



ŻYWNOŚĆ

Nauka Technologia Jakość

FOOD

Science Technology Quality

Nr 4 (77)

Kraków 2011

Rok 18

ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość

Organ naukowy Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności

Nr 4 (77)

Kraków 2011

Rok 18

SPIS TREŚCI

Od Redakcji.....	3
GRAŻYNA KRASNOWSKA, TADEUSZ SIKORA: Suplementy diety a bezpieczeństwo konsumenta.....	5
EWA PIĄTKOWSKA, ANETA KOPEĆ, TERESA LESZCZYŃSKA: Antocjany – charakterystyka, występowanie i oddziaływanie na organizm człowieka.....	24
BARBARA KOŁODZIEJ, KATARZYNA DROŻDŻAL: Właściwości przeciwutleniające kwiatów i owoców bzu czarnego pozyskiwanego ze stanu naturalnego.....	36
EWELINA KAMIŃSKA-KISZKA, ŁUKASZ WIT, LARYSA SIBIRNA, VLADIMIR SIBIRNY, MYKHAILO GONCHAR: Oznaczanie zawartości etanolu metodą enzymatyczną w napojach alkoholowych i bezalkoholowych.....	45
JOLANTA KOWALSKA, EWA MAJEWSKA, ANDRZEJ LENART: Aktywność wody napoju kakaowego w proszku o zmodyfikowanym składzie surowcowym.....	57
SABINA GALUS, ANDRZEJ LENART: Wpływ stężenia białka na kinetykę adsorpcji pary wodnej przez powłoki otrzymywane na bazie izolatu białek serwatkowych.....	66
JOLANTA KRÓL, ANETA BRODZIAK, ANNA LITWIŃCZUK: Podstawowy skład chemiczny i zawartość wybranych białek serwatkowych w mleku krów różnych ras i w serwatce podpuszczkowej.....	74
MAŁGORZATA KOWALSKA, ANNA ŻBIKOWSKA, AGNIESZKA GÓRECKA: Wpływ wybranych zagęstników na rozkład kropeł oleju w emulsjach niskotłuszczowych.....	84
STANISŁAW WAJDA, EWA BURCZYK, RAFAŁ WINARSKI, TOMASZ DASZKIEWICZ: Wskaźnik wydajności rzeźnej buhajków i jego związek z wartością handlową tusz.....	94
MARZENA ZAJĄC, ANETA MIDURA, KRYSZYNA PALKA, EWELINA WĘSIERSKA, KRZYSZTOF KRZYSZTOFORSKI: Skład chemiczny, rozpuszczalność kolagenu śródmięśniowego i tekstura wybranych mięśni wołowych.....	103
PIOTR DOMARADZKI, PIOTR SKAŁECKI, MARIUSZ FLOREK, ANNA LITWIŃCZUK: Wpływ przechowywania zamrażalniczego na właściwości fizykochemiczne mięsa wołowego pakowanego próżniowo.....	117
RYSZARD MACURA, MAGDALENA MICHALCZYK, JOANNA BANAS: Wpływ olejków eterycznych kolendry siewnej (<i>Coriandrum sativum</i> L.) i melisy (<i>Melissa officinalis</i> L.) na jakość przechowywanego mielonego mięsa cielęcego.....	127
KAROLINA SEMERIAK, ANDRZEJ JARMOLUK: Wpływ naturalnych antyoksydantów na barwę peklowanych przetworów mięsnych.....	138
KAMILA MAZUR, KAZIMIERZ KOŁODZIEJ, WIKTOR KOŁODZIEJSKI: Ocena przydatności technologicznej odpadowych skór z łososi do pozyskiwania z nich oleju rybnego metodą tłoczenia.....	151
AGATA KAPTUROWSKA, IZABELA STOLARZEWICZ, IZABELA CHMIELEWSKA, EWA BIAŁECKA-FLORJAŃCZYK: Ultradźwięki – narzędzie do inaktywacji komórek drożdży oraz izolacji białek wewnątrzkomórkowych.....	160
ELŻBIETA MAĆKIŃ, KATARZYNA RZEWUSKA, KATARZYNA TOMCZUK, DARIUSZ IZAK, KATARZYNA STOŚ: Występowanie <i>Cronobacter</i> sp. w wybranych produktach spożywczych.....	172
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA: Interakcje składników żywności.....	179
GRAŻYNA MORKIS: Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym.....	182
ANNA GRĘDA: Nowe książki.....	184
DOROTA WITROWA-RAJCHERT: Wydział Nauk o Żywności Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie ma 50 lat!.....	188
Technolog Żywności.....	192

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 4 (77)

Kraków 2011

Vol. 18

CONTENTS

From the Editor.....	3
GRAŻYNA KRASNOWSKA, TADEUSZ SIKORA: Dietary supplements vs consumer safety.....	5
EWA PIĄTKOWSKA, ANETA KOPEĆ, TERESA LESZCZYŃSKA: Anthocyanins – their profile, occurrence, and impact on human organism.....	24
BARBARA KOŁODZIEJ, KATARZYNA DROŻDŻAL: Antioxidant properties of black elder flowers and berries harvested from the wild.....	36
EWELINA KAMIŃSKA-KISZKA, ŁUKASZ WIT, LARYSA SIBIRNA, VLADIMIR SIBIRNY, MYKHAILO GONCHAR: Determining the content of ethanol using enzymatic method in alcoholic and non-alcoholic beverages.....	45
JOLANTA KOWALSKA, EWA MAJEWSKA, ANDRZEJ LENART: Water activity of powdered cocoa beverage with a modified composition of raw materials.....	57
SABINA GALUS, ANDRZEJ LENART: Effect of protein concentration on kinetics of water vapour adsorption by coatings prepared on the basis of whey protein isolate.....	66
JOLANTA KRÓL, ANETA BRODZIAK, ANNA LITWIŃCZUK: Basic chemical composition and content of selected whey proteins in milk from different cow breeds and in rennet whey.....	74
MAŁGORZATA KOWALSKA, ANNA ŻBIKOWSKA, AGNIESZKA GÓRECKA: Effect of selected thickeners on oil droplet-size distribution in low-fat emulsions.....	84
STANISŁAW WAJDA, EWA BURCZYK, RAFAŁ WINARSKI, TOMASZ DASZKIEWICZ: Indicator of young bulls slaughter yield and its reference to the commercial value of carcasses.....	94
MARZENA ZAJĄC, ANETA MIDURA, KRYSZYNA PALKA, EWELINA WĘSIERSKA, KRZYSZTOF KRZYSZTOFORSKI: Chemical composition, solubility of intramuscular collagen, and texture of selected beef muscles.....	103
PIOTR DOMARADZKI, PIOTR SKAŁECKI, MARIUSZ FLOREK, ANNA LITWIŃCZUK: Effect of freezing storage on physicochemical properties of vacuum-packed beef.....	117
RYSZARD MACURA, MAGDALENA MICHALCZYK, JOANNA BANAŚ: Effect of essential oils of coriander (<i>Coriandrum sativum</i> L.) and lemon balm (<i>Melissa officinalis</i> L.) on quality of stored ground veal.....	127
KAROLINA SEMERIAK, ANDRZEJ JARMOLUK: Effect of natural antioxidants on colour stability of cured meat products.....	138
KAMILA MAZUR, KAZIMIERZ KOŁODZIEJ, WIKTOR KOŁODZIEJSKI: Assessment of technological usability of salmon waste skins as source of fish oil obtained using pressing method.....	151
AGATA KAPTUROWSKA, IZABELA STOLARZEWICZ, IZABELA CHMIELEWSKA, EWA BIAŁECKA-FLORJAŃCZYK: Ultrasounds – a tool to inactivate yeast and to extract intracellular protein.....	160
ELŻBIETA MAĆKIWI, KATARZYNA RZEWUSKA, KATARZYNA TOMCZUK, DARIUSZ IZAK, KATARZYNA STOŚ: Occurrence of <i>Cronobacter</i> sp. in selected food products.....	172
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA: Interactions among food components.....	179
GRAŻYNA MORKIS: Food problems in Polish and EU legislation.....	182
ANNA GRĘDA: Book reviews.....	184
DOROTA WITROWA-RAJCHERT: The Faculty of Food Sciences, at the Warsaw University of Life Sciences in Warsaw, celebrates its 50th anniversary!.....	188
The Food Technologist.....	192

Only reviewed papers are published

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

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

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 Czarniecki, 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 Kiszka, prof. dr hab. Helena Oberman

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

WYDAWCA:

POLSKIE TOWARZYSTWO TECHNOLOGÓW ŻYWNOSCI
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

OD REDAKCJI

Szanowni Czytelnicy,

przekazujemy Państwu nr 4(77) naszego czasopisma i jednocześnie mamy do zakomunikowania bardzo dobrą wiadomość. „**Żywność**” **jest na tzw. liście filadelfijskiej i ma obliczony IF = 0,157!** Nasze kilkuletnie zabiegi zostały uwieńczone sukcesem. Teraz w dobrze pojętym wspólnym interesie jest przynajmniej utrzymanie tej pozycji. Dziękuję wszystkim, którzy odpowiedzieli na apel o cytowanie artykułów publikowanych w naszym czasopiśmie.


MNiSzW opublikowało wytyczne dotyczące nowych kryteriów oceny czasopism. Jeżeli tylko zostaną opublikowane nowe arkusze ewaluacyjne wówczas złożymy wniosek o ocenę czasopisma w celu uzyskania wyższej punktacji.

Nasz apel jest stale aktualny: **cytujmy polskich autorów publikujących w „Żywności”** w artykułach kierowanych do czasopism zagranicznych! Zwracajmy także większą uwagę na cytowanie wcześniej opublikowanych artykułów w „Żywności”, w opracowaniach nadsyłanych do redakcji.

Cytowanie wcześniej opublikowanych artykułów, wiążących się tematycznie z nadsyłanymi opracowaniami, będzie warunkiem przyjęcia pracy do druku.

Kraków, sierpień 2011 r.

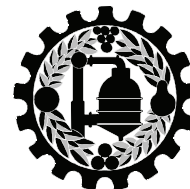
Redaktor Naczelny



Tadeusz Sikora



**POLSKIE TOWARZYSTWO
TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI**
Oddział Warszawski



oraz

WYDZIAŁ NAUK O ŻYWNOŚCI SGGW
Katedra Inżynierii Żywności i Organizacji Produkcji

zapraszają na

VIII Konferencję Naukową

z cyklu:

JAKOŚĆ I BEZPIECZEŃSTWO ŻYWNOŚCI

nt.:

Żywność przyszłości – czyli jaka?

Warszawa, 23 - 24 listopada 2011

Informacje:

**<http://kizop.sggw.pl/konferencjapttz/>
e-mail: konferencja_pttz@sggw.pl**

GRAŻYNA KRASNOWSKA, TADEUSZ SIKORA

SUPLEMENTY DIETY A BEZPIECZEŃSTWO KONSUMENTA

Streszczenie

Suplementy diety, w myśl obowiązujących przepisów prawa żywnościowego, definiowane są jako środki spożywcze. Stąd też wynika ich powszechna dostępność, a to powoduje wzrost zainteresowania nimi konsumentów dbających o zdrowie. Szczegółowe wymagania w stosunku do tej grupy środków spożywczych regulują przepisy wynikające z dyrektyw i rozporządzeń UE, jak i z prawa krajowego. Określają one m.in. dopuszczalne poziomy zawartości witamin i składników mineralnych oraz ich formy chemiczne, w postaci których mogą być stosowane w suplementach diety. Mniej precyzyjnie są już określone dopuszczalne ilości biologicznie aktywnych substancji pochodzenia roślinnego, w tym stosowanych również w preparatach leczniczych. Nadal prowadzone są prace badawcze obejmujące wszystkie aspekty bezpieczeństwa stosowania tych składników przez różne grupy ludności (dzieci, osoby starsze, osoby o zaburzeniach metabolicznych itp.). Za bezpieczeństwo środków spożywczych wprowadzanych do obrotu odpowiada ich producent lub dystrybutor. Muszą oni stosować się do wymagań dotyczących znakowania tych produktów, które winny zawierać na opakowaniu m.in. wyraźne określenie „suplement diety”, wskazanie zalecanej dziennej porcji do stosowania, nazwę składnika odżywczego. Suplementacja diety stanowi dobry sposób na uzupełnienie niedoborów niektórych składników w organizmie człowieka. Stwarza też możliwość wystąpienia zagrożeń dla konsumenta w przypadku nieuzasadnionego i nadmiernego spożycia tych produktów.

Słowa kluczowe: suplementy diety, konsument, bezpieczeństwo

Wprowadzenie

Przy wyborze towaru klienci coraz częściej kierują się nie tylko wyglądem produktu, ale także informacjami zawartymi na opakowaniu i dopiero wtedy podejmują decyzję o jego zakupie. Suplementy diety są szczególnym rodzajem środków spożywczych, kojarzących się konsumentom z dbałością o zdrowie, ze zdrowym stylem życia itp.

Dr hab. G. Krasnowska, prof. UP, Katedra Technologii Surowców Zwierzęcych i Zarządzania Jakością, Wydz. Nauk o Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, ul. Chelmońskiego 37/41, 51-630 Wrocław, prof. dr hab. T. Sikora, Katedra Zarządzania Jakością, Wydz. Towaroznawstwa, Uniwersytet Ekonomiczny w Krakowie, ul. Rakowicka 27, 31-510 Kraków

Suplementy diety są środkami spożywczymi i muszą odpowiadać definicji żywności zawartej w rozporządzeniu (WE) nr 178/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 28 stycznia 2002 r. [12], zgodnie z którą: „żywność (środek spożywczy) oznacza jakiegokolwiek substancje lub produkty, przetworzone, częściowo przetworzone lub nieprzetworzone, przeznaczone do spożycia przez ludzi, lub których spożycia przez ludzi można się spodziewać”.

Zgodnie z definicją podaną w ustawie o bezpieczeństwie żywności i żywienia z dnia 25 sierpnia 2006 r. [17] suplement diety to: „środek spożywczy, którego celem jest uzupełnienie normalnej diety, będący skoncentrowanym źródłem witamin lub składników mineralnych, lub innych substancji wykazujących efekt odżywczy, lub inny fizjologiczny, pojedynczych lub złożonych, wprowadzany do obrotu w formie umożliwiającej dawkowanie (...), z wyłączeniem produktów posiadających właściwości produktu leczniczego w rozumieniu prawa farmaceutycznego”.

Brak szczegółowych regulacji dotyczących składników suplementów diety innych niż witaminy i składniki mineralne powoduje, że rynek tych produktów charakteryzuje się znaczną różnorodnością. Według raportu Komisji Europejskiej [2] liczba substancji stosowanych do produkcji suplementów diety wynosi ok. 400, z czego 50 % rynku suplementów diety w Unii Europejskiej stanowią witaminy i składniki mineralne. Poza witaminami i składnikami mineralnymi, pozostałe suplementy można sklasyfikować w sześciu kategoriach [2]: aminokwasy (L-arginina); enzymy – laktaza, papaina; prebiotyki i probiotyki – inulina, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium species*, drożdże; niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe – kwas gamma-linolenowy, olej rybi (DHA/EPA), olej lniany (*Linum usitatissimum*), olej z nasion ogórecznika (*Borago officinalis*); składniki roślinne – aloes (*Aloe vera*), ginkgo (*Ginkgo biloba*), ginseng (*Panax ginseng*), czosnek (*Allium sativum*), ekstrakt zielonej herbaty (*Camellia sinensis*), ekstrakt *Garcinia cambogia*, ekstrakt guarany (*Paullinia cupana*); inne substancje, jak: likopen, luteina, koenzym Q10, tauryna, karnityna, inozytol, glukozamina, chitozan, spirulina, izoflawony sojowe.

W składzie suplementów diety występują w większości surowce roślinne tradycyjnie stosowane w Europie, w tym również surowce farmakopealne, jednak powinny być w suplementach w dawkach znacznie niższych od dawek leczniczych.

Zgodnie z deklaracją producenta dostępne suplementy diety wykazują różne oddziaływania na poszczególne układy i narządy organizmu człowieka [1, 2]: wspomagają układ odpornościowy, wpływają na narządy ruchu, opóźniają procesy starzenia, wspomagają odchudzanie, wpływają na układ sercowo-naczyniowy, wspomagają układ pokarmowy, wpływają korzystnie na organizm w stanach zwiększonego wysiłku fizycznego, wspomagają prawidłowy proces widzenia, wpływają na stan skóry, włosów i paznokci.

Obowiązujące prawo żywnościowe jednoznacznie wskazuje, że produkt, który ma właściwości produktu leczniczego w rozumieniu przepisów prawa farmaceutycznego [18], nie może być kwalifikowany jako suplement diety. Potwierdza to zarówno rozporządzenie (WE) nr 178/2002 [12], zgodnie z którym środek spożywczy nie obejmuje swoją definicją produktów leczniczych, jak i definicja suplementu diety zapisana w ustawie z dnia 25 sierpnia 2006 r. [17], która wyklucza produkty o właściwościach leczniczych. Zagadnienia te zostały doprecyzowane w kolejnych rozporządzeniach WE [11, 15, 16].

