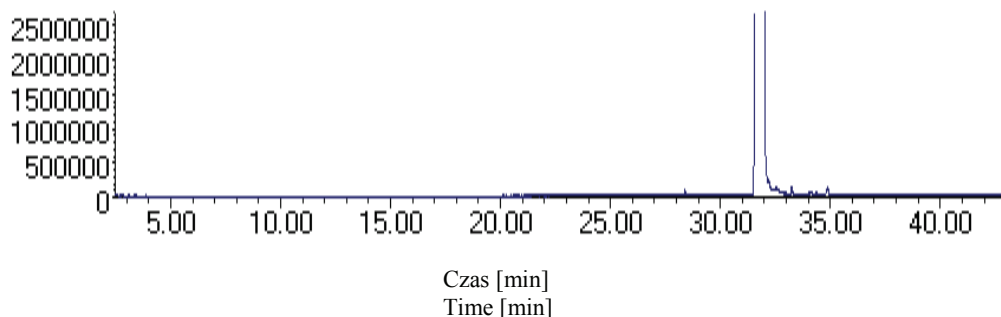
Zawartość kwasu linolowego (C 18:2) w próbce wyizolowanej z β -cyklodekstryny (z kompleksu 1:2) wynosiła 91,51 %, stwierdzono również obecność kwasu oleinowego (C 18:1), kwasu heksadekanowego (C 16:0) oraz Z,E,E-oktadeka-9,11,13-trienowego i jego izomerów geometrycznych. W próbkach wyizolowanych z kompleksów kwas linolowy/ β -cyklodekstryna 1 : 1 oraz 1 : 3 stwierdzono odpowiednio 70,09 i 75,90 % zawartość kwasu linolowego (rys. 5). Analiza chromatograficzna próbek wykazała obecność kwasu oleinowego, kwasu heksadekanowego, oktadekano-

wego oraz Z,E,E-oktadeka-9,11,13-trienowego i jego izomerów. W wyniku utleniania kwasu linolowego powstały również produkty cyklizacji (pochodne furanu, cyklopentanu).



Rys. 3. Chromatogram obrazujący produkty rozkładu kwasu linolowego (niezwiązanego w kompleks z β -cyklodekstryną).

Fig. 3. Chromatogram representing products of linoleic acid degradation (non-encapsulated in β -cyclodextrin).



Rys. 4. Chromatogram obrazujący produkty rozkładu kwasu linolowego (w postaci kompleksu z β -cyklodekstryną 1:2).

Fig. 4. Chromatogram representing products of linoleic acid degradation (in the form of a complex with β -cyclodextrin 1:2).

W próbce niezwiązanej w kompleks zidentyfikowano znacznie mniejszą zawartość kwasu linolowego (67,84 %) (rys. 5), szczególnie w porównaniu z charakteryzującym się najwyższą stabilnością kompleksem kwas linolowy/ β -cyklodekstryna 1 : 2, oraz liczne produkty powstałe w wyniku reakcji utleniania (tab. 1, rys. 3 i 5). Niekorzystna jest obecność niskocząsteczkowych substancji lotnych, przede wszystkim krótkołańcuchowych aldehydów oraz powstających z nich wskutek utleniania kwasów odpowiedzialnych za powstawanie zjełczałego, niepożądanego zapachu i smaku żyw-

ności. Istotne jest, że związki te cechuje szczególnie niski próg wrażliwości sensorycznej [1, 5]. Badania wykazały wyższą zawartość tych związków w próbkach niezwiązanych w kompleks z β -cyklodekstryną (4,47 %) w porównaniu z próbkami wyizolowanymi z kompleksów kwas linolowy/ β -cyklodekstryna. Szczególnie małą zawartością krótkołańcuchowych aldehydów oraz powstających z nich wskutek utleniania kwasów (1,95 %) charakteryzuje się próbka o najwyższej stabilności – kwas linolowy/ β -cyklodekstryna 1 : 2 (rys. 5).

Tabela 1

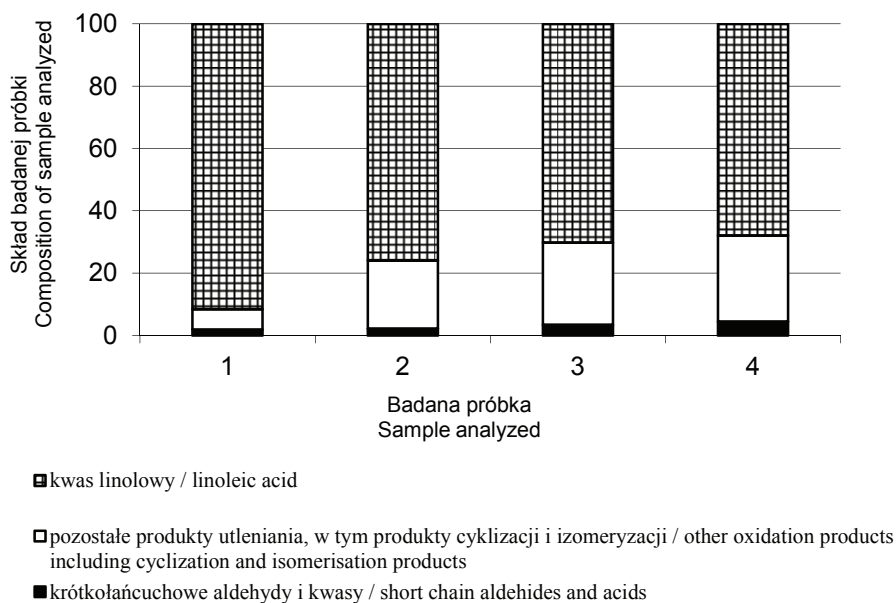
Główne produkty rozkładu kwasu linolowego przetrzymywanego w $t = 100\text{ }^{\circ}\text{C}$ (niezwiązanego w kompleks z β -cyklodekstryną).

Major degradation products of linoleic acid kept at a temperature of $t = 100\text{ }^{\circ}\text{C}$ (non-encapsulated in β -cyclodextrin).

Nr No	Produkt Product	Zawartość [%] Content [%]	Czas retencji [min] Retention time [min.]
1.	kwas heksanowy (ester metylowy) hexanoic acid (methyl ester)	0,07	4,60
2.	heksanal (acetal dimetylowy) hexanal (dimethyl acetal)	0,41	5,79
3.	kwas oktanowy (ester metylowy) octanoic acid (methyl ester)	0,38	9,43
4.	aldehyd malonowy (diacetal dimetylowy) malonaldehyde (bis (dimethyl acetal))	0,10	13,22
5.	heptanal (acetal dimetylowy) heptanal (dimethyl acetal)	0,12	15,52
6.	kwas 9-oksononanowy (ester metylowy) 9-oxononanoic acid (methyl ester)	0,74	17,55
7.	kwas 6,6 – dimetoksyoktanowy (ester metylowy) 6,6-dimetoxyoctanoic acid (methyl ester)	0,13	19,13
8.	kwas nonanediowy (ester dimetylowy) nonanedioic acid (dimethyl ester)	0,34	20,31
9.	nonanal (acetal dimetylowy) nonanal (dimethyl acetal)	1,87	21,49
10.	5,5-dimetoksyntanal 5,5-dimetoxyntanal	0,11	23,72
11.	oktanal (acetal dimetylowy) octanal (dimethyl acetal)	0,20	27,55
12.	kwas heksadekanowy (ester metylowy) hexadecanoic acid (methyl ester)	0,17	28,38

c.d. Tab. 1

13.	kwasy Z,Z-oktadeka-9,12-dienowy (linolowy) (ester metylowy) 9,12-octadecadienoic acid (Z, Z) (linoleic) (methyl ester)	67,84	31,83
14.	kwasy oktadekanowy (ester metylowy) octadecanoic acid (methyl ester)	0,13	32,16
15.	kwasy Z,E,E-oktadeka-9,11,13-trienowy (ester metylowy) 9,11,13-octadecatrienoic acid (Z,E,E) (methyl ester)	0,72	34,90
16.	inne produkty utleniania, w tym produkty cyklizacji, izomeryzacji other oxidation products, including cyclization and isomerisation products	26,84	35,17-38,69



Rys. 5. Skład badanej próbki (1 – próbka wyizolowana z kompleksu kwas linolowy/ β -cyklodekstryna 1 : 2; 2 – próbka wyizolowana z kompleksu kwas linolowy/ β -cyklodekstryna 1 : 3; 3 – próbka wyizolowana z kompleksu kwas linolowy/ β -cyklodekstryna 1 : 1; 4 – próbka niezwiązana w kompleks z β -cyklodekstryną).

Fig. 5. Composition of sample analyzed (1 - sample isolated from the linoleic acid – β -cyclodextrin complex 1:2; 2 - sample isolated from the linoleic acid – β -cyclodextrin complex 1:3; 3 - sample isolated from the linoleic acid – β -cyclodextrin complex 1:1; 4 – non-encapsulated linoleic acid).

Wnioski

1. Badania potwierdziły możliwość utworzenia trwałych kompleksów inkluzyjnych pomiędzy kwasem linolowym a β -cyklodekstryną.
2. Uzyskane wyniki próbek przetrzymywanych w wysokiej temperaturze wykazały znacznie wyższą stabilność termiczną kwasu linolowego w postaci kompleksu z β -cyklodekstryną w porównaniu z kwasem linolowym niezwiązanym w kompleks, w przypadku którego zaobserwowano znaczne ilości produktów degradacji badanego kwasu polienowego.
3. Uzyskane wyniki świadczą o istotnym ograniczeniu procesów utleniania dzięki zastosowaniu inkluzji molekularnej nienasyconego kwasu we wnęce cyklodekstryny.
4. Uzyskane wyniki pozwolą na wykorzystanie β -cyklodekstryny do inkludowania innych, wybranych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych oraz olejów roślinnych bogatych w te kwasy.

Literatura

- [1] Drozdowski B.: Lipidy. Charakterystyka ogólna tłuszczów jadalnych. W: Chemia żywności, sacharydy, lipidy, białka – pod red. Z.E. Sikorskiego. Wyd. V. WNT, Warszawa 2007.
- [2] Duchene D., Bochot A., Yu S-C., Pepin C., Seiller M.: Cyclodextrins and emulsions. *Int. J. Pharm.* 2003, **266**, 85-90.
- [3] Górską A., Kozłowska M.: Zastosowanie cyklodekstryn w przemyśle spożywczym. *Post. Techn. Przetw. Spoż.*, 2008, **2**, 80-84.
- [4] Heś M., Korczak J., Górecka D., Gramza A., Jędrusek-Golińska A.: Stopień oddziaływania produktów utleniania tłuszczu na zmiany ilościowe dostępnej lizyny i metioniny w układach modelowych o zróżnicowanym odczynie środowiska. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2005, *supl.*, 455-460.
- [5] Kanner J.: Oxidative processes in meat and meat products: quality implications. *Meat Sci.*, 1994, **36**, 169-189.
- [6] Liu X.D., Furuta T., Yoshii H., Linko P., Coumans W.J.: Cyclodextrin encapsulation to prevent the loss of 1-mentol and its retention during drying. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 2000, **64**, 1608-1613.
- [7] Lucas-Abellan C., Fortea I, Lopez-Nicolas J.M., Nunez-Delicado E.: Cyclodextrin as resveratrol carrier system. *Food Chem.*, 2007, **104**, 39-44.
- [8] Martín Del Valle E.M.: Cyclodextrin and their uses: a review. *Proc. Biochem.*, 2004, **39**, 1033-1046.
- [9] PN-EN ISO 5509:2001. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Przygotowanie estrów metylowych kwasów tłuszczowych.
- [10] Shaw P.E., Wilson C.W.: Debittering of citrus juices with cyclodextrin polymer. *J. Food Sci.*, 1983, **48**, 646-647.
- [11] Singh M., Sharma R., Banerjee U.C.: Biotechnological applications of cyclodextrins. *Biotechnol. Advances.* 2002, **20**, 341-359.
- [12] Szejtli J.: Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry. *Chem. Rev.* 1998, **98**, 1743-1753.
- [13] Szejtli J., Sente L., Banky-Elod E.: Molecular encapsulation of volatile, easily oxidizable flavor substances by cyclodextrins. *Acta Chimica Sci. Hung.*, 1979, **101**, 27-46.

- [14] Szejtli J., Szente L.: Elimination of bitter, disgusting tastes of drugs and foods by cyclodextrin. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2005, **61**, 115-125.
- [15] Szente L., Szejtli J.: Stabilization of flavours by cyclodextrins. *Chem. Soc. Symp. Series*. 1987, **370**, 148-158.
- [16] Szente L., Szejtli J.: Cyclodextrins as food ingredients. *Trends Food Technol.*, 2004, **15**, 137-142.
- [17] Ziemiański Ś., Budzyńska-Topolowska J.: *Tłuszcze pożywienia i lipidy ustrojowe*. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 1991.

THERMAL STABILITY OF LINOLEIC ACID - β -CYCLODEXTRIN INCLUSION COMPLEXES

S u m m a r y

Linoleic acid (LA) being an unsaturated fatty acid is particularly exposed to disadvantageous, oxidation-linked changes. As a result of oxidative processes, many detrimental substances, i.e. primary and secondary products of oxidation, are produced that have a harmful impact on health. Some of them are responsible for the rancid, undesirable smell and taste of food products. Therefore, it is necessary to search effective methods that improve the oxidative stability of polyunsaturated fatty acids, and, concurrently, positively impact the quality of eaten fats.

In this paper, the ability was utilized of β -cyclodextrin to form host-guest complexes with other compounds. The results of the research confirmed the possibility to form stable inclusion complexes between the linoleic acid and β -cyclodextrin. Regarding the samples kept at a high temperature, the results obtained showed a significant improvement of the stability of linoleic acid in the form of a complex with β -cyclodextrin compared to the non-encapsulated linoleic acid; in the case of the latter, considerable amounts of products were found that were formed during the degradation of polyene acid under analysis.

Key words: poliunsaturated fatty acids, β -cyclodextrin, inclusion complexes, thermo-oxidative stability



KAROL MIŃKOWSKI, STANISŁAW GRZEŚKIEWICZ,
MARZENA JERZEWSKA

OCENA WARTOŚCI ODŻYWCZEJ OLEJÓW ROŚLINNYCH O DUŻEJ ZAWARTOŚCI KWASÓW LINOLENOWYCH NA PODSTAWIE SKŁADU KWASÓW TŁUSZCZOWYCH, TOKOFEROLI I STEROLI

Streszczenie

Celem pracy była ocena wartości odżywczej olejów roślinnych, o dużej zawartości kwasów linolenowych, na podstawie składu kwasów tłuszczowych, tokoferoli i steroli.

Badaniom poddano oleje roślinne: tłoczone na zimno – lniany, lniankowy, ogórecznikowy, żmijowcowy oraz rafinowany – z nasion czarnej porzeczki. Oznaczano skład i zawartość: kwasów tłuszczowych, tokoferoli i fitosteroli. Badane oleje charakteryzowały się znaczną wartością żywieniową dzięki dużej zawartości nienasyconych kwasów tłuszczowych, zwłaszcza polienowych (50 - 80 %), należących głównie do rodzin $n-3$. Dobrym źródłem kwasów z rodziny $n-3$ są oleje: lniany, żmijowcowy i lniankowy. Optymalna wzajemna proporcja (4 : 1) pomiędzy kwasami z rodziny $n-6$ i $n-3$ występuje w oleju z nasion czarnej porzeczki. Olej ogórecznikowy, żmijowcowy oraz olej z nasion czarnej porzeczki zawierają rzadko występujące, cenne pod względem żywieniowym kwasy tłuszczowe γ -linolenowy i stearydonowy. Olej z nasion czarnej porzeczki jest znaczącym źródłem witaminy E. Niski współczynnik Harris'a oleju lnianego, a także lniankowego, ogórecznikowego i żmijowcowego wskazuje na potrzebę ich wzbogacania w witaminę E. Badane oleje zawierają niedużo fitosteroli, wśród których dominuje β -sitosterol.

Słowa kluczowe: oleje roślinne, wartość odżywcza, kwasy tłuszczowe, tokoferole, sterole

Wprowadzenie

Tłuszcze należą do podstawowych składników żywności i wywierają wpływ na zdrowie człowieka, głównie poprzez działanie kwasów tłuszczowych, steroli (cholesterol i sterole roślinne) oraz witamin rozpuszczalnych w tłuszczach. Organizm człowieka zużywa kwasy tłuszczowe dostarczane z żywnością, a ponadto są one syntetyzowane w samym organizmie. Kwasy tłuszczowe nasycone (SFA) i monoenoowe (MUFA),

podobnie jak cholesterol, mogą być w nim syntetyzowane, natomiast kwasy polienowe (PUFA) nie podlegają syntezie ze względu na brak układów enzymatycznych zdolnych do wprowadzania wiązań podwójnych w pozycjach *n-6* i *n-3* łańcucha węglowego i muszą być dostarczone z zewnątrz.

Kwasy nasycone są przede wszystkim źródłem energii dla organizmu. Kwasy te spożywane w większych ilościach podnoszą jednak poziom miażdżycorodnych lipoprotein (LDL) we krwi i zwiększają jej krzepliwość, a ich niekorzystna rola w powstawaniu miażdżycy i występowaniu niedokrwiennej choroby serca jest powszechnie znana [19, 21, 26]. Dlatego też ich spożycie powinno być ograniczane. Według Germana i Dilarda [7] wpływ poszczególnych nasyconych kwasów na organizm człowieka jest dość zróżnicowany. SFA powinny dostarczać mniej niż 10 % dziennego zapotrzebowania energetycznego, istnieją tendencje do dalszego obniżania tego limitu [21].

Kwasy monoenurowe mogą być wykorzystywane jako źródło energii. Ponadto nie wywierają niekorzystnego wpływu na lipoproteiny i krzepliwość krwi. Są one skuteczne (szczególnie kwas oleinowy) w obniżaniu zawartości cholesterolu w osoczu krwi. Dlatego też powinny być preferowane w żywieniu, a ich spożycie może sięgać nawet 20 % zapotrzebowania energetycznego [21].

Polienowe kwasy tłuszczowe wywierają największy wpływ na wartość odżywczą tłuszczu, przede wszystkim ze względu na kwas linolowy (LA) i α -linolenowy (ALA), które tworzą pulę tzw. niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych (NNKT). O szczególnej roli tych kwasów decyduje fakt, że są one materiałem wyjściowym do biosyntezy ikozanoidów, biorą udział w transporcie oraz utlenianiu cholesterolu, a także są składnikami lipidów błon komórkowych [26]. Są one konieczne do prawidłowego rozwoju młodych organizmów i utrzymania dobrego stanu zdrowia przez całe życie [1, 19, 26].

Wśród polienowych kwasów tłuszczowych wyróżnia się dwie rodziny, *n-6* i *n-3*, pełniące ważne, ale zróżnicowane role w organizmie człowieka. Istotne prozdrowotne znaczenie kwasów z rodziny *n-6* uwidacznia się głównie w chorobach układu sercowo-naczyniowego oraz wielu innych stanach chorobowych [1, 19, 25]. Ostatnio dużo uwagi przywiązuje się zwłaszcza do kwasów z rodziny *n-3*, które, oprócz zbliżonych do *n-6*, pełnią jeszcze inne funkcje, stanowiąc istotny składnik mózgu, komórek nerwowych, komórek mięśnia sercowego i siatkówki oka [26]. Wywierają one korzystny wpływ na organizm przede wszystkim poprzez redukcję czynników nadmiernego krzepnięcia krwi, a także działanie hipotensyjne [1, 12, 19, 25].

Pod względem żywieniowym interesująca jest rola kwasu γ -linolenowego (GLA) i stearidonowego (SDA), powstających w pierwszym etapie enzymatycznej konwersji kwasu linolowego i α -linolenowego. Ich obecność w diecie usprawnia metabolizm kwasów tłuszczowych szeregu *n-6* (GLA) i *n-3* (SDA) w przypadkach, kiedy z różnych przyczyn osłabieniu uległa aktywność enzymu δ -6 desaturazy [4, 9, 10].

Według specjalistów żywienia człowieka [1, 11, 26] ważna jest wzajemna proporcja kwasów z rodziny $n-6$ do $n-3$ w diecie, która powinna wynosić $(4 - 5) : 1$, a nawet mniej [21]. Nadmierna dysproporcja pomiędzy kwasami z rodziny $n-6$ i $n-3$ w diecie może zakłócić równowagę w ilości syntetyzowanych, często antagonistycznie działających, ikozanoidów, prowadząc do określonych stanów patofizjologicznych [1, 19, 25].

Oprócz kwasów tłuszczowych na szczególną uwagę zasługują także lipofilne składniki olejów roślinnych wykazujące aktywność E-witaminową (tokoferole) oraz obniżające poziom cholesterolu (fitosterole). Tokoferole są także związkami chroniącymi organizm przed nadmiarem wolnych rodników i innych reaktywnych form tlenu.

Aktywność witaminowa poszczególnych homologów tokoferoli jest różnie oceniana. Jak podają Ziemiański i Budzyńska-Topolowska [26], największą aktywnością witaminową charakteryzuje się α -T, β -T wykazuje 30 - 35 %, γ -T 10 - 20 %, a δ -T 1 % jego aktywności. Zbliżone dane prezentują Shahidi i Shukla [20]. Z kolei według Maga i Reicherta [15] aktywność witaminową wykazuje tylko homolog α -T, a pozostałe, pomimo że są absorbowane, nie ulegają w organizmie człowieka konwersji do formy α -T. Ścisłe związany z zawartością ekwiwalentu witaminy E i polienowych kwasów tłuszczowych jest współczynnik Harrisa, którego optymalna wartość powinna być bliska 0,6 [23].

Tokoferole są również silnymi naturalnymi antyoksydantami chroniącymi organizm przed nadmiarem wolnych rodników w przemianach metabolicznych. Ich działanie związane jest z inhibicją oksydacji lipidów ustrojowych i tłuszczów żywności [26]. Przeciwutleniająca aktywność homologicznych tokoferoli *in vivo* kształtuje się w następującej kolejności: α -T > β -T > γ -T > δ -T, natomiast ich aktywność *in vitro* jest odwrotna [3, 6, 24].

Sterole stanowią ważną grupę związków obecnych w olejach roślinnych, wywierających istotny wpływ na organizm człowieka. Znaczne zwiększenie spożycia fitosteroli jest efektywnym sposobem zwalczania hipercholesterolemii, poprzez zmniejszenie stężenia cholesterolu we krwi, przyczyniającym się tym samym do ograniczenia chorób układu sercowo-naczyniowego. Pełnią one także rolę biologicznych przeciwutleniaczy [2, 13]. Główne sterole olejów roślinnych to: β -sitosterol, campesterol, stigmasterol, Δ -5 avenasterol i brassicasterol [20, 26].

Celem pracy była ocena wartości odżywczej olejów roślinnych o wysokiej zawartości kwasów linolenowych, na podstawie składu kwasów tłuszczowych, tokoferoli i steroli.

Material i metody badań

Badaniom poddawano oleje:

- tłoczone na zimno: lniany (Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich, Poznań), lniankowy, inaczej rydzowy (SGNP SemCo, Śmiłowo), zmijowcowy (SGNP SemCo, Śmiłowo), ogórecznikowy (SPRP GAL, Poznań),
- rafinowany: olej z nasion czarnej porzeczki (Henry Lamotte GmbH, Hamburg, Niemcy). Jest on wydobywany i oczyszczany z zastosowaniem ditlenku węgla w stanie nadkrytycznym. Oleje w trakcie badań przechowywano w temperaturze $-18 \div -22$ °C, bez dostępu światła.

Badania analityczne prowadzono z wykorzystaniem poniższych metod analitycznych.

Oznaczanie składu kwasów tłuszczowych wykonywano metodą GC (HP 6890 II z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym) wg PN-EN ISO 5508:1996 [16]. Do rozdziału estrów stosowano wysokopolarną kolumnę kapilarną BPX 70 (60 m × 0,25 mm, 25 μm). Warunki analizy: temp. kolumny programowana w zakresie 140 - 210 °C, temp. dozownika: 210 °C, temp. detektora 250 °C, gaz nośny: hel.