Suplementy diety mogą wykazywać działanie odżywcze lub inne fizjologiczne, natomiast produkty lecznicze m.in. działanie metaboliczne. Fakt, że często trudno rozróżnić te działania, podobna forma podawania suplementów diety i produktów leczniczych (tabletki, kapsułki) oraz podobieństwa dotyczące składu sprawiają trudności w zakresie właściwej kwalifikacji tych produktów. Problemy związane z właściwą kwalifikacją produktów leczniczych i suplementów diety spowodowały pojawienie się różnic dotyczących tej kwalifikacji w różnych państwach członkowskich. W wyniku braku pełnej harmonizacji przepisów prawa wspólnotowego w odniesieniu do suplementów diety, zwłaszcza zawierających substancje inne niż witaminy lub składniki mineralne, niekiedy może dochodzić do sytuacji, w których niektóre z państw członkowskich zezwalają na wprowadzanie konkretnego produktu do obrotu w charakterze żywności, podczas gdy ten sam produkt w innych państwach członkowskich jest klasyfikowany jako produkt leczniczy. Zgodnie z orzeczeniem Europejskiego Trybunału Sprawiedliwości [<http://curia.europa.eu/jurisp/cgi-bin/form.pl?lang=pl>], w celu stwierdzenia czy produkt należy zakwalifikować jako produkt leczniczy, czy jako środek spożywczy w rozumieniu prawa wspólnotowego, właściwy organ krajowy powinien rozstrzygać indywidualnie w zależności od przypadku, mając na uwadze ogół cech charakterystycznych produktu, a w szczególności: jego skład, właściwości farmakologiczne, jakie można ustalić zgodnie z aktualnym stanem wiedzy naukowej, sposób użycia, zasięg jego dystrybucji, ryzyko związane z jego stosowaniem.

Celem pracy jest przedstawienie aktualnej sytuacji rynku suplementów w zakresie spełniania wymagań prawa żywnościowego w aspekcie bezpieczeństwa ich stosowania przez konsumentów.

Podstawowe uregulowania prawne dotyczące suplementów diety

Przepisami prawa żywnościowego wprowadzono szereg wymagań odnoszących się do jakości suplementów diety oraz ustanowiono obowiązki przedsiębiorców w związku z prowadzeniem przez nich działalności polegającej na produkcji lub wprowadzaniu do obrotu tych środków spożywczych. W prawie Wspólnoty Europejskiej są to rozporządzenia i dyrektywy Parlamentu Europejskiego i Rady [3, 4, 12, 14, 15, 16].

Nowe przepisy uwzględniają również wykładnię zawartą w wyroku Europejskiego Trybunału Sprawiedliwości z dnia 9 czerwca 2005 r. w połączonych sprawach C-211/03, C-299/03 oraz C-316/03 do C-318/03, stanowiącym, że jeśli dany produkt spełnia jednocześnie kryteria suplementu diety i produktu farmaceutycznego należy stosować do niego wyłącznie wymagania określone do produktów leczniczych.

W przepisach krajowych problematyka suplementów diety jest regulowana w ustawach [17, 18] i rozporządzeniach Ministra Zdrowia i Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi [7, 8, 9, 10].

W rozdziale 7. ustawy [17] określono, że suplementy diety mogą zawierać witaminy i składniki mineralne, które naturalnie występują w żywności i spożywane są jako jej część oraz inne substancje wykazujące efekt odżywczy lub inny efekt fizjologiczny. W art. 27., ust. 2. podkreślono, że maksymalny poziom witamin i składników mineralnych oraz innych substancji, przy zwykłym stosowaniu suplementu diety, zgodnym z informacją zamieszczoną w oznakowaniu będzie bezpieczny dla zdrowia i życia człowieka. Natomiast w rozdziale 8. ustawy o bezpieczeństwie żywności i żywienia przedstawiono procedurę wprowadzania po raz pierwszy suplementów diety do obrotu.

Produkty te podlegają również innym przepisom, zarówno Wspólnoty Europejskiej, jak i krajowym, dotyczącym żywności m.in. w rozporządzeniu (WE) nr 852/2004 dotyczącym higieny środków spożywczych i w rozporządzeniu (WE) nr 1881/2006 ustalającym najwyższe dopuszczalne poziomy niektórych zanieczyszczeń w środkach spożywczych. Wprowadzenie do obrotu suplementów diety nie wymaga uzyskania pozwolenia, zgodnie z przepisami prawa całkowitą odpowiedzialność za jakość zdrowotną, znakowanie, prezentację i reklamę ponosi producent lub przedsiębiorca wprowadzający środki spożywcze do obrotu, w tym suplementy diety [12].

Szczegółowe wymagania dotyczące składu suplementów diety określone zostały w rozporządzeniu Ministra Zdrowia z dnia 9 października 2007 r. [9] oraz zmienione rozporządzeniem z dnia 18 maja 2010 r. [10]. Zgodnie z załącznikiem nr 1 do ostatniego z ww. rozporządzeń w procesie produkcji suplementów diety mogą być stosowane witaminy: A, D, E, K, tiamina, ryboflawina, niacyna, kwas pantotenowy, witamina B₆, B₁₂, kwas foliowy, biotyna, witamina C, a także składniki mineralne: wapń, magnez, żelazo, miedź, jod, cynk, mangan, sód, potas, selen, chrom, molibden, fluorki, chlorki, fosfor, bor i krzem. W rozporządzeniu określono również dozwolone formy chemiczne wymienionych witamin i składników mineralnych (zał. nr 2). W załączniku nr 3 tego dokumentu podano zalecane dzienne spożycie witamin i składników mineralnych. Ponadto, jak wynika z § 4. pierwszego z ww. rozporządzeń, poziom witamin i składników mineralnych w zalecanej przez producenta dziennej porcji spożywanego suplementu diety powinien uwzględniać:

- 1) górne bezpieczne poziomy witamin i składników mineralnych ustalone na podstawie naukowej oceny ryzyka, w oparciu o ogólnie akceptowane dane naukowe, uwzględniając zmienne stopnie wrażliwości różnych grup konsumentów;
- 2) spożycie witamin i składników mineralnych wynikające z innych źródeł diety;
- 3) zalecane spożycie witamin i składników mineralnych dla populacji.

Maksymalny dopuszczalny poziom zawartości witamin i składników mineralnych w suplementach diety zapewnia, że stosowanie suplementu diety zgodnie z informacją zamieszczoną w oznakowaniu będzie bezpieczne dla zdrowia i życia człowieka. Dotychczas zarówno na poziomie krajowym, jak i europejskim, nie powstały regulacje prawne określające maksymalne poziomy witamin i składników mineralnych w suplementach diety. W Komisji Europejskiej trwają prace nad ustaleniem maksymalnych poziomów witamin i składników mineralnych w suplementach diety.

W wyniku prac Komitetu Naukowego ds. Żywności (SCF) oraz innych instytucji naukowych: UK Expert Group on Vitamins and Minerals (EVM), US Institute of Medicine (IOM), ustalono najwyższe tolerowane poziomy spożycia niektórych witamin i składników mineralnych (UL) (tab. 1). Nie bez znaczenia są również obowiązki nałożone na producentów i dystrybutorów żywności, dotyczące opracowania systemu umożliwiającego śledzenie pochodzenia żywności (identyfikowalności) oraz natychmiastowego rozpoczęcia postępowania w celu wycofania z rynku żywności niespełniającej wymogów wraz z powiadomieniem właściwych organów o każdym takim przypadku [12].

Bezpieczeństwo stosowania środków spożywczych, w tym suplementów diety, ma zapewniać także rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 258/97 z dnia 27 stycznia 1997 r. [11] dotyczące nowej żywności i nowych składników żywności. Zgodnie z tym rozporządzeniem produkty i ich składniki nie stosowane w znacznym stopniu do żywienia ludzi w państwach członkowskich Unii Europejskiej przed 15.05.1997 r. traktowane są jako nowa żywność i powinny przejść procedurę dotyczącą nowej żywności (autoryzacji lub notyfikacji).

Jednym z przykładów składnika o statusie nowej żywności, znajdującego się legalnie w obrocie, jest sprzężony kwas linolowy (CLA). Substancja ta jest jedną z tych, które były stosowane przed 15 maja 1997 r. w suplementach diety i jako ich składnik może dalej być stosowana. Należy podkreślić, że rozszerzenie zakresu stosowania suplementów wymaga przeprowadzenia pełnej procedury autoryzacji. Obecnie trwają procedury autoryzacji CLA w kierunku stosowania w żywności ogólnego spożycia i środków spożywczych specjalnego przeznaczenia żywieniowego [6].

Tabela 1

Najwyższy tolerowany poziom spożycia wybranych składników.
The highest tolerable intake level of some selected nutrients.

Składnik odżywczy Nutrient	wg SCF/EFSA ¹⁾ acc. to SCF/EFSA ¹⁾	wg IOM ¹⁾ according to IOM ¹⁾	wg EVM ²⁾ according to EVM ²⁾
Biotyna [μg] Biotin	–	–	900 (GL w żywności) (GL in foods)
Kwas foliowy [μg] Folic acid	1000 (dotyczy tylko suplementów kwasu foliowego) (ref. only to folic acid supplements)	1000	1000 (GL w żywności) (GL in foods)
Kwas nikotynowy [mg] Nicotinic acid	10	35 (niacyna) (niacin)	17 (GL tylko w suplementach) (GL in supplements only)
Amid kwasu nikotynowego [mg] Nicotinamide	900	35 (niacyna) (niacin)	560 (GL)
Witamina B ₆ [mg] Vitamin B ₆	25	100	10 (SUL w żywności) (SUL in foods)
Witamina C [mg] Vitamin C	–	2000	–
Witamina A (retinol) [μg RE] Vitamin A (retinol)	3000 (nie dotyczy kobiet po menopauzie) (does not refer to post- menopausal women)	3000	1500 (GL)
β-karoten [mg] β-caroten	-	25 (dla osób palących) (ref. to smokers)	7 (SUL tylko w suplementach) (SUL in supplements only)
Witamina D [μg] Vitamin D	50	50	25 (GL w żywności) (GL in foods)
Witamina E [mg] Vitamin E	300	1000	800 (SUL w żywności) (SUL in foods)
Wapń [mg] Calcium	2500	2500	1500 (GL w żywności) (GL in foods)
Fosfor [mg] Phosphorus	-	4000	250 (GL w żywności) (GL in foods)
Magnez [mg] Magnesium	250 (dotyczy suple- mentów) (ref. to supplements)	350	400 (GL w żywności) (GL in foods)
Żelazo [mg] Iron	-	45	17 (GL w żywności) (GL in foods)
Cynk [mg] Zinc	25	40	25(SUL w żywności) (SUL in foods)
Miedź [mg] Copper	5 (nie dotyczy okresu ciąży i karmienia) (does not refer to women during pregnancy and breastfeeding)	10	10 (SUL)

c.d. tab. 1

Fluor [mg] Fluoride	7 (dla dzieci powyżej 8. roku życia i dorosłych) (ref. to children above 8 years and adults)	10	-
Jod [µg] Iodine	600	1100	500 (GL w żywności) (GL in addition to food)
Selen [µg] Selenium	300	400	450 (SUL)
Molibden [µg] Molybdenum	600	2000	-

¹⁾ określony jako UL – najwyższy tolerowany poziom / determined as UL – the highest tolerable level;

²⁾ jest to wartość GL – tolerowany poziom / it is a GL value – tolerable level /; lub SUL – maksymalny bezpieczny poziom / or as SUL value – the max safe level.

Źródło/Source: European Commission. Health & Consumer Protection Directorate-General. Orientation paper on the setting of maximum and minimum amounts for vitamins and minerals in foodstuffs. Document prepared by Directorate-General Health and Consumer Protection, July 2007.

Zgodnie z obowiązującym prawem wprowadzenie do obrotu suplementu diety nie wymaga uzyskania pozwolenia, jak ma to miejsce w przypadku produktów leczniczych. Jednak podmiot wprowadzający po raz pierwszy do obrotu na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej suplement diety jest obowiązany powiadomić o tym Głównego Inspektora Sanitarnego, wskazując równocześnie nazwę produktu i jego producenta oraz przedkładając wzór jego oznakowania w języku polskim. Jeżeli wprowadzany po raz pierwszy do obrotu suplement diety znajduje się już w obrocie w innym państwie członkowskim Unii Europejskiej, w powiadomieniu należy wskazać właściwy organ tego państwa, który został powiadomiony o wprowadzeniu tego środka spożywczego do obrotu w tym państwie, załączając równocześnie kopię uprzedniego powiadomienia lub zezwolenia. Główny Inspektor Sanitarny może przeprowadzić postępowanie mające na celu wyjaśnienie, czy wymienione w powiadomieniu suplementy diety spełniają wymagania określone w rozporządzeniu w sprawie składu oraz oznakowania suplementów diety, oraz czy nie mają właściwości produktu leczniczego określonego przepisami prawa farmaceutycznego. W przypadku przeprowadzania postępowania wyjaśniającego Główny Inspektor Sanitarny może zobowiązać przedsiębiorcę do przedłożenia opinii jednostki naukowej lub Urzędu Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych, w celu potwierdzenia, że suplement diety objęty powiadomieniem nie spełnia wymagań produktu leczniczego.

Znakowanie suplementów diety

Jednym z najważniejszych priorytetów Wspólnoty Europejskiej jest zapewnienie konsumentom gwarancji bezpieczeństwa zdrowotnego. W preambule rozporządzenia (WE) Nr 178/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady ustalającego ogólne zasady

i wymagania prawa żywnościowego, ustanawiające Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności oraz ustanawiające procedury w sprawie bezpieczeństwa żywnościowego, w pkt 2. czytamy, że: „zgodnie z polityką Wspólnoty Europejskiej powinien być zapewniony wysoki poziom ochrony życia i zdrowia ludzkiego”, natomiast w pkt. 23. podane jest że: „bezpieczeństwo i zaufanie konsumentów we Wspólnocie Europejskiej i w krajach trzecich ma najważniejsze znaczenie”.

W dyrektywie 2002/46/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 10 czerwca 2002 r. [3] w sprawie zbliżenia ustawodawstwa Państw Członkowskich odnoszących się do suplementów żywnościowych w art. 6., ust. 2. określono, że: „etykietowanie, prezentacja i reklama nie mogą przypisywać suplementom żywnościowym właściwości zapobiegawczych, leczniczych lub uzdrawiających choroby ludzkie lub odnosić się do takich właściwości”.

Suplementy diety wprowadzane do obrotu, prezentowane i reklamowane są pod nazwą „suplement diety”, która nie może być zastąpiona nazwą handlową tego środka spożywczego. Jeżeli suplement diety jest oznakowany dodatkowo nazwą handlową to określenie „suplement diety” jest zamieszczane w bezpośrednim sąsiedztwie tej nazwy (art. 27., ust. 4.) [17].

Szczegółne wymagania dotyczące znakowania suplementów diety określone zostały w rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 9 października 2007 r. [9] w sprawie składu oraz oznakowania suplementów diety. Zgodnie z § 5., ust. 2. rozporządzenia, suplementy diety wprowadzane do obrotu znakuje się, umieszczając na opakowaniu następujące informacje:

- określenie „suplement diety”;
- nazwy kategorii składników odżywczych lub substancji charakteryzujących produkt lub wskazanie ich właściwości;
- porcję produktu zalecaną do spożycia w ciągu dnia;
- ostrzeżenie dotyczące nieprzekraczania zalecanej porcji do spożycia w ciągu dnia;
- stwierdzenie, że suplementy diety nie mogą być stosowane jako substytut (zamiennik) zróżnicowanej diety;
- stwierdzenie, że suplementy diety powinny być przechowywane w sposób niedostępny dla małych dzieci.

Ponadto znakowanie tej grupy produktów, tak jak i innych środków spożywczych, musi być zgodne z ustawą o bezpieczeństwie żywności i żywienia, rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 10 lipca 2007 r. w sprawie znakowania środków spożywczych oraz rozporządzeniem (WE) nr 1924/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 20 grudnia 2006 r. w sprawie oświadczeń żywieniowych i zdrowotnych dotyczących żywności.

Według ustawy [17], znakowanie, prezentacja i reklama suplementów diety nie mogą zawierać informacji stwierdzających lub sugerujących, że zbilansowana i różni-

cowana dieta nie może dostarczyć wystarczających dla organizmu ilości składników odżywczych.

Ponadto oznakowanie, prezentacja i reklama suplementu diety, jak każdego środka spożywczego, nie może:

1) wprowadzać konsumenta w błąd, w szczególności:

- co do charakterystyki środka spożywczego, w tym jego nazwy, rodzaju, właściwości, składu, ilości, trwałości, źródła lub miejsca pochodzenia, metod wytwarzania lub produkcji,
- przez przypisywanie środkowi spożywczemu działania lub właściwości, których nie posiada,
- przez sugerowanie, że środek spożywczy posiada szczególne właściwości, jeżeli wszystkie podobne środki spożywcze mają takie właściwości;

2) przypisywać środkowi spożywczemu właściwości zapobiegania chorobom lub ich leczenia albo odwoływać się do takich właściwości.

Zasady te stosuje się również do reklamy oraz do prezentacji środków spożywczych, w tym w szczególności w odniesieniu do ich kształtu, wyglądu lub opakowania, zastosowanych materiałów opakowaniowych, sposobu prezentacji oraz otoczenia, w jakim są prezentowane.

Przedstawianie w znakowaniu, prezentacji i reklamie żywności informacji o jej właściwościach odżywczych i zdrowotnych jest dość powszechne.

Rozporządzenie (WE) nr 1924/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 20 grudnia 2006 r. [14] w sprawie oświadczeń żywieniowych i zdrowotnych dotyczących żywności wprowadza definicję oświadczenia, jako: „każdy komunikat lub przedstawienie, które stwierdza, sugeruje lub daje do zrozumienia, że żywność ma szczególne właściwości”. Najczęściej stosowane w oznakowaniu suplementów diety „oświadczenie zdrowotne” oznacza każde oświadczenie, które stwierdza, sugeruje lub daje do zrozumienia, że istnieje związek pomiędzy kategorią żywności, daną żywnością lub jednym z jej składników a zdrowiem. Szczególną podgrupą oświadczeń zdrowotnych są oświadczenia dotyczące zmniejszenia ryzyka choroby. Zgodnie z definicją rozporządzenia są to oświadczenia zdrowotne, które stwierdzają, sugerują lub dają do zrozumienia, że spożycie danej żywności, lub jednego z jego składników, znacząco zmniejsza jakiś czynnik ryzyka w rozwoju choroby dotykającej ludzi. Rozporządzenie to określa ogólne wymagania dotyczące stosowania oświadczeń żywieniowych i zdrowotnych oraz szczegółowe warunki stosowania oświadczeń żywieniowych.

Zgodnie z rozporządzeniem [14], oświadczenia żywieniowe i zdrowotne nie mogą:

- a) być nieprawdziwe, niejednoznaczne lub wprowadzające w błąd,
- b) budzić wątpliwości co do bezpieczeństwa lub adekwatności odżywczej innej żywności,

- c) zachęcać do nadmiernego spożycia danej żywności lub stanowić przyzwolenia dla niego,
- d) stwierdzać, sugerować lub dawać do zrozumienia, że zrównoważony i zróżnicowany sposób odżywiania się nie może zapewnić odpowiednich ilości składników odżywczych w ujęciu ogólnym,
- e) odnosić się do zmian w funkcjonowaniu organizmu w sposób wzbudzający lub wykorzystujący lęk u konsumenta za pomocą tekstu bądź obrazów, przedstawień graficznych lub symbolicznych.

Oświadczenia żywieniowe i zdrowotne muszą być zgodne z ogólnie przyjętymi dowodami naukowymi i być nimi potwierdzone.

Stosowanie oświadczeń żywieniowych i zdrowotnych jest dopuszczalne tylko w przypadku, gdy można oczekiwać, że przeciętny konsument zrozumie opisane w oświadczeniu korzystne działanie, a także, kiedy składnik odżywczy lub inna substancja, której dotyczy oświadczenie, występuje w postaci przyswajalnej przez organizm.

Postać suplementu diety

Powszechność dostępności suplementów diety powoduje, że każdy klient może zaopatrzyć się w tego typu środki spożywcze w nieograniczonej ilości. Zgodnie z rozporządzeniem Ministra Zdrowia z dnia 9 października 2007 r. [9] na oznakowaniu suplementu diety należy zamieścić informację o zalecanej porcji produktu do spożycia w ciągu dnia oraz „ostrzeżenie dotyczące nieprzekraczania zalecanej porcji do spożycia w ciągu dnia”. Problemem jest określenie „porcja”, które nie we wszystkich przypadkach oznakowania suplementu diety może być zrozumiała dla klienta. W definicji suplementu diety [17] podane jest, że wprowadzany jest on „do obrotu w formie umożliwiającej dawkowanie, w postaci: kapsułek, tabletek, drażetek i innych podobnych postaciach, saszetek z proszkiem, ampulek z płynem, butelek z kroplomierzem i w innych podobnych postaciach płynów i proszków przeznaczonych do spożywania w małych, odmierzonych ilościach jednostkowych”. Niektóre suplementy diety wprowadzane są na rynek w postaci batonów, a baton jako postać suplementu diety nie jest wymieniony w definicji suplementu diety w ustawie.

Skrajnymi przykładami niewłaściwej postaci produktu oraz błędnego oznakowania mogą być takie produkty, jak mieszanki suszonych ziół przeznaczone do sporządzania nalewki (po dodaniu alkoholu) stosowanej następnie wewnętrznie, jak i zewnętrznie do nacierań. Takie produkty nie tylko nie spełniają definicji suplementu diety, ale także mogą konsumenta wprowadzić w błąd co do jego przeznaczenia.

Szata graficzna opakowań suplementów diety

Szata graficzna opakowania, jego kształt, barwy zastosowane na opakowaniu produktu mają na celu przyciągnięcie uwagi klienta. Każdy producent chce, aby na półce sklepowej wśród wielu atrakcyjnych produktów jego wyrób zajmował szczególne miejsce. Konsument często wybiera to co już zna, a producenci często wykorzystują tę cechę, nadając szacie graficznej opakowania suplementu diety wygląd bardzo podobny do tego, jaki mają leki, co może wprowadzać w błąd. Nazwy suplementów diety mogą wprowadzać konsumenta w błąd poprzez nazwę, która sugeruje właściwości lecznicze lub też zapobiegania chorobom, produktu zakwalifikowanego przecież jako środek spożywczy. Niektóre suplementy diety mają nazwy takie same jak leki. W niektórych przypadkach w nazwie suplementu diety znajdują się elementy, który sugerują, że dany produkt ma właściwości lecznicze (np. gdy w nazwie jest słowo „lek”). Producenci suplementów diety nie mogą w ich nazwie zawierać informacji przypisującej danemu środkowi spożywczemu właściwości „nadprzyrodzonych”, przykładem mogą być produkty, które w części swojej nazwy zawierają określenie „cud przyrody”. W niektórych przypadkach sama nazwa firmy, będącej producentem suplementu diety jest już bardzo myląca. Taka nazwa firmy wyeksponowana na opakowaniu produktu, będącego środkiem spożywczym, nie kojarzy się z produktem, którego zadaniem jest uzupełnienie normalnej diety, lecz z jego właściwościami leczniczymi.

Przykładami sformułowań, zamieszczonych na etykietach suplementów diety, które mogą sugerować właściwości lecznicze produktu mogą być: „łagodzi suchy kaszel”; „w przypadku gorączki i w okresie zdrowienia”; „na gardło i kaszel”; „w naturalny sposób obniża prawdopodobieństwo wystąpienia zmian miażdżycowych, wspomaga serce i układ krążenia”; „działa przeciwbakteryjnie i przeciwgrzybicznie”; „to naturalny antybiotyk”; „jest skuteczny we wczesnych stadiach parazytozy i chorób dziąseł”.

Skład suplementów diety

Zawartość witamin i składników mineralnych oraz innych substancji wykazujących efekt odżywczy lub inny efekt fizjologiczny obecnych w suplemencie diety deklaruje się w oznakowaniu w postaci liczbowej.

Przykładami produktów o przekroczonej zawartości witamin mogą być te, w których deklarowana ilość witaminy B₆ wynosi 50 lub 75 mg, co stanowi przekroczenie UL – najwyższego tolerowanego spożycia określonego przez Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) na 25 mg. Dodatkowo zamieszczona informacja, że „przyjmowanie takiej ilości witaminy B₆ przez długi czas może powodować odczucie mrowienia i zdrętwienia”, w aspekcie bezpieczeństwa klientów, budzi bardzo duże wątpliwości. Dawki kwasu foliowego w suplementach diety do 1000 µg, a więc do poziomu

przyjętego jako „safe upper level” wydają się nie budzić wątpliwości. Na rynku znajdują się jednak produkty, w których ilości kwasu foliowego są przekroczone.

W przypadku przekroczenia spożycia witaminy B₆ mogą pojawić się problemy neurologiczne, a w przypadku spożycia zbyt dużych ilości kwasu foliowego, szczególne zagrożenie może wystąpić u osób chorych na epilepsję, ponieważ kwas foliowy może zaburzać działanie leków przeciwdrgawkowych.

Przykładami innych substancji, oprócz witamin i składników mineralnych, których ilości zawarte w suplementach diety mają wpływ na bezpieczeństwo produktu mogą być:

- rutyna, która w jednym z oferowanych produktów znajduje się w zalecanej dobowej dawce 300 mg, gdy produkty lecznicze zawierają jej 20 mg;
- kofeina, która w produkcie znajduje się w zalecanej dobowej dawce 200 - 300 mg, gdy tymczasem produkty lecznicze zawierają jej 40 mg;
- izoflawonoidy, których ilość nie może przekroczyć 30 mg zgodnie z uchwałą nr 8/2007 i 9/2007 Komisji ds. Produktów z Pogranicza MZ z dnia 26 kwietnia 2007 r.;
- glukozamina, której ilość wynosi w preparacie 1500 mg. Takie produkty nie mogą być definiowane jako suplementy diety, ponieważ produkt leczniczy, który zawiera glukozaminę, jest stosowany w dawce dobowej od 1200 mg do 1500 mg substancji czynnej;
- EPA (kwas eikozapetaenowy) i DHA (kwas dokozaheksaenowy). W oferowanym suplementie diety w zalecanym dziennym spożyciu zawiera 1200 mg EPA i 800 mg DHA, podczas gdy codzienna dieta powinna dostarczać 200 mg LC-PUFA n-3 (długołańcuchowe wielonienasycone kwasy tłuszczowe z rodziny n-3). Stosowanie wyższych dawek uzasadnione jest przez pacjentów ze zdiagnozowanymi zaburzeniami stanu zdrowia. Na przykład American Heart Association zaleca, aby pacjenci ze zdiagnozowaną chorobą serca przyjmowali po konsultacji z lekarzem 1 g dziennie kwasów EPA i DHA, zaś osoby z hiperlipidemią 2 - 4 g tych kwasów, pod kontrolą lekarza;
- koenzym Q10, którego zawartość w dostępnym suplementie diety, w dziennej porcji, wynosi 60 mg koenzymu Q10. A koenzym Q10 w ilości 30 mg jest stosowany w produktach leczniczych zarejestrowanych w Urzędowym Wykazie Produktów Leczniczych.

Na niektóre składniki suplementów diety musiały zostać także nałożone pewne uregulowania dotyczące ilości. Zgodnie z opinią ekspertów z dnia 18 września 2006 r., (uchwała nr 22/2006 Komisji Kwalifikacji Produktów Pogranicza), dopuszczalna zawartość korzenia żeń-szenia w suplementach diety wynosi 500 mg (w przeliczeniu na suchą masę) na dobę. Ponadto, dawkowanie nie powinno przekraczać 1 tabletki na dobę oraz nie powinno się stosować preparatu dłużej niż 3 miesiące.

W niektórych przypadkach w suplementach diety obecne są formy chemiczne witamin i składników mineralnych nie ujęte w aktach prawnych regulujących te kwestie.

Zgodnie z § 6. rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 9 października 2007 r. [9] w produktach tych do 31 grudnia 2009 r. mogły być stosowane witaminy i składniki mineralne inne niż określone w zał. 1. do rozporządzenia lub ich formy chemiczne inne niż określone w zał. 2. do rozporządzenia jeśli:

- 1) były one stosowane w procesie produkcji suplementów diety wprowadzanych do obrotu w jednym lub więcej państw członkowskich UE przed 12.07.2002 r.;
- 2) Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności nie wydał negatywnej opinii dotyczącej możliwości ich stosowania na podstawie dokumentacji uzasadniającej ich użycie, złożonej do Komisji Europejskiej przez jakiekolwiek państwo członkowskie nie później niż do 12.07.2005 r.

W obowiązujących przepisach prawnych brak jest niestety szczegółowych regulacji odnośnie stosowania innych niż witaminy i składniki mineralne składników aktywnych.

W dyrektywie 2002/46/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 10 czerwca 2002 r. [3], w sprawie zbliżenia ustawodawstwa Państw Członkowskich odnoszących się do suplementów żywnościowych, określono że: „istnieje cały szereg substancji odżywczych i innych składników, które mogą występować w suplementach żywnościowych, w tym, ale nie wyłącznie, witaminy, składniki mineralne, aminokwasy, niezbędne kwasy tłuszczowe, błonnik oraz różne ekstrakty roślinne i ziołowe”. W dalszej części zapisano, że „określone przepisy dotyczące substancji odżywczych, innych niż witaminy i składniki mineralne, lub innych substancji wykazujących efekt odżywczy lub fizjologiczny, stosowanych jako składniki suplementów żywnościowych, należy ustanowić na późniejszy etapie, pod warunkiem, że dostępne będą odpowiednie właściwe dane naukowe na ich temat. Do czasu przyjęcia takich określonych przepisów wspólnotowych i nie naruszając postanowień Traktatu, można stosować krajowe przepisy dotyczące substancji odżywczych lub innych substancji wykazujących efekt odżywczy lub fizjologiczny, stosowanych jako składniki suplementów żywnościowych, odnośnie do których nie przyjęto określonych przepisów wspólnotowych”.

W składzie suplementów diety znajduje się szereg surowców roślinnych, które mogą być stosowane jako pojedyncze produkty lecznicze roślinne i umieszczone są na stronie internetowej Urzędu Rejestracji Produktów Leczniczych i Wyrobów Medycznych i Preparatów Biobójczych. Do takich surowców roślinnych należą między innymi: ziele przywrotnika (*Alchemilla vulgaris*); korzeń arcydzięgla (*Angelika archangelka*); nagietek lekarski (*Calendula officinalis*); bez czarny (*Sambucus nigra*); wiązówka błotnista (*Fillipendula almaria*); kwiatostan głogu (*laevigata*); miłorząb japoński (*Ginkgo biloba*); kozłek lekarski (*Valeriana officinalis*); morszczyn pęcherzykowaty (*Fucus vesiculosus*); melisa lekarska (*Melisa officinalis*); koper włoski (*Anethum graveolenes*);

nostrzyk żółty (*Melilotus officinalis*); łopian większy (*Arctium lappa*); jeżówka purpurowa (*Echinacea*); męczennica cielista (*Passiflora incarnata*); dziurawiec zwyczajny (*Hypericum perforatum*); hyzop lekarski (*Hyssopus officinalis*); babka lancetowata (*Plantago lanceolata*); krwawnik pospolity (*Achillea millefolium*); owoc palmy białej (*Selixa alba*); kora śliwy afrykańskiej (*Pygeum africanum*); palma sabalowa (*Serenoa repens*); kwiatostan lipy (*Tilia*) i in.

Za uznaniem, że produkty zawierające ekstrakt z liści miłorzębu japońskiego nie są żywnością, zaś zakwalifikowane zostać powinny jako produkty lecznicze, przemawia opinia ekspertów w postaci uchwały Nr 2/2007 Komisji ds. Kwalifikacji Produktów z Pogranicza.

Wiele składników występuje zarówno w suplementach diety, jak i w produktach leczniczych, np.: prawoślaz lekarski (*Althaea officinalis*); arcydzięgiel chiński (*Archangelica officinalis*); skrzyp polny (*Equisetum arvense*); podbiał pospolity (*Tussilago farfara*); kozieradka pospolita (*Trigonellae foenum-graecum*); lukrecja (*Glycyrrhiza glabra*); chmiel zwyczajny (*Humulus lupulus*); rumianek pospolity (*Matricaria chamomilla*); borówka czernica (*Vaccinium myrtillus*); babka jajowata (*Plantago ovata*); babka płesznik (*Plantago psyllium*); ostropest plamisty (*Silybum marianum*). W ostatnich latach coraz częściej stosowane są także rośliny pochodzące z Azji, m.in.: kolcowój chiński, pochryzn japoński, żeń-szeń czy też z Ameryki Południowej, m.in.: maca, opuncja, sok noni.

Wiele środków spożywczych kwalifikowanych jest jako nowa żywność. Przed wprowadzeniem do obrotu musi ona przejść procedurę zgodnie z zapisami rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) Nr 258/97 z dnia 27 stycznia 1997 r. [11]. Taka sytuacja dotyczy produktów np. zawierających sok z owoców *Morinda citrifolia* (sok z owoców noni) czy olej arganowy, które dopuszczane są do obrotu na terytorium UE w procedurze uproszczonej na podstawie opinii właściwych jednostek naukowo-badawczych.

Jest wiele preparatów z nieudokumentowaną historią spożycia substancji w nich zawartych w krajach UE przed 15 maja 1997 r. Wiele procedur aplikacyjnych dotyczących oceny składnika przez Komisję trwa. Przykładami takich substancji mogą być: owoc baobabu (nowy składnik żywności, suszony miąższ baobabu, ma zezwolenie na wprowadzanie do obrotu na mocy decyzji KE 2008/575/EC), Hoodia, Coriolus; Montmorillonit; substancja czynna „Aquamin F” pochodząca z czerwonych wapiennych glonów morskich *Lithothamnion species*; Gynostemma (*Gynostemma pentaphyllum*); *Stevia rebaudiana Bertoni* (dnia 22 lutego 2000 r. Komisja wydała decyzję Nr 2000/196/EC odmawiającą zezwolenia na wprowadzenie do obrotu roślin i suszonych liści *Stevia rebaudiana Bertoni*); owoc Evodia; rdestowca japońskiego; wyciąg z liści morwy białej.

W niektórych przypadkach nie wiadomo jakie substancje kryją się pod nazwami substancji zastosowanych w preparatach, np. bezpieczny ekstrakt z musli, ekstrakt z ptasich embrionów, czy też ekstrakt z liści Banaba, nowozelandzkie Colostrum.