Oznaczanie zawartości tokoferoli wykonywano metodą HPLC (HP 1100 z detektorem UV) wg PN-EN 12822:2002 [18]. Do rozdziału stosowano kolumnę Supelcosil LC-18 (25 cm × 4,6 mm, 5 μm). Rozdział prowadzono w temp. 30 °C, przy przepływie fazy ruchomej (metanol : woda, 97 : 3) 1 ml/min. Oznaczano homologię α, γ i δ przy długości fali 292 nm. Wzorce poszczególnych tokoferoli pochodziły z firmy Sigma Aldrich, Poznań. Zawartość ekwiwalentu witaminy E (C_E) wyliczano według Eitenmiller i wsp. [5]:

$$C_E = C_1 + 0,1C_2 + 0,01C_3,$$

gdzie: C_1 – zawartość homologu α-T [mg/100 g], C_2 – zawartość homologu γ-T [mg/100 g], C_3 – zawartość homologu δ-T [mg/100 g].

Współczynnik Harrisa wyliczano jako stosunek zawartości ekwiwalentu witaminy E [mg] do zawartości polienowych kwasów tłuszczowych [g] w 100 g oleju [23].

Oznaczanie zawartości steroli wykonywano metodą GC (Agilent 6890 z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym) wg PN-EN ISO 12228:2002 [17]. Do rozdziału stosowano kolumnę kapilarną HP-1 (25 m × 0,20 mm, 0,11 μm). Warunki analizy: temp. kolumny programowana w zakresie 250 – 300 °C, temp. detektora – 310 °C, temp. dozownika – 280 °C, dozowanie próbki dzielnikowe 25 : 1, gaz nośny – hel.

Wyniki i dyskusja

O wartości odżywczej tłuszczów decyduje przede wszystkim skład i zawartość kwasów tłuszczowych. Zbiorcze zestawienie wyników obrazujące zawartość poszcze-

gólnych grup kwasów tłuszczowych, a także ich wzajemne proporcje zamieszczono w tab. 1.

Tabela 1

Udział [% m/m] i wzajemne proporcje poszczególnych grup kwasów tłuszczowych w badanych olejach.
Per cent content [% w/w] and mutual proportions of individual groups of fatty acids in oils analyzed.

Wyróżnik Item	Udział i proporcje składników / Per cent content and ratio of the components				
	lniany flax	lniankowy camelina	ogórecznikowy borage	z czarnej porzeczki blackcurrant	zmijowcowy echium
Σ SFA	9,8 ^a ± 0,4	8,7 ^b ± 0,3	13,4 ^c ± 0,4	7,9 ^d ± 0,2	10,4 ^e ± 0,3
Σ MUFA	21,2 ^a ± 0,6	38,6 ^b ± 0,8	24,2 ^c ± 0,5	14,3 ^d ± 0,4	17,3 ^e ± 0,5
Σ PUFA	69,0 ^a ± 1,0	52,7 ^b ± 0,9	62,4 ^c ± 0,9	77,8 ^d ± 1,1	72,3 ^e ± 0,8
Σ PUFA n-6	16,2 ^a ± 0,6	17,0 ^a ± 0,4	61,6 ^c ± 0,7	62,0 ^c ± 0,8	28,4 ^e ± 0,5
Σ PUFA n-3	52,7 ^a ± 1,7	35,6 ^b ± 1,5	0,6 ^c ± 0,1	15,4 ^d ± 0,4	43,6 ^e ± 1,0
NNKT / EFA	68,9 ^a ± 1,0	51,2 ^b ± 0,9	37,7 ^c ± 1,2	62,1 ^d ± 0,8	48,9 ^e ± 0,9
GLA + SDA	0,0	0,0	24,3 ± 0,8	15,1 ± 0,3	23,0 ± 0,5
PUFA n-6/PUFA n-3	1:3,3	1:2,1	102,7:1	4,0:1	1:1,5

Objaśnienia: / Explanatory notes:

n = 6 (3×2);

Wartości średnie oznaczone różnymi indeksami w rzędach różnią się statystycznie istotnie [-] (P ≤ 0,05) / Mean values denoted by different indices in the rows differ statistically significantly (P ≤ 0.05).

SFA – nasycone kwasy tłuszczowe / Saturated Fatty Acids, MUFA – monoenowe kwasy tłuszczowe / Mono-unsaturated Fatty Acids; PUFA – polienowe kwasy tłuszczowe / Polyenic Fatty Acids; PUFA n-6 – polienowe kwasy tłuszczowe z rodziny n-6 / Polyenic Fatty Acids from n-6 family; PUFA n-3 – polienowe kwasy tłuszczowe z rodziny n-3 / Polyenic Fatty Acids from n-3 family; NNKT – niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe / Essential Fatty Acids; GLA – kwas γ -linolenowy / γ -linolenic acid; SDA – kwas stearydonowy / stearidonic acid.

Udział kwasów nasyconych w całkowitej puli kwasów tłuszczowych utrzymywał się w zakresie: od 7,9 % w oleju z nasion czarnej porzeczki do 13,4 % w oleju ogórecznikowym. Poziom SFA w badanych olejach był nieznacznie wyższy niż w charakteryzującym się niewielką zawartością kwasów nasyconych oleju rzepakowym, ale korzystnie niższy w porównaniu z innymi powszechnie spożywanymi olejami, takimi jak: sojowy, słonecznikowy, oliwkowy czy kukurydziany. Dane dotyczące zawartości poszczególnych grup kwasów tłuszczowych w wybranych olejach, zestawione na podstawie cytowanej literatury, zamieszczono w tab. 2.

Zawartość kwasów monoenowych w badanych olejach była wyraźnie większa i bardziej zróżnicowana w porównaniu z kwasami nasyconymi. Wynosiła od 14,3 %

w oleju z nasion czarnej porzeczki do 38,6 % w oleju lniankowym. Są to ilości znacznie mniejsze niż występujące w oleju rzepakowym, oliwkowym czy arachidowym, ale zbliżone do występujących w oleju słonecznikowym, sojowym i kukurydzianym.

Tabela 2

Udział [% m/m] poszczególnych grup kwasów tłuszczowych w wybranych olejach porównawczych.
Per cent content [% w/w] of individual groups of fatty acids in selected comparative oils.

Wyróżniki Item	Udział i proporcje składników / Per cent content and ratio of the components						
	rzepakowy rapeseed	sojowy soybean	słonecznikowy sunflower	oliwkowy olive	kukurydziany corn	arachidowy peanut	krokoszowy safflower
ΣSFA	7,4	18,9	11,9	14,1	14,0	17,3	10,8
ΣMUFA	61,6	30,8	21,0	77,0	25,1	55,9	13,3
ΣPUFA	31,0	50,3	67,1	8,9	60,9	27,6	75,9
ΣPUFA n-6	21,3	47,3	66,7	8,3	60,2	27,4	75,4
ΣPUFA n-3	9,7	3,0	0,0	0,6	0,7	0,0	0,5
NNKT / EFA	31,0	50,3	66,7	8,9	60,9	27,4	75,9

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

Wśród kwasów monoenowych dominował kwas oleinowy. W niektórych badanych olejach, w ilościach do 3 %, obecny był kwas erukowy (C22:1), którego niekorzystna rola w otłuszczaniu mięśnia sercowego jest powszechnie znana. W oleju lniankowym, w ilości około 20 %, występował kwas ikozenowy (C20:1), lokujący się pod względem długości łańcucha węglowodorowego pomiędzy kwasem oleinowym (korzystnym) i erukowym (niekorzystnym).

Zawartość kwasów polienowych (PUFA) wahała się od około 50 do 80 %. Najmniej było ich w oleju lniankowym (52,7 %), a najwięcej w oleju z nasion czarnej porzeczki (77,8 %). Pod tym względem olej z nasion czarnej porzeczki przewyższał, a żmijowcowy odpowiadał olejowi krokoszowemu, olej ogórecznikowy i lniany wyraźnie przewyższały olej słonecznikowy i sojowy, a lniankowy odpowiadał sojowemu.

PUFA *n-6* reprezentował kwas linolowy oraz γ -linolenowy. Ich zawartość w oleju lnianym i lniankowym wynosiła od 16 do 17 % (LA), a więc mniej niż w niezbyt bogatym w te kwasy oleju rzepakowym (LA), natomiast w oleju żmijowcowym (LA + GLA) na poziomie średnim (28,4 %), odpowiadającym olejowi arachidowemu. Dwa pozostałe oleje: ogórecznikowy i z nasion czarnej porzeczki charakteryzowały się wy-

soką zawartością wynoszącą powyżej 60 % (LA + GLA), czyli dorównującą tej, jaka występuje w oleju słonecznikowym, kukurydzianym i sojowym (LA). Jednak z powodu dużej dostępności tych ostatnich, oba badane oleje należy traktować przede wszystkim jako źródło GLA.

Spośród PUFA *n-3* występowały kwasy osiemnastowęglowe – α -linolenowy i stearydonowy (SDA). Najbogatszym ich źródłem był olej lniany (52,7 %, ALA), bogatymi żmijowcowy (43,6 %, ALA+SDA) oraz lniankowy (35,6 %, ALA). Olej z nasion czarnej porzeczki zawierał ich ok. 15 %, a ogórecznikowy tylko 0,6 %. Trzy pierwsze oleje zaliczane są do najbogatszych źródeł C18 PUFA *n-3*. Wśród popularnych olejów nieduże ich ilości zawiera tylko olej rzepakowy (do 10 %) i sojowy (do 8 %). Porównawcze badania prowadzone w Finlandii przez Tahvonena i wsp. [22], dotyczące suplementacji diety olejem z nasion czarnej porzeczki zawierającym 14,5 % kwasu α -linolenowego i 2,7 % kwasu stearydynowego wykazały, że może on być alternatywą dla olejów rybnych, jako źródło kwasów tłuszczowych z rodziny *n-3*. Przy określaniu zawartości kwasu α -linolenowego w diecie należy pamiętać o niskim stopniu konwersji tego kwasu w ustroju człowieka do kwasu ikozapentaenowego (EPA), wynoszącym około 20 % [14].

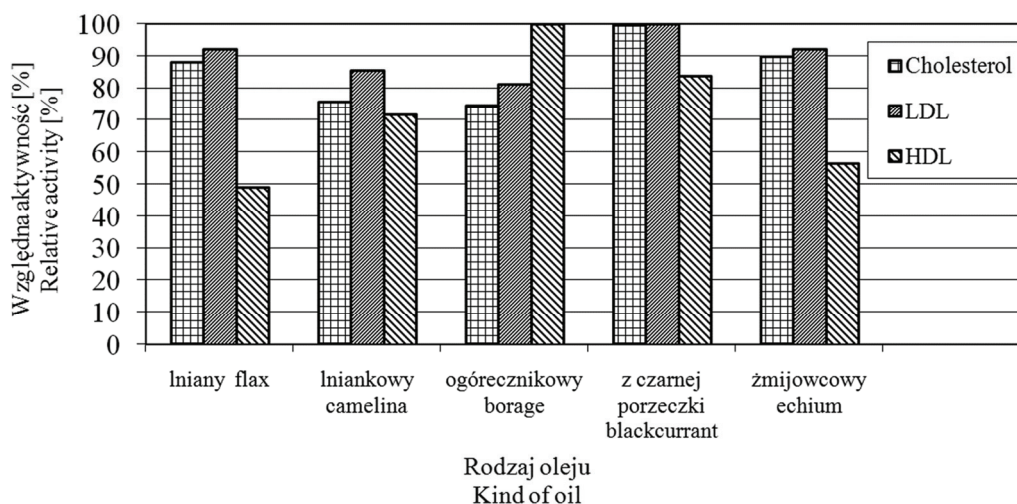
Zawartość NNKT w badanych olejach była duża i zróżnicowana, od blisko 38 % w oleju ogórecznikowym do prawie 69 % w oleju lnianym. W oleju lnianym było ich więcej, a w oleju z nasion czarnej porzeczki na zbliżonym poziomie, jak w oleju słonecznikowym. Pod względem zawartości NNKT olej lniankowy i żmijowcowy odpowiadały olejowi sojowemu, a najmniej zasobny olej ogórecznikowy zawierał ich więcej niż rzepakowy czy arachidowy. Tak duża zawartość NNKT świadczy o wysokiej wartości odżywczej badanych olejów.

Na podstawie zawartości poszczególnych grup kwasów tłuszczowych w ich całkowitej puli, oszacowano przypuszczalny wpływ poszczególnych olejów na profil lipidowy w surowicy krwi, to jest obniżanie stężenia cholesterolu całkowitego i LDL oraz podwyższanie HDL [19]. Uzyskane rezultaty przedstawiono na rys. 1.

Największą aktywność w kierunku obniżaniu stężenia cholesterolu całkowitego i LDL wykazywał w tym porównaniu olej z nasion czarnej porzeczki, żmijowcowy i lniany natomiast w podwyższaniu HDL olej ogórecznikowy.

Badane oleje okazały się dobrym źródłem niektórych polienowych kwasów tłuszczowych, powstających w pierwszym etapie enzymatycznej konwersji kwasu linolowego i α -linolenowego, tj. kwasu γ -linolenowego i stearydonowego. GLA obecny był w znaczących ilościach przede wszystkim w oleju ogórecznikowym (24,1 %), z nasion czarnej porzeczki (12,7 %) i żmijowcowym (10,6 %), a SDA w oleju żmijowcowym (12,4 %), z nasion czarnej porzeczki (2,4 %) i ogórecznikowym (0,4%). Popularne oleje roślinne nie zawierają tych kwasów. Znaczące ilości GLA i SDA w oleju ogó-

recznikowym, żmijowcowym, a także z nasion czarnej porzeczki zdecydowanie podwyższają ich wartość odżywczą.



Rys. 1. Szacunkowa, względna aktywność olejów w obniżaniu stężenia cholesterolu całkowitego i LDL oraz podwyższaniu HDL w surowicy krwi.

Fig. 1. Estimated, relative activity of oils while decreasing the concentration of total cholesterol and LDL, and increasing of HDL in blood serum.

Zalecana przez specjalistów żywienia człowieka [1, 11, 26] prawidłowa wzajemna proporcja kwasów z rodziny *n-6* do *n-3* w diecie występuje tylko w oleju z nasion czarnej porzeczki (4 : 1). Proporcja ta jest zachowana przy bardzo wysokiej zawartości kwasów należących do obu rodzin. Olej ten stanowi zatem bogate (77,2 % PUFA) i zbilansowane źródło NNKT. Spośród pozostałych olejów, lniany i lniankowy należy traktować przede wszystkim jako bogate źródła kwasów tłuszczowych z rodziny *n-3*, których ilość 2 – 3-krotnie przewyższa zawartość kwasów z rodziny *n-6*. Olej żmijowcowy zawiera półtorakrotnie więcej kwasów z rodziny *n-3*, ale jest także dobrym źródłem kwasów *n-6*, natomiast w oleju ogórecznikowym zdecydowanie dominują kwasy z rodziny *n-6*.

Biorąc pod uwagę skład i zawartość tokoferoli w olejach można wnioskować o ich aktywności witaminowej (jako witaminy E) oraz antyoksydacyjnej. Zawartość poszczególnych homologów tokoferoli, wyliczony ekwiwalent witaminy E jako α -TE oraz współczynnik Harrisa poszczególnych olejów zamieszczono w tab. 3.

Na zawartość ekwiwalentu witaminy E w oleju lnianym, lniankowym i ogórecznikowym, oprócz homologu α -T, wyraźny wpływ wywarła także obecność homologu γ -T. Pomimo tego wymienione oleje oraz olej żmijowcowy zawierały niewiele wita-

miny E, poniżej 10 mg/100 g. Bardzo korzystnie wyróżnił się olej z nasion czarnej porzeczki, stanowiący bogate źródło witaminy E (52,5 mg/100 g). Dorównuje on pod tym względem olejowi słonecznikowemu, a dwukrotnie przewyższa olej rzepakowy [26].

Tabela 3

Zawartość homologów tokoferoli i ekwiwalentu witaminy E [mg/100g] oraz współczynnik Harrisa w badanych olejach.

Content of tocopherol homologues and vitamin E equivalent [mg/100 g], as well as Harris coefficient in oils analyzed.

Tokoferol Tocopherols	Rodzaj oleju / Type of oil				
	lniany flax	lniankowy camelina	ogórecznikowy borage	z czarnej porzeczki blackcurrant	żmijowcowy echium
Alpha	0,4 ^a ± 0,0	2,7 ^b ± 0,1	1,6 ^c ± 0,0	45,3 ^d ± 1,8	3,9 ^e ± 0,1
Gamma	48,8 ^a ± 2,2	67,4 ^b ± 2,8	24,7 ^c ± 1,0	71,1 ^d ± 3,0	19,9 ^e ± 0,8
Delta	1,4 ^a ± 0,0	1,2 ^a ± 0,0	114,8 ^c ± 3,8	6,7 ^d ± 0,2	1,9 ^a ± 0,0
Total	505,9 ^a ± 18,9	713,6 ^b ± 26,2	1410,2 ^c ± 40,1	1231,6 ^d ± 33,2	257,7 ^e ± 8,7
α-TE	5,3 ^a ± 0,1	9,5 ^b ± 0,3	5,2 ^a ± 0,1	52,5 ^d ± 1,8	5,9 ^c ± 0,1
Współczynnik Harrisa Harris Coefficient	0,1	0,2	0,1	0,7	0,1

Objaśnienia: / Explanatory notes:

n = 6 (3×2);

Wartości średnie oznaczone różnymi indeksami w rzędach różnią się statystycznie istotnie [-] (P ≤ 0,05) / Mean values denoted by different indices in the rows differ statistically significantly (P ≤ 0.05).

Współczynnik Harrisa trzech olejów – lnianego, ogórecznikowego i żmijowcowego wynosił tylko 0,1, a lniankowego 0,2. Wskazuje to na zbyt małą zawartość ekwiwalentu witaminy E w odniesieniu do dużej zawartości PUFA. Istnieje zatem potrzeba wzbogacania tych olejów w witaminę E tak, aby uzyskać zalecaną wartość współczynnika Harrisa (0,6). Jedynie olej z nasion czarnej porzeczki ze współczynnikiem 0,7 wyróżnił się pod tym względem bardzo korzystnie.

W porównaniu z takimi olejami, jak: kukurydziany, z zarodków pszenicy, rzepakowy, ryżowy czy sezamowy nie można badanych olejów uznać za bogate źródła fitosteroli (tab. 4). Zawartość tych związków kształtowała się na stosunkowo niskim poziomie – od 320 mg/100 g (olej ogórecznikowy) do 560 mg/100 g (olej z nasion czarnej porzeczki) – zbliżonym do tego, jaki jest w olejach sojowym i słonecznikowym [20, 26]. Skład steroli w poszczególnych olejach był dość zróżnicowany. W każdym

z nich dominował β -sitosterol, szczególnie pożądaný pod względem żywieniowym, stanowiący od 38 % (olej ogórecznikowy) do 82 % (olej z nasion czarnej porzeczki) całkowitej puli steroli. Drugim pod względem zawartości był campesterol od 9 % (olej z nasion czarnej porzeczki) do 37 % (olej żmijowcowy). Znaczące były także ilości $\Delta 5$ -avenasterolu. Pozostałe sterole występowały w zdecydowanie mniejszych ilościach, a ich łączny udział wynosił od 5 do 9 % (tab. 4).

Tabela 4

Skład i zawartość steroli [mg/100 g] w badanych olejach.
Composition and content of sterols [mg/100 g] in oils analyzed.

Sterole Sterols	Rodzaj oleju / Type of oil				
	lniany flax	lniankowy camelina	ogórecznikowy borage	z czarnej porzeczki blackcurrant	żmijowcowy echium
Brassicasterol	4,1 ^a ±0,2	27,0 ^b ±1,3	0,3 ^c ±0,0	0,0	0,0
Campesterol	132,4 ^a ±5,3	114,1 ^b ±4,8	83,2 ^c ±3,7	48,9 ^d ±2,2	155,1 ^e ±6,7
Stigmasterol	27,3 ^a ±1,2	0,0	7,5 ^c ±0,3	5,6 ^d ±0,2	11,0 ^e ±0,5
β -Sitosterol	238,0 ^a ±10,1	311,2 ^b ±12,5	131,0 ^c ±5,8	463,4 ^d ±19,2	161,7 ^e ±7,7
$\Delta 5$ Avenasterol	69,5 ^a ±2,8	54,7 ^b ±2,7	75,1 ^c ±3,4	13,1 ^d ±0,5	82,8 ^e ±3,5
$\Delta 7$ Stigmasterol	3,2 ^a ±0,1	3,9 ^a ±0,2	21,0 ^c ±0,9	23,0 ^d ±1,2	12,7 ^e ±0,6
$\Delta 7$ Avenasterol	0,9 ^a ±0,0	0,0	1,4 ^c ±0,1	8,1 ^d ±0,4	1,6 ^c ±0,1
Razem - Total	475,4 ^a ±19,7	510,9 ^b ±20,5	319,5 ^c ±14,2	562,1 ^d ±23,7	424,9 ^e ±19,3

Objaśnienia jak pod tab. 3. / Explanatory notes as in Tab. 3.

Wnioski

1. Badane oleje charakteryzują się szczególnie wysoką wartością odżywczą dzięki znacznej zawartości nienasyconych kwasów tłuszczowych (90 %), zwłaszcza polienurowych (50 - 80 %), należących głównie do rodziny *n-3*. Doskonałym źródłem kwasów z rodziny *n-3* są oleje: lniany (52,7 %), żmijowcowy (43,6 %) i lniankowy (35,6 %).
2. Optymalna proporcja pomiędzy kwasami z rodziny *n-6* i *n-3* (4 : 1) jest w oleju z nasion czarnej porzeczki. W oleju lnianym, żmijowcowym i lniankowym dominują kwasy z rodziny *n-3* (proporcje odpowiednio: 1 : 3,3; 1 : 2,1; 1 : 1,5), natomiast w oleju ogórecznikowym z rodziny *n-6*.
3. Olej ogórecznikowy, żmijowcowy oraz olej z nasion czarnej porzeczki zawierają rzadko występujące, cenne pod względem odżywczym kwasy tłuszczowe, takie

- jak: γ -linolenowy i stearydonowy, odpowiednio: 24,1 % i 0,2 %, 10,6 % i 13,0 %, oraz 12,4 % i 2,4 %.
4. Olej z nasion czarnej porzeczki jest znaczącym źródłem witaminy E (525,1 mg/kg). Niski współczynnik Harrisa oleju lnianego, lniankowego, ogórecznikowego i żmijowcowego wskazuje na potrzebę ich wzbogacania w witaminę E.
 5. Badane oleje zawierają niedużo fitosteroli, od 320 mg/100 g (olej ogórecznikowy) do 560 mg/100 g (olej z nasion czarnej porzeczki), a dominował wśród nich β -sitosterol.

Literatura

- [1] Bartnikowska E.: Fizjologiczne działanie nienasyconych kwasów tłuszczowych z rodziny omega-6 i omega-3. *Mat. 12. Międzyn. Konf. Naukowej „Postępy w technologii tłuszczów roślinnych”*, Piešťany, Słowacja, 2004, ss. 15-29.
- [2] Bartnikowska E. Biological activities of phytosterols with particular attention to their effects on lipid metabolism. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2009, **59**, (2), 105-112.
- [3] Bramley P.M., Elmadfa I., Kafatos A., Kelly F.J., Manios Y., Roxborough H.E., Schuch W., Sheehy P.J.A., Wagner K-H.: Vitamin E. *Review. J. Sci. Food Agric.*, 2000, **80**, 913-938.
- [4] Dzik J.: Kwas stearydonowy (C18:4 (n-3) – źródła roślinne i potencjalne znaczenie w żywieniu człowieka. *Żyw. Człow. Metabol.*, 2005, **32**, 56-64.
- [5] Eittenmiller R.R., Landem Jr., W.O., Augustin J.: Vitamin Analysis. In: *Food Analysis*. S. Nielsen Ed. Aspen Publishers, Gaithersburg, 1998, 281-291.
- [6] Eittenmiller R., Lee J.: Vitamin E: food chemistry, composition and analysis. Marcel Dekker, New York, USA, 2004.
- [7] German B.J., Dilard C.J. Saturated fats: what dietary intake? *Am. J. Clin. Nutr.* 2004, **80**, (3), 550-559
- [8] Hands E.S. Lipid composition of selected foods. In: *Baileys industrial oil & fat products*. Y.H. Hui Ed. J. Wiley & Sons, Inc., NewYork, 1996, vol. 1, pp. 441-505.
- [9] Horrobin D.F.: Nutritional and medical importance of gamma-linolenic acid. *Prog. Lip. Res.*, 1992, **31**, 163-194.
- [10] Horrobin D.F.: Fatty acid metabolism in health and disease: the role of D6-desaturase. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1993, **57**, 732-736.
- [11] Kafatos A.G., Codrington C.A.: The Eurodiet project. Core Report. Nutrition & Diet for Healthy Lifestyle in Europe, 2000, <http://eurodiet.med.uoc.gr/EurodietCoreReport>.
- [12] Kłosiewicz-Latoszek L.: Znaczenie kwasów tłuszczowych omega-3 w profilaktyce chorób sercowo-naczyniowych. *Żyw. Człow. Metab.*, 2002, **29**, 78-86.
- [13] Kritchevsky D., Chen S.C.: Phytosterols – health benefits and potential concerns: a review. *Nutritional Res.*, 2005, **25**, 413-428.
- [14] Li D., Attar-Bashi N., Sinclair A.J.: α -linolenic acid and heart disease. In: *Flaxseed in human nutrition*. L. Thompson, S. Cunnae Eds. AOCS Press, Champaign, Illinois, 2003, pp. 245-259.
- [15] Mag T.K., Reichert R.D.: A new recommended calculation of vitamin E activity. Implications for the vegetable oil industry. *Inform*, 2002, **13**, 836-838.
- [16] PN-EN ISO 5508:1996. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Analiza estrów metylowych kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej.