Niektóre suplementy diety zawierają składniki z roślin (ekstrakty, wyciągi), które są źródłem substancji o różnym działaniu np.:

- gorzka pomarańcza (*Citrus arantium*) będąca źródłem synferyny. Zgodnie z opinią Urzędu Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych Rzeczypospolitej Polskiej (URPLW MiPB) z dnia 5 marca 2009 r., synferyna nie powinna być składnikiem suplementów diety ze względu na niebezpieczeństwo związane z jej stosowaniem – podwyższa ciśnienie tętnicze, zakłóca rytm pracy serca, wchodzi w interakcje z kofeiną i efedryną, podnosi temperaturę ciała, działa hipertermicznie. Ponadto zgodnie z ww. opinią w doniesieniach literaturowych opisano przypadki zapaści, arytmii oraz tachykardii po zastosowaniu preparatów zawierających synferynę;
- aloes (*Aloe vera*). Produkty, w których składzie znajduje się aloes i jego przetwory mogą zawierać aloinę. Aloina należy do antraglikozydów – grupy związków wykorzystywanych w lecznictwie jako środki przeczyszczające. Przetwory z liści aloesu ze względu na zawartość wielocukrów, glikoprotein, kwasów organicznych oraz mikroelementów mogą być cennym uzupełnieniem diety człowieka jako składnik suplementów diety. Ze względu na zawartość aloiny powinny również spełniać wymagania określone w rozporządzeniu Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1334/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie środków aromatyzujących i niektórych składników żywności o właściwościach aromatyzujących do użycia w oraz na środkach spożywczych. W myśl rozporządzenia aloina nie może być dodawana do środków spożywczych lub do aromatów, ale może występować w środkach spożywczych zarówno naturalnie, jak też w wyniku dodatku aromatów uzyskanych z surowców naturalnych;
- nasiona senesu oraz korzeń rzewienia. W produktach są nasiona senesu oraz korzeń rzewienia, jako surowce antranoidowe w celach przeczyszczających, były one przedmiotem opinii wiodących ekspertów w dziedzinie żywienia i farmacji. Składniki te mogą być niezależnie od dawki stosowane wyłącznie w produktach leczniczych. Stwierdzenie to znalazło odzwierciedlenie również w ocenie ryzyka dokonanej przez ekspertów z Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego – Państwowego Zakładu Higieny. Podstawą zakwalifikowania produktów zawierających senes do produktów leczniczych jest opinia Urzędu Rejestracji Produktów Leczniczych i Preparatów Biobójczych stwierdzająca, że kora kruszyny, liść senesu oraz inne surowce aneroidowe stosowane w celach przeczyszczających mogą być stosowane niezależnie od dawki wyłącznie w produktach leczniczych.

Spożycie suplementów diety a aspekt bezpieczeństwa konsumentów

Suplementy diety wprowadzane do obrotu nie mogą stanowić zagrożenia dla zdrowia i życia konsumentów. Suplementacja diety witaminami i składnikami mineralnymi w wielu przypadkach może przyczynić się do lepszej realizacji zaleceń żywieniowych. Jednak należy pamiętać o istniejącym ryzyku spożycia nadmiernych ilości witamin i składników mineralnych, które może wywoływać skutki uboczne.

Zapewnienie bezpieczeństwa stosowania suplementów diety należy do obowiązku producentów, ważne jest zatem zamieszczanie przez producentów na etykietach suplementów diety rzetelnych informacji na temat ewentualnych przeciwwskazań do stosowania, możliwych interakcji z lekami lub innymi składnikami żywności, ewentualnej konieczności konsultacji z lekarzem lub dietetykiem przed zastosowaniem produktu.

Zgodnie z obecnym stanem wiedzy należy zalecać racjonalny sposób żywienia, zapewniający pokrycie zapotrzebowania na wszystkie potrzebne składniki pokarmowe. Niewłaściwe stosowanie suplementów diety (np. nieuzasadniona suplementacja, przyjmowanie większych dawek niż zalecił producent), brak rzetelnej informacji na etykiecie dotyczącej przeciwwskazań do stosowania oraz stosowanie większej ilości suplementów diety może wiązać się z ryzykiem wystąpienia niekorzystnych działań na organizm człowieka. Stwierdzono np., że u osób palących papierosy suplementacja β -karotenem w dawkach 20 - 50 mg dziennie zwiększa ryzyko występowania raka płuc [6]. Inne badania wskazują, że jednoczesne stosowanie witaminy E i leków przeciwzakrzepowych (np. warfaryna, acenokumarol) może nasilać działanie przeciwzakrzepowe i zwiększać ryzyko krwawień [6].

Miłorząb japoński (*Ginko biloba*) wykazujący właściwości hamujące agregację płytek krwi, także może wchodzić w interakcję m.in. z lekami przeciwzakrzepowymi, np. z kwasem acetylosalicylowym (z aspiryną). Zmniejszenie agregacji płytek krwi wiąże się z możliwością wystąpienia krwotoków wewnątrzczaszkowych. Ryzyko krwawień jest zwiększone przy łącznym stosowaniu witaminy E. Jednoczesne stosowanie przez długi czas miłorzębu japońskiego i niesteroidowych leków przeciwzapalnych (np. ibuprofenu, diklofenaku, ketaprofenu) nasila działanie drażniące błonę śluzową żołądka i może spowodować krwawienie z przewodu pokarmowego [5]. Przyjmowanie natomiast żeń-szenia (*Panax ginseng*) może m.in. wzmacniać działanie leków przeciwcukrzycowych (np. insuliny), nasilając hipoglikemię (obniżenie poziomu cukru we krwi), niwelować działanie leków przeciwnadciśnieniowych (np. amlodipiny, diltiazemu) i wpływać na ciśnienie krwi, wzmacniać działanie leków przeciwzakrzepowych, co zwiększa ryzyko krwawień [5]. Prawoślaz lekarski (*Althaea officinalis*) może stać się szkodliwy w połączeniu z innymi substancjami, które zmieniają działanie śluzów (np. alkohol, garbniki, żelazo). Nie powinno się stosować także wyciągu z prawoślazu z innymi lekami, gdyż może on zmniejszać ich przyswajanie [5]. Wiązówka błotna

(*Filipendula almaria*) zawiera w swoim składzie salicylany i nie może być stosowana przez osoby uczulone na te związki. Salicylany zawiera także wierzba biała (*Selix alba*), a stosowana w zbyt dużych dawkach może ponadto powodować zaburzenia, np. nudności lub biegunkę, nie powinny jej stosować osoby cierpiące na wrzody żołądka lub dwunastnicy. Zawarte w korze wierzbowej garbniki mogą również wywoływać zaburzenia czynności przewodu pokarmowego [5]. Śliwa afrykańska (*Pygeum africanum*) może powodować niepożądane skutki uboczne: zaburzenia trawienia, nudności, zaparcia lub biegunkę. Nie powinny jej przyjmować osoby cierpiące na nadciśnienie tętnicze, małe dzieci i kobiety w ciąży [5]. Nostrzyk żółty (*Melilotus officinalis*) zawiera kumaryny, szczególnie meliloyzyd (wzmacniający naczynia żylne) oraz flawonoidy. Długotrwale stosowany wywołuje wiele skutków ubocznych ze względu na hepatotoksyczne działanie jego składników [5]. Produkty, które w swoim składzie zawierają pyłki traw powinny mieć na opakowaniu zamieszczoną informację, że produkt może wywoływać reakcje alergiczne.

Niektóre suplementy opatrzone są informacją „należy przyjmować pod kontrolą lekarza”, co budzi bardzo duże wątpliwości co do bezpieczeństwa stosowania danego suplementu diety. Na rynku pojawiają się także takie suplementy diety, które mają ten sam skład ilościowy i jakościowy, jednak na rynku funkcjonują pod różnymi nazwami. Taka sytuacja może wprowadzić konsumenta w błąd i zagrozić jego bezpieczeństwu.

Szczególnym przypadkiem są suplementy diety kierowane do dzieci. Często zdarza się, że adresatami danego produktu mają być dzieci poniżej 2 roku życia, a często także niemowlęta. Niektóre suplementy diety mają w nazwie określenie „dla dzieci”, gdy tymczasem sposób użycia przewiduje stosowanie go także przez osoby dorosłe.

Podsumowanie

Dzięki kwalifikacji suplementów diety jako środków spożywczych mogą one być oferowane w każdym sklepie spożywczym, co niewątpliwie zwiększyło możliwość nabywania tych produktów przez klientów. Innym bardzo ważnym czynnikiem finansowym dla firm farmaceutycznych jest fakt, że kwalifikacja danego produktu jako suplementu diety zwalnia od bardzo kosztownych i bardzo często długotrwałych badań klinicznych.

Warunkiem prawidłowego żywienia człowieka jest całkowite pokrycie jego zapotrzebowania na energię i wszystkie składniki pokarmowe potrzebne do rozwoju fizycznego i umysłowego oraz zachowania pełni zdrowia. Suplementy diety mogą stanowić uzupełnienie normalnej diety. Pod pojęciem normalnej diety należy rozumieć zwyczajową dietę, składającą się z tradycyjnych produktów żywnościowych. Musi zatem zawierać różnorodne produkty, czyli warzywa, owoce, produkty z pełnego ziarna, produkty strączkowe, produkty mleczne oraz ryby i chude mięso. Dieta powinna dostarczać wszystkich składników odżywczych w ilościach spełniających normy, ustalone

i zalecane na podstawie ogólnie przyjętych danych naukowych. Wyniki sondaży wskazują jednak, że w diecie ludności na całym obszarze Wspólnoty nie są spełniane wymogi w odniesieniu do wszystkich substancji odżywczych. W związku z powyższym uzupełnianie diety suplementami zawierającymi witaminy i składniki mineralne, czyli niezbędne składniki odżywcze, należy uznać za uzasadnione. Trzeba jednak mieć na względzie, że nadmierne spożycie witamin i składników mineralnych może wywoływać skutki niekorzystne dla zdrowia.

Literatura

- [1] Brzozowska A., Roszkowski W., Pietruszka B., Kałuża J.: Witaminy i składniki mineralne jako suplementy diety. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **4 (45) Supl.**, 5-16.
- [2] Commission staff working document „Characteristics and perspectives of the market for food supplements containing substances other than vitamins and minerals” – Bruksela, 5.12.2008 SEC(2008) 2976.
- [3] Dyrektywa 2002/46/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 10 czerwca 2002 r. w sprawie zbliżenia ustawodawstwa Państw Członkowskich odnoszących się do suplementów żywnościowych.
- [4] Dyrektywa Komisji 2006/37/WE z dnia 30 marca 2006 r. zmieniająca załącznik II do dyrektywy 2002/46/WE Parlamentu Europejskiego i Rady w zakresie włączenia niektórych substancji.
- [5] Lamer-Zarawska E., Kowal-Gierczak B., Niedworok J., Błach-Olszewska Z., Długosz A.: *Fitoterapia i leki roślinne*. Wyd. Lek. PZWL, Warszawa 2007.
- [6] Poskoczym K., Stoś K., Wojtasik A., Dolna-Chudobińska A., Starnawska-Oleńko A., Ciok J.: *Nadzór nad środkami spożywczymi wprowadzanymi po raz pierwszy do obrotu na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej, które podlegają procedurze powiadomienia Głównego Inspektora Sanitarnego*. Transition Facility PL/06/IB/EC/01. Warszawa 2009.
- [7] Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 10 lipca 2007 r. w sprawie znakowania środków spożywczych. *Dz. U.* 2007 r. Nr 137, poz. 966 z późn. zm.
- [8] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 23 marca 2011 r. w sprawie wzoru formularza powiadomienia o produktach wprowadzonych po raz pierwszy do obrotu na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej, rejestru produktów objętych powiadomieniem oraz wykazu krajowych jednostek naukowych właściwych do wydawania opinii. *Dz. U.* 2011 r., Nr 80, poz. 437.
- [9] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 9 października 2007 r. w sprawie składu oraz oznakowania suplementów diety. *Dz. U.* 2007 r. Nr 196, poz. 1425 z późn. zm.
- [10] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z 18 maja 2010 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie składu oraz znakowania suplementów diety. *Dz. U.* 2010 r., Nr 91, poz. 596.
- [11] Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 258/97 z dnia 27 stycznia 1997 r. dotyczące nowej żywności i nowych składników żywności. *Dz. Urz. WE L 43*, s. 1, 1997/02/14.
- [12] Rozporządzenie (WE) nr 178/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 28 stycznia 2002 r. ustanawiające ogólne zasady i wymagania prawa żywnościowego, powołujące Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności oraz ustanawiające procedury w zakresie bezpieczeństwa żywności. *Dz. Urz. WE L 31*, s.1.
- [13] Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1881/2006 z dnia 19 grudnia 2006 r. ustalające najwyższe dopuszczalne poziomy niektórych zanieczyszczeń w środkach spożywczych. *Dz. Urz. UE L 364*, s. 5.
- [14] Rozporządzenie (WE) nr 1924/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 20 grudnia 2006 r. w sprawie oświadczeń żywieniowych i zdrowotnych dotyczących żywności. *Dz. Urz. UE L 12*, s. 3 z późn. zm.

- [15] Rozporządzenie (WE) nr 1925/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 20 grudnia 2006 r. w sprawie dodawania do żywności witamin i składników mineralnych oraz niektórych innych substancji. Dz. Urz. UE L 404, s. 26.
- [16] Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1170/2009 z dnia 30 XI 2009 r. zmieniające dyrektywę 2002/46/WE Parlamentu Europejskiego i Rady, w odniesieniu do wykazów witamin i składników mineralnych oraz ich form chemicznych, które można dodawać do żywności, w tym suplementów żywnościowych. Dz. Urz. UE L 314, s. 36.
- [17] Ustawa o bezpieczeństwie żywności i żywienia z dnia 25 sierpnia 2006 r. Dz. U. 2006 r. Nr 171, poz. 1225 z późn. zm.
- [18] Ustawa: Prawo farmaceutyczne z dnia 6 września 2001 r. Dz. U. 2008 r. Nr 45, poz. 271.

DIETARY SUPPLEMENTS VS CONSUMER SAFETY

S u m m a r y

Pursuant to food and drug laws, dietary supplements are defined as foodstuffs. Therefore, they are commonly available; this fact causes that the interest therein of health-aware consumers increases. Detailed requirements on this group of foods are regulated by legal articles resulting from EU directives and regulations, as well as from the Polish domestic law. Among other things, they describe the permissible maximum content levels of vitamins and mineral components, as well as their chemical forms, which can be applied in the dietary supplements. Less precisely determined are the permissible amounts of biologically active, plant-derived substances including those used in medicinal preparations. Scientific research is still continued; they comprise all aspects of consumer safety as regards the use of those compounds by different groups of people (children, the elderly, people with certain metabolic disorders, etc.). Manufacturers or distributors of foodstuffs being marketed are responsible for their health safety. They must comply with the requirements on how to label their products since the label contents placed on the product packaging should contain, among other things: the clear term “dietary supplement”, the recommended daily intake, and the name of a nutrient. The dietary supplementation is a very good remedy to eliminate some nutrition-dependent deficiencies in human organisms. However, it also generates some potential risks to consumers in the case of unreasonable and excessive use of such products.

Key words: dietary supplement, consumer, safety ☒

EWA PIĄTKOWSKA, ANETA KOPEĆ, TERESA LESZCZYŃSKA

ANTOCYJANY – CHARAKTERYSTYKA, WYSTĘPOWANIE I ODDZIAŁYWANIE NA ORGANIZM CZŁOWIEKA

Streszczenie

Celem niniejszej pracy była chemiczna i biologiczna charakterystyka antocyjanów – barwników szeroko rozpowszechnionych w świecie roślin, o udowodnionych właściwościach prozdrowotnych.

Antocyjany należą do polifenolowych związków organicznych – flawonoidów. Obecnie znanych jest kilkaset naturalnych barwników antocyjanowych (uzyskiwanych m.in. z winogron, aronii, czarnych porzeczek) i ponad sto uzyskiwanych syntetycznie. Związki te wykazują właściwości prozdrowotne. Do najważniejszych należy działanie przeciwutleniające, przeciwzapalne, przeciwmiażdżycowe, przeciwnowotworowe.

Słowa kluczowe: polifenole, antocyjany, przeciwutleniacze, właściwości prozdrowotne

Wprowadzenie

Polifenole to jedna z głównych grup wtórnych metabolitów roślin, bardzo zróżnicowanych pod względem struktury, masy cząsteczkowej oraz właściwości fizycznych, chemicznych i biologicznych. Obecnie znanych jest kilka tysięcy związków zaliczanych do naturalnych związków fenolowych, m.in. kwasy hydroksybenzoesowe, hydroksycynamonowe, naftochinony, ksantony, stilbeny i flawonoidy [5].

Wspólną cechą polifenoli, zwłaszcza tych, w których grupy hydroksylowe występują w pozycji *orto*- lub *para*-, jest łatwość włączania się do reakcji redoks. Dzięki zdolności do przenoszenia protonów i elektronów związki fenolowe nie tylko same łatwo ulegają utlenianiu, ale również, przez chinony powstające w wyniku ich utlenienia, mogą pośredniczyć w utlenianiu innych związków, niereagujących bezpośrednio z tlenem [32].

Celem niniejszej pracy była chemiczna i biologiczna charakterystyka antocyjanów – barwników szeroko rozpowszechnionych w świecie roślin, o udowodnionych właściwościach prozdrowotnych.