- [17] PN-EN ISO 12228:2002. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie poszczególnych steroli i ich całkowitej zawartości. Metoda chromatografii gazowej.
- [18] PN-EN 12822:2002. Artykuły żywnościowe. Oznaczanie zawartości witaminy E metodą wysokosprawną chromatografii cieczowej.
- [19] Przysławski J., Bolesławska I.: Tłuszcze pokarmowe – czynnik terapeutyczny czy patogenetyczny. *Tłuszcze Jadalne*, 2006, **41**, 179-192.
- [20] Shahidi F., Shukla V.K.S.: Nontriacylglycerol constituents of fats, oils. *Inform*, 1996, **7**, 1227-1231.
- [21] Szostak W.: Tłuszcze a zdrowie. *Mat. Konf. Naukowej „Współczesne poglądy na wartość żywieniową tłuszczów”*, Warszawa, 2006, płyta CD.
- [22] Tahvonen R.L., Schwab U.S., Linderborg K.M., Mykkänen H.M., Kallio H.O.: Blackcurrent seed oil supplements differ in their effects on fatty acid profiles of plasma lipids, and concentrations of serum total and lipoprotein lipids, plasma glucose and insulin. *J. Nutr. Bioch.*, 2005, **16**, 353-359.
- [23] Witting L.A.: Recommended dietary allowance for vitamin E. *Am. J. Clin. Nutr.* 1972, **5**, 257-261.
- [24] Yanishlieva–Maslarova N.V.: In: Antioxidants in food. Practical applications. J. Pokorny, N. Yanishlieva, M. Gordon Eds., CRC Press, Cambridge, England, pp. 22-70.
- [25] Ziemiański Ś.: Fizjologiczna rola kwasów tłuszczowych *n-6* i *n-3* w ustroju człowieka ze szczególnym uwzględnieniem profilaktyki cywilizacyjnych chorób metabolicznych. *Zbiór prac 3. Symp. „Olej z nasion wiesiołka i inne oleje zawierające kwasy *n-6* lub *n-3* w profilaktyce i terapii. Sulejów, 1998, 11–20.*
- [26] Ziemiański Ś., Budzyńska-Topolowska J.: *Tłuszcze pożywienia i lipidy ustrojowe*. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 1991.

ASSESSMENT OF NUTRITIVE VALUE OF PLANT OILS WITH HIGH CONTENT OF LINOLENIC ACIDS BASED ON THE COMPOSITION OF FATTY ACIDS, TOCOPHEROLS, AND STEROLS

S u m m a r y

The objective of this study was to assess the nutritive value of plant oils with high content of linolenic acids based on the composition of fatty acids, tocopherols, and sterols.

The following cold pressed plant oils were analyzed: flax oil, camelina oil, borage oil, and echium oil, and a refined oil of blackcurrant seeds. The content and composition of fatty acids, tocopherols, and sterols were determined. The oils examined were characterized by a considerable nutritional value owing to the high content of unsaturated fatty acids, especially polyenic acids (50 - 80 %), mainly belonging to an *n-3* family. The oils of flax, echium, and camelina A are a good source of acids from the *n-3* family. The optimal ratio (4:1) between the acids from the *n-6* and *n-3* families occurs in the blackcurrant seed oil. The oils of borage, echium, and blackcurrant seeds contain γ -linolenic and stearidonic fatty acids, which occur rarely and are highly valuable as regards their nutritive value. The blackcurrant seed oil is a significant source of vitamin E. A low Harris coefficient of flax oil, and, also, of camelina, borage, and echium oils prove that those oils should be enriched with vitamin E. The oils analyzed show a relatively low content of phytosterols, and, among them, β -sitosterol prevails.

Key words: plant oils, nutritive value, fatty acids, tocopherols, sterols 

IWONA CHWASTOWSKA-SIWIECKA, JACEK KONDRATOWICZ,
RAFAŁ WINARSKI, KATARZYNA ŚMIECIŃSKA

WARTOŚĆ RZEŻNA ORAZ WYBRANE CECHY JAKOŚCIOWE MIĘSA KRÓLIKÓW RAS MIĘSNYCH

Streszczenie

Celem przeprowadzonych badań była ocena wartości rzeźnej królików oraz wybranych parametrów fizykochemicznych mięśni ud (pH, barwa w systemie CIE L*a*b*, wyciek naturalny, wyciek termiczny). Materiał doświadczalny stanowiło 61 królików rasy kalifornijskiej (KA) i 17 rasy nowozelandzkiej białej (NB) w wieku 110 dni, pochodzących z tej samej fermy. Po zakończonym tuczu króliki poddawano ubojowi. Wykonano analizę rzeźną oraz wyliczono wydajność rzeźną według przyjętych systemów. Po wychłodzeniu tuszki zważono i wykonano podział technologiczny. Następnie pobrano próbki mięśni udowych do analiz fizykochemicznych. Wykazano, że króliki rasy kalifornijskiej odznaczały się wyższą wydajnością rzeźną o odpowiednio 2,05 % i 1,58 % w porównaniu z królikami nowozelandzkimi białymi. Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic między wartościami średnimi kwasowości tkanki mięśniowej, której pomiary wykonano po 45 min i 24 h *post mortem*. Wykazano statystycznie istotne różnice pomiędzy wartościami średnimi wycieku naturalnego oraz termicznego mięśni analizowanych grup doświadczalnych. Mięśnie ud pochodzące od królików rasy (NB) charakteryzowały się wyższym udziałem składowej barwy czerwonej, co zostało potwierdzone statystycznie.

Słowa kluczowe: królik, wartość rzeźna, wydajność rzeźna, właściwości fizykochemiczne

Wprowadzenie

Mięso królicze jest surowcem o dużych walorach dietetycznych i smakowych. Charakteryzuje się znaczną zawartością wysokowartościowego białka o dobrej przyswajalności, małej zawartości tłuszczu (ale o dużej ilości nienasyconych kwasów tłuszczowych) i cholesterolu, małą zawartością sodu, a dużą potasu, fosforu i magnezu oraz witamin z grupy B [15, 18, 19, 24, 26, 27]. Pomimo niewielkiego spożycia w Polsce, w ostatnich latach obserwuje się rosnące zainteresowanie mięsem króliczym.

Dr inż. I. Chwastowska-Siwiecka, prof. dr hab. J. Kondratowicz, dr inż. R. Winarski, dr inż. K. Śmiecińska, Katedra Towaroznawstwa i Przetwórstwa Surowców Zwierzęcych, Wydz. Bioinżynierii Zwierząt, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, ul. M. Oczapowskiego 5, 10-719 Olsztyn

W krajach Unii Europejskiej jest ono atrakcyjnym produktem spożywczym, a jego cena jest znacznie wyższa niż mięsa drobiowego, wieprzowego czy wołowego [7, 10].

Polska zaliczana jest do czołowych producentów królików mięsnych w Europie, a niemal cała ilość pozyskiwanego mięsa przeznaczana jest na eksport. Spożycie mięsa króliczego na jednego mieszkańca w naszym kraju wynosi 0,4 - 0,5 kg, podczas gdy np. Włosi spożywają go około 6 kg na osobę [19]. Materiał rzeźny dostarczany do skupu i na ubój w 80 % pochodzi głównie z produkcji tradycyjnej – przyzagrodowej, natomiast pozostała część z produkcji towarowej. Różne formy produkcji oraz duże zróżnicowanie rasowe (około 60 % krajowego pogłowia stanowią różnego rodzaju mieszańce) powodują, że produkt końcowy, jakim jest mięso królicze, wykazuje odchylenia jakościowe [3, 29]. Króliki różnych ras i ich mieszańce charakteryzują się odmienną produktywnością, która zależy od genotypu zwierzęcia oraz warunków żywienia i utrzymania [2, 32]. Z uwagi na preferencje konsumentów, mięso coraz częściej pozyskiwane jest z ekstensywnego systemu utrzymania, gdyż jako produkt ekologiczny znajduje większe uznanie. Nie wszystkie rasy nadają się do tego typu produkcji, dlatego w takich warunkach najczęściej utrzymuje się króliki ras dużych i mieszańce. Natomiast w systemie intensywnym prowadzi się tucz królików ras mięsnych, tj. białe nowozelandzkie, kalifornijskie czy termondzkie [9]. Selekcja w kierunku poprawy cech tucznych i rzeźnych, prowadzona przez kilkadziesiąt lat w hodowli królików mięsnych, doprowadziła do wytworzenia ras i linii wybitnie mięsnych, szybko rosnących, o dużej zawartości mięsa w tuszce, ale jednocześnie z obniżoną jego jakością [19]. Jednym z kierunków współczesnej hodowli jest zatem doskonalenie oraz ciągła kontrola cech jakościowych mięsa króliczego i wytwarzanych z niego produktów [18].

Uwzględniając powyższe informacje przeprowadzono badania, których celem była ocena wartości rzeźnej królików rasy kalifornijskiej i nowozelandzkiej białej oraz wybranych parametrów fizykochemicznych mięśni ud.

Materiał i metody badań

Materiał doświadczalny stanowiły króliki rasy kalifornijskiej (61 szt.) oraz białej nowozelandzkiej (17 szt.), pochodzące z Fermy Hodowlanej z Mostkowa k. Łukowa. Doświadczenie przeprowadzono w okresie letnim 2009 r. Króliki utrzymywane były na wolnym powietrzu w klatkach drewnianych, na głębokiej ściółce. Żywienie w okresie tuczu oraz warunki utrzymania były podobne dla wszystkich zwierząt. W okresie odchowu stosowano żywienie do woli mieszkanką granulowaną, zawierającą: 16,5 % białka ogólnego, 15,4 % włókna surowego i 3,1 % tłuszczu surowego, ze stałym dostępem do wody pitnej. Ubój gospodarski oraz obróbka poubojowa królików została wykonana w 110. dniu życia po osiągnięciu przez zwierzęta masy przedubojowej około 3 kg, z podziałem na płęć. Przed ubojem zastosowano 24-godzinne głodzenie, a następnie zwierzęta ważono. Po oszołomieniu i wykrwawieniu króliki skórowano oraz

wytrzewiano. Analizę rzeźną prowadzono według metodyki opracowanej przez Niedźwiadka [21, 22]. Uwzględniano masę ciała przed ubojem, masę tuszki ciepłej z głową, masę części jadalnych z podrobami (wątroba, nerki, serce, płuca), masę podrobów oraz części niejadalnych, masę głowy oraz masę tuszki bez głowy i podrobów. Dodatkowo po 45 min i 24 h *post mortem* w mięśniach lewych ud (*m. biceps femoris*) dokonywano pomiaru stopnia zakwaszenia tkanki mięśniowej za pomocą pH-metru WTW 340i firmy POL-EKO-APARATURA, używając elektrody szklanej kombinowanej (Doble Pore). Określano także masę tuszek po schłodzeniu i wyliczano wydajność rzeźną z równań:

$$\text{Wydajność rzeźna I wg Gugołka i wsp. [9]} = \frac{\text{masa tuszki po uboju bez głowy i podrobów}}{\text{masa ciała zwierzęcia przed ubojem}} \times 100\%$$

$$\text{Wydajność rzeźna II wg Niedźwiadka [22]} = \frac{\text{masa tuszki ciepłej z głową}}{\text{masa zwierzęcia przed ubojem}} \times 100\%$$

$$\text{Wydajność rzeźna III wg WRSA [4]} = \frac{\text{masa tuszki wychłodzonej}}{\text{masa ciała przed ubojem}} \times 100\%$$

$$\text{Wydajność rzeźna IV wg Pingela [15]} = \frac{(\text{masa tuszki} + \text{masa jadalnych podrobów})}{\text{masa przyżyciowa}} \times 100\%$$

Tuszki poddawano 24-godzinnemu wychłodzeniu w temp. około 4 °C. Po tym czasie dokonywano podziału technologicznego na elementy zasadnicze: część przednią, comber i część tylną. Do analiz fizykochemicznych pobierano próbki z tkanki mięśniowej lewego udźca, po 10 sztuk w grupach doświadczalnych. Ocenę właściwości fizykochemicznych wykonano w Laboratorium Oceny Jakości Mięsa Katedry Technologii i Przetwórstwa Surowców Zwierzęcych UWM w Olsztynie. Analizę mięśni wykonywano w próbkach świeżych po upływie 24 h od momentu uboju. W celu właściwego przygotowania mięśni do analiz laboratoryjnych usuwano zewnętrzną tkankę tłuszczową i błony otaczające z powierzchni prób. Następnie próby rozdrabniano w wilku laboratoryjnym poprzez trzykrotne zmielenie z zastosowaniem siatki o średnicy oczek 1,5 mm i dokładnym wymieszaniu farszu. Badania obejmowały oznaczenia:

- barwy na podstawie wartości parametrów L*a*b* w układzie CIE LAB metodą odbiciową za pomocą aparatu MiniScan XE Plus firmy HunterLab,
- wycieku naturalnego wg Honikela [11],
- wycieku termicznego wg Janickiego [13].

Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej, uwzględniając podstawowe miary statystyczne (\bar{x} , s). Istotność różnic między grupami doświadczalnymi określa-

no za pomocą analizy wariancji oraz testu T-Tukeya dla różnych N, a także testem Duncana, stosując licencjonowany program komputerowy Statistica wersja 8.0.

Wyniki i dyskusja

W tab. 1. przedstawiono wyniki analizy rzeźnej królików rasy kalifornijskiej (KA) i nowozelandzkiej białej (NB) w wieku 110 dni. Masa ciała zwierząt po 24-godzinnym przegłodzeniu była zróżnicowana w poszczególnych rasach i wahała się od 2460 do 2612 g. Największą masą tuszki z głową charakteryzowały się samice królików nowozelandzkich białych, a najmniejszą samice królików kalifornijskich. Ogólna masa części jadalnych w badanych grupach doświadczalnych kształtowała się na podobnym poziomie w zależności od rasy. Stwierdzono natomiast większą masę części jadalnych w grupie samic królików (NB) w stosunku do samic rasy (KA) wynoszącą 55 g. Wykazano nieznaczną różnicę masy części jadalnych w grupie samców obu ras, wynoszącą 47 g. Uzyskane różnice między wartościami średnimi analizowanej cechy były jednak statystycznie nieistotne. Nie stwierdzono również istotnych zmian masy części niejadalnych, mimo to ich udział był większy w grupie królików rasy nowozelandzkiej białej (samice i samce) i wynosił odpowiednio 100 i 70 g.

Na podstawie analizy wariancji obejmującej cechy rzeźne królików z uwzględnieniem płci stwierdzono, że występujące różnice między wartościami średnimi były niewielkie i statystycznie nieistotne. Dlatego też uzyskane w doświadczeniu wyniki wydajności rzeźnej zestawiono w tab. 2. bez uwzględnienia płci. Do zasadniczych cech analizy rzeźnej należy wydajność rzeźna, która jest podstawowym wskaźnikiem użytkowości mięsnej. Zależy ona przede wszystkim od: rasy, wieku, sposobu żywienia i warunków utrzymania oraz masy ciała ubijanych zwierząt. Rasy średnie charakteryzują się wysoką wydajnością rzeźną w granicach 50 - 60 %, przy korzystnym udziale mięsa w tuszce w stosunku do kości. Wydajność rzeźna brojlerów króliczych mieści się w granicach 55 - 65 %. W produkcji towarowej hodowcy powinni prowadzić chów królików ras średnich, o wydajności poubojowej szacowanej na 56 - 60 % (wraz z podrobami). Zadawalająca wydajność rzeźna ma znaczenie przede wszystkim dla zakładów przetwórczych i nie pozostaje bez znaczenia dla konsumenta [6, 31].

W celu porównania zmian wydajności rzeźnej poszczególnych ras królików obliczono jego wskaźnik według autorów wymienionych w części metodycznej oraz przyjętych systemów [4, 9, 15, 22]. Z danych przedstawionych w tab. 2. wynika, że największą wydajnością rzeźną charakteryzowały się króliki kalifornijskie – 54,03 %, wyliczoną według Niedźwiadka [22]. W analizowanej grupie królików stwierdzono istotne różnice pomiędzy ocenianym wskaźnikiem a wydajnością rzeźną określoną według Gugołka i wsp. [9] i WRSA [4], które wynosiły odpowiednio 48,13 % i 48,15 %. Wydajność rzeźna oceniona według wskazań Pingela [15] kształtowała

Tabela 1

Wyniki analizy rzeźnej królików.
Slaughter analysis results of rabbits.

Wyszczególnienie Specification	Miara stat. Statistical measures	Rasa królików / Breed of rabbits			
		kalifornijski (n = 61) Californian		nowozelandzki biały (n = 17) New Zealand White	
		Płeć królików Sex of rabbits			
		♀ Females (n=36)	♂ Males (n=25)	♀ Females (n=11)	♂ Males (n=6)
Masa ciała zwierzęcia przed ubojem Pre-slaughter body weight [g]	\bar{X} s/SD	2460 ± 0,30	2470 ± 0,56	2612 ± 0,39	2520 ± 0,35
Masa tuszki ciepłej Hot carcass weight [g]	\bar{X} s/SD	1966 ± 0,23	2035 ± 0,23	2051 ± 0,30	1962 ± 0,23
Masa tuszki ciepłej z głową Hot carcass weight with head [g]	\bar{X} s/SD	1308 ± 0,18	1356 ± 0,21	1366 ± 0,22	1326 ± 0,21
Masa tuszki ciepłej bez głowy i podrobów Hot carcass weight without head and giblets [g]	\bar{X} s/SD	1166 ± 0,17	1207 ± 0,20	1208 ± 0,21	1162 ± 0,20
Masa głowy Weight of head [g]	\bar{X} s/SD	0,142 ± 0,01	0,149 ± 0,01	0,158 ± 0,02	0,164 ± 0,02
Masa podrobów Weight of giblets [g]	\bar{X} s/SD	93 ± 0,02	97 ± 0,02	107 ± 0,02	96 ± 0,01
Masa części jadalnych ogółem Total weight of edible parts [g]	\bar{X} s/SD	1260 ± 0,18	1304 ± 0,20	1315 ± 0,22	1257 ± 0,20
Masa części niejadalnych Weight of inedible parts [g]	\bar{X} s/SD	836 ± 0,14	884 ± 0,13	936 ± 0,18	954 ± 0,21
Masa tuszki schłodzonej bez głowy Weight of chilled carcass without head [g]	\bar{X} s/SD	1169 ± 0,17	1205 ± 0,20	1205 ± 0,21	1161 ± 0,19

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Brak statystycznie istotnych różnic na poziomie $p \leq 0,05$ / No statistically significant differences at $p \leq 0,05$

Tabela 2

Wydajność rzeźna królików rasy kalifornijskiej i nowozelandzkiej białej.
Dressing yield of Californian and New Zealand White rabbits.

Wyszczególnienie Specification	Miara stat. Statistical measures	Rasa królików Breed of rabbits	
		kalifornijski (n = 61) Californian	nowozelandzki biały (n = 17) New Zealand White
Wydajność rzeźna I wg Gugołka i wsp. [9] Dressing yield I acc. to Gugołek et al. [9] [%]	\bar{X} s/SD	48,13b ± 1,04	46,17B ± 0,09
Wydajność rzeźna II wg Niedźwiadka [22] Dressing yield acc. to Niedźwiadek [%]	\bar{X} s/SD	54,03a ± 1,22	52,45A ± 0,23
Wydajność rzeźna III wg WRSA Dressing yield acc. to WRSA [%]	\bar{X} s/SD	48,15b ± 0,89	46,10B ± 0,04
Wydajność rzeźna IV wg Pingela (Ludewig i wsp. [15]) Dressing yield acc. to Pingel (Ludewig et al. [15]) [%]	\bar{X} s/SD	52,00 ± 1,12	50,11C ± 0,33

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Wartości średnie oznaczone różnymi literami w kolumnach różnią się statystycznie istotnie: A, B, C – przy $p \leq 0,01$; a, b – przy $p \leq 0,05$ / Means denoted by different letters in columns differ statistically significantly: A, B, C – at $p \leq 0.01$; a, b – at $p \leq 0.05$.

się również na dość wysokim poziomie – 52 %. Natomiast wskaźnik wydajności rzeźnej królików rasy białej nowozelandzkiej liczony według równań opracowanych przez Niedźwiadka wynosił 52,45 %, a Pingela – 50,11 %. W badanej grupie królików zaobserwowano wysoko istotne różnice wydajności rzeźnej pomiędzy wydajnością II i I, III oraz IV. Porównując uzyskane wartości wydajności rzeźnej pomiędzy poszczególnymi grupami doświadczalnymi stwierdzono, że króliki kalifornijskie charakteryzowały się wyższą wydajnością w 4 zaprezentowanych wariantach na poziomie wynoszącym odpowiednio: 1,95; 1,58; 2,05 i 1,89 %. Najlepszymi wskaźnikami użyteczności rzeźnej zdecydowanie cechują się króliki kalifornijskie, co również potwierdza Bielański [3]. Według Gugołka i wsp. [9] wydajność rzeźna królików rasy białej nowozelandzkiej, żywionych granulatem i utrzymywanych w pomieszczeniu wynosiła 51,5 %. Natomiast w badaniach Zająca [30] wykazano, że wraz ze wzrostem przedubojowej masy ciała wzrastała wydajność rzeźna zwierząt. Najmniej wskazany jest ubój królików

o masie ciała od 2000 do 2250 g, ponieważ wydajność rzeźna jest mała w granicach 49 - 53 %, natomiast ze wzrostem masy ciała wydajność osiąga wartość 55 - 56 %. Otrzymane w pracy wartości wydajności rzeźnej ocenione według norm World Rabbit Science Association (WRSA) są znacznie mniejsze w stosunku do tych, jakie uzyskał Pla i wsp. [25], które kształtowały się na poziomie 55,5 %. Z obserwacji Ludewiga i wsp. [15] wynika, że średnia wydajność rzeźna królików ZIKA wynosiła od 56,5 % (63. dzień tuczu) do 60,9 % (110. dzień tuczu). Według ww. autorów po przekroczeniu 96. dnia tuczu otrzymano istotnie większą wydajność w porównaniu z wydajnością rzeźną po 63 - 82 dniach tuczu. Natomiast wskaźnik wydajności rzeźnej królików ubijanych w wieku 65 - 110 dni, w zależności od rasy kształtuje się na poziomie 50 - 60 %. Duży rozrzut wartości rzeźnej, od 44,5 do 66 % związany jest z różnym sposobem jej obliczania, często bowiem do masy tuszki dolicza się głowę, a także podroby [24].

Wśród wielu wskaźników określających właściwości fizykochemiczne mięsa w przeprowadzonym doświadczeniu przebadano: kwasowość, barwę, wyciek naturalny i termiczny. Pomiar kwasowości jest metodą analizy informującą o szybkości przebiegu glikolizy poubojowej, która stanowi podstawę do zróżnicowania jakości mięsa, przydatności technologicznej oraz jego trwałości. Tkanka mięśniowa w chwili uboju zwierząt wykazuje odczyn zbliżony do obojętnego. Bezpośrednio po uboju następuje spadek pH w mięśniach spowodowany ich zakwaszeniem. Kwasowość mięsa zależy od szeregu czynników genetycznych i środowiskowych. Od kwasowości mięsa w dużym stopniu zależą m.in. takie jego właściwości, jak: wodochłonność, kruchość, barwa i smak [3, 19]. Zamieszczone w tab. 3. wartości pH_1 mierzone po 45 min od uboju królików wskazywały na dobrą ich jakość w analizowanych grupach doświadczalnych. Kwasowość mięsa króliczego mierzona bezpośrednio po uboju powinna zawierać się w przedziale pH od 6,1 do 6,9, co wskazuje na mięso dobrej jakości. Przy niższym pH mięso jest wodniste i ma gorsze właściwości przetwórcze [3, 19, 29]. Według Ludewiga i wsp. [15] średnie wartości pH_1 mierzone w mięśniach ud (*m. biceps femoris*) 110-dniowych królików hybrydowych ZIKA wynosiły 6,53, a po 24 h – 5,93. W badaniach Zająca [29, 30] uzyskano zbliżone wartości pH_1 mierzone po 45 min od uboju w mięśniach ud królików białych nowozelandzkich, które kształtowały się na poziomie 6,51 do 6,84. Natomiast znacznie wyższe pH_{20min} mięśni ud odnotował Barrón i wsp. [1]. Po 20 min od uboju królików kalifornijskich wartość pH wynosiła 7,1, a królików białych nowozelandzkich – 7,3.

Oznaczone wartości pH_{24} , określone po 24 h od uboju, mieściły się w granicach 5,90 do 5,97. Wartości pH_{24} w badanych grupach doświadczalnych były wyższe od tych, jakie uzyskał Bielański [3], a mianowicie pH_{24} od 5,7 do 5,8. Według wymienionego autora, po upływie 24-godzinnego schładzania powinien nastąpić spadek pH do wartości 5,8, co świadczy o prawidłowym przebiegu glikolizy. Liczne badania [1, 5,

26, 23] wskazują, że średnie wartości pH_{24} mięśni ud królików kształtują się od 5,80 do 6,2. Według Hulota i Ouhayouna [12] wartości pH_{24} odpowiadające kryteriom jakościowym mięsa normalnego RFN mieszczą się w przedziale pH_{24} od 5,80 do 5,98.

Istotnym wskaźnikiem określającym przydatność technologiczną mięsa jest jego barwa. Wrażenie barwy jest jednym z najważniejszych kryteriów przy wyborze i zakupie produktu przez konsumentów. Na podstawie wzrokowej oceny tej cechy nabywca wnioskuje o świeżości, a nawet jakości mięsa [17, 20].

Tabela 3

Właściwości fizykochemiczne mięśni udowych królików (n = 10).
Physical-chemical properties of *m.biceps femoris* of rabbits (n = 10).

Wyszczególnienie Specification	Miara stat. Statistical measures	Rasa królików / Breed of rabbits	
		kalifornijski (n = 10) Californian	nowozelandzki biały (n = 10) New Zealand White
pH_{45}	\bar{X} s/SD	6,79 ± 0,25	6,76 ± 0,17
pH_{24}	\bar{X} s/SD	5,97 ± 0,20	5,90 ± 0,17
Parametry barwy: Colour parameters: L*- jasność / lightness	\bar{X} s/SD	60,63 ± 1,96	60,54 ± 2,39
a*- barwa czerwona / redness	\bar{X} s/SD	2,61 ^B ± 0,54	4,65 ^A ± 0,89
b*- barwa żółta / yellowness	\bar{X} s/SD	12,33 ± 0,96	11,71 ± 0,90
Wyciek naturalny Natural drip loss [%]	\bar{X} s/SD	0,74 ^b ± 0,15	0,91 ^a ± 0,20
Wyciek termiczny Thermal shrinkage [%]	\bar{X} s/SD	19,37 ^b ± 5,25	23,54 ^a ± 3,29

Objaśnienia: / Explanatory notes:

a, b – wartości średnie oznaczone małymi literami różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$ / mean values denoted by small superscript letters differ statistically significantly at $p \leq 0,05$;

A, B – wartości średnie oznaczone dużymi literami różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,01$ / mean values denoted by capital superscript letters differ statistically significantly at $p \leq 0,01$.

Nie stwierdzono istotnych różnic pod względem jasności barwy badanych próbek mięśni w zależności od rasy królików (tab. 3). Analiza wskaźników barwy wykazała, że średnie wartości L* mięśni ud królików kalifornijskich były nieznacznie wyższe (60,63) w stosunku do mięśni królików białych nowozelandzkich (60,54). Uzyskane średnie wartości barwy mięsa królików w układzie CIE L*a*b* pozwalają scharakteryzować je jako surowiec o stosunkowo jasnej barwie, z małym udziałem składowej czerwonej barwy (a*) i dużym udziałem barwy żółtej. Jasna barwa tego mięsa jest

naturalnym zjawiskiem, między innymi związanym ze zmniejszoną ilością mioglobiny w mięśniach tych zwierząt. Badania Łapy i wsp. [17], przeprowadzone na poprzecznym przekroju mięśni kończyny tylnej, wykazały, że mięso królików rasy nowozelandzkiej białej i kalifornijskiej jest jaśniejsze, co potwierdzają wartości parametru L^* wynoszące odpowiednio 57,34 i 58,45. Według wielu autorów [5, 8, 23] mięśnie ud (*m. biceps femoris*) charakteryzują się ciemniejszą barwą, a wartości L^* mieszczą się w granicach od 50,72 do 55,50 lub niższych.

Wykazano wysoko istotną różnicę udziału składowej czerwonej barwy (a^*) w analizowanych grupach doświadczalnych. Barwa mięśni ud królików rasy białej nowozelandzkiej charakteryzowała się większą wartością tego wskaźnika w stosunku do mięśni królików kalifornijskich o 2,04. Ocenione składowe czerwonej barwy są zbliżone do wyników, jakie uzyskali Gondret'a i wsp. [8], Pinheiro i wsp. [23] oraz D'Agata i wsp. [5]. Natomiast znacznie wyższe wartości (odpowiednio: 12,93 i 12,57) od prezentowanych w niniejszej pracy otrzymał Łapa i wsp. [17]. Składowa czerwonej barwy mięsa jest wypadkową wielu czynników, w tym wzajemnych relacji między zawartością mioglobiny, oksymoglobiny, metmioglobiny, a zmiany poszczególnych składników wynikające z zachodzących przemian poubojowych wpływają na udział tego wskaźnika w mięsie już po 24 h [17]. Na barwę mięsa mają wpływ również inne czynniki, takie jak: kwasowość, wodochłonność oraz zawartość tłuszczu [18]. Istnieje również związek pomiędzy barwą i pH_u oraz zależność, że im wyższe pH , tym ciemniejsza barwa mięsa [14]. Według Maj i wsp. [18] zbyt duże zakwaszenie mięsa wywołuje jego „bladość”. Pomędzy badanymi mięśniami nie stwierdzono istotnych różnic średniej wartości składowej barwy żółtej (b^*). Niższy udział tej barwy wykazano w mięśniach ud królików NB, który kształtował się na poziomie 11,71. Badania przeprowadzone przez Maj i wsp. [18] wykazały, że wraz ze wzrostem jasności mięsa króliczego zmniejsza się intensywność barwy oraz maleje składowa czerwonej barwy (a^*), co łącznie powoduje występowanie „bladego” mięsa. W badaniach Łapy i wsp. [16] stwierdzono, że spadkowi wartości pH_{45} towarzyszy wzrost zażółcenia mięsa króliczego i zmiany pozostałych parametrów jego jasności i barwy.

W przeprowadzonych badaniach określono wyciek naturalny oraz termiczny, który jest ważnym wskaźnikiem funkcjonalnym mięsa. Wykazano istotne różnice ($p \leq 0,05$) pod względem ilości wycieku naturalnego między mięśniami w zależności od genotypu królików (tab. 3). Najmniejszym wyciekem naturalnym charakteryzowały się mięśnie (*BF*) królików rasy kalifornijskiej (0,74 %), a największym mięśnie królików rasy nowozelandzkiej białej (0,91 %). Uzyskane dane liczbowe (tab. 3) wskazują na większy wyciek termiczny z mięśni królików nowozelandzkich białych na poziomie 23,54 % w stosunku do mięśni królików kalifornijskich, co zostało potwierdzone statystycznie. W badaniach Ludewiga i wsp. [15] wykazano, że wraz z wiekiem ubijanych królików hybrydowych ZIKA wyciek termiczny z mięśni (*m. biceps femoris*) zmniej-

sza się z wartości 41,12 % (63. dzień tuczu) do 38 % (110. dzień tuczu). Według Gondreta i wsp. [8] wyciek termiczny z mięśni ud wynosi od 23,5 do 24,7 %. Wielkość ubytków masy mięśni czy obróbki termicznej ma istotny wpływ na poziom cech sensorycznych, szczególnie smakowitości i soczystości. Otrzymane wyniki pozwalają przypuszczać, że wraz ze zwiększeniem się wartości wycieku pogarsza się będą właściwości sensoryczne i soczystość mięsa. Według Bielańskiego [3] straty masy, mierzone ilością wycieku przy obróbce termicznej, są znacznie wyższe w mięsie o małej wodochłonności, a produkt końcowy jest mniej soczysty. Dodatkowo mniejsza zdolność wiązania wody przez mięso świadczy o mniejszej przydatności przetwórczej mięsa oraz niższej jakości uzyskiwanego produktu mięsnego [19].

Wnioski

1. Wyniki cech rzeźnych królików obu ras były na podobnym poziomie, a różnice między wartościami średnimi uwzględniającymi płęć były niewielkie i statystycznie nieistotne.
2. Wskaźniki wydajności rzeźnej, wyliczone według różnych przyjętych systemów, wykazały znaczne zróżnicowanie, co zostało potwierdzone statystycznie. Króliki rasy kalifornijskiej odznaczały się największą wydajnością rzeźną we wszystkich czterech analizowanych wariantach.
3. Właściwości fizykochemiczne mięśni ud w zależności od rasy królików były podobne pod względem kształtowania się kwasowości, jasności barwy oraz udziału składowej żółtej (b*).
4. Stwierdzono, że mięśnie królików rasy kalifornijskiej charakteryzowały się niższym udziałem składowej czerwonej barwy (a*) i mniejszą ilością wycieku naturalnego oraz wycieku termicznego.

Literatura

- [1] Barrón G., Rosas G., Sandoval Ch., Bonilla O., Reyes G., Rico P., Cardona L., Zamora F.: Effect of genotype and sex on pH of *Biceps femoris* and *Longissimus dorsi* muscles in rabbit carcasses. Proc. 8th World Rabbit Congress, Puebla, Mexico 2004, September 7-10, pp. 1349-1353.
- [2] Bielański P.: Wpływ warunków środowiskowych na wzrost królików niektórych ras i ich użytkowość rzeźna. Roczn. Nauk. Zoot., 2000, **1** (27), 375-508.
- [3] Bielański P.: Wpływ rasy i systemów utrzymania na cechy produkcyjne brojlerów króliczych. Roczn. Nauk. Zoot. IZ, Kraków, 2004, **18**, 5-86.
- [4] Blasco A., Ouhayoun J.: Harmonization of criteria and terminology in rabbit meat research. World Rabbit Sci., 1996, **4**(2), 93-99.
- [5] D'Agata M., Preziuso G., Russo C., Dalle Zotte A., Mourvaki E., Paci G.: Effect of an outdoor rearing system on the welfare, growth performance, carcass and meat quality of a slow-growing rabbit population. Meat Sci., 2009, **83**, 691-696.

- [6] Dalle Zotte A.: Perception of rabbit meat quality and major factors influencing the rabbit carcass and meat quality. *Livest. Prod. Sci.*, 2002, **75**, 11-32.
- [7] Forrester-Anderson I.T., McNitt J., Way R., Way M.: Fatty acid content of pasture-reared fryer rabbit meat. *J. Food Comp. Anal.*, 2006, **19**, 715-719.
- [8] Gondret F., Larzul C., Combes S., de Rochambeau H.: Carcass composition, bone mechanical properties, and meat quality traits in relation to growth rate in rabbits. *J. Anim. Sci.*, 2005, **83**, 1526-1535.
- [9] Gugolek A., Lorek M.O., Kowalska D., Janiszewski P., Daszkiewicz T.: Wpływ systemu utrzymania i żywienia na wyniki produkcyjne i stopień zarażenia kokcydiami królików białych nowozelandzkich. *Rocz. Nauk. Zoot.*, 2008, **2 (4)**, 39-44.
- [10] Hermida M., Gonzalez M., Miranda M., Fodríguez-Otero J.L.: Mineral analysis in Rabbit meat from Galicia (NW Spain). *Meat Sci.*, 2006, **73**, 635-639.
- [11] Honikel K.O.: Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. *Meat Sci.*, 1998, **49 (4)**, 447-457.
- [12] Hulot F., Ouhayoun J.: Muscular pH and related traits in rabbits: a review. *World Rabbit Sci.*, 1999, **7**, 15-36.
- [13] Janicki M.A.: Mięso wodniste, jego znaczenie i występowanie. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 1970, **1**, 13-20.
- [14] Kaufmann R.G., Sybesma W., Smulders F.J.M., Eikelenboom G., Engel B., van Laack R.L.J.M., Hoving-Boling A.H., Sterrenburg P., Nordheim E.V., Walstra P., van der Wal P.G.: The effectiveness of examining elary Postmortem musculature to predict ultimate pork quality. *Meat Sci.*, 1993, **34**, 283-300.
- [15] Ludwig M., van Treel N., Fehlhaber K.: Schlachtausbeute und Fleischqualität von Mastkaninchen in Abhängigkeit vom Alter. *Fleischwirtschaft*, 2003, **6**, 101-103.
- [16] Łapa P., Maj D., Bieniek J., Barabasz B., Węglarz A.: Analiza zależności między wskaźnikami jakości mięsa króliczego rasy castorex. *Rocz. Inst. Przem. Mięś. i Tłuszcz.*, 2006, T. XLIV, **2**, 207-221.
- [17] Łapa P., Maj D., Bieniek J.: Barwa i tekstura mięsa królików ras mięsnych i ich mieszańców. *Med. Wet.*, 2008, **64 (4A)**, 454-456.
- [18] Maj D., Łapa P., Bieniek J.: Korelacje fenotypowe między wskaźnikami jakości mięsa królików ras mięsnych. *Rocz. Nauk. PTZ*, 2008, **4 (2)**, 105-113.
- [19] Maj D., Bieniek J., Łapa P.: Jakość mięsa królików rasy białej nowozelandzkiej i kalifornijskiej oraz ich mieszańców. *Med. Wet.*, 2008, **64 (3)**, 351-353.
- [20] Mancini R.A., Hunt M.C.: Current research in meat color. *Meat Sci.*, 2005, **71 (1)**, 100-121.
- [21] Niedźwiadek S.: Określenie przydatności do produkcji towarowej królików ras średnich w oparciu o metodę kompleksowej oceny wartości użytkowej. *Wyd. Inst. Zoot.*, Kraków 1983.
- [22] Niedźwiadek S.: Ujednolicone kryteria badań nad mięsnym użytkowaniem królików. *Biul. Inf. IZ.*, 1996, **34 (1)**, 37-47.
- [23] Pinheiro V., Silva S.R., Silva J.A., Outor-Monteiro D., Mourão J.L.: Growth and carcass characteristics of rabbits housed in open-air or standard systems. *9th World Rabbit Congress on Meat Quality and Safety*, Verona, Italy 2008, June 10-13, pp. 1421-1424.
- [24] Piórkowska M.: Wartość rzeźna królików o różnym genotypie. *Rocz. Inst. Przem. Mięś. i Tłuszcz.*, 2008, T. XLVI, **2**, 41-48.
- [25] Pla M., Zomeño C., Hernández P.: Effect of the diet ary n-3 and n-6 fatty acids on Rabbit carcass and meat quality. *9th World Rabbit Congress on Meat Quality and Safety*, Verona, Italy 2008, June 10-13, pp. 1425-1429.
- [26] Rodríguez-Calleja J. M., Garcia-Lopez M-L., Santos J.A., Otero A.: Development of the aerobic spoilage flora of chilled rabbit meat. *Meat Sci.*, **70**, 389-394.

- [27] Rutkowska J., Przybylski W., Stołyhwo A.: Charakterystyka jakości i wartości odżywczej mięsa króliczego pochodzącego z drobnotowarowego chowu tradycyjnego. Mat. Międzyn. Konf. Nauk.-Promocyjnej UWM, Olsztyn, 25-26 listopad 2009, ss. 201-205.
- [28] Szkucik K., Libelt K.: Wartość odżywcza mięsa królików. Med. Wet., 2006, **62** (1), 108-110.
- [29] Zając J.: Wpływ masy poubojowej królików na wydajność rzeźną oraz wybrane cechy jakościowe mięsa. Roczn. Nauk. Zoot., 1999, **26** (3), 59-72.
- [30] Zając J.: Porównanie cech tucznych, rzeźnych oraz jakości mięsa królików rzeźnych ras i ich mieszańców. Roczn. Nauk. Zoot., 2001, **1** (28), 9-23.
- [31] Zając J.: Wykorzystanie samców ras dużych w krzyżowaniu towarowym królików. Roczn. Nauk. Zoot., 2004, **2** (29), 269-282.
- [32] Zając J.: Ocena efektywności produkcji żywca króliczego na podstawie wybranych cech użytkowych zwierząt w okresie odchowu. Roczn. Nauk. Zoot., 2005, **1** (32), 61-68.

SLAUGHTER VALUE AND SELECTED QUALITY ATTRIBUTES OF MEAT OF MEET RABBIT BREEDS

S u m m a r y

The objective of the research performed was to determine the slaughter value and some physical-chemical parameters of *m.biceps femoris* (pH, colour in the CIE L*a*b* system, drip loss, thermal shrinkage). The research material comprised 61 Californian rabbits and 17 White New Zealand rabbits aged 110 days and originating from the same animal breeding farm. After the completed fattening, the rabbits were slaughtered. A slaughter analysis was performed and a dressing yield was calculated pursuant to the systems assumed. The carcasses were chilled, weighed, and technological division was made. Then, the *m. biceps femoris* muscle samples were taken for a physical-chemical analysis. It was proved that the dressing yield of the Californian rabbits was by 2.05 % and 1.58 %, respectively, higher than of the White New Zealand rabbits. No statistically significant differences were found between the mean values of muscle tissue acidity measured 45 minutes and 24 hours post mortem. The statistically significant differences were found between the mean values of drip loss and thermal shrinkage of the muscles of the experimental groups analyzed. The *Biceps femoris* muscles of the New Zealand White rabbits were characterized by a higher per cent content of red colour component, and this fact was proved statistically.

Key words: rabbit, slaughter value, dressing yield, physical-chemical properties ☒

DOROTA KOWALSKA, PAWEŁ BIELAŃSKI, AGNIESZKA CHEŁMIŃSKA

WPLYW DODATKU DO PASZY OLEJU LNIANEGO I RYBNEGO NA PROFIL KWASÓW TŁUSZCZOWYCH I UTLENIE TŁUSZCZU ŚRÓDMIĘŚNIOWEGO KRÓLIKÓW

Streszczenie

Celem przeprowadzonych badań było określenie wpływu 3 % dodatku oleju lnianego i rybnego oraz przeciwutleniacza na profil kwasów tłuszczowych, zawartość cholesterolu i witaminy E w lipidach mięsa króliczego.

Badania przeprowadzono na potomstwie pochodzącym od 50 samic królików rasy nowozelandzkiej białej. Króliki grupy kontrolnej (I) żywiono pełnodawkową mieszanką standardową. Zwierzętom z grup II i III do receptury mieszanki wprowadzono 3 % dodatek oleju lnianego, przy czym w grupie III zwiększono o 100 % udział witaminy E jako naturalnego antyoksydanta w paszy. Zwierzętom z grupy IV i V wprowadzono do receptury 3 % dodatek oleju rybnego, zwiększając w grupie V udział witaminy E. W próbkach mięsa króliczego pobranych z mięśni tylnych nóg oznaczono: profil kwasów tłuszczowych, zawartość cholesterolu całkowitego i witaminy E oraz aldehyd malonowy (TBARS).

Wprowadzenie 3 % dodatku oleju lnianego i rybnego spowodowało wzrost zawartości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych $n-3$. Stwierdzono wysoko istotną różnicę zawartości tych kwasów pomiędzy grupą kontrolną a grupami doświadczalnymi, jak również korzystne, pod względem żywieniowym, zmniejszenie dysproporcji kwasów $n-6/n-3$ PUFA. W badaniach stwierdzono istotny wpływ dodatku oleju lnianego i rybnego na zawartość cholesterolu całkowitego w mięsie króliczym. W badanych mięśniach króliczych, w grupach doświadczalnych stwierdzono wysoko istotny wzrost zawartości witaminy E oraz zmniejszenie zawartości aldehydu malonowego (TBARS), co świadczy o wolniejszym tempie utleniania lipidów mięsa.

Słowa kluczowe: królik, pasza, olej lniany, olej rybny, kwasy tłuszczowe, cholesterol, witamina E

Wprowadzenie

Współczesne badania wskazują na istnienie ścisłej współzależności między składnikami odżywczymi zawartymi w spożywanych produktach a zdrowiem człowieka. Dlatego w ciągu ostatnich lat znacznie wzrosło zainteresowanie konsumentów spo-

życiem mięsa białego, o małej zawartości cholesterolu, do których bezsprzecznie należy mięso królicze.

Profil kwasów tłuszczowych w tkankach królików, jak również innych zwierząt gospodarskich, zależy jest od wielu czynników, takich jak: rasa, rodzaj tkanki, wiek czy przedubojowa masa ciała. Istotny wpływ ma także skład dawki pokarmowej [7, 13]. Wzbogacanie pełnodawkowych mieszanek paszowych składnikami o dużej zawartości PUFA *n-3* pozwala na programowanie profilu kwasów tłuszczowych mięsa w wyniku transferu określonych składników z paszy.

Pod względem żywieniowym najbardziej odpowiednim olejem stosowanym do natłuszczenia pasz jest olej lniany, gdyż zawiera znaczące ilości kwasu α -linolenowego, który jest formą długołańcuchową PUFA z rodziny *n-3* i może być częściowo (w około 10 - 30 %) przekształcony w organizmie do EPA, DPA i DHA.

Długołańcuchowe kwasy tłuszczowe pochodzące z oleju rybnego w sposób najbardziej wydajny fizjologicznie wpływają na wzbogacenie mleka i tkanki zwierzęcej w PUFA *n-3*, a w szczególności w $C_{20:5\ n-3}$ (EPA), $C_{22:5\ n-3}$ (DPA), $C_{22:6\ n-3}$ (DHA)

Duża zawartość nienasyconych kwasów tłuszczowych w paszach powoduje, że mogą one być podatne na rozkład (jeliczenie). Jeliczenie jest najczęstszą przyczyną zepsucia tłuszczu. Wyróżnia się jeliczenie hydrolityczne oraz oksydacyjne. Jeliczenie hydrolityczne polega na przyłączeniu cząsteczki wody i zachodzi pod wpływem lipaz obecnych w surowcu. Powstają wtedy wolne kwasy tłuszczowe. Kwasy niskocząsteczkowe są wyczuwalne, przy wysokocząsteczkowych proces ten jest niewyczuwalny sensorycznie. Oksydacja powstałych kwasów tłuszczowych pod wpływem własnych lub pochodzących od drobnoustrojów lipooksydaz i perooksydaz prowadzi do powstania nadtlenuków, aldehydów, ketonów i innych szkodliwych związków chemicznych. Jak wykazują liczne badania, związki te mają negatywny wpływ na wartość dietetyczną tłuszczu i są szkodliwe dla organizmu [6, 11]. Powstaje zatem konieczność zabezpieczenia tłuszczu przed oksydacją. Pozytywne rezultaty uzyskuje się, stosując jako antyoksydant naturalny witaminę E, która kontrolując wytwarzanie lipoperoksydazy, ochrania wielonienasycone kwasy tłuszczowe przed utlenianiem.