Dr n. med. E. Piątkowska, dr inż. A. Kopeć, dr hab. inż. T. Leszczyńska, prof. UR, Katedra Żywienia Człowieka, Wydz. Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków

Antocyjany – charakterystyka chemiczna

Antocyjany należą do polifenolowych związków organicznych – flawonoidów, charakteryzujących się szkieletem węglowym $C_6-C_3-C_6$. Wszystkie barwniki antocyjanowe są pochodnymi kationu flawyliowego – 2-fenylobenzopiryliowego, który może występować w formie karbonyowej lub bardziej rozpowszechnionej oksoniowej [32].

Struktura antocyjanów może być bardzo złożona i zróżnicowana. Barwniki antocyjanowe różnią się rodzajem i miejscem występowania podstawników. W wyniku hydrolizy kwasowej związku te rozpadają się na cukry i antocyjanidyny, zwane inaczej aglikonami. W produktach naturalnych antocyjany występują najczęściej w postaci mono-, di- lub triglikozydów [31].

Antocyjany to duża grupa barwników roślinnych zaliczanych do tzw. naturalnych substancji nieodżywczych (NSN) pochodzenia roślinnego rozpuszczalnych w wodzie [36]. Barwniki te występują w kwiatach, owocach, liściach, łodygach, a rzadziej w korzeniach i drewnie. W komórkach znajdują się w wakuolach, w postaci granulek różnej wielkości, natomiast ściany komórkowe i tkanki mięszu nie zawierają antocyjanów.

Znanych jest kilkaset naturalnych barwników antocyjanowych i ponad 100 otrzymanych syntetycznie. Wśród ok. 20 antocyjanidyn tylko takie, jak: pelargonidyna, cyjanidyna, peonidyna, delfinidyna, petunidyna, malwidyna występują w barwnikach rozpowszechnionych w żywności pochodzenia roślinnego. W poszczególnych gatunkach owoców lub warzyw występuje od kilku do kilkunastu antocyjanów, które charakteryzują się zróżnicowaną barwą, od pomarańczowej poprzez różne odcienie czerwieni i fioleto do barwy niebieskiej, co uwarunkowane jest ich budową. Decydują one o odcieniu i stabilności barwy produktu, np. w truskawkach dominującym barwnikiem jest 3-glukozyd pelargonidyny, a w winogronach 3-glukozyd malwidyny [19, 31, 37].

Nazwa antocyjany została po raz pierwszy użyta w 1835 r. przez Marquarta do określenia niebieskich barwników kwiatów chabru [25]. Obecność szczególnie dużych ilości antocyjanów stwierdzono w tkankach roślin wysokogórskich, stąd została wysunięta hipoteza, że spełniają one rolę czynnika chroniącego tkanki przed nadmiarem promieniowania ultrafioletowego. Synteza antocyjanów jest procesem fotochemicznym, dlatego też owoce (np. morele, brzoskwinie, jabłka, gruszki) dojrzewające na drzewach i bezpośrednio naświetlane promieniowaniem słonecznym mają pełniejsze zabarwienie w stosunku do owoców zerwanych wcześniej i dojrzewających w magazynach [28]. Najintensywniejsze barwy mają młode liście oraz pędy, w których występuje niedobór chlorofilu, maskującego czystą barwę antocyjanów. Przebarwienie liści, oznaczające ujemny wpływ czynników atmosferycznych na rośliny (np.: chłód lub silne promieniowanie ultrafioletowe), spowodowane jest ich obroną przez wytwarzanie antocyjanów [3, 26].

Z uwagi na intensywną barwę znajdują one szerokie zastosowanie w przemyśle spożywczym jako barwniki. Właściwości lecznicze antocyjanów, które znane były od dawna w medycynie ludowej, obecnie coraz szerzej wykorzystywane są we współczesnym przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym [24].

Nomenklatura antocyjanów pochodzi od nazwy łacińskiej rośliny, z której dany związek został wydzielony, np.: cyjanina – kwiaty bławatka (*Centaurea cyanus* L.), delfinina – kwiaty ostróżek (*Delphinium consolida* L.), fragaryna – owoce poziomki (*Fragaria vesca* L.).

Antocyjany są związkami nietrwałymi i w środowisku wodnym, w zależności od pH, ulegają przemianom powodującym zmiany barwy produktów, z których zostały wyizolowane. W środowisku kwaśnym ($\text{pH} < 3$) mają barwę czerwoną, w środowisku obojętnym ($\text{pH} = 7$) – fioletową, natomiast w środowisku zasadowym ($\text{pH} > 11$) ich barwa staje się niebieska [17, 31].

Struktura cząsteczek antocyjanów ma istotny wpływ na odcień, intensywność oraz stabilność barwy. Zwiększenie liczby grup hydroksylowych w pierścieniu B powoduje przesunięcie maksimum absorpcji w kierunku fal długich i zmianę barwy od pomarańczowej przez czerwoną do fioletowej, natomiast zastąpienie grup hydroksylowych metoksyłowymi cofa tę tendencję. Podobne działanie wywołują także procesy kopigmentacji antocyjanów i tworzenie kompleksów z metalami. Związki mogące tworzyć kopigmenty z antocyjanami to m.in. flawonoidy, polifenole, alkaloidy lub aminy oraz same antocyjany [8, 31]. Wynikiem kopigmentacji jest zwiększenie intensywności barwy (efekt hiperchromowy) i przesunięcie maksimum absorpcji w kierunku fal długich (efekt bathochromowy). Efekt ten zależy od struktury, stosunku stężeń barwnika i kopigmentu, pH, składu rozpuszczalnika oraz temperatury środowiska [4, 32].

Nieodwracalne przemiany barwników antocyjanowych są spowodowane głównie procesami oksydatywnej polimeryzacji i powodują zmiany czerwonej, naturalnej barwy owoców, na czerwono-brunatną, charakterystyczną dla produktów długo przechowywanych. Szybkość tych przemian zależy głównie od występowania w surowcu czynników inicjujących procesy utleniania oraz od temperatury i czasu jej działania. Mechanizm przemian antocyjanów, prowadzący do tworzenia się czerwonych oligomerów i brunatnych form spolimeryzowanych, nie został dotychczas wyjaśniony. Podawane przez niektórych autorów schematy tych przemian są prawdopodobnie tylko jednymi z możliwych kierunków zachodzących procesów. Powstające w wyniku tych reakcji barwne, kilkucząsteczkowe pochodne antocyjanów są odporne na zmiany pH oraz na działanie SO_2 . Jest to korzystne, gdyż zwiększa stabilność barwy produktów o małej kwasowości. Ta właściwość jest również wykorzystywana przy oznaczaniu monomerów antocyjanów.

Ogrzewanie produktów owocowych w czasie zagęszczania czy termicznego utrwalania przyspiesza procesy oksydacyjnej polimeryzacji antocyjanów i zmiany barwy przetworów owocowych. Jednak krótkie ogrzewanie, np. kilkanaście minut w temp. 100 °C, nie powoduje widocznych zmian barwy. Podobne procesy zachodzą w czasie składowania – bardzo istotną rolę odgrywa temperatura. Przy składowaniu w temp. <10 °C, nawet przez kilka miesięcy, zmiany barwy są zwykle niewielkie [32].

Absorpcja i metabolizm antocyjanów w organizmie

Biologiczna aktywność antocyjanów jest mocno związana z ich absorpcją i metabolizmem. Ostatnie badania wskazują, że związki te są w ograniczony sposób absorbowane z żywności, a ich stężenie w osoczu mieści się w zakresie nM - μM (niskie wartości). Wchłanianie antocyjanów zachodzi zarówno w żołądku, jak i w jelicie cienkim [33]. Duża część tych związków nie ulega metabolizmowi, bądź też przekształca się w pochodne glukuronidów czy też sulfokoniugaty. Antocyjany i ich metabolity mogą być obecne w moczu do ok. 24 h po ich spożyciu [8, 13].

Występowanie antocyjanów w roślinach; ich znaczenie i zastosowanie

Głównym źródłem pozyskiwania antocyjanów, w skali światowej, są winogrona. Stanowią one jedną czwartą światowych zbiorów owoców, a ponad połowa z nich to winogrona czerwone. Po procesie tłoczenia moszczu w ich skórkach pozostaje duża ilość antocyjanów, które są ekstrahowane w dalszych etapach. Coraz częściej proces obróbki winogron czerwonych nastawiony jest na uzyskanie koncentratu winogronowego o spotęgowanych właściwościach barwiących. W naszej strefie klimatycznej głównymi surowcami antocyjanowymi są: aronia i czarna porzeczka. W przyszłości, w produkcji antocyjanów zaznaczy się coraz większy udział surowców, które obecnie można uznać za niekonwencjonalne. Takim surowcem jest np. czarna marchew. Pomarańczowa marchew, jaką znamy obecnie (zawierająca karoten) jest stosunkowo młodym surowcem w kuchni. Marchew używana przez naszych przodków była biała bądź czarna. Marchew czarną nadal wykorzystuje się do celów konsumpcyjnych w Turcji. Za czarną barwę jej korzenia odpowiedzialne są właśnie antocyjany. Obecnie obserwuje się ponowne zainteresowanie tym warzywem ze względu na możliwość uzyskiwania z niej antocyjanów. Jednorodność i stabilność związków występujących w marchwi czyni z niej dobre źródło substancji do barwienia napojów na kolor czerwony [25].

Jednym z powszechnie występujących surowców antocyjanowych jest owoc borówki czernicy (*Vaccinium myrtillus* L.), zwanej inaczej czernicą, czarną jagodą lub borówką. Wywary z owoców stosowane są jako środek przeciwzapalny, przeciwbiegunkowy i przeciwwrzodowy. Borówki stosuje się w niezżytach żołądka i jelit oraz w zapaleniu pęcherza i dróg moczowych. Owoce borówki są stosowane w przemyśle

spożywczym jako barwniki do win, soków oraz wyrobu konfitur, dżemów i barwienia deserów. Suszone owoce używane są w mieszankach ziołowych [24].

Cyjanina jest jednym z antocyjanów występujących w kwiatach bławatka (chaber, modrak – *Centaurea cyanus* L.). Jest to roślina kwitnąca od maja do września o intensywnie niebieskiej barwie kwiatów. Do celów przemysłowych zbiera się same kwiaty wyskubane z koszyczków kwiatowych i suszy szybko w warunkach naturalnych w cieniu lub suszarniach ogrzewanych do temp. 35 °C. Surowiec ma piękną szafirową barwę i wykorzystywany jest do mieszanek ziołowych [15]. Bławatek, mimo że jest chwastem rosnącym na łąkach i w zbożu, jest rośliną miododajną, wchodzi w skład kadzideł i jest używany w przemyśle farbiarskim. W ziołolecznictwie wykorzystywany jest w chorobach wątroby i w nieprawidłowej przemianie materii. Charakteryzuje się działaniem przeciwzapalnym i stosowany jest jako środek moczopędny w chorobach nerek i dróg moczowych [24].

Kwiat malwy czarnej (*Malve hortensis*) zawierający malwidynę jest jednym z najbogatszych surowców antocyjanowych. Jest to uprawna roślina dwuletnia. W drugim roku wegetacji wytwarza pęd kwiatowy do 3 m wysokości z licznymi kwiatami zabarwionymi od występujących w nich antocyjanów na ciemnofioletowo lub prawie czarno. Zbierane są same kwiaty, które następnie są suszone i wykorzystywane do barwienia win, likierów, przetworów spożywczych, a także tkanin [15]. W lecznictwie surowiec ten stosuje się w stanach zapalnych jamy ustnej i gardła oraz przy chrypce i przy zaburzeniach miesiączkowych oraz pomocniczo w łagodzeniu nieprzyjemnych objawów okresu przekwitania u kobiet [15, 16].

Owoc bzu czarnego (*Fructus sambitci*), podobnie jak bławatek, zawiera glikozydy cyjaniny. Bez jest drzewem lub krzewem pospolitym w całym kraju. Czasem wprowadzane są do uprawy wyhodowane odmiany tego gatunku. Rośliny mają charakterystyczny nieprzyjemny zapach. Surowcem zielarskim i barwierskim są owoce. Dojrzałe mają prawie czarna barwę [15]. Stosuje się je jako środek o działaniu napotnym w chorobach przeziębieniowych, w stanach zapalnych żołądka i jelit, mają też właściwości moczopędne i przeciwbiegunkowe. W starożytności Rzymianie używali czarnego bzu do farbowania włosów [14, 16].

Ketmia szczawiowa (*Hibiskus sabdariffa* L.) to niski krzew uprawiany w rejonach o ciepłym klimacie. Jako surowiec zbiera się mięsiste kielichy kwiatowe zawierające znaczne ilości barwnika antocyjanowego – hibiscyny, kwasów organicznych i witaminy C. Wysuszone kielichy stosuje się do zabarwiania herbatek ziołowych, które nadają im piękną czerwoną barwę [15].

Aronia (*Aronia*) jest krzewem wprowadzonym do upraw ze względu na cenny surowiec i obfite owocowanie. Owocami są niebieskoczarne kuliste pestkowce. Miąższ dojrzałych owoców jest prawie czarny, a wyciśnięty sok rubinowy, silnie barwiący [15]. Sok ten, bogaty w antocyjany i flawonoidy, zalecany jest w przypadku nadciśnie-

nia tętniczego, nadczynności gruczołu tarczycowego, infekcjach dróg moczowych, a także w chorobach siatkówki oka [16]. Z uwagi na obecność antocyjanów o właściwościach przeciwutleniających zaleca się spożywanie soku z aronii, jak i czarnych porzeczek, zwłaszcza w diecie przeciwmiażdżycowej [23]. Można go stosować także zewnętrznie przy oparzeniach. Owoce służą do produkcji soków, syropów, kompotów, dżemów i konfitur [15].

Porzeczka czarna (*Ribes nigrum* L.) to krzew występujący w naturalnych zespołach wilgotnych lasów i zarośli. Uprawiany powszechnie w ogrodach. Nadziemne części roślin mają charakterystyczny zapach. Zbiera się owoce, którymi są jagody zabarwione na ciemnofioletowo. Barwę zawdzięczają nagromadzonym w nich związkach antocyjanowym pochodnym cyjanidyny i delfinidyny. Owoce porzeczki czarnej bogate są w witaminy C i B, pektyny oraz cukry. Z tych też względów polecane są do wyrobu konfitur, soków i napojów alkoholowych. Antocyjany zawarte w owocach i przetworach mogą służyć jako naturalne barwniki stosowane do żywności. Podkreśla się także ich działanie usprawniające przemianę materii oraz zwiększające odporność organizmu [15]. W badaniach na modelu zwierzęcym wykazano także, że antocyjany ekstrahowane z czarnych porzeczek znacząco zmniejszają poziom całkowitego cholesterolu, cholesterolu frakcji LDL i VLDL [27].

Innym źródłem antocyjanów jest kapusta czerwona, z której uzyskuje się antocyjany o barwie przesuniętej w głęboki fiolet [25]. Odmiana ta, o liściach wybarwionych ciemnofioletowo, jest rośliną uprawianą i cenioną jako warzywo. Stosowana do barwienia żywności, a wyciągi wodne z liści mogą służyć jako wskaźnik odczynu pH, gdyż zmieniają barwę od ciemnofioletowej przez odcienie czerwonej aż do prawie żółtej. Odczynnik ten, chociaż uniwersalny, jest niestety nietrwały [15].

Ciekawym potencjalnym źródłem może być także kukurydza – antocyjany ekstrahowane z jej okrywy nasiennej zachowują czerwoną barwę przy wysokich wartościach pH.

Pod koniec lat 80. XX w. pojawiły się na naszym rynku ziemniaki sałatkowe o miąższu wybarwionym na fioletowo antocyjanami, jednak nie znalazły one uznania klientów [24].

Prozdrowotne zastosowanie antocyjanów

Działanie przeciwmiażdżycowe

Interesującym przykładem kompleksowego kardioprotekcyjnego działania polifenoli, w tym antocyjanów, jest zjawisko „francuskiego paradoksu”. Przypuszcza się, że spożywanie dużych ilości winogron i czerwonego wina, obfitujących w te związki, jest przyczyną zmniejszonej zachorowalności Francuzów na miażdżycę w porównaniu z mieszkańcami innych krajów zachodniej Europy [21, 35].

Badania na ochotnikach i zwierzętach wykazały, że antocyjanidyny mają dobroczynny wpływ na funkcję śródbłonna, poprzez jego aktywację i uwalnianie tlenu azotu odpowiedzialnego m.in. za rozszerzanie naczyń krwionośnych, zmniejszenie agregacji płytek krwi i ograniczenie przechodzenia lipoprotein z osocza do ściany naczynia [7]. Spożycie soku z czerwonych winogron poprawiało rozszerzanie naczyń wieńcowych indukowane przepływem krwi u chorych z zakłóconą funkcją endotelium. Czerwone wino przywracało do normy ostrą dysfunkcję śródbłonna spowodowaną spożyciem nasyconych tłuszczów i paleniem papierosów u zdrowych ochotników. W badaniach *in vitro* stwierdzono, że związki z czerwonego wina wydajnie zmniejszają syntezę peptydu o silnych właściwościach obkurczających naczynia [6].