Natłuszczenie pasz dla królików ma również drugi ważny aspekt korzystny dla konsumentów. Uważa się, że wysoki poziom spożycia tłuszczu, jak i niewłaściwy jego skład mogą powodować zagrożenia chorobami cywilizacyjnymi: otyłością, zaburzeniami układu krążenia, nowotworami czy osłabieniem układu odpornościowego. Szczególne znaczenie ma skład kwasów tłuszczowych diety, a zwłaszcza proporcja kwasów nasyconych do jedno- i wielonienasyconych, które wg wskazań winien wynosić 1 : 1 : 1.

Celem przeprowadzonych badań było określenie wpływu dodatku do paszy 3 % oleju lnianego i rybnego oraz przeciwutleniacza na profil kwasów tłuszczowych, zawartość cholesterolu oraz witaminy E w mięsie króliczym.

Material i metody badań

Material doświadczalny stanowiły króliki rasy nowozelandzkiej białej (NB). Badania prowadzono na potomstwie odchowanym po 50 samicach stada podstawowego. Królice, utrzymywane były pojedynczo, w klatkach na głębokiej ściółce, w pomieszczeniu zamkniętym, nieogrzewanym, młodzież w klatkach z siatki metalowej po 4 sztuki w każdej.

Samice stada podstawowego żywione były od momentu pokrycia granulowanymi mieszankami pełnoporcjowymi z 3 % udziałem jednego z olejów: lnianego lub rybnego. Do mieszanek wprowadzono po 3000 mg/kg (jak w Premiksie) lub 6000 mg/kg witaminy E (dl- α -tokoferyl), jako naturalnego przeciwutleniacza.

Pełnodawkowa mieszanka standardowa, którą żywiono króliki grup kontrolnych zawierała: susz z lucerny – 26 %, otręby pszenne – 18,6 %, śrutę jęczmienną – 25 %, śrutę kukurydzianą – 18 %, śrutę sojową poekstrakcyjną – 8 %, mleko w proszku – 2 %, fosforan paszowy (dwuwapniowy) – 1 %, NaCl – 0,4 % oraz dodatek mineralno-witaminowy wraz z kokcydiostatykiem – 1 % (producent LNB Poland Sp. z o.o. w Kiszkuwie). Wprowadzony do receptury poszczególnych mieszanek 3 % dodatek oleju zmniejszył udział śrutę sojową poekstrakcyjną z 8 do 7 %, suszu z traw z 26 do 25 % i śrutę kukurydzianą z 18 do 17 %.

Zastosowany olej rybny był produktem ubocznym, otrzymywanym podczas procesu produkcji mączki rybnej z ryb, takich jak: śledź, szprot, tołpyga, makrela i dorsz o zawartości $C_{18:3n-3}$ – 3,9 %, $C_{20:5n-3}$ (EPA) – 8,4 %, $C_{22:6n-3}$ (DHA) – 13,6 %, $C_{22:5n-3}$ (DPA) – 0,9 %. Olej lniany pochodził z nasion odmiany Linola o zawartości $C_{18:2n-6}$ – 16,7 % i $C_{18:3n-3}$ – 58,6 %.

Samice stada podstawowego żywione były systemem dawkowanym: po 150 g w okresie spoczynku do 300 g paszy w okresie ciąży i odchovu młodych do 21. dnia życia. Po tym okresie dawki żywieniowe zwiększano odpowiednio do potrzeb pokarmowych rosnącej młodzieży. Króliczeta po odsadzeniu od matek (35. dzień) były żywione systemem "do woli", do 90. dnia życia, pełnoporcjową mieszanką granulowaną, taką jak w okresie odchovu przy matkach.

Utworzono 5 grup doświadczalnych po 10 samic stada podstawowego w każdej:
grupa I (kontrolna) – samice żywione granulowaną mieszanką podstawową o standardowej recepturze,
grupa II – samice żywione mieszanką z 3 % udziałem oleju lnianego,
grupa III – samice żywione mieszanką z 3 % udziałem oleju lnianego i zwiększonym o 100 % udziałem witaminy E,
grupa IV – samice żywione mieszanką z 3 % udziałem oleju rybnego,
grupa V – samice żywione mieszanką z 3 % udziałem oleju rybnego i zwiększonym o 100 % udziałem witaminy E.

W 90. dniu życia królicząt z każdej grupy doświadczalnej wybrano metodą losową po 10 zwierząt, które poddano ubojowi. Ubój i ocenę poubojową królików przeprowadzono zgodnie z obowiązującymi zasadami.

Badania paszy obejmowały:

- oznaczenie zawartości: suchej masy, białka ogólnego, tłuszczu surowego, popiołu surowego, włókna surowego, substancji organicznych, bezazotowych wyciągów. Oznaczenia wykonano zgodnie z AOAC [1],
- oznaczenie składu wyższych kwasów tłuszczowych w gotowych pełnoporcjowych mieszankach granulowanych. Analizę wykonywano metodą chromatografii gazowej, oznaczając kwasy w postaci estrów metylowych przy użyciu chromatografu gazowego VARIAN 3400 (kolumna Rtx 2330 (105 m×0,32 mm×0,2 μ).

Określano cechy rzeźne królików: masę przedubojową, masę części jadalnych (tuszką z głową, wątroba, serce, nerki, płuca), masę odpadów (skórę, krew, skoki, przewód pokarmowy). Określano masę tuszki schłodzonej oraz masę mięśni, kości i tłuszczu w całej tuszce. Wydajność rzeźną obliczano jako stosunek masy tuszki ciepłej z głową do masy zwierzęcia przed ubojem.

Badania mięsa obejmowały oznaczenie: składu wyższych kwasów tłuszczowych w lipidach mięsa, TBA-RS w mięsie mrożonym po 2 tygodniach (TBA-RS₁₄) i 3 miesiącach przechowywania (TBA-RS₉₀) w temp. -10 °C, zawartość cholesterolu całkowitego oraz witaminy E.

Oznaczenie składu wyższych kwasów tłuszczowych w tłuszczu pochodzącym z mięśni ud wykonywano metodą chromatografii gazowej, oznaczając kwasy w postaci estrów metylowych w chromatografie gazowym VARIAN 3400 – kolumna Rtx 2330 (105 m×0,32 mm×0,2 μ), program temp. 60 °C – 10 min; do 120 °C (20 °C/min); do 240 °C (3 °C/min), czas analizy: 60 min, temperatura dozownika: 250 °C, detektor: 250 °C; Range = 11, gaz nośny: hel, 3 ml/min, nastrzyk 1,0 mcl.

Zawartość cholesterolu całkowitego oznaczano metodą kolorymetryczną, wykorzystując reakcję barwną z 10 % roztworem FeCl₃ rozcieńczonym 100-krotnie kwasem siarkowym. Przygotowanie próbek wykonywano zgodnie z ustaloną w Centralnym Laboratorium Instytutu Zootechniki PIB procedurą (metoda P 026 wersja 1 z 24.05.01).

Witaminę E oznaczano metodą HPLC Merck-Hitachi w kolumnie LiChro-CARTTM 250-4 SuperspherTM 100 RP-18 (4 mikrony), detektor: FL, Ex. 295 nm, Em. 350 nm, objętość nastrzyku 40 mcl (Autosampler L-7250), eluent – metanol: H₂O (96,5 : 3,5 v/v) przepływ 1,0 ml/min (pompa L-7100), integracja HSM-D7000 Merc HITACHI, czas analizy około 30 min.

Miernikiem, którym określano stopień oksydacji tłuszczu śródmięśniowego ud był wskaźnik TBARS – mg aldehydu malonowego w 1 kg mięsa, wg Saliha i wsp. [12] (P 025 wersja 1 z 25.05.2001).

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej za pomocą analizy wariancji oraz testu D-Duncana, wykorzystując program komputerowy Statistica 7 oraz przy użyciu pakietu statystycznego SAS.

Wyniki i dyskusja

W tab. 1. przedstawiono wyniki podstawowej analizy pełnodawkowych mieszanek granulowanych stosowanych w żywieniu poszczególnych grup doświadczalnych królików. W stosunku do zapotrzebowania według polskich norm żywienia [8] mieszankę podstawową charakteryzował umiarkowany poziom składników pokarmowych. Dodatek oleju lnianego oraz rybnego spowodował wzrost tłuszczu surowego z 2,51 % w grupie kontrolnej do ponad 5 % w pozostałych grupach doświadczalnych.

Tabela 1

Wyniki podstawowej analizy pełnodawkowych mieszanek granulowanych [%].
Results of basic analysis of balanced, complete, pelleted feed mixtures [%].

Grupa Group	Sucha masa Dry matter	Popiół surowy Crude ash	Białko ogólne Total protein	Tłuszcz surowy Crude fat	Włókno surowe Crude fibre	Bez N wyc. N-free extractives
I	87,15	5,44	16,20	2,51	11,30	57,10
II	89,23	5,33	16,11	5,90	11,00	56,22
III	88,52	5,27	16,40	5,89	11,20	55,03
IV	87,80	5,47	16,31	5,05	12,00	54,44
V	88,70	5,30	16,30	5,04	11,91	55,46

W tab. 2. zamieszczono wyniki oznaczeń profilu wyższych kwasów tłuszczowych w granulowanych mieszankach paszowych.

W tab. 3. przedstawiono analizę cech rzeźnych tuszki króliczej. Stwierdzono wysoko istotny wpływ natłuszczenia mieszanki paszowej na otluszczenie tuszek, a także istotny na masę ciała królików. Na odkładanie tłuszczu przez organizm ma wpływ stopień nasycenia zawartych w pokarmie kwasów tłuszczowych. Tłuszcze o niskim stopniu nasycenia mogą wpływać na mniejsze otluszczenie. Przyczyną niskiego otluszczenia może być także stymulujący wpływ kwasów wielonienasyconych na enzymy powodujące rozkład kwasów tłuszczowych – β -oksydacje [3, 5]. Pomiędzy grupą II a kontrolną stwierdzono różnice ($P \leq 0,05$) masy ciała królików w dniu uboju, masy części jadalnych, wydajności rzeźnej i masy tuszki schłodzonej.

W tłuszczu śródmięśniowym ud królików oznaczono zawartość kwasów tłuszczowych (tab. 4).

Tabela 2

Skład wybranych kwasów tłuszczowych w granulowanych mieszankach paszowych [% sumy tłuszczów].
Composition of selected fatty acids in pelleted feed mixtures [% of total fats].

Kwas / Acid	Grupa / Group				
	I	II	III	IV	V
C _{16:0}	16,266	10,844	10,368	11,549	12,193
C _{16:1}	0,221	0,168	0,119	0,757	0,975
C _{18:0}	2,132	2,168	2,432	2,006	1,921
C _{18:1}	20,265	25,839	20,660	30,512	33,789
C _{18:2n-6}	52,830	37,566	35,301	36,513	37,229
Gamma C _{18:3n-6}	0,000	0,000	0,000	0,009	0,010
C _{18:3n-3}	6,745	22,388	30,420	15,142	9,040
CLA _{c9t11}	0,064	0,019	0,011	0,070	0,118
CLA _{t10c12}	0,045	0,031	0,000	0,085	0,098
CLA _{c9c11}	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
CLA _{t9t11}	0,088	0,034	0,022	0,024	0,035
C _{22:0}	0,497	0,356	0,343	0,319	0,432
C _{20:4n-6}	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
C _{22:1}	0,103	0,118	0,053	0,316	0,398
C _{20:5n-3} (EPA)	0,000	0,041	0,027	0,669	0,914
C _{22:6n-3} (DHA)	0,000	0,000	0,000	1,060	1,507
SFA	19,638	13,796	13,386	14,843	15,887
UFA	80,362	86,204	86,614	85,157	84,113
MUFA	20,589	26,124	20,833	31,585	35,162
PUFA	59,773	60,079	65,782	53,572	48,952
PUFA _{n-6}	52,830	37,566	35,301	36,522	37,239
PUFA _{n-3}	6,745	22,429	30,447	16,871	11,461
PUFA _{n-6/n-3}	7,832	1,675	1,159	2,165	3,249
CLA	0,197	0,085	0,033	0,179	0,251

Tabela 3

Wyniki analizy rozbioru tuszki króliczej.
Analysis results of rabbit carcass after the cutting.

Wyszczególnienie / Item	Grupa / Group					SEM
	I	II	III	IV	V	
Masa ciała królika [g] Body weight of rabbit [g]	1965,0a	2462,0b	2355b	2402,0b	2343,0b	97,2
Ogółem części jadalne [g] Total edible parts [g]	1204,0a	1585,0b	1475,0	1463,0	1442,0	44,1
Ogółem odpady [g] Total slaughter waste [%]	761,0a	868,0	873,0	931,0b	894,0b	60,7
Wydajność rzeźna [%] Dressing yield [%]	55,8a	58,4b	56,7	56,7	56,3	4,6
Masa tuszki schłodzonej [g] Hot carcass weight [g]	927,0a	1252,0b	1163,0	1182,0	1139,0	39,4
Masa mięśni w tuszce [g] Weight of muscles in carcass [g]	722,0	1041,0	959,0	960,0	949,0	30,3
Masa kości w tuszce [g] Weight of bones in carcass [g]	164,0	186,0	183,0	198,0	173,0	13,9
Masa tłuszczu w tuszce [g] Weight of fat in carcass [g]	41,0B	25,0A	21,0A	24,0A	17,0A	5,8

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie: a, b – przy $P \leq 0,05$; A, B – przy $P \leq 0,01$;

Mean values denoted by different letters are statistically significantly different: a, b – $P \leq 0.05$; A, B at $P \leq 0.01$.

W badanych mięśniach nie stwierdzono istotnego zmniejszenia zawartości SFA. Tłuszcz śródmięśniowy w decydującym stopniu może determinować skład lipidowy mięsa. Zawiera też znaczną ilość fosfolipidów wchodzących w skład wszystkich błon komórkowych i wewnątrzkomórkowych. Fosfolipidy wykazują predyspozycje do wiązania nasyconego kwasu tłuszczowego w pozycji węgla *sn-1* glicerolu, a kwasu nienasyconego w pozycji *sn-2*. Stąd istnieje znacznie większa możliwość wpływu na kwasy nienasycone PUFA lub MUFA, które konkurencyjnie wiążą glicerol przy drugim węglu niż na zawartość SFA. Podobne tendencje w odniesieniu do trzody chlewnej uzyskali Otten i wsp. [10] oraz Morgan i wsp. [9].

Tabela 4

Profil wybranych kwasów tłuszczowych w tłuszczu śródmięśniowym ud królików [%].
Content of selected fatty acids in intramuscular fat in rabbit thighs [%].

Wyszczególnienie Item	Grupa / Group					SEM
	I	II	III	IV	V	
C _{16:0}	21,825Bc	18,174	15,102Aa	17,654cd	19,231bc	0,91
C _{16:1}	3,257bc	1,869Aa	2,005Aab	3,366c	4,156B	0,22
C _{18:0}	5,459	5,394	5,084	4,449	4,321	0,14
C _{18:1}	21,846B	20,758BDa	18,208BAb	17,085AC	16,956AC	0,62
C _{18:2n-6}	38,487	36,997	36,903	38,762	34,210	1,16
Gamma C _{18:3n-6}	0,143	0,095a	0,111	0,146b	0,146b	0,01
C _{20:0}	0,096Bb	0,082	0,076a	0,066A	0,057A	0,01
C _{18:3n-3}	2,123A	11,538B	18,695C	5,477D	3,852D	0,89
CLA _{e9t11}	0,052	0,041	0,068	0,063	0,057	0,01
CLA _{t10c12}	0,004A	0,037AC	0,009AC	0,094B	0,085B	0,01
CLA _{e9c11}	0,010	0,001	0,005	0,000	0,000	0,00
CLA _{t9t11}	0,501A	0,333A	0,265A	1,299B	1,321B	0,07
C _{20:4n-6}	1,776Bb	1,244a	1,032a	0,945A	0,885A	0,09
C _{22:1}	0,029	0,074	0,014	0,022	0,065	0,02
C _{20:5n-3} (EPA)	0,132Aa	0,129A	0,239Ab	1,520B	1,701C	0,10
C _{22:6n-3} (DHA)	0,931A	0,155A	0,288A	3,825B	4,326B	0,43
SFA	30,704	26,725	22,151	24,902	27,116	1,11
UFA	69,296Aa	73,274	77,848B	75,097b	67,760A	1,10
MUFA	25,133B	22,702	20,228A	20,474A	21,177	0,71
PUFA	44,162Aa	51,172	57,619B	52,133b	41,268Aa	1,70
PUFA _{n-6}	40,407	38,337	38,048	39,853	35,241	1,14
PUFA _{n-3}	3,186A	11,822BC	19,222C	10,822B	9,879B	0,96
PUFA _{n-6/n-3}	13,041B	3,359A	1,979A	3,682A	3,567A	0,74
CLA	0,568B	0,412AB	0,348A	1,457B	1,467B	0,07

Objaśnienia jak pod tab. 3. / Explanatory notes as in Tab. 3.

W grupach królików otrzymujących w diecie olej lniany w tłuszczu śródmięśniowym istotnie ($P \leq 0,01$) wzrosła zawartość kwasu linolenowego (C_{18:3n-3}), nastąpiło również zmniejszenie dysproporcji kwasów PUFA *n-6* do PUFA *n-3*. Dodatek oleju lnianego spowodował istotny ($P \leq 0,01$) wzrost wielonienasyconych kwasów tłuszczowych PUFA *n-3*. Różnice wystąpiły również pomiędzy grupą II i III, co wskazuje

na skuteczność zastosowanego przeciwutleniacza. Obserwowany w tej grupie (III) wzrost zawartości PUFA $n-3$ był prawdopodobnie następstwem obniżenia podatności tych kwasów na procesy oksydacyjne. W wyniku utleniania się kwasów z rodziny $n-3$ mięso wykazuje zapach rybi, którego nośnikiem są kwasy: α -linolenowy ($C_{18:3n-3}$), eikozapentaenowy ($C_{20:5n-3}$) oraz dokozaheksaenowy ($C_{22:6n-3}$). Stąd też w przypadku stosowania dodatku oleju lnianego ważne wydaje się zastosowanie odpowiedniego przeciwutleniacza.

Najkorzystniejszy profil kwasów tłuszczowych tłuszczu śródmięśniowego, tj. najwyższy poziom EPA i DHA otrzymano, stosując dodatek oleju rybnego. Kwasom tłuszczowym z rodziny $n-3$ EPA i DHA przypisuje się szczególnie korzystne właściwości w zapobieganiu chorobie wieńcowej u ludzi. Normy żywienia określają dzienne zapotrzebowanie na te kwasy na 0,65 g.

Efektywność transformacji kwasów zawartych w dodawanych tłuszczach do kwasów tkanki mięśniowej wskazuje na fakt, że długołańcuchowe kwasy tłuszczowe pochodzące z oleju rybnego w sposób najbardziej wydajny fizjologicznie wpływają na wzbogacenie tkanki w PUFA $n-3$. Olej lniany, (który jest najbogatszym źródłem kwasów z rodziny $n-3$) mimo dużej zawartości kwasu α -linolenowego spowodował porównywalne z olejem rybnym odłożenie tych kwasów w tkance mięśniowej.

W tab. 5. przedstawiono poziom cholesterolu całkowitego, witaminy E oraz TBARS po 14 i 90 dniach przechowywania mięsa króliczego.

Tabela 5

Zawartość cholesterolu całkowitego [mg/100 g], witaminy E [mcg/g] oraz TBARS [mg/kg] w mięsie króliczym.

Content of total cholesterol [mg/100 g], vitamin E [mcg/g], and TBARS [mg/kg] in rabbit meat.

Wyszczególnienie / Item	Grupa / Group					SEM
	I	II	III	IV	V	
Cholesterol całkowity Total cholesterol	66,32b	60,81b	60,51b	59,99a	62,72	0,84
Witamina E / Vitamin E	1,73Aa	2,32Ab	4,02B	2,19Ab	3,76B	0,10
TBARS ₁₄	0,32A	0,22A	0,18A	0,54B	0,48B	0,01
TBARS ₉₀	0,63B	0,56B	0,22A	0,88C	0,66BC	0,02

Objaśnienia jak pod tab. 3. / Explanatory notes as in Tab. 3.

Analizując średnią zawartość cholesterolu w mięsie, stwierdzono istotne różnice pomiędzy grupą IV a I, II i III. Badania prowadzone przez Xiccato i Trocino [15] nad wpływem zwiększonego udziału tłuszczu roślinnego w zbilansowanych dawkach pokarmowych dla królików wskazują, że zastosowanie niezbędnych nienasyconych kwa-

sów tłuszczowych o odpowiedniej relacji między poszczególnymi rodzajami kwasów może wpływać na ograniczenie poziomu cholesterolu całkowitego w mięśniach i tłuszczu zapasowym. Efekt ten zachodzi pod wpływem stymulacji bądź hamowania aktywności reduktazy HMG CoA w wątrobie – enzymu kontrolującego proces syntezy cholesterolu. Stwierdzono, że podawanie ludziom np. zmodyfikowanej wieprzowiny o obniżonej zawartości cholesterolu powoduje istotne zmniejszenie stężenia cholesterolu całkowitego i jego aterogennej frakcji LDL w profilu lipidowym osocza [2].

Po zwiększeniu poziomu witaminy E w paszy obserwowano bardzo wyraźne jej odkładanie w mięsie. Ma to duże znaczenie dla konsumentów, gdyż w celu właściwego przyswajania wielonienasyconych kwasów tłuszczowych ich spożyciu powinna towarzyszyć witamina E, jako naturalny przeciwutleniacz, a zalecana jej ilość to 0,4 mg α -tokoferolu na 1 g kwasów [4]. Zastosowany zwiększony dodatek witaminy E do paszy miał korzystne oddziaływanie na zmniejszenie podatności lipidów mięsa na procesy utleniania w trakcie jego zamrażalniczego przechowywania. Zwiększenie zawartości kwasów PUFA w tkance zwierząt, zarówno zapasowej, jak i mięśniowej, może nasilać proces peroksydacji lipidów w tkankach żywego organizmu, a także w przechowywanych produktach mięsnych. Produkty utleniania kwasów PUFA mogą powodować obniżenie walorów smakowo-zapachowych, jak również barwy i konsystencji mięsa. Cechy niekorzystne narastają wraz z wydłużaniem okresu przechowywania. Procesy peroksydacji można zahamować przez wprowadzanie antyutleniaczy do paszy wzbogacanej olejami.

W przypadku dodatku oleju rybnego do mieszanki paszowej, który istotnie zwiększył ilość wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w mięsie, wykazano tendencję do zwiększania się wartości TBA-RS po 14 i 90 dniach przechowywania mięsa (temp. -10 °C). Zwiększenie poziomu witaminy E znacznie spowalniało ten proces.

Dodatek oleju lnianego do paszy nie miał takiego wpływu, pomimo że znacznie zwiększał zawartość wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w mięsie. Podobne tendencje uzyskali Świątkiewicz i wsp. [14], analizując wpływ rodzaju tłuszczu oraz przeciwutleniacza w paszy dla kur nieśnych na profil kwasów tłuszczowych i podatność na utlenianie lipidów żółtka jaj.

Wnioski

1. Zastosowanie w żywieniu królików oleju lnianego i rybnego zmieniło profil kwasów tłuszczowych tłuszczu śródmięśniowego. Efektywność transformacji kwasów zawartych w dodawanych do paszy tłuszczach do kwasów tkanki mięśniowej wskazuje, że długołańcuchowe kwasy tłuszczowe pochodzące z oleju rybnego w sposób najbardziej wydajny fizjologicznie wpływają na wzbogacenie tkanki w PUFA *n*-3.

2. Olej lniany (najbogatsze źródło kwasów z rodziny $n-3$), mimo bardzo dużej zawartości kwasu α -linolenowego, spowodował porównywalne z olejem rybnym odłożenie tych kwasów w tkance mięśniowej uda króliczego.
3. Zastosowanie oleju rybnego i lnianego w mieszankach dla królików pozwala na uzyskanie mięsa o walorach prozdrowotnych, charakteryzującego się optymalnym dla zdrowia człowieka stosunkiem kwasów $n-6/n-3$.
4. Badania potwierdziły celowość stosowania przeciwutleniaczy paszowych w żywieniu królików paszą z udziałem tłuszczów zawierających wysoki poziom kwasów nienasyconych.

Literatura

- [1] AOAC. Official Methods of Analysis Heldrich K. (Ed). Association of Official Analytical Chemists, 15 th Edition, Arlington, VA, USA, 1990.
- [2] Barowicz T.: Wieprzowina bez cholesterolu. Trzoda Chlewna, 2001, **3**, 50-51.
- [3] Crespo N., Esteve-Garcia E.: Nutrient and fatty acid deposition in broilers fed different dietary fatty acid profiles. Poultry Sci., 2002, **81**, 1533-1542.
- [4] Gibney M.J., Vorster H.H., Kok F.J.: Introduction to human nutrition. Blackwell Science, Oxford 2002.
- [5] Hanczakowski P.: Fizjologiczne działanie kwasów tłuszczowych. Wiad. Zoot., 2003, **3-4**, 3-6.
- [6] Hęś M., Korczak J.: Wpływ różnych czynników na szybkość utlenienia się lipidów mięsa. Nauka Przyroda Technologie, 2007, **1 (1)**, 1-11.
- [7] Kowalska D., Bielański P.: Modyfikowanie walorów dietetycznych mięsa króliczego czynnikami żywieniowymi. Roczniki IPMiT, 2008, XLVI/1, 45-56.
- [8] Normy żywienia mięsożernych i roślinożernych zwierząt futerkowych. IFiZZ PAN Jabłonna – praca zbiorowa, 1994, ss. 52-58.
- [9] Morgan C.A.: Manipulation of the fatty acid composition of pig meat lipids by dietary means. J. Sci. Food Agric., 1992, **58**, 357-360.
- [10] Otten W., Wirth C., Iaizzo P.A., Eichinger H.M.: A high omega 3 fatty acid diet alters fatty acid composition of heart, liver, kidney, adipose tissue and skeletal muscle in swine. Ann. Nutr. Metab., 1993, **37**, 134-141.
- [11] Robey W., Shermer W.: The damaging effects of oxidation. Feed Mix, 1994, **2**, 23-25.
- [12] Salih A.M., Smith D.M., Price J.F., Dawson L.E.: Modified extraction 2-thiobarbituric acid method for measuring lipid oxidation in poultry. Poultry Sci., 1987, **66**, 1483.
- [13] Szkucik K., Libelt K.: Wartość odżywcza mięsa królików. Med. Wet., 2006, **62 (1)**, 108-110.
- [14] Świątkiewicz S., Koreleski J.: Rodzaj tłuszczu oraz przeciwutleniacza w paszy dla kur nieśnych a profil kwasów tłuszczowych i podatność na utlenianie lipidów żółtka jaj. Wiad. Zoot., 2003, R. XLI, **2**, 35-40.
- [15] Xiccato G., Trocino A.: Role of dietary lipid on digestive physiology, immune system and growth in rabbits. Cost 848, Agriculture and Biotechnology, 2003, 48-57.

EFFECT OF LINSEED & FISH OIL SUPPLEMENTS IN FEED ON FATTY ACID PROFILE AND INTRAMUSCULAR FAT OXIDATION IN RABBITS

S u m m a r y

The objective of the research performed was to determine the effect of 3 % linseed, 3 % fish oil, and one antioxidant added to feed on the fatty acid profile, content of cholesterol and vitamin E in the lipids of rabbit meat.

The research project comprised the offspring of 50 New Zealand White rabbit does. The rabbits in the control group (I) were fed a balanced, complete, standard rabbit feed mixtures. The animals from the control group II and III were fed a feed with 3 % linseed oil added; the feed for the rabbits from the group III contained a 100 % higher supplement of vitamin E as a natural antioxidant. The animals from the groups IV and V were fed a feed with 3 % fish oil added; the feed for the group V contained a higher content of vitamin E added. In the samples of meat taken from the rear leg muscles of the rabbits investigated, the following was determined: fatty acid profile, total content of cholesterol, total content of vitamin E, and malondialdehyde (TBARS).

The 3 % supplement of linseed and fish oil caused the content of *n-3* polyunsaturated fatty acids to increase. A significant difference was found between the control group and experimental groups as regards the content of those fatty acids. In addition, it was found that the disproportion in the content of *n-6* and *n-3* acids decreased; this fact has a positive effect from the nutritional point of view. The research proved a significant effect of the linseed and fish oil supplements on the total content of cholesterol in the rabbit meat. A significant increase in the content of vitamin E was found in the analyzed muscles of rabbits in the experimental groups, and a decrease in content of malondialdehyde (TBARS), which reflects a slower rate of meat lipid oxidation.

Key words: rabbit, feed, linseed oil, fish oil, fatty acids, cholesterol, vitamin E ☒

EUGENIA GRZEŚKOWIAK, FABIAN MAGDA, DARIUSZ LISIAK

OCENA ZAWARTOŚCI FOSFORU ORAZ JAKOŚCI MIĘSA I PRZETWORÓW MIĘSNYCH DOSTĘPNYCH NA RYNKU KRAJOWYM

Streszczenie

Celem pracy było określenie zawartości fosforu ogólnego oraz ocena cech jakościowych mięśnia LD tuczników i jagniąt, przetworów wieprzowych oraz mięsa i przetworów drobiowych dostępnych na rynku krajowym. W 24 sortymentach, z uwzględnieniem podziału na wędzonki, kielbasy średnio i drobno rozdrobnione, oznaczono pH, barwę ($L^*a^*b^*$) oraz zawartość: wody, tłuszczu, chlorku sodu, związków mineralnych w postaci popiołu i fosforu ogólnego jako P_2O_5 . Ponadto przeprowadzono ocenę sensoryczną, oceniając w skali od 1 do 5: wygląd ogólny, zapach, soczystość, kruchość i smakowitość. W mięsie wieprzowym, w porównaniu z jagnięcym, stwierdzono istotnie większą zawartość tłuszczu (odpowiednio: 2,97 i 2,01 %), białka (23,91 i 21,37 %) i fosforu ogólnego (odpowiednio: 4,13 i 3,72 g/kg). W przetworach drobiowych oznaczono mniej tłuszczu niż w wieprzowych, odpowiednio w: wędzonkach 1,97 i 3,51 %, kielbasach średnio rozdrobnionych 7,47 i 16,79 %, kielbasach drobno rozdrobnionych 17,86 i 24,96 %. Ponadto w przetworach drobiowych w porównaniu z wieprzowymi stwierdzono większą zawartość fosforu ogólnego P_2O_5 odpowiednio: 4,59 i 3,35 g/kg. Jakość sensoryczna badanych przetworów była dość zróżnicowana, zwłaszcza drobiowych. Wyżej oceniono przetwory wieprzowe, w przedziale od 4,3 do 4,7 pkt. Gorszą smakowitością charakteryzowały się wędzonki drobiowe (3,48 pkt) i kielbasy drobno rozdrobnione (3,77 pkt). Oceniane przetwory wieprzowe i drobiowe charakteryzowały się mniejszą zawartością wody, tłuszczu i chlorku sodu od poziomu określonego w PN-A-82007 i PN-A-86526, co ze względów żywieniowych należy uznać za tendencję pozytywną. Natomiast poziom fosforu P_2O_5 w badanych przetworach nie przekraczał dopuszczalnej dawki 5 g/kg (z wyjątkiem wędzonek drobiowych). Poziom ten należy uznać jednak za stosunkowo wysoki, tym bardziej, że do praktycznego stosowania zaleca się dawki w przedziale 3,0 do 3,5 g/kg w przeliczeniu na P_2O_5 .

Słowa kluczowe: mięso, przetwory wieprzowe i drobiowe, fosfor, cechy fizykochemiczne i sensoryczne

Dr hab. E. Grześkowiak, prof. IBPRS, mgr inż. F. Magda, dr inż. D. Lisiak, Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego, Oddział Technologii Mięsa i Tłuszczu w Warszawie, Zakład Badania Surowców i Produkcji Rzeźnianej w Poznaniu, ul. Głogowska 239, 60-111 Poznań

Wprowadzenie

W ostatnich latach obserwuje się wzrost zainteresowania konsumentów jakością żywności, szczególnie jej bezpieczeństwem oraz wpływem na stan zdrowia. Konsumenty oczekują m.in. żywności o ograniczonej zawartości składników uważanych za niekorzystne pod względem zdrowotnym [19]. O uwzględnianie aspektów zdrowotnych spożywanej żywności apeluje Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) i Organizacja Narodów Zjednoczonych do spraw Wyżywienia i Rolnictwa (FAO) w raporcie nt. wpływu diety i żywienia na ograniczenie chorób cywilizacyjnych. W raporcie tym wielokrotnie wskazuje się na oddziaływanie spożycia mięsa i przetworów mięsnych, a szczególnie tłuszczu zwierzęcego, na zdrowie człowieka [3]. Nie mniej ważny jest poziom dodatku substancji, których spożycie w nadmiarze nie jest wskazane, tj. fosforanów i chlorku sodu [3, 19].

Znane są korzyści technologiczne wynikające ze stosowania dodatku fosforanów w przetwórstwie, m.in. poprawa wodochłonności mięsa i wyróżników sensorycznych. Do skutków technologicznych wynikających ze stosowania fosforanów można zaliczyć: zwiększenie wydajności wyrobu, zmniejszenie wycieku cieplnego, zwiększenie soczystości i kruchości, polepszenie związania plastrów i inne [5, 16].

Fosforany, jedne z wielu substancji dodatkowych, zaliczane są do grupy stabilizatorów i emulgatorów. Są one dozwolone do stosowania we wszystkich przetworach mięsnych w postaci soli kwasu fosforowego: monofosforanów (orto), wielofosforanów (di- i tri-) i polifosforanów sodu, potasu i wapnia [5]. Zgodnie z rozporządzeniem Ministra Zdrowia z 27 grudnia 2000 r. dopuszczalna jest maksymalna dawka 5 g P_2O_5 /kg gotowego produktu [17]. Do praktycznego stosowania zalecana jest dawka 3,0 - 3,5 g w przeliczeniu na P_2O_5 . W procesach przetwórstwa mięsa i drobiu stosuje się mieszanki fosforanowe w różnych proporcjach, z udziałem sodu, który stosowany w dużych ilościach jest szkodliwy dla zdrowia konsumenta [19].

Celem pracy było określenie poziomu fosforu ogólnego i w przeliczeniu na P_2O_5 oraz ocena cech fizykochemicznych i sensorycznych mięsa (wieprzowego, jagnięcego oraz drobiowego) oraz przetworów wieprzowych i drobiowych dostępnych na rynku krajowym.

Material i metody badań

Material do badań stanowiło mięso wieprzowe, jagnięce i drobiowe oraz przetwory z mięsa wieprzowego i drobiowego.

Z półtuszy wieprzowych i jagnięcych wychłodzonych po 24 h od uboju pobierano próby z części lędźwiowej mięśnia najdłuższego grzbietu (LD). Mięśnie LD świń pochodziły z tuczników z gospodarstw drobnotowarowych (grupa D) i fermy wielotowarowej (grupa F), natomiast LD jagniąt z dwóch ośrodków hodowlanych (grupy I i II).

Mięso drobiowe (mięśnie piersiowe i połówki) pobrano do badań z handlu detalicznego. Liczba w każdej grupie wynosiła po 20 prób.

W mięśniu LD oznaczano wartość pH po 24 h od uboju (pH_{24}) za pomocą pehametru Radiometer z elektrodą zespoloną; zawartość: wody metodą suszarkową wg PN-ISO 1442:2000 [12]; tłuszczu metodą Soxhleta wg PN-ISO 1444:2000 [13]; białka metodą Kjeldahla wg PN 75/A-04018 [8]; związków mineralnych w postaci popiołu wg PN-ISO 936:2000 [15]; fosforu ogólnego jako P_2O_5 metodą spektrofotometryczną wg PN/A-820060:1999 [9].

Ponadto badaniami objęto 24 sortymenty przetworów wyprodukowanych przez 5 producentów z mięsa wieprzowego i drobiowego, pochodzących z bieżących dostaw rynkowych w 2009 r. Produkty te podzielono na 3 grupy asortymentowe zgodnie z PN-A-82007 i PN-A-86526 [10, 11]: wędzonki, kiełbasy średnio rozdrobnione i kiełbasy drobno rozdrobnione.

Analizowano wybrane przetwory z mięsa wieprzowego o nazwach handlowych:

- wędzonki: szynka wiejska, szynka gotowana, szynka babuni, szynka mini;
- kiełbasy średnio rozdrobnione: śląska, śląska Premium, żywiecka, kiełbaski, kiełbaski firmowe;
- kiełbasy drobno rozdrobnione: parówki wiedeńskie, parówki pikantne, mortadela.

Wśród przetworów z mięsa drobiowego badano:

- wędzonki: szynka drobiowa, połówka z piersi indyka, połówka z piersi kurczaka, szynka w bloku foliowym o masie 815 g i 765 g;
- kiełbasy średnio rozdrobnione: krakowska, krakowska Premium, żywiecka, golonkowa z indyka;
- kiełbasy drobno rozdrobnione: parówki wiedeńskie, hot dog z kurczaka, paróweczki.

Informacje zamieszczone na etykietach badanych sortymentów obejmowały między innymi skład surowcowy i dodatki funkcjonalne. W wędzonkach i kiełbasach średnio rozdrobnionych udział mięsa wieprzowego wynosił od 80 do 89 %, a w kiełbasach drobno rozdrobnionych od 47 do 67 % oraz ok. 18 % mięsa wołowego. W wędzonkach i kiełbasach średnio rozdrobnionych drobiowych udział mięsa indyczego stanowił od 33 do 86 %, a z piersi kurczaka od 32 do 80 %, natomiast w kiełbasach drobno rozdrobnionych podano również udział mięsa drobiowego mechanicznie odkostnionego (MOM), który wynosił od 47 do 65 % (zwłaszcza w parówkach). Ponadto na etykietach zamieszczono informację dotyczącą obecności w przetworach: białka sojowego, przeciwutleniaczy, stabilizatorów, błonnika, karagenów, aromatów przyprawowych i innych.

Zakres badań przetworów z mięsa wieprzowego i drobiowego obejmował oznaczenie wartości pH, zawartości wody i tłuszczu według wymienionych Polskich Norm, barwy za pomocą aparatu Minolta CR 400 (parametry $L^*a^*b^*$), zawartości chlorku

sodu wg PN ISO 1841:2002 [14], zawartości fosforu ogólnego i w przeliczeniu na P_2O_5 wg PN-A-82060 [9]. Wykonywano również pomiary kruchości za pomocą sizerometru Warner Bratzlera (WB) wyznaczając siłę cięcia. Ocenę sensoryczną, w skali od 1 do 5 pkt przeprowadził pięciosobowy zespół kwalifikowanych sędziów Instytutu, oceniając następujące wyróżniki: wygląd ogólny, strukturę i konsystencję, barwę na przekroju, zapach, soczystość, kruchość i smakowitość.

Uzyskane wyniki opracowano statystycznie przy użyciu programu Statistica 6. Istotność różnic pomiędzy badanymi grupami weryfikowano za pomocą testu Studenta. W dyskusji wyniki odnoszono do wymagań norm, pomimo że nie są one obowiązujące.

Wyniki i dyskusja

W tab. 1. podano wyniki podstawowego składu chemicznego oraz zawartości fosforu w mięśni LD tuczników, jagniąt i mięsa drobiowego. We wszystkich grupach stwierdzono prawidłowe wartości pH, które potwierdzają, że w badanej populacji nie było tusz z mięsem ciemnym DFD. Mięśnie obu grup tuczników charakteryzowały się podobną zawartością wody, tłuszczu i białka oraz zawartością fosforu ogólnego, jako P_2O_5 (4,26 i 4,02 g/kg). Uwagę zwraca jednak stosunkowo duża zawartość fosforu w mięśniach wieprzowych obu grup, wobec dopuszczalnej, maksymalnej dawki fosforanów w przeliczeniu na P_2O_5 , która wynosi 5 g/kg według rozporządzenia Ministra Zdrowia [17]. Może to być związane z żywieniem, gdyż w składzie mieszanki Grower i Finisher zawartość fosforu wynosi średnio od 0,25 do 0,35 % [20]. W badaniach niemieckich określono naturalny (fizjologiczny) fosfor w świeżych mięśniach szynki i wyznaczono tzw. wartość liczby P [2]. Jest to stosunek zawartości fosforu do białka ogółem i zgodnie z obowiązującymi tam przepisami dopuszczalna wartość P wynosi 2,4. W przypadku 43 % przebadanych przez nich prób ($n = 120$) obliczona liczba P była większa od 2,4, co wskazuje, że zawartość fosforu w mięsie była prawdopodobnie wyższa od fizjologicznej.

Na podstawie wyników uzyskanych w niniejszej pracy obliczono również wartość liczby P, która w przypadku mięśnia LD grupy D wynosiła 1,8 a F – 1,6. Była więc korzystniejsza i nie wskazywała na dodatek fosforanów do mięsa.

Spośród analizowanych cech mięśni jagniąt stwierdzono istotne różnice między grupami tylko pod względem zawartości tłuszczu śródmięśniowego. Zawartość fosforu była podobna. Natomiast mięso wieprzowe różniło się istotnie od mięsa jagnięcego podstawowym składem chemicznym oraz poziomem fosforu. W mięśni jagnięcym stwierdzono o 0,96 % mniej tłuszczu śródmięśniowego i o 0,41 g/kg mniej P_2O_5 . Jednak mięso drobiowe charakteryzowało się statystycznie istotnie mniejszą zawartością tłuszczu śródmięśniowego, a większą białka w porównaniu z mięsem wieprzowym i jagnięcym. Ze względów żywieniowych są to obserwacje pozytywne i potwierdzają charakter dietetyczny zarówno mięsa drobiowego, jak i mięsa jagnięcego [1].

Tabela 1

Podstawowy skład chemiczny oraz zawartość fosforu w mięśni *longissimus dorsi* tusz wieprzowych i jagnięcych.

Basic chemical composition and content of phosphorus in *longissimus dorsi* muscle of pig and lamb carcasses.

Cecha / Parameter	Mięso wieprzowe Pork meat		Mięso jagnięce Lamb meat		Mięso / Meat		Mięso drobiowe Poultry meat	SEM
	D	F	I	II	wieprzowe of pork	jagnięce of lamb		
pH ₂₄	5,65	5,80	5,54	5,70	5,72	5,62	5,68 ± 0,09	0,11
Zawartość wody [%] Water content [%]	72,48	71,81	75,65	75,67	72,13A	75,66B	73,05 ± 0,61	1,07
Zawartość tłuszczu [%] Fat content [%]	3,04	2,91	2,35a	1,67b	2,97A	2,01B	0,34 C ± 0,07	0,89
Zawartość białka [%] Protein content [%]	23,48	24,30	21,03	21,70	23,91A	21,37B	25,41 C ± 0,58	1,05
Zawartość popiołu [%] Ash content [%]	1,26	1,18	1,18	1,08	1,22a	1,13b	1,19 ± 0,10	0,11
Zawartość fosforu ogólnego [g/kg] Total phosphorus content [g/kg]	1,85	1,75	1,67	1,57	1,80A	1,62B	1,74 B ± 0,13	0,15
Zawartość fosforu ogólnego jako P ₂ O ₅ [g/kg] Total phosphorus content expressed as P ₂ O ₅ [g/kg]	4,26	4,02	3,83	3,59	4,13A	3,72B	3,76 B ± 0,30	0,34

Objaśnienia: / Explanatory notes:

A, B – P ≤ 0,01; a, b – P ≤ 0,05;

D – gospodarstwo drobnotowarowe / small farm;

F – ferma wielkotowarowa / large industrial farm;

I, II – różne ośrodki hodowlane / various breeding centres;

SEM – błąd standardowy średniej arytmetycznej / standard error of the arithmetic mean.

Kolejnym badaniem objęto przetwory z mięsa wieprzowego i drobiowego. W tab. 2. przedstawiono cechy fizykochemiczne i zawartość fosforu w wędzonkach, kielbasach średnio rozdrobnionych i drobno rozdrobnionych, wyprodukowanych z mięsa wieprzowego i drobiowego. Wartości pH badanych sortymentów były prawidłowe i mieściły się w przedziale od 6,23 do 6,51. Jasność barwy przetworów drobiowych

wykazywała nieznacznie wyższe wartości, co wskazywało na jaśniejszą ich barwę w porównaniu z wyrobami z wieprzowiny, odpowiednio: $L^* = 67,65$ i $L^* = 63,65$.

W wędzoncek i kielbasach z mięsa drobiowego, w porównaniu z wieprzowym, stwierdzono istotnie mniejszą zawartość tłuszczu, a większą wody. Mniej tłuszczu było w przetworach drobiowych niż w wieprzowych, a mianowicie o 1,54 % w wędzoncek, o 9,32 % w kielbasach średnio rozdrobnionych o 7,1 % w kielbasach drobno rozdrobnionych, ogółem o około 6 %. Zawartość wody i tłuszczu ocenianych wyrobów odpowiadała wymogom normy, pomimo dużych zmienności w obrębie badanej grupy.

Wymagania zalecane w normach określają, aby zawartość soli nie przekraczała 3 % w przetworach wieprzowych [10] i 2,5 % w drobiowych [11]. W badanych sortymentach stwierdzono istotnie mniejszą zawartość chlorku sodu średnio od 2,07 do 2,70 %. Szymański i wsp. [18] w latach 2000 - 2008 stwierdzili w wędzoncek oraz w kielbasach suszonych średnio i drobno rozdrobnionych dość zróżnicowaną zawartość chlorku sodu, z tendencją do obniżenia jego poziomu.

Przetwory z mięsa drobiowego charakteryzowały się istotnie większą zawartością fosforanów w porównaniu z przetworami z mięsa wieprzowego. Fosforu ogólnego, jako P_2O_5 , w 1 kg przetworu drobiowego stwierdzono więcej: o 1,71 g niż w wędzoncek, o 0,96 g niż w kielbasach średnio rozdrobnionych, o 1,02 g niż w drobno rozdrobnionych, ogółem o 1,24 g/kg. Spośród badanych przetworów wędzonki drobiowe (5,87 g/kg) przekroczyły o 0,87 g/kg dopuszczalny (do 5 g/kg) poziom fosforu, określony w rozporządzeniu Ministra Zdrowia [17].

W minionych latach decyzją Głównego Inspektora Sanitarnego z dnia 7.05.1999 r. wielofosforany dopuszczone do stosowania w wędzoncek wieprzowych i drobiowych nie mogły przekroczyć w przeliczeniu na P_2O_5 dawki 1,5 g/kg gotowego produktu. Wówczas stosowanie wielofosforanów w produkcji kielbas było niedozwolone. Z badań Kłossowskiej [4] wynika, że w latach 1994 - 1999 zawartość fosforanów dodanych w wędzoncek wieprzowych nawet malała od 1,4 g/kg do 0,8 g/kg. Natomiast Makała i wsp. [6] stwierdzili, że w latach 2006 i 2007 średni poziom fosforu ogólnego w 16 sortymentach kielbas średnio rozdrobnionych mieścił się w przedziale od 2,2 do 6,0 g/kg. W niniejszej pracy, w tej grupie asortymentowej, w kielbasach wieprzowych zawartość fosforu, wyrażona jako P_2O_5 , określono w przedziale od 2,5 do 4,4 g/kg, a w przetworach drobiowych istotnie więcej (od 3,3 do 6,2 g/kg). Podobnie w grupie wyrobów drobno rozdrobnionych oznaczono zawartość fosforu mniejszą w kielbasach wieprzowych (2,4 do 2,8 g/kg) niż w drobiowych (2,6 do 5 g/kg). Makała i wsp. [7], w latach 2005 i 2006, w 16 próbach parówek rynkowych z udziałem mięsa wieprzowego, drobiowego i wołowego, wykazali zawartość fosforu ogólnego od 1 do 2,3 g/kg, średnio 1,8 g/kg produktu, czyli o około 1,3 g mniej niż stwierdzono w tej pracy, w kielbasach drobno rozdrobnionych.

Tabela 2

Parametry fizykochemiczne oraz zawartość fosforu w przetworach z mięsa wieprzowego i drobiowego.
Physical-chemical parameters and content of phosphorus in the processed pork and poultry meat products.