W wielu eksperymentach ponadto wykazano korzystny wpływ czerwonego wina oraz frakcji polifenolowych z winogron na istotny element układu krzepnięcia krwi, jakim jest agregacja płytek. U ludzi i psów zaobserwowano zmniejszoną skłonność do agregacji płytek krwi po okresie podawania soku z winogron i czerwonego wina. Efektu takiego nie powodowało białe wino. U szczurów czerwone wino wydłużyło czas krwawienia i zmniejszyło masę skrzepu oraz adhezję płytek do kolagenu. Także podanie psom czerwonego wina i soku z winogron poprawiało przepływ krwi w zwężonych tętnicach wieńcowych i hamowało w badaniach *ex vivo* agregację płytek indukowaną kolagenem. Podobny efekt hamowania agregacji płytek *ex vivo* obserwowano u małp, którym podawano przez siedem dni sok z winogron [29].

Wykazano ponadto, że produkty obfitujące w antocyjany mogą korzystnie wpływać na profil lipidowy i zmniejszać stres oksydacyjny. Xia i wsp. [38] wykazali, że w aortach myszy ApoE^{-/-} karmionych dietą z 3 % dodatkiem ryżu czarnego (obfitującego w antocyjany – 31,3 mg/g s.m.) mniejsza była powierzchnia zmian miażdżycowych w porównaniu do grupy kontrolnej. Guo i wsp. [10] wykazali, że ekstrakt z czarnego ryżu wykazuje działanie prewencyjne w syndromie metabolicznym poprzez obniżenie profilu lipidowego i zwiększenie wrażliwości na insulinę u szczurów na diecie wysoko fruktozowej. Wykazano ponadto, że ekstrakt z ryżu czarnego w organizmie szczurów doświadczalnych karmionych dietą aterogenną wpłynął na zmniejszenie zawartości cholesterolu całkowitego frakcji LDL i triacylogliceroli [39].

Wpływ antocyjanów na wzrok

Przemęczenie oczu, zaburzenia mikrokrążenia siatkówkowego i naczyniowego, pogorszenie ostrości widzenia o zmroku, to m.in. efekty wielogodzinnej pracy przy komputerze lub śledzenia ekranu telewizyjnego. Młodzi, zdrowi ludzie bez trudu znoszą takie przeciążenia, jednak u osób starszych lub chorych mogą prowadzić do pogorszenia stanu zdrowia. Według Hofeckera, u osób po siedemdziesiątym roku życia wytrzymałość organizmu spada mniej więcej o połowę i może także wynikać z niedoboru substancji odżywczych. W pewnym stopniu jest ono podobne do tzw. zmęczenia wio-

sennego. Należy wówczas dostarczyć organizmowi niezbędnych składników pokarmowych, zawartych w sokach warzywnych i owocowych [11].

Borówka czernica (*Vaccinium myrtillus* L.) jest stosowana jako środek spożywczy w postaci soku lub jako owoce ze względu na dużą wartość odżywczą. W leczeniu tradycyjnym była stosowana w terapii szkorbutu, infekcjach moczowych, cukrzycy i w upławach z narządów rodnych. W ubiegłym wieku składniki tych owoców wzbudziły duże zainteresowanie ze względu na ich wpływ na naczynia krwionośne i znaczenie w oftalmologii, czego doświadczyli piloci RAF. Lotnicy, którzy spożywali w ramach przydziałowego prowiantu dżem z owoców borówki czernicy lepiej widzieli o zmroku. Badania chemiczne i farmakologiczne przeprowadzone w ostatnich 20 latach z różnymi frakcjami borówki czernicy pozwoliły stwierdzić, że dzięki obecności antocyjanów surowiec ten może odgrywać pozytywną rolę w oftalmologii i chorobach pochodzenia naczyniowego. Bogate w antocyjany owoce borówki są źródłem otrzymywania standaryzowanych wyciągów zmniejszających kruchość naczyń włosowatych i normalizujących niektóre dolegliwości wzroku [18].

Z owoców i liści borówki zostało wyodrębnionych wiele związków należących do różnych grup chemicznych: flawonoidów, witamin, cukrów, pektyn, kwasów organicznych, irydoidów i terpenów. W owocach występują różne polifenole, jak antocyjany odpowiedzialne za barwę owoców, pochodne kwasów hydroksycynamonowego i benzoosowego oraz glikozydy flawonolowe.

W eksperymentach na zwierzętach owoce borówki czernicy i jej ekstrakty wykazały działanie osłaniające naczynia na poziomie kapilarnym, polepszając przepuszczalność śródbłonna i zmniejszając kruchość naczyń włosowatych. Badania eksperymentalne nad właściwościami oftalmicznymi antocyjanów przeprowadzili w latach 60. ubiegłego wieku Alfieri i Sole [1]. Stwierdzili, że dożylne podawanie królikom mieszaniny antocyjanów (160 mg/kg) polepszało adaptację oka do widzenia po zapadnięciu zmroku. Polepszenie funkcji wzrokowych jest prawdopodobnie związane ze wzrostem stopnia regeneracji rodopsyny. Badania biochemiczne wykazały, że antocyjany, zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*, mogą modyfikować kilka enzymatycznych parametrów, szczególnie aktywność dehydrogenazy laktanów. Zmiany aktywności tych enzymów prowadzą do uszkodzeń siatkówki.

Znaczenie borówki czernicy w schorzeniach związanych z osłabioną fotowrażliwością lub ze zmianami mikrokrążenia w siatkówce udowodniono w wielu badaniach. Frakcja antocyjanowa owoców wykazuje specyficzną aktywność w obszarze relacji mikrokrążenie – tkanka. Znaczenie naczyń kapilarnych i otaczającej tkanki jest ostatnio podkreślane w patogenezie i ewolucji schorzeń pochodzenia mezenchymalnego. Antocyjanom zawartym w owocach borówki czernicy przypisuje się obecnie trzy główne kierunki działania prewencyjnego. Należą do nich polepszenie mikrokrążenia, wydolności żylnych kończyn dolnych (żylaki), zmniejszenie dolegliwości wzrokowych

pochodzenia funkcjonalnego (krótkowzroczność, ślepotą dzienna) lub spowodowanych osłabioną, fotowrażliwością w retinopatii cukrzycowej. Antocyjany z borówki próbowano stosować do zwiększenia percepcji wzrokowej zdrowych osób w słabym świetle i do podwyższenia stopnia adaptacji do zmieniającego się oświetlenia. Badania kliniczne 37 zdrowych osób wykazały znaczne podwyższenie krzywej adaptacji siatkówki i pewne wzmocnienie ostrości widzenia w świetle przyćmionym. Działanie rozszerzonego zakresu widzenia utrzymywało się przez 24 godziny. Badania osób z barwnikowym zwyrodnieniem siatkówki wykazały rozszerzenie zakresu wzroku i wyższą krzywą adaptacji po zastosowaniu antocyjanów. Przypuszcza się, że pozytywne działanie na oczy wynika z wpływu antocyjanów na kolagen w oku i zwiększenie przepuszczalności kapilarnej. Wykazano również hamowanie niebezpiecznej aktywności enzymów w siatkówce, podczas gdy w tym samym czasie wzrastał metabolizm siatkówki [20, 22]. Wyciąg antocyjanowy z owoców borówki czernicy, sam lub w połączeniu z β -karotenem i witaminą E, podany zdrowym osobom lub pacjentom ze schorzeniami wzrokowymi, wywołał u dużej liczby ochotników polepszenie widzenia nocnego, szybszą adaptację do ciemności i szybsze przywrócenie ostrości wzrokowej wraz z ekspozycją na błysk jasnego światła [18]. Badania kontrolerów ruchu powietrznego, pilotów lotniczych, kierowców samochodów osobowych i ciężarowych udowodniły, że wyciąg antocyjanowy jest zdolny polepszyć nocne widzenie i przystosować wzrok do ciemności. Badano także, za pomocą pomiarów komputerowych, wpływ połączenia wyciągu z owoców borówki (150 mg/dziennie przez 15 dni) i retinolu na wrażliwość siatkówki u krótkowzrocznych pacjentów. Znaczne polepszenie wrażliwości siatkówki oka zaobserwowano u 32 z 42 diagnozowanych osób [18]. W kilku schorzeniach ocznych, takich jak choroby siatkówki typu wirusowego, prosta jaskra oraz toksyczne niedowidzenie, wyciąg z antocyjanów łagodził zmiany na poziomie naczyń siatkówki lub zapobiegał zmianom w polu widzenia.

Protekcjne działanie antocyjanów w chorobach nowotworowych

Antocyjany są bardzo dobrymi czynnikami powodującymi wygaszanie wolnych rodników tlenowych m.in. tlenu singletowego, anionorodnika ponadtlenowego, rodnika hydroksylowego. To działanie jest związane z ich budową chemiczną, a mianowicie z obecnością grup hydroksylowych w pozycji 3 pierścienia C i w pozycji 3', 4' i 5' w pierścieniu B [30].

W badaniach na liniach komórkowych wykazano, że antocyjany indukują antyoksydanty II fazy i ekspresję enzymów detoksykacyjnych, wśród których należy wymienić reduktazę, peroksydazę i S-transferazę glutationową [33]. Czyste antocyjany i ich ekstrakty uzyskane z owoców i warzyw wykazują dużą aktywność antyproliferacyjną w komórkach nowotworowych różnych typów w badaniach *in vitro*. Proliferacja komórkowa była hamowana dzięki zdolności blokowania przez antocyjany różnych eta-

pów cyklu komórkowego poprzez wpływ na białka regulatorowe (np. p53, p21, p27, cyklina D1, cyklina A) [40], a także poprzez blokowanie szlaku przekazu sygnału kinazy białkowej aktywowanej mitogenem [12]. Ekstrakt uzyskany z owoców borówki i winogron, jak również czyste antocyjany i antocyjanidyny aktywują proces apoptozy, czyli zaprogramowanej śmierci komórki. W wyniku ich działania następuje uruchomienie wewnątrz- i zewnątrzkomórkowych szlaków przekazu sygnału (m.in.: zwiększenie potencjału błony mitochondrialnej, uwolnienie cytochromu c i regulacja zależnych od kaspaz pro- i antyapoptotycznych białek, regulacja ekspresji licznych genów) [9]. Badania Bagchi i wsp. [2] na komórkach śródbłónki wykazały antyangiogenne działanie antocyjanów. Mechanizm ten polega na hamowaniu ekspresji genu VEGF należącego do rodziny czynników wzrostowych komórek endotelialnych, a także poprzez zablokowanie ekspresji receptora dla tego czynnika i zablokowaniu szlaku przekazu sygnału PI3K/Akt.

Podsumowanie

Antocyjany to substancje, które wg alfanumerycznego systemu oznaczeń Unii Europejskiej figurują jako E 163, a ich funkcja określana jest jako barwnik. Są to polifenolowe związki o charakterze glikozydowym, występujące w roślinach. Dzięki swojej reaktywności mają zdolność wyłapywania wolnych rodników i wykorzystywane są w organizmie człowieka jako naturalne przeciwutleniacze. Przeciwdziałają one kruchości naczyń krwionośnych, zwłaszcza naczyń włosowatych oraz stymulują produkcję rodopsyny – substancji ważnej w procesie widzenia. Dodatkowo wpływają one na obniżenie szybkości reakcji utleniania LDL cholesterolu, który jest składnikiem blaszek miażdżycowych.

Biorąc pod uwagę wszystkie zalety oraz fakt, że nie wykryto żadnych negatywnych skutków oddziaływania antocyjanów w naszym organizmie, powinno się zwiększyć podaż produktów bogatych w te związki w codziennej diecie. Przestrzegając zasad prawidłowego żywienia, dotyczących zwłaszcza spożywania 5 razy w ciągu dnia świeżych warzyw i owoców, powinno się dostarczać odpowiednią ilość substancji bioaktywnych, zwłaszcza antocyjanów.

Literatura

- [1] Alfieri R., Sole P.: Influence of anthocyanosides administered parenterally on the adaptor-rutinogram of the rabbit. C R Seances Soc. Biol. Fil., 1964, **1 (58)**, 2338-2341.
- [2] Bagchi D., Sen C.K., Bagchi M., Atalay M.: Anti-angiogenic, antioxidant, and anti-carcinogenic properties of novel anthocyanin-rich berry extract formula. Biochem. (Mosc), 2004, **69**, 75-80.
- [3] Banaszczak P.: W kolorze purpury. Ogrody, 2001, **7**, 14-15.

- [4] Brouillard R., Mazza G., Saad Z., Albrecht-Gary A.M., Cheminat A.: The co-pigmentation reaction of anthocyanins: a microprobe for the structural study of aqueous solution. *J. Am. Chem. Soc.*, 1989, **111**, 2604-2610.
- [5] Clifford MN.: Anthocyanins – nature, occurrence and dietary burden. *J. Sci. Food Agric.*, 2000, **80**, 1063-1072.
- [6] Corder R., Douthwaite J.A., Lees D.M., Khan N.Q., Viseu Dos Santos A. C., Wood E.G., Carrier M.J.: Endothelin-1 synthesis reduced by red wine. *Nature*, 2001, **414**, 863-864.
- [7] Duffy S.J., Keaney J.F.Jr, Holbrook M., Gokce N., Swerdloff P.L., Frei B., Vita J. A.: Short- and long-term black tea consumption reverses endothelial dysfunction in patients with coronary artery disease. *Circulation*, 2001, **104**, 151-156.
- [8] Felgines K., Talavera S., Texier O., Gil-Ozquierdo, Lamaison J-L., Remesy Ch.: Blackberry anthocyanins are mainly recovered from urine as methylated and glucuronidated conjugates in humans. *J. Agric. Food Chem.*, 2005, **53**, 7721-7727.
- [9] Feng R., Ni H.M., Wang S.Y., Tourkova I.L., Shurin M.R., Harada H., Yin X.M.: Cyanidin-3-rutinoside, a natural polyphenol antioxidant, selectively kills leukemic cells by induction of oxidative stress. *J. Biol. Chem.*, 2007, **282**, 13468-13476.
- [10] Guo H., Ling W., Wang Q., Liu C., Hu Y., Xia M., Feng X., Xia X.: Effect of anthocyanin-rich extract from black rice (*Oryza sativa L. indica*) on hyperlipidemia and insulin resistance in fructose-fed rats. *Plant Foods for Human Nutrition*, 2007, **62**, 1-6.
- [11] Hofecker G.: The physiology and pathophysiology of ageing. *Int. Dent. J.*, 1983, **33**, 251-61.
- [12] Hou D.X., Kai K, Li J.J., Lin S., Terahara N., Wakamatsu M., Fujii M., Young M.R., Colburn N.: Anthocyanidins inhibit activator protein 1 activity and cell transformation: structure–activity relationship and molecular mechanisms. *Carcinogenesis*, 2004, **25**, 29-36.
- [13] Kay CD., Mazza G., Holub BJ.: Anthocyanins exist in the circulation primarily as metabolites: a study of the metabolism and pharmacokinetics of cyaniding 3-glucosides in humans. *J. Nutr.*, 2005, **135**, 2582-8.
- [14] Kohlmünzer S.: *Farmakognozja. Podręcznik dla studentów farmacji.* Wyd. Lek. PZWL, Warszawa 2010.
- [15] Kozłowski J.: Rośliny bogate w barwniki oraz ich znaczenie i zastosowanie. *Cz.I. Wiad. Ziel.*, 2002, **5**, 9-12.
- [16] Kuźnicka B., Dziak M.: *Zioła i ich zastosowanie.* PZWL, Warszawa 1987.
- [17] Lewicki P.: Flawonoidy w żywności. *Wiadomości Chemiczne*, 1966, **20**, 47-57.
- [18] Lutomski J.: Borówka czernica – na lepsze widzenie. *Wiad. Ziel.*, 2002, **1**, 1-2.
- [19] Mateus N., Silva A.M.S., Rias-Gonzalo J.C., Santos-Buelga C., de Freitas V.: A new class of blue anthocyanin-derived pigments isolated from red wines. *J. Agric. Food Chem.*, 2003, **51**, 1919-1923.
- [20] Matsumoto H., Nakamura Y., Tachibanaki S., Kawamura S., Hirayama M.: Stimulatory effect of cyanidin 3-glycosides on the regeneration of rhodopsin. *J. Agric. Food Chem.*, 2003, **51**, 3560-3563.
- [21] Mazza G.J.: Anthocyanins and heart health. *Ann. Ist. Super Sanita*, 2007, **4**, 369-374.
- [22] Mercier A., Perdriel G., Rozier J., Cheraleraud J.: Note concerning the action of anthocyanin glycosides on the human electroretinogram. *Bull. Soc. Ophthalmol. Fr.*, 1965; **65**, 1049-1053.
- [23] Michalik B.: Aronia – źródło zdrowia i młodości. *Żyjmy dłużej*, 1999, **7**, 16.
- [24] Mitka K., Nowak K., Kowalski P.: Antocyjany - naturalne barwniki środków spożywczych. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2003, **3**, 17-18.
- [25] Mosiewicz R.: Antocyjany – zdrowa alternatywa. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2002, **2**, 1- 2.
- [26] Narkiewicz M.: Fiolety zamiast zieleni. *Kwietnik*, 2000, **1**, 8-9.
- [27] Nielsen I.L., Rasmussen S.E., Mortensen A., Ravn-Haren G., Ma H.P., Knuthsen P., Hansen B.F., McPhail D., Freese R., Breinholt V., Frandsen H., Dragsted Lo.: Anthocyanins increase low-density