Cecha / Parameter	Wędzonki Smoked products		Kielbasy średnio rozdrobnione Medium-comminuted sausages		Kielbasy drobno rozdrobione Fine-comminuted sausages		Ogółem / Total		SEM
	wieprzowe of pork meat	drobiowe of poultry meat	wieprzowe of pork meat	drobiowe of poultry meat	wieprzowe of pork meat	drobiowe of poultry meat	wieprzowe pork meat	drobiowe poultry meat	
pH ₂₄	6,29	6,36	6,23	6,37	6,51	6,41	6,34	6,38	0,08
Barwa / Colour									
L*	64,08a	72,54b	60,27a	65,12b	66,59	65,01	63,65a	67,55b	2,78
a*	8,51a	5,21b	12,74a	8,99b	10,23	11,45	10,48a	8,55b	1,45
b*	7,69	7,70	8,21	7,66	12,97	10,39	9,60	8,58	0,73
Zawartość wody [%] Water content [%]	73,72	75,05	62,59A	71,67B	53,09A	62,03B	63,13A	69,58B	3,27
Zawartość tłuszczu [%] Fat content [%]	3,51A	1,97B	16,79A	7,47B	24,96A	17,86B	15,08A	9,10B	2,76
Zawartość chlorku sodu [%] Sodium chloride content [%]	2,42	2,56	2,35a	2,70b	2,33	2,07	2,36	2,44	0,20
Zawartość popiołu [%] Ash content [%]	3,17	3,33	2,92	3,27	2,45	2,54	2,85a	3,05b	0,34
Zawartość fosforu ogólnego [g/kg] Total phosphorus content [g/kg]	1,81	2,56	1,44	1,86	1,14	1,59	1,46	2,00	0,38
Zawartość fosforu ogólnego jako P ₂ O ₅ [g/kg] Total phosphorus content expressed as P ₂ O ₅ [g/kg]	4,16A	5,87B	3,30A	4,26B	2,62A	3,64B	3,35A	4,59B	0,62

A, B – $P \leq 0,01$; a, b – $P \leq 0,05$; SEM – błąd standardowy średniej arytmetycznej / standard error of the arithmetic mean.

Tabela 3

Wyniki oceny sensorycznej [pkt] oraz siła cięcia [N] przetworów z mięsa wieprzowego i drobiowego.
Sensory appraisal results (points) and shear force (N) in processed pork and poultry meat products.

Cecha / Parameter	Wędzonki / Smoked products		Kielbasy średnio rozrobione Medium-comminuted sausages		Kielbasy drobno rozrobione Fine-comminuted sausages		Ogółem / Total		SEM
	Wieprzowe of pork meat	drobiowe of poultry meat	wieprzowe of pork meat	drobiowe of poultry meat	wieprzowe of pork meat	drobiowe of poultry meat	wieprzowe pork meat	drobiowe poultry meat	
Wygląd ogólny General appearance	4,41	4,12	4,42	4,53	4,73a	4,29b	4,52a	4,31b	0,22
Struktura i konsystencja Structure and consistency	4,51	4,53	4,45	4,60	4,55	3,98	4,50a	4,37b	0,21
Barwa na przekroju Colour	4,32a	4,08b	4,5	4,60	4,48	4,45	4,42a	4,38b	0,15
Zapach Odour	4,41	4,23	4,49	4,61	4,29	4,18	4,40	4,34	0,18
Soczystość Juiciness	4,59a	4,27b	4,39	4,55	4,50a	4,23b	4,48a	4,35b	0,19
Kruchość Tenderness	4,86	4,67	4,62	4,85	4,69	4,72	4,72	4,75	0,13
Smakowitość Flavour	4,46A	3,48B	4,48	4,56	4,27A	3,77	4,40a	3,94b	0,23
Siła cięcia WB* Shear force	16,38A	5,23B	7,04	5,63	5,58	5,22	9,67	5,36B	1,55

Objaśnienia: / Explanatory notes:

A, B – $P \leq 0,01$; a, b – $P \leq 0,05$;

*- siła cięcia próbki o średnicy 2,54 cm / shear force of sample, its diameter being 2.54 cm;

SEM - błąd standardowy średniej arytmetycznej / standard error of the arithmetic mean.

Ważnym kryterium jakości rynkowej przetworów mięsnych są wyniki oceny sensorycznej. Wyniki uzyskane z przeprowadzonych badań zamieszczono w tab. 3. Przetwory drobiowe w porównaniu z wieprzowymi charakteryzowały się istotnie gorszą smakowitością, odpowiednio: wędzonki 3,48 i 4,46 pkt oraz kielbasy drobno rozdrobnione 3,77 i 4,27 pkt. Wysoko oceniono zapach i kruchość badanych sortymentów odpowiednio: wieprzowe 4,40 i 4,72 pkt, drobiowe 4,34 i 4,75 pkt. Zdecydowanie większą kruchością, określoną metodą szerometryczną, charakteryzowały się przetwory drobiowe (siła cięcia od 5,22 do 5,63 N) niż wieprzowe 5,58 N (drobno rozdrobnione) do 16,38 N (wędzonki).

Przedstawione wyniki badań składu chemicznego i oceny sensorycznej sortymentów rynkowych wykazały dość znaczne zróżnicowanie jakości wyrobów wykonanych z surowca zróżnicowanego pod względem pochodzenia gatunkowego. Różnice te wynikają prawdopodobnie ze składu recepturowego ocenianych wyrobów tj. dużej różnorodności użytych do produkcji surowców oraz rodzaju i poziomu zastosowanych dodatków funkcjonalnych

Wnioski

1. Potwierdzono statystycznie istotne różnice pomiędzy mięsem wieprzowym, jagnięcym i drobiowym pod względem podstawowego składu chemicznego i zawartości fosforu. Zawartość tłuszczu śródmięśniowego wynosiła odpowiednio: 2,97, 2,01 i 0,34 %, natomiast zawartość fosforu ogólnego P_2O_5 odpowiednio: 4,13, 3,72 i 3,76 g/kg. Znaczna zawartość P_2O_5 w mięsie powinna być uwzględniana w wielkości nastrzyku polifosforanów podczas produkcji przetworów mięsnych.
2. W przetworach z mięsa drobiowego, w porównaniu z wieprzowym, stwierdzono istotnie mniejszą, średnio o ok. 6 %, zawartość tłuszczu, a większą o 1,24 g/kg fosforu jako P_2O_5 , przy czym w grupach asortymentowych odpowiednio mniej w wędzonymach o 1,54 % i 1,71 g/kg, kielbasach średnio rozdrobnionych: o 9,32 % i o 0,96 g/kg, kielbasach drobno rozdrobnionych o 7,1 % i o 1,02 g/kg.
3. Oceniane przetwory charakteryzowały się mniejszą zawartością wody, tłuszczu i soli (chlorku sodowego) od zalecanych w normach dla wędlin drobiowych i wieprzowych.
4. Jakość sensoryczna ocenianych przetworów wieprzowych i drobiowych była dość zróżnicowana. Wyżej oceniono wędzonki i kielbasy z mięsa wieprzowego (4,4 do 4,7 pkt). Niżej natomiast oceniono smakowitość wędzonek drobiowych (3,48 pkt) i kielbas średnio rozdrobnionych (3,77 pkt).

Literatura

- [1] Borys B., Jarzynowska A., Borys A.: Jakość zdrowotna mięsa lekkich jagniąt rzeźnych w zależności od wieku i genotypu. Zesz. Nauk. Przegł. Hod., 2003, **68**, 3, 63-71.
- [2] Erdmann R., Binke R., Wilke M.J.T.: Die P-Zahl-eine Status-quo-Analyse. Fleischwirtschaft, 2006, **2**, 29-30.
- [3] Gwiazda S., Pisula A.: Prozdrowotne tendencje w przetwórstwie mięsa. Gosp. Mięś., 2006, **2**, 12-18.
- [4] Kłossowska B.M.: Zmiany zawartości soli, azotynów i azotanów oraz fosforanów w wybranych krajowych produktach mięsnych w latach 1994-1999. Roczn. Inst. Przem. Mięś. Tłuszcz., 1999, **36**, 179-190.
- [5] Makala H., Olkiewicz M., Cichy B., Folek S., Kern-Jędrzychowski J., Moch P.: Tekstura blokowych przetworów z mięsa drobiowego z dodatkiem preparatów fosforanowych. Roczn. Inst. Przem. Mięś. Tłuszcz., 2008, **46**, 91-106.
- [6] Makala H., Tyszkiewicz S., Wawrzyniewicz M.: Jakość popularnych kielbas średnio rozdrobnionych. Roczn. Inst. Przem. Mięś. Tłuszcz., 2007, **45**, 133-145.
- [7] Makala M., Tyszkiewicz S., Wawrzyniewicz M.: Charakterystyka parówek rynkowych przetworów mięsnych. Gosp. Mięś., 2006, **8**, 20-26.
- [8] PN-75-A-04018. Produkty rolno-spożywcze. Oznaczanie zawartości azotu metodą Kjeldahla i przeliczanie na białko.
- [9] PN-A 820060:1999. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości fosforu.
- [10] PN-A 82007:1996. Przetwory mięsne. Wędliny.
- [11] PN-A-86526:1995. Produkty drobiarskie. Wędliny drobiowe.
- [12] PN-ISO 1442:2000. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości wody.
- [13] PN-ISO 1444:2000. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości tłuszczu.
- [14] PN-ISO 1841:2002. Oznaczanie zawartości chlorków.
- [15] PN-ISO 936: Oznaczanie popiołu całkowitego.
- [16] Pyrcz J., Kowalski R.: Rola substancji dodatkowych stosowanych w przetwórstwie mięsnym. Gosp. Mięś., 2005, **11**, 16-20.
- [17] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 27 grudnia 2000 r. w sprawie wykazu dopuszczalnych ilości substancji dodatkowych i innych substancji obcych do środków spożywczych (z późn. zm.). Dz. U., 2001. Nr 9, poz. 488.
- [18] Szymański P., Wawrzyniewicz M., Moch P., Płaskota A., Kern-Jędrzychowski J.: Tendencje zmian jakościowych wybranych kielbas suszonych i wędzonek obserwowane w latach 2000-2008 na podstawie wyników badań chemicznych produktów zgłaszanych na konkurs „Produkty najwyższej jakości w przemyśle mięsnym”. Roczn. Inst. Przem. Mięś. Tłuszcz., 2009, **47**, 116-133.
- [19] Szymański P.: Opracowanie nowych przetworów mięsnych z uwzględnieniem poprawy ich zdrowotności. Roczn. Inst. Przem. Mięś. Tłuszcz., 2006, **44**, 93-102.
- [20] Wajda S., Daszkiewicz T., Borzuta K., Grześkowiak E.: Carcass traits, meat quality and fatty acid profile of backfat in fatteners fed diet supplemented with the APC premix. Animal Sci. Papers Rep., 2004, **22**, Suppl. 3, 211-217.

ASSESSMENT OF PHOSPHORUS CONTENT AND QUALITY OF MEAT & PROCESSED MEAT PRODUCTS AVAILABLE IN THE POLISH MARKET

S u m m a r y

The objective of the paper was to determine the total content of phosphorus and to assess the quality attributes of LD muscle in fatteners and lambs, processed pork products, and processed poultry products available in the Polish market. In the 24 products comprising smoked meats, and medium- and fine-comminuted sausages, the following parameters were determined: pH, colour ($L^*a^*b^*$), content of water, fat, sodium chloride, ash, and total phosphorus expressed as P_2O_5 . Moreover, a sensory appraisal was conducted using a 1 to 5 point rating scale; the appraisal covered: overall appearance, odour, juiciness, tenderness, and flavour. The content of fat determined in the pork meat was significantly higher than in the lamb meat (2.97 and 2.01 %, respectively), as were the content of protein (23.91 and 21.37 %) and of total phosphorus (4.13 and 3.72 g/kg, respectively). In the processed poultry meats, a lower fat content was found compared to the pork meats; as for the smoked meats, it was 1.97 and 3.51 %, respectively; as for the medium-comminuted sausages, it was 7.47 and 16.79 %, and as for the fine-comminuted sausages: 17.86 and 24.96 %, respectively. Moreover, in the processed poultry meats, a higher content of total P_2O_5 phosphorus was found compared to the processed pork meats, i.e. 4.59 and 3.35 g/kg, respectively. The sensory quality of the processed meats analyzed was quite diversified, particularly regarding the poultry products. The pork products were higher rated, and their scores ranged from 4.2 to 4.7 points. The smoked poultry products were characterized by a worse flavour (3.48 points) as were the fine-comminuted sausages (3.77 points). The processed pork and poultry meats assessed were characterized by a lower content of water, fat, and sodium chloride compared to the level as specified in the Polish norms PN-A-82007 and PN-A-86526, and, from a nutritional point of view, this fact may be considered as an advantageous tendency. The level of P_2O_5 phosphorus in the processed meats analyzed did not exceed the admissible amount of 5 g/kg (except for the smoked poultry products). Still, this level should be regarded as relatively high, and the more so as it is recommended to apply the amounts of phosphorus expressed as P_2O_5 between 3.0 and 3.5 g/kg.

Key words: meat, pork and poultry products, phosphorus, physical-chemical sensory attributes ☒

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 28 lutego 2011 r.

1. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dn. 23 grudnia 2010 r. w sprawie specyfikacji i kryteriów czystości substancji dodatkowych (Dz. U. 2011 r. Nr 2, poz. 3).

Załącznik do rozporządzenia zawiera specyfikacje i kryteria czystości substancji dodatkowych, tj.: substancji słodzących, barwników i dozwolonych substancji dodatkowych innych niż substancje słodzące i barwniki.

2. Ustawa z dn. 5 grudnia 2008 r. o organizacji rynku rybnego (Dz. U. 2011 r. Nr 34, poz. 168).

W ustawie zostały określone:

- zadania i właściwość organów i jednostek organizacyjnych w zakresie organizacji rynku rybnego,
- wymagania dotyczące wprowadzania do obrotu produktów rybnych,
- tryb uznawania i zasady funkcjonowania organizacji producentów i ich związków oraz organizacji międzybranżowych,
- tryb i formy wykonywania kontroli w zakresie organizacji rynku rybnego,
- zasady przyznawania pomocy finansowej organizacjom producentów,
- właściwość organów w zakresie realizacji obowiązków informacyjnych i sprawozdawczych państwa członkowskiego dotyczących organizacji rynku rybnego.

3. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 23 grudnia 2011 r. w sprawie krajowych laboratoriów referencyjnych (Dz. U. 2011 r. Nr 8, poz. 38).

Rozporządzenie zawiera wykaz:

- 12 krajowych laboratoriów referencyjnych, o których mowa w art. 33 ust. 1 rozporządzenia (WE) nr 882/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r. w sprawie kontroli urzędowych przeprowadzanych w celu sprawdzenia zgodności z prawem paszowym i żywnościowym oraz regułami dotyczącymi zdrowia zwierząt i dobrostanu zwierząt, właściwe dla badań prowadzonych w kierunku rozpoznawania chorób zakaźnych zwierząt oraz chorób odzwierzęcych,
 - 4 krajowych laboratoriów referencyjnych, o których mowa w art. 33 ust. 1 rozporządzenia (WE) nr 882/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r. W sprawie kontroli urzędowych przeprowadzanych w celu sprawdzenia zgodności z prawem paszowym i żywnościowym oraz regułami dotyczącymi zdrowia zwierząt i dobrostanu zwierząt, właściwe dla badań produktów pochodzenia zwierzęcego lub pasz.
4. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dn. 12 stycznia 2011 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie opłat za czynności wykonywane przez organy Państwowej Inspekcji Sanitarnej w ramach urzędowych kontroli żywności (Dz. U. 2011 r. Nr 18, poz. 45).
- Załącznik do rozporządzenia zawiera stawki opłat za wykonanie badań laboratoryjnych (badań fizykochemicznych i badań mikrobiologicznych) pobranych próbek środków spożywczych lub materiałów i wyrobów przeznaczonych do kontaktu z żywnością w ramach urzędowej kontroli żywności. ☒

HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA

INTERAKCJE SKŁADNIKÓW ŻYWNOŚCI

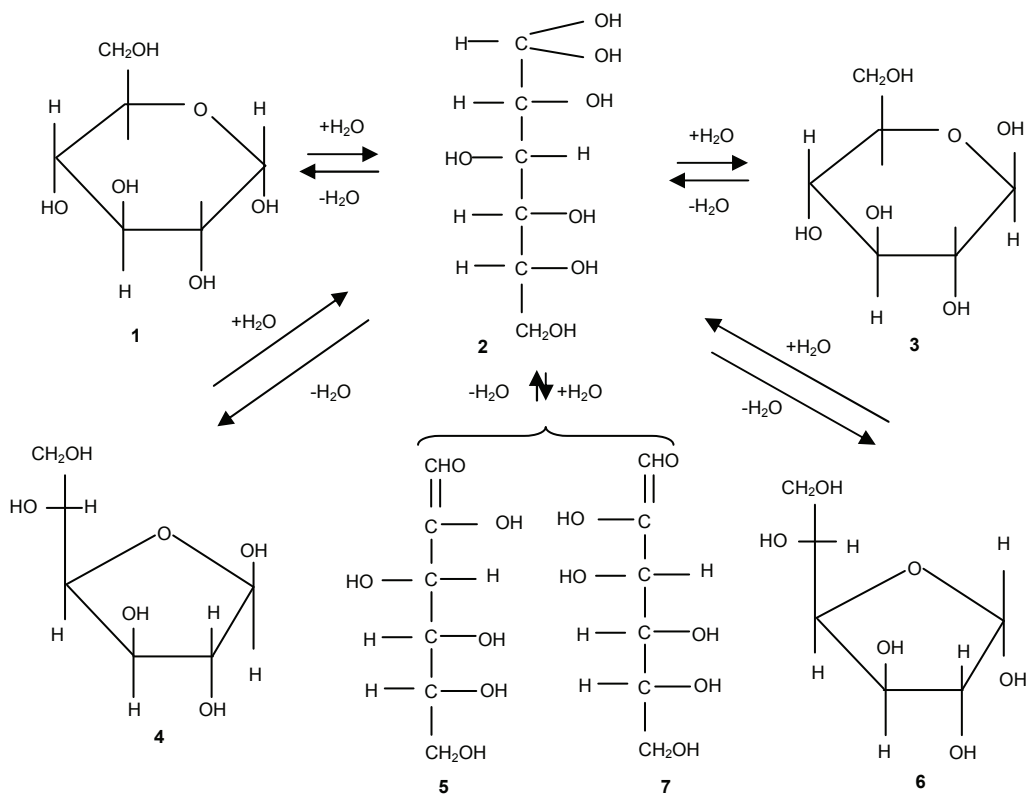
Prezentujemy 2. część cyklu nt.: „Interakcje składników żywności”. Druk materiałów z tego cyklu rozpoczęliśmy w *Żywności* nr 1 (74), 2011.

Pytanie: dlaczego glukoza jest najpowszechniej występującym naturalnym monosacharydem?

W poprzednim artykule stwierdzono, że uprzywilejowana jest zwykle ta konformacja monosacharydu, w której oddziaływania między podstawnikami są najmniejsze. Rzeczywiście w D-glukozie większe podstawniki atomów węgla (grupy -OH) pierścienia ułożone są naprzemianlegle. Jedynym wyjątkiem jest anomeryczny atom węgla glukozy, gdzie grupa hydroksylowa (-OH) może być ułożona aksjalnie (równikowo) w anomerze α lub ekwatorialnie w anomerze β . Energia oddziaływania związana z obecnością aksjalnej grupy -OH przy drugim węglu (C-2) pierścienia piranozowego glukozy wynosi 4,18 kJ/mol, natomiast w przypadku położenia jej w pozycji ekwatorialnej wynosi 2,3 kJ/mol. Wynika z tego, że bardziej stabilną strukturą charakteryzuje się β -glukoza, ponieważ oddziaływania między grupami -OH związanymi z węglem anomerycznym są mniejsze. To tłumaczy również zmienne procentowe ilości formy α - i β -glukozy w roztworze wodnym w stanie równowagi, wynoszące odpowiednio 35,5 i 64,5 %. Ocenia się, że formy aldehydowej glukozy z otwartym łańcuchem węglowym jest w tym roztworze ok. 0,003 %. Stabilność struktury glukozy zależy nie tylko od konformacji grup funkcyjnych, ale również od środowiska. Glukoza w środowisku wodnym tworzy hydrat, w wyniku przyłączenia cząsteczki wody do grupy aldehydowej. Zmiana pH środowiska powoduje powstawanie różnych struktur glukozy. Jest to o tyle interesujące, że przewód pokarmowy człowieka funkcjonuje w trzech różnych środowiskach pH: obojętnym (jama ustna), kwaśnym (żołądek) i zasadowym

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

(jelita). W środowisku pH obojętnego glukoza występuje głównie w piranozowej formie cyklicznej. W środowisku pH kwaśnego hydrat glukozy tracąc cząsteczkę wody przechodzi w formę α - i β -glukofuranozową. Przyczyną tej reakcji jest protonizacja grupy hydroksylowej przy C1 glukozy protonem uwolnionym z grupy -OH przy C4, co w efekcie powoduje oderwanie się cząsteczki wody od uwodnionej glukozy i utworzenie cyklicznej furanozowej jej formy. W środowisku zasadowym nukleofilowa grupa -OH ułatwia oderwanie protonu od węgla C2 glukozy i powstanie konfiguracji endiolowej. Konfiguracja ta może występować w formie cis i trans, co umożliwi wzajemne przechodzenie w siebie tautomerycznych form cukrów prostych. Dowodem na to jest obecność fruktozy i mannozy w zasadowym roztworze glukozy (rys. 1).



(1) – α -D-glukopiranoza, (2) – glukoza uwodniona, (3) – β -D-glukopiranoza, (4) – α -D-glukofuranaza, (5) – cis-endiolowa konfiguracja glukozy, (6) – β -D-glukofuranaza, (7) – trans-endiolowa konfiguracja glukozy

Rys. 1. Formy strukturalne glukozy występujące w różnych warunkach pH środowiska.

*Opracowanie rysunku: Mirosław Obrębski

Podsumowując powyższe informacje można stwierdzić, że glukoza może występować w różnych formach konformacyjnych, zarówno liniowych, jak i cyklicznych. W zachowaniu równowagi pomiędzy tymi formami istotną rolę odgrywa pH środowiska. W jakim stopniu konformacja glukozy wpływa na jej reaktywność będzie tematem kolejnego odcinka. ☒

**POLSKIE TOWARZYSTWO
TECNOLOGÓW ŻYWNOŚCI
ODDZIAŁ MAŁOPOLSKI**

**WYDZIAŁ
TECNOLOGII ŻYWNOŚCI
UNIwersYTETU ROLNICZEGO
IM. HUGONA KOLLĄTAJA
W KRAKOWIE**

KOMITET NAUK O ŻYWNOŚCI PAN

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

ŻYWNOŚĆ PROJEKTOWANA

Kraków, 22-23 WRZEŚNIA 2011

Kontakt:

Konferencja Naukowa
„Żywność projektowana”
Wydział Technologii Żywności
Uniwersytet Rolniczy w Krakowie
30-149 Kraków, ul. Balicka 122, p. 0.97
Tel: (012) 662 48 05, Fax: (012) 662 48 10
Dr inż. Maria Walczyka
e-mail: mwalczycka@ar.krakow.pl



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

ul. Norwida 25, 50-375 Wrocław

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

Szanowni Państwo,

Uprzejmie informujemy, że Katedra Technologii Surowców Zwierzęcych i Zarządzania Jakością Wydziału Nauk o Żywności Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu wraz z Wrocławskim Oddziałem PTTŻ organizuje:

V Międzynarodową Konferencję z cyklu:

"QUALITY AND SAFETY IN FOOD PRODUCTION CHAIN"

**„JAKOŚĆ I BEZPIECZEŃSTWO ZDROWOTNE W ŁAŃCUCHU PRODUKCJI
ŻYWNOCI"**

Konferencja odbędzie się we Wrocławiu w dniach **19-20 września 2011 r.**

Tematyka Konferencji

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

W konferencji weźmie udział wielu wybitnych specjalistów z kraju oraz zagranicy, którzy wygłoszą referaty plenarne (językiem wykładowym będzie język angielski).

Streszczenia prac będą wydane przez Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu w formie zwartej, natomiast pełne teksty po recenzji w formie monografii.

Oplata za uczestnictwo w konferencji wynosi 700 zł (ulgowo dla studentów i doktorantów 600 zł), w tym koszty materiałów konferencyjnych i monografii, wyżywienie, bankiet. Oplata nie obejmuje kosztów dojazdu i noclegu.