- lipoprotein and plasma cholesterol and do not reduce atherosclerosis in Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. *Molec.r Nutr. Food Res.*, 2005, **49**, 301-308.
- [28] Nyrek S.: *Chemia organiczna*. PWN, Warszawa 1976.
- [29] Rasmussen S.E., Fredriksen H., Struntze Krogholm K., Poulsen L.: Dietary proanthocyanidins: occurrence, dietary intake, bioavailability, and protection against cardiovascular disease. *Mol. Nutr. Food Res.*, 2005, **49**, 159-174.
- [30] Renis M., Calandra L., Scifo C., Tomasello B., Cardile V., Vanella L., Bei R., Fauci L.L. Galvano F. Response of cell cycle/stress-related protein expression and DNA damage upon treatment of CaCo2 cells with anthocyanins. *Br. J. Nutr.*, 2007, **100** (1), 1-9.
- [31] Sikorski Z.: *Barwniki. Chemiczne i funkcjonalne właściwości składników żywności*. WNT, 1996, ss. 414-422.
- [32] Sikorski Z. (pod red.): *Chemia żywności. Składniki żywności*. WNT, Warszawa, 2002, s. 401-420.
- [33] Singletary K.W., Jung K.J., Giusti M.: Anthocyanin-rich grape extract blocks breast cell DNA damage. *J. Med. Food*, 2007, **10**, 244-251.
- [34] Talavera S., Felgines C., Terrier O., Besson C., Lamaison JL., Remesy C.: Anthocyanins are efficiently absorbed from the stomach in anesthetized rats. *J. Nutr.*, 2003, **133**, 4178-4182.
- [35] Theobald H., Bygren L. O., Carstensen J., Engfeldt P.: A moderate intake of wine is associated with reduced total mortality and reduced mortality from cardiovascular disease. *J. Stud. Alkohol.*, 2000, **61**, 652-656.
- [36] Troszyńska A., Honke J., Kozłowska H.: Naturalne substancje nieodżywcze (NSN) pochodzenia roślinnego jako składniki żywności funkcjonalnej. *Postępy Fitoterapii*, 2000, **2**, 17-22.
- [37] Wrolstad R.E.: Anthocyanins. In: Lauro GJ, Francis FJ (Ed). *Natural food colorants science and technology*. Marcel Dekker Inc; New York 2000, pp. 237-52.
- [38] Xia X., Ling W., Ma J., Xia M., Hou M., Zhu H., Tang Z.: An anthocyanins-rich extract from black rice enhances atherosclerotic plaque stabilization in apolipoprotein E-deficient mice. *J. Nutr.*, 2006, **136**, 2220-2225.
- [39] Zawistowski J., Kopec A., Kitts D.D.: Effect of a black rice extract (*Oryza sativa L. indica*) on cholesterol levels and plasma lipid parameters in Wistar Kyoto rats. *J. Funct. Foods*, 2009, **1**, 50-56.
- [40] Zhang Y., Vareed S.K., Nair M.G.: Human tumor cell growth inhibition by nontoxic anthocyanidins, the pigments in fruits and vegetables. *Life Sci.*, 2005, **76**, 1465-1472.

ANTHOCYANINS – THEIR PROFILE, OCCURRENCE, AND IMPACT ON HUMAN ORGANISM

S u m m a r y

The objective of the paper was to present the chemical and biological profile of anthocyanins - natural dyes, which occur very commonly in the plant world and have proven health benefits.

Anthocyanins belong to the polyphenolic organic compounds – flavonoids. At present, there are known several hundred natural anthocyanin pigments (among other things, those isolated from red grapes, chokeberries, and blackcurrants) and more than one hundred synthetic ones. Those compounds show health benefits. Among them, the most important are their antioxidant, anti-inflammatory, anti-atherosclerotic, and anti-carcinogenic activity.

Key words: polyphenols, anthocyanins, antioxidants, health benefits 

BARBARA KOŁODZIEJ, KATARZYNA DROŹDŻAL

WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWIUTLENIAJĄCE KWIATÓW I OWOCÓW BZU CZARNEGO POZYSKIWANEGO ZE STANU NATURALNEGO

Streszczenie

W pracy przedstawiono wyniki badań dotyczących właściwości przeciwutleniających ekstraktów wodnych z kwiatów oraz owoców bzu czarnego zbieranego z 17 miejsc naturalnego występowania w Polsce oraz oceniono wpływ zawartości polifenoli ogółem na właściwości przeciwutleniające badanych surowców. Stwierdzono, że kwiaty bzu czarnego zawierały więcej związków polifenolowych niż owoce pochodzące z tych samych miejsc naturalnego występowania, a ich zawartość w istotny sposób zależała od miejsca pozyskania surowca ze stanu naturalnego. Stwierdzono dodatnią korelację pomiędzy zawartością związków polifenolowych a aktywnością antyoksydacyjną surowca bzu czarnego. Zastosowane metody badawcze (FRAP, DPPH) potwierdziły wysoką aktywność antyoksydacyjną surowca bzu czarnego, przy czym była ona największa w przypadku kwiatu

Słowa kluczowe: bez czarny, kwiaty, owoce, właściwości przeciwutleniające, FRAP, DPPH

Wprowadzenie

Wolne rodniki są reaktywnymi cząstkami, które odgrywają kluczową rolę w patogenezie chorób cywilizacyjnych. Ich obecność wywołuje stres oksydacyjny, który jest przyczyną przeciążenia i nieskuteczności naturalnych systemów obronnych organizmu. Wiedza na temat szkodliwości wolnych rodników skłania do poszukiwania substancji wspomagających naturalną obronę antyoksydacyjną. Szczególną uwagę zwracają wtórne metabolity pozyskiwane z roślin o uznanym działaniu dietetycznym lub leczniczym [7].

Produkty pochodzenia roślinnego dostarczają unikalnych składników, niezbędnych podczas wielu reakcji metabolicznych zachodzących w organizmie człowieka. Wiele spośród nich wykazuje właściwości przeciwutleniające, polegające na zdolności neutralizowania reaktywnych form tlenu (RFT) [24]. RFT są to cząsteczki chemiczne zawierające atomy tlenu z niesparowanym elektronem. Powstają jako naturalny pro-

Prof. dr hab. B. Kołodziej, mgr inż. K. Drożdżal, Katedra Roślin Przemysłowych i Leczniczych, Wydz. Agrobiotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Akademicka 15, 20-950 Lublin

dukt metaboliczny, jeśli jednak ich liczba drastycznie wzrośnie, powodują niszczenie struktur komórkowych i stają się przyczyną wielu chorób. Organizm człowieka ma system ochronny przed wolnymi rodnikami, który stanowią antyoksydanty endogenne, jednak ważną rolę w zmniejszaniu uszkodzeń oksydacyjnych pełnią antyoksydanty żywieniowe, do których należą między innymi związki fenolowe, witaminy C i E oraz karotenoidy [10, 17]. Naturalne przeciwutleniacze zawarte w owocach, warzywach oraz ziołach odgrywają istotną rolę w profilaktyce i leczeniu wielu chorób, w tym chorób cywilizacyjnych [1, 10, 11, 21]. Jedną z ważnych roślin dostarczających zarówno surowca zielarskiego, jak i używanego w przemyśle spożywczym, jest bez czarny (*Sambucus nigra* L.). Kwiaty bzu (*Sambuci flos*) zawierające głównie flawonoidy (wśród nich kemferol, kwercetynę, izokwercetynę, rutozyd), kwasy (m.in. kawowy, chlorogenowy) oraz olejek eteryczny (zawierający ok. 58 składników) stosowane są jako środek napotny, przeciwgorączkowy, moczopędny i uszczelniający naczynia krwionośne [14]. Natomiast owoce (*Sambuci fructus*) zawierają obok flawonoidów znaczne ilości antocyjanów i witamin, dlatego też działają podobnie jak kwiaty oraz odtruwająco, przeciwwirusowo oraz wzmacniająco [23, 25]. Obydwa rodzaje surowca poza znaczeniem leczniczym wykorzystywane są na coraz większą skalę w przemyśle spożywczym, m.in.: USA, Danii, Włoszech, Austrii, Niemczech, Anglii [15, 18]. Owoce zawierają od 0,2 do 1 % antocyjanów (głównie cyjanidyno-3-O-glikozyd, cyjanidyno-3-O-5-O-diglikozyd, cyjanidyno-3-O-sambubiozyd i sambucynę) oraz ok. 0,01 % olejku eterycznego (w skład którego wchodzi ok. 53 związków), dzięki czemu używane są jako naturalny barwnik oraz do aromatyzowania produktów spożywczych (m.in. win i soków owocowych, dżemów, marmolad) [13, 18, 23]. W niedojrzałych owocach występuje sambunigryna – glikozyd cyjanogeny, który może być czynnikiem limitującym przemysłowe wykorzystanie surowca. Jednak badania duńskie wskazują, że przeprowadzanie zbiorów owoców 14 dni po osiągnięciu fazy 10 % dojrzałości baldachów, a podczas przerobu poddawanie surowca działaniu wysokiej temperatury całkowicie zabezpiecza konsumenta przed jego szkodliwym działaniem [15, 23]. Owoce bzu używane są również w przetwórstwie do wyrobu soków, dżemów, powideł, marmolad, galaretek, deserów, cukierków, syropów i win [16, 23]. Sok z owoców charakteryzuje się, obok znacznej ilości barwników, ok. 10 % zawartością cukru oraz kwasowością poniżej 1 %; zwykle przed spożyciem jest dosładzany sacharozą i rozcieńczany wodą w stosunku 1 : 4. Owoce i kwiaty bzu wykorzystywane są także do produkcji herbatek ziołowych m.in. ‘Zimowej’, ‘Leśnej’, ‘Herbaty z owoców leśnych’, ‘Złocistej’, ‘Lubelskiej z dzikiej róży’, ‘Jagodowej’ i innych [14, 23]. Z kolei destylaty z kwiatów bzu czarnego używane są jako czynniki aromatyzujące napoje, wina gazowane, jogurty, lody zaś ekstrakty mogą być spożywane w postaci napojów bezalkoholowych o przyjemnym zapachu i słodkim, miodowo-owocowym smaku lub służą do produkcji lodów, jogurtów, win, herbat, cukierków i ciast [6, 13, 15].

Surowiec wykorzystywany w przemyśle spożywczym i ziołolecznictwie w Polsce pozyskiwany jest głównie z krzewów dziko rosnących; w ostatnim czasie zaczęły powstawać pierwsze plantacje bzu czarnego [23].

Celem niniejszych badań było określenie właściwości przeciwutleniających ekstraktów wodnych z kwiatów oraz owoców bzu czarnego zbieranego z 17 miejsc naturalnego występowania oraz analiza wpływu zawartości związków polifenolowych ogółem na właściwości przeciwutleniające badanych surowców.

Material i metody badań

Przedmiotem badań były kwiaty i owoce bzu czarnego (*Sambucus nigra* L.) zebrane w okresie od czerwca do sierpnia 2010 r. z 17 miejsc naturalnego występowania na terenie Polski (tab. 1), które w dalszej części pracy oznaczono odpowiednimi numerami.

Tabela 1

Lokalizacja stanowisk pozyskiwania surowca bzu czarnego ze stanu naturalnego.
Location of wild sites where black elder raw material was harvested.

Lp.	Stanowisko / Stand	Lokalizacja / Location	Województwo / Province
1	Ławy	50°12'18"N 20°38'49"E	świętokrzyskie / the Świętokrzyskie Province
2	Pacanów	50°24'19"N 21°03'06"E	świętokrzyskie / the Świętokrzyskie Province
3	Bekiesza	51°17'44"N 23°12'05"E	lubelskie / the Lublin Province
4	Syczyn	51°16'36"N 23°14'34"E	lubelskie / the Lublin Province
5	Żyrzyn	51°30'24"N 22°04'28"E	lubelskie / the Lublin Province
6	Świdnik	51°13'42"N 22°39'56"E	lubelskie / the Lublin Province
7	Lublin	51°15'02"N 22°30'59"E	lubelskie / the Lublin Province
8	Goraj	50°43'14"N 22°40'09"E	lubelskie / the Lublin Province
9	Sanok	49°33'18"N 22°12'21"E	podkarpackie / the Podkarpacie Province
10	Orłów Murowany	50°55'00"N 3°15'00"E	lubelskie / the Lublin Province
11	Sztabin	53°40'53"N 23°05'52"E	podlaskie / the Podlasie Province
12	Szczytno	53°33'56"N 20°59'07"E	warmińsko-mazurskie/ the Mazovia Province
13	Białopole	50°58'59"N 23°44'04"E	Lubelskie / the Lublin Province
14	Gułów	51°44'27"N 22°13'32"E	Lubelskie / the Lublin Province
15	Szczecin	53°26'01"N 14°33'44"E	Zachodniopomorskie / the West Pomerania Province
16	Stabieńszczyzna	54°07'60"N 23°16'60"E	Podlaskie / the Podlasie Province
17	Przeclaw	50°11'35"N 21°28'42"E	Podkarpackie / the Podkarpacie Province

Za nadające się do analiz uznano kwiaty zebrane w pełni kwitnienia oraz dojrzałe, zdrowe owoce o odpowiednim kształcie i zabarwieniu. Po zbiorze materiał suszono w temp. 45 °C, następnie mielony przy użyciu młynka IKA M20 (Labart) i poddawano analizom. Zakres badań obejmował oznaczenie zawartości związków fenolowych oraz ocenę właściwości przeciwutleniających w teście z rodnikiem DPPH (1,1-difenylo-2-pikrylhydrazyl) i w teście oceny siły redukującej FRAP (Ferric-Reducing Antioxidant Power). Odczynniki pochodziły z POCH Gliwice: metanol cz.d.a., odczynnik Folina i Ciocalteu cz.d.a., kwas solny cz.d.a., kwas octowy lodowaty cz.d.a., węglan sodu cz.d.a., chlorek żelaza(III) cz.d.a., octan sodu cz.d.a., siarczan żelaza(II) oraz TPTZ – kompleks żelazowo-2,4,6-tripirydylo-S-triazyny (Fluka), DPPH–2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl (Sigma Aldrich) oraz kwas kawowy (Sigma Aldrich).

Zmielone kwiaty i owoce poddawano wodnej ekstrakcji przy użyciu ekstraktora mikrofalowego MARS 5 firmy Varian. Próbkę o masie ok. 0,1 g poddawano ekstrakcji przy użyciu 30 ml wody w temp. 100 °C w ciągu 10 min, przy mocy urządzenia 800 W. Wodne ekstrakty sączone i odpowiednie ich ilości pobierano do dalszych oznaczeń.

Sumę polifenoli określano metodą z odczynnikami Folina-Ciocalteu'a [11, 20, 22]. W tym celu do 1 ml ekstraktu wodnego dodawano 2 ml odczynnika Folina-Ciocalteu'a, po 3 min alkalizowano środowisko reakcji, dodając 10 ml 10 % roztworu węglanu sodu, a po 30 min roztwory uzupełniano do objętości 25 ml i mierzono ich absorbancję przy długości fali $\lambda = 765$ nm, używając spektrofotometru U-2900 Hitachi. Wyniki podano jako średnią z trzech powtórzeń, w mg związków fenolowych na gram surowca w przeliczeniu na kwas kawowy.

Zdolność przeciwutleniającą, rozumianą jako zdolność redukowania jonów żelaza (FRAP), określano według metody opisanej przez Benzie i Strain [2, 3]. Do 0,2 ml ekstraktu dodawano 3,8 ml reagenta FRAP uzupełniano wodą destylowaną do 25 ml i mierzono absorbancję roztworu przy długości fali $\lambda = 593$ nm. Otrzymane wartości absorbancji przeliczano na podstawie krzywej wzorcowej jako ilość mmoli jonów Fe^{+2} na 100 g surowca. Krzywą kalibracyjną sporządzono z następujących stężeń siarczynu(VI) żelaza(II): 10, 15, 20, 40, 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ($y = 0,0205x$, $r = 0,998$). Odczynnik FRAP sporządzono mieszając ze sobą w stosunku 10 : 1 : 1 10 $\text{mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$ TPTZ, 20 mmol/dm^3 FeCl_3 oraz bufor octowy o pH 3,6.

Aktywność antyoksydacyjną metodą DPPH wykonywano metodą opisaną przez Brand-Wiliams [4, 5]. Do 0,1 ml ekstraktu wodnego dodawano 3,9 ml metanolowego roztworu rodnika DPPH o stężeniu $6\cdot 10^{-5}$ $\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$, spadek absorbancji monitorowano przy długości fali $\lambda = 515$ nm (maksimum absorpcji rodnika DPPH \cdot) przez 12 min w odstępie czasowym 60 s aż do osiągnięcia stanu równowagi reakcji. W programie UV Solutions wykreślono krzywą kinetyki reakcji, na podstawie której wyznaczano parametr $T_{\text{EC}50}$ tj. czas potrzebny na zmniejszenie wartości początkowego stężenia rodnika DPPH \cdot o 50 %.

Zawartość pozostałego (niezredukowanego) rodnika DPPH^{*} obliczano z równania [4]:

$$DPPHrem\% = \frac{[DPPH]_{rem}}{[DPPH]_{T_0}} \cdot 100$$

gdzie: $DPPH_{rem}\%$ – procentowa zawartość pozostałego niezredukowanego rodnika,
 $[DPPH]_{T_0}$ – wyjściowa wartość absorbancji roztworu rodnika,
 $[DPPH]_{rem}$ – wartość absorbancji po dodaniu przeciwutleniacza.