Wypełniony formularz zgłoszeniowy wraz ze streszczeniem w języku angielskim prosimy przesłać do dnia **31 marca 2011r.**, natomiast opłatę konferencyjną oraz pełne teksty artykułów (8 - 12 stron maszynopisu) nie później niż do dnia **31 maja 2011r.** Oplatę należy wpłacać na konto Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu nr 62 1020 5242 0000 2102 0029 2045 „**FOOD SAFETY**” **nazwisko i imię.**

Szczegółowe informacje dostępne są na stronie internetowej <http://wnoz.up.wroc.pl/wnoz/ktsz>

Adres do korespondencji:

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Nauk o Żywności, Katedra Technologii Surowców Zwierzęcych i Zarządzania Jakością; ul. C.K. Norwida 25; 50-375 Wrocław; tel./fax 071 3205140; e-mail: ktsz@wnoz.up.wroc.pl [www.up.wroc.pl](http://wnoz.up.wroc.pl), <http://wnoz.up.wroc.pl/wnoz/ktsz>

Serdecznie zapraszamy

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

Przewodniczący Komitetu Organizacyjnego
Prof. dr hab. Tadeusz Trziszka

NOWE KSIĄŻKI

Probiotyki w żywności

Kołożyn-Krajewska D., Dolatowski Z.J. (red.)

Wydawnictwo: Wyd. Nauk. PTTŻ, Kraków 2010, ISBN 978-83-929209-9-1, stron 287, Cena 40,00 zł

Zamówienia: www.pttz.org

Bakterie kwasu mlekowego (LAB – ang. Lactic Acid Bacteria), które wykazują właściwości prozdrowotne, określane są mianem probiotyków. W ostatnich latach obserwuje się bardzo intensywny rozwój prac nad technologią produkcji nowych rodzajów żywności fermentowanej, zawierającej bakterie probiotyczne (zarówno pochodzenia zwierzęcego, jak i roślinnego). Równoległe ze wzrastającą produkcją żywności probiotycznej podejmowane są wieloaspektowe badania nad probiotykami.

Książka składa się z 4 rozdziałów. W pierwszym omówiono zagadnienia bezpieczeństwa stosowania probiotyków oraz aspekty prawne związane z ich obecnością w żywności. W rozdziale drugim omówiono możliwość zastosowania 8 szczepów bakterii probiotycznych do produkcji wędlin surowo dojrzewających. Badania, do których odnoszą się autorzy stanowią próbę wypełnienia niszy w tym zakresie, ponieważ szczepy probiotyczne stosowane są głównie do fermentowanych produktów mlecznych lub roślinnych. W trzecim rozdziale opisano roślinne produkty probiotyczne (w tym fermentowany sok marchwiowy, sojowy oraz sorbety z dyni). Natomiast w czwartym przedstawiono mleczne produkty probiotyczne wytwarzane z mleka różnych gatunków ssaków.

Książka skierowana jest do pracowników nauki oraz studentów uczelni wyższych studiujących na kierunkach: technologia żywności, żywienie człowieka oraz towaroznawstwo.

Analiza żywności. Wybrane metody oznaczeń jakościowych i ilościowych składników żywności

Nogała-Kałużka Małgorzata (red.)

Wydawnictwo: UP Poznań 2010, ISBN 978-83-7160-575-8, stron 126, cena 28,00 zł

Zamówienia: www.wydawnictwosggw.pl

Analiza żywności jest rozwijającą się dziedziną nauki, która zajmuje się badaniem związków chemicznych surowców roślinnych i zwierzęcych oraz gotowych produktów spożywczych, a także zmianami tych składników podczas procesów technologicznych i przechowywania. Znajomość zasad stosowanych metod i postępowania analitycznego jest niezbędna dla przyszłej kadry pracowników laboratoriów przemysłu spożywczego oraz wszystkich, którzy w badaniach posługują się metodami z zakresu analizy żywności.

Intencją autorów opracowania było przedstawienie zarówno metod konwencjonalnych, najczęściej wykorzystywanych w analizie ilościowo-jakościowej podstawowych składników żywności, jak również nowoczesnych metod bazujących na najnowszej aparaturze pomiarowej. Książka skierowana jest do studentów uczelni wyższych na kierunkach: technologia żywności, żywienie człowieka oraz towaroznawstwo, jak również tych osób, którzy w praktyce zajmują się analizą żywności.

Projektowanie procesów technologicznych w przemyśle spożywczym

Gąsiorek E.

Wydawnictwo: UE Wrocław 2011, ISBN 978-83-7695-059-4, stron 99, cena 16,15 zł

Zamówienia: www.ksiegarnia-ue.pl

Celem publikacji jest przedstawienie technik i zasad wykonania projektu procesu technologicznego dowolnego wyrobu przemysłu spożywczego. Podręcznik może być wykorzystany jako pomoc dydaktyczna na zajęciach z zakresu projektowania inżynierskiego i technologicznego w przemyśle spożywczym.

Książka jest przeznaczona dla studentów specjalności inżynieria produktów żywnościowych, od których oczekuje się umiejętności organizowania prac badawczych i rozwojowych, a zwłaszcza projektowania oraz wdrażania innowacji technologicznych i organizacyjnych w produkcji żywności.

Współczesna margaryna. Aspekty technologiczne i żywieniowe

Krygier K.

Wydawnictwo: WNT, Warszawa 2010, ISBN 978-83-204-3699-0, stron 168, cena 42,75 zł

Zamówienia: www.ksiegarnia-ue.pl

Margaryna jest produktem spożywczym należącym do tłuszczów jadalnych. Jest to emulsja tłuszczowo-wodna wytwarzana poprzez katalityczne uwodornienie płynnych olejów roślinnych (rzepakowego, sojowego, palmowego, arachidowego i innych). Jako

półsyntetyczny produkt pochodzenia roślinnego nie zawiera cholesterolu, ale może zawierać szkodliwe tłuszcze trans. W zależności od składu ma konsystencję miękką (dostępna w handlu w pojemnikach z tworzyw sztucznych) lub twardą (sprzedawana w kostkach).

W książce omówiono zagadnienia dotyczące surowców używanych do produkcji margaryny w aspekcie składu chemicznego, jakości sensorycznej i zdrowotnej, w tym wartości odżywczej. Książka składa się z siedmiu rozdziałów. W rozdziale pierwszym zawarto podstawowe informacje dotyczące tłuszczów. Rozdział drugi poświęcono historii margaryny. W rozdziale trzecim podano definicję margaryny oraz aktualne przepisy prawne. W rozdziale czwartym omówiono składniki stosowane do produkcji margaryny. W rozdziale piątym przedstawiono technologię produkcji margaryny oraz jej poszczególne etapy. W szóstym scharakteryzowano różne typy margaryn. Natomiast rozdział siódmy poświęcono zagadnieniom wartości odżywczej margaryn.

Książka skierowana jest do studentów uczelni wyższych na kierunkach: technologia żywności, żywienie człowieka, towaroznawstwo i innych pokrewnych z obszaru nauk o żywności, jak i dla wszystkich zainteresowanych zagadnieniami dotyczącymi aspektów technologicznych oraz żywieniowych margaryny.

Opracowała: *Anna Gręda*

**JUBILEUSZ 80-LECIA URODZIN
PROF. DR HAB. ZDZISŁAWA EDMUNDA SIKORSKIEGO***



Zdzisław Sikorski, „Skorpion”, urodził się w Wilnie w 1930 roku. Od 1933 roku mieszkał w Toruniu, gdzie spędził lata szkolne. Maturę zdał w roku 1950 r. w Liceum im. Mikołaja Kopernika, uzyskując dyplom uprawniający do przyjęcia na wyższe uczelnie bez egzaminu wstępnego. Profesor Sikorski wybrał Wydział Agrotechniczny Politechniki Gdańskiej, a po jego rozwiązaniu studiował na Wydziale Chemicznym (1951 - 1956). W roku 1954 uzyskał asystenturę u profesora Damazego J. Tilgnera w Katedrze Technologii Zwierzęcych Produktów Spożywczych. W tym czasie zespół Katedry zajmował się wędzarnictwem. Powstawała wówczas świadomość zagrożeń wynikających z obecności rakotwórczych węglowodorów w dymie oraz konieczności unowocześnienia wędzenia, zarówno technologii, jak i urządzeń. Asystenci prof. Tilgnera nauczyli się wiele od bardziej doświadczonego, starszego kolegi Michała Pietrzyka, rolnika z wykształcenia, absolwenta UJ. Ówczesny młody zespół to: Nina Baryłko-Pikielna, później współtwórczyni polskiej szkoły analizy sensorycznej, Henryk Daun, obecnie profesor w Rutgers University w USA, Antoni Makowiecki, późniejszy wieloletni dyrektor Okręgowego Przedsiębiorstwa Przemysłu Mięsnego w Gdańsku, Kazimierz Miler, później dyrektor Instytutu Przemysłu Mięsnego w Warszawie i docent w Akademii Rolniczej w Szczecinie, Zenon Ziemia, który stał się autorytetem w zakresie technologii konserw, autorem pierwszego, polskiego podręcznika akademickiego do tego przedmiotu oraz Halina Zimińska, która stworzyła podstawy racjonalnego wykorzystania surowców ubocznych przemysłu rybnego.

W tym zespole Zdzisław Sikorski uzyskał w roku 1956 tytuł mgr inż. chemii, a następnie stopień doktora nauk technicznych mając lat 30, docenta habilitowanego po pięciu latach, a tytuł profesora nadzwyczajnego i zwyczajnego nauk technicznych od-

* Niniejszy tekst jest przedrukiem, z niewielkimi skrótami, z Pisma Politechniki Gdańskiej.

powiednio w latach 1973 i 1980. Zdzisław Sikorski uzupełniał swoją wiedzę z zakresu technologii żywności praktykami w browarach w Okocimiu i Dortmundzie, w przemyśle rybnym w Szczecinie, Gdyni, Hamburgu-Altonie i na trawlerze rybackim na Morzu Północnym, w zakładach mięsnych w Gdańsku i w zamrażalni owoców i warzyw w Wiesloch koło Heidelberga. Temu samemu celowi służyły również krótkotrwałe staże w Universität Rostock i Technische Universität Dresden, Leningradzkim Technologicznym Instytucie Przemysłu Chłodniczego, Odesskim Instytucie Technologicznym oraz Astrachańskim Technologicznym Instytucie Przemysłu Rybnego, w firmie Laitram w Marblehead, Mass. USA, w Bundesforschungsanstalt für Ernährung, Karlsruhe i Bundesanstalt für Fleischforschung, Kulmbach. W czasie półrocznych i rocznych pobytów zagranicznych Profesor Sikorski pracował w: Ohio State University w Columbus (Ohio, USA), CSIRO w Hobart (Australia), w Mount Albert Research Centre w Auckland (Nowa Zelandia) i w National Taiwan Ocean University w Keelung (Taiwan).

Początkowo Zdzisław Sikorski opracował pod kierunkiem D. J. Tilgnera technologię oraz urządzenia w skali przemysłowej do elektrostatycznego wędzenia oraz uczestniczył w badaniach składu i przeciwutleniających właściwości dymu wędzarniczego, stosując m.in. nową wówczas technikę – chromatografię gazową; uzyskane w tej dziedzinie doświadczenie spożytkował pisząc 2 pierwsze, polskie książki dot. chromatografii gazowej.

W Katedrze Biochemii Rolniczej w Uniwersytecie Stanowym Ohio w USA Zdzisław Sikorski pracował z prof. F. E. Deatherage nad biochemicznymi przemianami w mięsie. Później, w PG opracował ze swoim zespołem modyfikacje technologii wytwarzania rybnych preparatów białkowych, elementy technologii przetwarzania kryła oraz otrzymywania chityny i chitozanu, metody osadzania enzymów na nośniku chitynowym, modyfikowanie reologicznych właściwości preparatów kolagenowych i farszów mięsnych oraz odzyskiwanie białek z odcieków produkcyjnych i z mniej wartościowych surowców mięsnych; wyjaśnił niektóre przyczyny zamrażalniczej denaturacji białek ryb i zaproponował sposoby zapobiegania im. Zbadał możliwości wykorzystania surowców pochodzenia morskiego do wytwarzania preparatów enzymatycznych i hydrolizatów do celów biotechnologicznych. W ramach tej tematyki kilkanaście osób uzyskało pod promotorstwem Profesora Sikorskiego doktorat, w tym obecni profesorowie: Piotr Bykowski, Ilona Kołodziejaska, Marian Naczka, Krystyna Palka, Maria Sadowska i Józef Synowiecki.

W dorobku naukowym Profesora Sikorskiego jest około 210 artykułów, które opublikował w większości ze swymi współpracownikami, m.in. w *J. of Food Science*, *J. of Food Biochemistry*, *J. of Texture Studies*, *Food Chemistry*, *Biotechnology and Bioengineering* i w *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*.

Profesor Zdzisław Sikorski jest autorem wielu podręczników akademickich, w tym inicjatorem, współautorem i redaktorem „Chemii żywności” (Z. Sikorski, B. Drozdowski, B. Samotus i M. Pałasiński, PWN, 1988) oraz podręcznika Chemia żywności, WNT, 5 wydań. Duży oddźwięk w Polsce zdobyła „Technologia żywności pochodzenia morskiego” (WNT, 3 wydania) przetłumaczona na język rosyjski, która służyła wielu pokoleniom technologów w polskim przemyśle rybnym i w znakomity sposób przyczyniła się do osiągnięcia przez ten przemysł obecnego, wysokiego poziomu. Od lat Profesor Sikorski współpracuje z amerykańskim wydawnictwem CRC, w którym w roku 1990 opublikował książkę „Seafood: Resources, Nutritional Composition, and Preservation”, przetłumaczoną po czterech latach na język hiszpański. Następnie zainicjował i redaguje serię Chemical and Functional Properties of Food Components, w której ukazało się 11 tytułów, niektóre w kilku wydaniach. W redagowaniu książek z tej serii uczestniczyło kilku polskich uczonych, a wśród autorów rozdziałów jest ich kilkudziesięciu. Najnowsze dwie pozycje w tej serii, z roku 2010, to: “Chemical, Biological, and Functional Aspects of Food Lipids”, eds. Z. E. Sikorski, Anna Kołakowska, oraz “Environmental Effects on Seafood Availability, Safety and Quality”, eds. E. G. Dackowska-Kozon, Bonnie Sun Pan. Ogółem Profesor Sikorski opublikował do roku 2010, jako autor lub redaktor naukowy, 18 książek i 13 rozdziałów w książkach innych redaktorów.

W 1965 r. Zdzisław Sikorski został kierownikiem Katedry Technologii Ryb, a w latach 1969 - 2001 był kierownikiem Zakładu Technologii Utrwalania Żywności i Mikrobiologii Technicznej, przemianowanego następnie na Katedrę Technologii Utrwalania Żywności, później na Katedrę Chemii i Technologii Żywności. Pełnił też funkcję prodziekana (1966 - 1969) i dziekana Wydziału Chemicznego (1973 - 1975, 1978 - 1981) oraz uczestniczył w licznych komisjach wydziałowych i uczelnianych. Był współinicjatorem powołania na Wydziale Chemicznym kierunku studiów „Biotechnologia”, organizatorem i kierownikiem kierunku dyplomowania "Technologia utrwalania żywności" na studiach magisterskich oraz kierunku "Technologia i analiza żywności" na studiach inżynierskich; autorem licznych ramowych programów oraz wykładowcą kilku przedmiotów. Wiedzę i doświadczenie przekazywał Profesor kilku pokoleniom studentów i młodym pracownikom nauki. Potrafił zainspirować młodzież do samodzielnej nauki, do rozwiązywania problemów zarówno naukowych, jak i praktycznych. Jego działalność, wyróżniająca się zawsze najwyższym poziomem merytorycznym oraz rzetelnością i odpowiedzialnością sprawiła, że zyskał uznanie wśród współpracowników i wychowanków. Są wśród nich profesorowie, pracownicy instytutów naukowych, kierownicy laboratoriów, organów kontrolnych. Pracują w szkolnictwie i różnych gałęziach przemysłu żywnościowego.

Profesor Zdzisław Sikorski miał duży wpływ na rozwój środowiska technologów żywności w Polsce, pracując od 1969 w Komitecie Technologii i Chemii Żywności

PAN (jako przewodniczący w latach 1996 - 2003), w Polskim Towarzystwie Technologów Żywności – był członkiem-założycielem, wiceprezesem Zarządu Głównego (1991 - 1994), prezesem Zarządu Gdańskiego Oddziału (1994 - 1997), od 2003 jest członkiem honorowym. Jest także członkiem Polskiego Towarzystwa Chemicznego. Uczestniczył w radach naukowych kilku instytutów, w tym Instytutu Przemysłu Mięsnego oraz Morskiego Instytutu Rybackiego (1971 - 2003), gdzie przez 3 kadencje był przewodniczącym Rady. W okresie 1977 - 1988 był członkiem Rady Głównej Nauki i Szkolnictwa Wyższego. Profesor Sikorski uczestniczy też w pracach krajowych i zagranicznych rad programowych czasopism związanych z nauką o żywności, w tym czasopisma *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*.

Z inicjatywy prof. Edwarda Kołakowskiego został Profesor Zdzisław Sikorski w roku 1997 uhonorowany przez Akademię Rolniczą w Szczecinie tytułem i godnością doktora *honoris causa*, a w 2003 roku, na wniosek prof. Antoniego Rutkowskiego, został wybrany do International Academy of Food Science and Technology. Na wniosek Rady Wydziału Chemicznego został odznaczony Krzyżem Kawalerskim, Oficerskim i Komandorskim Orderu Odrodzenia Polski oraz Medalem Komisji Edukacji Narodowej. Morski Instytut Rybacki wyróżnił Go medalem im. Profesora Kazimierza Demela.

Profesor Zdzisław Sikorski swą znakomitą formą fizyczną i intelektualną dowodzi, że wiedza o żywności i jej praktyczne wykorzystanie oraz nadzwyczaj intensywna praca to najlepszy sposób na utrzymanie młodości przez 80 lat.

Szanownemu, ciągle młodemu Jubilatowi, w imieniu Jego uczniów i środowiska technologów żywności dziękujemy za dotychczasową działalność i życzymy jeszcze wielu lat aktywności w dobrej kondycji.

*Prof. dr hab. inż. Ilona Kołodziejska, prof. dr hab. inż. Maria Sadowska
Katedra Chemii, Technologii i Biotechnologii Żywności
Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska*

TECHNOLOG ŻYWNOŚCI

INFORMATOR POLSKIEGO TOWARZYSTWA TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI

Rok 21 Nr 2

kwiecień 2011

DZIAŁALNOŚĆ TOWARZYSTWA

Zarząd Główny

W dniu 30 marca br. odbyło się posiedzenie ZG PTTŻ, na którym przedstawione zostało sprawozdanie z działalności Towarzystwa w 2010 r. Działalność Towarzystwa została pozytywnie oceniona przez Główną Komisję Rewizyjną. Zarząd Główny podjął stosowne uchwały dotyczące działalności Towarzystwa w roku ubiegłym.

Podczas zebrania przedstawiono także plany działania ZG, Oddziałów i Sekcji w roku bieżącym.

WAŻNIEJSZE MIĘDZYKRAJOWE I KRAJOWE KONFERENCJE NAUKOWE W 2011 r.

Maj

- 12 - 13 OLSZTYN = XVI Sesja Naukowa Młodej Kadry Naukowej PTTŻ nt.: „Ewolucja@ żywności”.** Organizatorzy: Sekcja Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Oddział Olsztyński PTTŻ, Wydział Nauki o Żywności UWM w Olsztynie, Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN w Olsztynie.
Kontakt: mgr inż. Aleksandra Grześkiewicz
Tel. 89 523 47 91
e-mail: smkn@pan.olsztyn.pl;
<http://www.pan.olsztyn.pl/smkn2011>
- 20 - 21 ŁÓDŹ = IV Ogólnopolska Konferencja Naukowa Technologów Przetwórstwa Owoców i Warzyw.** Organizatorzy: Oddział Łódzki i Sekcja Technologii Produktów Pochodzenia Roślinnego PTTŻ
Kontakt: <http://snack.p.lodz.pl/kow>

- 17 – 18 POZNAŃ = “Towaroznawstwo w zapewnieniu jakości żywności i bezpieczeństwa konsumenta”.** Organizatorzy: Katedra Towaroznawstwa Żywności Uniwersytetu Ekonomicznego w Poznaniu.
Kontakt: dr inż. Bogdan Pacholek
Tel. 61 856 90 35
e-mail: bogdan.pacholek@ue.poznan.pl
- 18 – 20 PRAHA = First International Conference on Organic Food Quality and Health Research I Konferencja “Jakość żywności ekologicznej i badania w dziedzinie zdrowia”.**
Kontakt: e-mail: info(at)fqh2011.org.
www.fqh2011.org
- 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
Tel./fax 89 523453
e-mail: justyna.biedulska@uwm.edu. pl;
<http://www.uwm.edu.pl/wnt/ptaolsztyn>
- 26 - 27 KIRY k. Zakopanego = Sympozjum Naukowe nt. „Wykorzystanie drobnoustrojów i ich metabolitów w produkcji i utrwalaniu żywności”.** Organizatorzy: 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: e-mail: ilc2011@igr.poznan.pl
<http://www.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: e-mail: konferencja_knoz@sggw.pl
<http://50ltawnoz.sggw.pl/index.php>

Lipiec

- 6 – 8 **GDAŃSK = Konferencja Euro Food Chem XVI „Translating food chemistry into health benefits”**. Organizatorzy: Wydział Chemii Uniwersytetu Gdańskiego oraz Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN w Olsztynie
Kontakt: dr Kamila Klimaszewska
e-mail: eurofoodchemxvi@gmail.com
www.eurofoodchemxvi@gmail.com

Sierpień

- 31.08 – 02.09. **MEDIOLAN = 2nd International ISEKI_Food Conference: “New Skills and New Jobs, New Tools for Research and Food Process Innovation, Food for Wellbeing: an International Perspective”**. Organizatorzy: Uniersita Degli Studi Di Milano, ISEKI_Food Projekt, ISEKI Food Association.
Kontakt: www.isekiconferences.com

Wrzesień

- 7 – 9 **LUBLIN = Konferencja Naukowa nt.: „Genetyczne i środowiskowe możliwości dostosowania jakości mleka i mięsa oraz ich przetworów do wymagań konsumentów”**.
Organizatorzy: Katedra Towaroznawstwa i Przetwórstwa Surowców Zwierzęcych Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie.
Kontakt: dr hab. inż. Mariusz Florek
Tel. 81 445 66 21; e-mail: mariusz.florek@up.lublin.pl
- 19 - 20 **WROCŁAW = V Międzynarodowa Konferencja z cyklu: ”Quality and safety in food production chain” – „Jakość i bezpieczeństwo zdrowotne w łańcuchu produkcji żywności”**
Organizatorzy: Katedra Technologii Surowców Zwierzęcych i Zarządzania Jakością Wydziału Nauk o Żywności Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu oraz Wrocławski Oddział PTTŻ
Kontakt: dr hab. Grażyna Krasnowska, prof. UW
e-mail: ktsz@wnoz.up.wroc.pl; www.up.wroc.pl

Listopad

- 24 – 26 **LIDZBARK WARMIŃSKI = II Międzynarodowa Konferencja Naukowo-Promocyjna nt. „Żywność regionalna i tradycyjna – aspekty surowcowe, technologiczne i ekonomiczne”**. Organizatorami Konferencji są: Centrum Badań Żywności Naturalnej i Tradycyjnej UWM w Olsztynie, Urząd Marszałkowski Województwa Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie, KNoŻ PAN oraz PTTŻ
Kontakt: dr inż. Joanna Klepacka
e-mail: klepak@uwm.edu.pl; www.uwm.edu.pl/cbznt

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, Włodzimiera Masłowski Kartezjusz A Votre Service, Warszawa.**

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

Przy Oddziale Szczecińskim: **Hartim Szczecin**

Material zawarty w Nr 2 (75)/2011 Biuletynu podano według stanu informacji do 1 kwietnia 2011 r. Materiały do Nr 3 (76)/2011 prosimy nadsyłać do 1 czerwca 2011 r. na adres Redakcji Czasopisma.

KOMUNIKAT

Informujemy P.T. Autorów, że aktualne *Informacje dla Autorów oraz wymagania redakcyjne* publikujemy na stronie **www.pttz.org**

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

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