Wszystkie dane dotyczące badanych parametrów zostały poddane statystycznej analizie wariancji (ANOVA). Istotność różnic pomiędzy wartościami średnimi weryfikowano, stosując test Tukey'a, $n = 3$.

Wyniki i dyskusja

Zawartość związków fenolowych ogółem w analizowanych ekstraktach bzu czarnego przedstawiono w tab. 2. Stwierdzono, że niezależnie od pochodzenia surowca, największa zawartość tych związków biologicznie czynnych znajdowała się w kwiatostanach bzu (od 37,02 ze stanowiska 16. do 53,33 $mg \cdot g^{-1}$ s.m. ze stanowiska numer 11). Mniejszą ilość polifenoli zawierały natomiast owoce bzu czarnego (od 26,84 ze stanowiska 16. do 44,8 $mg \cdot g^{-1}$ s. m. ze stanowiska 10.). Średnie wartości wynosiły odpowiednio w kwiatach i owocach: 44,27 i 34,49 $mg \cdot g^{-1}$ suchej masy surowca, co wskazuje, że kwiat i owoc bzu czarnego są surowcami bogatymi w związki polifenolowe. Analiza wariancji, w układzie jednoczynnikowym, wykazała istnienie statystycznie istotnych różnic pomiędzy wartościami średnimi zawartości polifenoli w poszczególnych próbach bzu czarnego zebranego z kilkunastu miejsc naturalnego występowania na poziomie istotności $\alpha = 0,05$. Przy czym nie można jednoznacznie wskazać stanowisk naturalnego występowania krzewów bzu czarnego, charakteryzujących się jednocześnie dużą zawartością substancji czynnych zarówno w kwiatach, jak i owocach (wyliczony współczynnik korelacji pomiędzy zawartością polifenoli w kwiatach i owocach bzu był niski i wyniósł $r = 0,23$). Istotnie większą zawartością fenoli w kwiatach cechowały się próbki ze stanowisk nr 4, 11 i 12 (leżące na terenie woj. lubelskiego, podlaskiego i warmińsko-mazurskiego), zaś owoce zebrane ze stanowisk nr 3, 10, i 12 (woj. lubelskie i warmińsko-mazurskie) zawierały istotnie więcej tych substancji czynnych. Podobnie dużą zawartość związków polifenolowych w owocach bzu otrzymała także Jabłońska-Ryś i wsp. [12] oraz Leja i wsp. [19]. Najmniej związków polifenolowych zawierał surowiec zebrany ze stanowisk nr 2 i 16, leżących na terenie woj. świętokrzyskiego i podlaskiego.

Tabela 2

Zawartość polifenoli ogółem [$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ s.m.] oraz właściwości przeciwutleniające kwiatów i owoców bzu czarnego wyrażone jako DPPH [% niezredukowanego rodnika] i FRAP [$\text{mM Fe}^{+2}\cdot 100\text{g}^{-1}$] w zależności od miejsca pozyskiwania surowca.

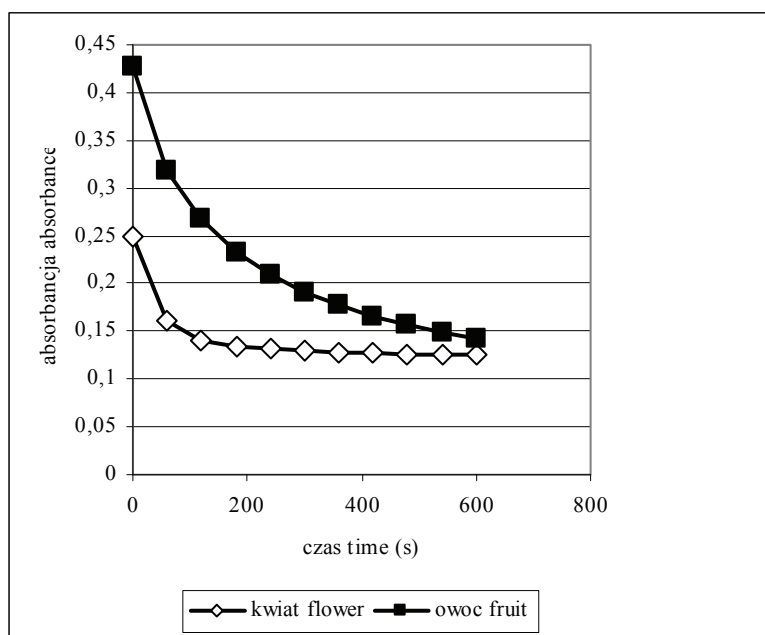
Total polyphenol content [$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ d.m.] and antioxidant properties of black elder flowers and berries (DPPH [% of non-reduced radical], FRAP [$\text{mM Fe}^{+2}\cdot 100\text{g}^{-1}$]) depending on the wild site where the raw material was harvested.

Stano-wisko Stand	Kwiat / Flower				Owoc / Berry			
	Polifenole ogółem Total polyphenols	FRAP	DPPH	T _{EC50} [s]	Polifenole ogółem Total polyphenols	FRAP	DPPH	T _{EC50} [s]
1	44,73 ± 0,68	39,58 ± 1,08	61,8 ± 0,99	75	36,81 ± 0,29	25,53 ± 0,34	87,5 ± 1,04	123
2	44,48 ± 1,35	33,16 ± 0,64	64,3 ± 0,07	58	27,86 ± 0,11	26,32 ± 0,04	91,9 ± 0,96	105
3	46,45 ± 0,36	39,01 ± 1,04	49,5 ± 1,03	29	38,8 ± 0,21	33,4 ± 0,16	86,4 ± 0,44	128
4	51,77 ± 1,94	39,00 ± 0,18	56,5 ± 0,98	30	35,93 ± 0,49	34,2 ± 0,51	90,1 ± 0,08	91
5	48,76 ± 1,91	42,21 ± 1,14	58 ± 0,96	25	27,98 ± 0,76	21,44 ± 0,91	91,9 ± 0,07	99
6	49,23 ± 0,22	42,28 ± 0,08	56,5 ± 0,01	64	37,54 ± 0,46	35,87 ± 0,17	84,9 ± 0,99	128
7	47,33 ± 0,72	42,58 ± 0,50	57,7 ± 0,20	28	30,63 ± 0,07	26,24 ± 0,05	95,9 ± 0,09	112
8	48,00 ± 1,09	38,91 ± 0,43	44 ± 0,99	29	34,87 ± 0,43	33,04 ± 0,93	84 ± 0,56	99
9	46,65 ± 0,13	42,32±0,63	62,7±1,88	44	35,78±0,28	29,06±0,74	91,7±0,31	102
10	41,1 ± 1,46	34,01±1,65	66,8±0,20	47	44,80±1,48	36,73±0,05	83,4±0,43	114
11	53,33 ± 0,28	54,11 ± 0,66	56,9 ± 0,40	36	35,73 ± 0,56	33,57 ± 0,08	85,7 ± 1,98	109
12	50,29 ± 0,21	34,45 ± 0,75	67,1 ± 0,31	67	40,37 ± 0,59	31,87 ± 0,09	85,2 ± 1,45	126
13	45,89 ± 0,34	32,48 ± 0,08	62,9 ± 0,96	52	31,1 ± 0,08	22,59 ± 0,59	93,9 ± 0,91	130
14	45,27 ± 0,41	37,23 ± 0,16	59,3 ± 0,10	39	32,78 ± 0,27	23,58 ± 0,25	90,8 ± 0,05	118
15	47,049 ± 1,25	41,26 ± 0,33	48,4 ± 1,13	23	33,92 ± 0,20	23,69 ± 0,16	92,5 ± 0,98	133
16	37,02 ± 0,54	29,23 ± 0,56	66,8 ± 0,06	71	26,84 ± 1,35	23,24 ± 0,38	89,3 ± 0,08	123
17	47,34 ± 1,08	41,06 ± 1,06	51,9 ± 0,97	26	34,71 ± 1,08	30,48 ± 0,26	87,8 ± 0,81	128
NIR _{0,05} LSD _{0,05}	3,092	2,374	24,29	–	2,029	1,363	4,42	–

Zróznicowanie zawartości związków odpowiedzialnych za właściwości przeciwutleniające zostało potwierdzone w zróznicowanych wynikach testów przeciwutleniających (tab. 2). Stąd też najwyższą aktywność wśród przebadanych surowców wykazały, zarówno w testach DPPH, jak i FRAP kwiaty bzu czarnego. Dodatkowo siła redukująca FRAP wykazała silną korelację z zawartością polifenoli w badanych surowcach bzu czarnego ($r = 0,84$), natomiast w przypadku procentowej zawartości niezredukowanego rodnika DPPH i związków polifenolowych stwierdzono korelację ujemną ($r = -0,84$). Wartość FRAP mieściła się w granicach 54,11 - 29,23 $\text{mmol Fe}^{+2}\cdot 100\text{g}^{-1}$ s.m. oraz 36,73 - 21,44 $\text{mmol Fe}^{+2}\cdot 100\text{g}^{-1}$ s.m., a wartości średnie wynosiły 38,99 i 27,30 mmol

$\text{Fe}^{+2} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ s.m. odpowiednio w kwiatach i owocach. Podobne wartości FRAP w owocach otrzymała Jabłońska-Ryś i wsp. [12].

Z pomiarów aktywności antyoksydacyjnej metodą DPPH wynika, że próby materiału roślinnego, w których % niezredukowanego rodnika DPPH[•] był mniejszy, charakteryzowały się większą zdolnością wychwytywania wolnych rodników [10]. Rezultaty eksperymentu wskazują, że % niezredukowanego rodnika DPPH[•] był mniejszy w kwiatach bzu (zawierał się w granicach 44 - 66,8 %) a w owocach był znacznie większy (wahał się pomiędzy 83,4 - 95,9 %). Podobną aktywność antyrodnikową w owocach bzu wykazali Leja i wsp. [19]. A zatem zastosowana metoda badawcza potwierdziła wcześniej opisaną w przypadku FRAP zależność, że kwiaty charakteryzują się większą mocą antyoksydacyjną niż owoce bzu. Dużą zdolność wygaszania wolnych rodników przez związki czynne kwiatów bzu wykazali również Dawidowicz i wsp. [8], a Emmons i wsp. [9] wykazali dodatnią korelację pomiędzy poziomem polifenoli a aktywnością antyoksydacyjną. W doświadczeniu stwierdzono silną korelację pomiędzy % niezredukowanego rodnika DPPH[•] a siłą redukującą FRAP badanych prób materiału roślinnego ($r = -0,73$). Na rys. 1. przedstawiono przykładowe wyniki badań kinetyki procesu wygaszania rodnika DPPH[•] w próbce kwiatów bzu o małej zawartości niezredukowanego rodnika i owocowo dużej zawartości niezredukowanego rodnika



Rys. 1. Kinetyka zmian absorbancji roztworów rodnika DPPH[•] w kwiatach oraz owocach bzu czarnego.
Fig. 1. Kinetics of the changes in the absorbance of DPPH[•] solutions in black elder flowers and berries.

w ciągu 12 min ustalania się stanu równowagi reakcji. Stwierdzono, że czas ustalania się równowagi reakcji w kwiatach jest mniejszy niż w owocach, podobnie jak parametr T_{EC50} , co również wskazuje na większą moc antyoksydacyjną kwiaków bzu czarnego niż owoców. W doświadczeniu zakładano wysoką korelację mierzonych wartości właściwości antyoksydacyjnych pomiędzy próbkami kwiaków i owoców pobieranych do badań z tych samych miejsc naturalnego występowania, jednak stwierdzono ją tylko w części analizowanych prób materiału roślinnego. Wynikało to prawdopodobnie ze zmienności genotypowej, a także zróżnicowanych warunków glebowo-klimatycznych i specyfiki miejsc naturalnego występowania surowca.

Wnioski

1. Kwiaty bzu czarnego zawierały więcej związków polifenolowych niż owoce pochodzące z tych samych miejsc naturalnego występowania, a ich zawartość w istotny sposób zależała od miejsca pozyskania surowca ze stanu naturalnego.
2. Potwierdzono (metodami FRAP i DPPH) wysoką aktywność antyoksydacyjną surowca bzu czarnego, przy czym była ona największa w przypadku kwiaków.
3. Stwierdzono dodatnią korelację pomiędzy zawartością związków fenolowych a aktywnością antyoksydacyjną surowca bzu czarnego.

Literatura


- [1] Aruoma O.I.: Free radicals, antioxidants and international nutrition. *Asia Pacific J. Clin. Nutr.*, 1999, **8**, 53-63.
- [2] Benzie I. F.F., Strain I.J.: The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 1996, **239**, 70-76.
- [3] Benzie I. F.F., Szeto Y.T.: Total antioxidant capacity of teas by the ferric reducing/antioxidant Power assay. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47**, 633-636.
- [4] Bondet V., Brand-Williams W., Berset C.: Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH free radical method. *LWT*, 1997, **30**, 609-615.
- [5] Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C.: Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT*, 1995, **1 (28)**, 25-30.
- [6] Christensen L., Kaack K., Frette X. Selection of elderberry (*Sambucus nigra* L.) genotypes best situated for the preparation of elderflower extracts rich in flavonoids and phenolic acids. *Eur. Food Res. Technol.*, 2008, **227**, 293-305.
- [7] Cybul M., Nowak R.: Przegląd metod stosowanych w analizie właściwości antyoksydacyjnych wyciągów roślinnych. *Herba Polonica*, 2008, **1 (54)**, 67-78.
- [8] Dawidowicz A., Wianowska D., Baraniak B.: The antioxidant properties of alcoholic extracts from *Sambucus nigra* L. (antioxidant properties of extracts). *LWT*, 2006, **39**, 308-315.
- [9] Emmons C.L., Peterson D.M., Paul G.L.: Antioxidant capacity of oats (*Avena sativa* L.) extracts. 2. *In vitro* antioxidant activity and content of phenolic and total antioxidant. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47 (12)**, 4894-4898.
- [10] Grajek W. (pod red.): *Przeciwutleniacze w żywności*. WNT, Warszawa 2007.

- [11] Grajek W.: Rola przeciwutleniaczy w zmniejszeniu ryzyka wystąpienia nowotworów i chorób układu krążenia. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **1 (38)**, 3-11.
- [12] Jabłońska-Ryś E., Zalewska-Korona M., Kalbarczyk J.: Antioxidant capacity, ascorbic acid and phenolics content in wild edible fruits. *J Fruit Ornament Plant Res.*, 2009, **17(2)**, 115-120.
- [13] Kaack K.: Aroma composition and sensory quality of fruit juices processed from cultivars of elderberry (*Sambucus nigra* L.). *Eur. Food Res. Technol.*, 2008, **227**, 45-56.
- [14] Kaack K., Christensen L.: Effect of packing materials and storage time on volatile compounds in tea processed from flowers of black elder (*Sambucus nigra* L.). *Eur. Food Res. Technol.*, 2008, **227**, 1259-1273.
- [15] Kaack K., Christensen L., Hughes M., Eder R.: Relationship between sensory quality and volatile compounds of elderflower (*Sambucus nigra* L.) extracts. *Eur. Food Res. Technol.*, 2006, **223**, 57-70.
- [16] Kaack K., Frette X., Christensen L.: Selection of elderberry (*Sambucus nigra* L.) genotypes best situated for the preparation of juice. *Eur. Food Res. Technol.*, 2008, **226**, 843-855.
- [17] Kisała J.: Antyutleniacze pochodzenia roślinnego i syntetycznego – ich rola i właściwości. Zesz. Nauk. Płd.-Wsch. Oddz. PTIE z siedzibą w Rzeszowie, PTG Oddz. w Rzeszowie, 2009, **11**, 109-114.
- [18] Lee J., Finn Ch. Antocyanins and other polyphenolics in American elderberry (*Sambucus canadensis*) and European elderberry (*S. nigra*) cultivars. *J. Sci. Food Agric.*, 2007, **87**, 2665-2675.
- [19] Leja M., Mareczek A., Nanaszko B.: Antyoksydacyjne właściwości owoców wybranych gatunków dziko rosnących drzew i krzewów. *Rocz. AR w Poznaniu*, 2007, **383**, 327-331.
- [20] Singelton V.L, Rossi J.A.: Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Amer. J. Enol. Viticult.*, 1965, **1 (16)**, 44-58.
- [21] Temple N.J.: Antioxidants and disease: more questions than answers. *Nutrition Research*, 2000, **20**, 449-459.
- [22] Turkmen N., Sari F., Veliglu Sedat Y.: Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu. *Food Chem.*, 2006, **99**, 835-841.
- [23] Wierzbicki A.: Dziki bez czarny – pozyskiwanie surowca i jego zastosowanie. *Wiad. Ziel.* 2002, **4**, 8-10.
- [24] Witkowska A., Zujko M.E.: Aktywność antyoksydacyjna owoców leśnych. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2009, **3 (42)**, 900-903.
- [25] Wójcik J.: Nowe wskazania lecznicze *Sambucus nigra* L. *Wiad. Ziel.* 2002, **4**, 11-12.

ANTIOXIDANT PROPERTIES OF BLACK ELDER FLOWERS AND BERRIES HARVESTED FROM THE WILD

S u m m a r y

In the paper, there were presented the results of the research into antioxidant properties of aqueous extracts of black elder flowers and berries harvested in 17 wild sites in Poland, and the effect of total polyphenol content on antioxidant properties of the raw material studied. It was found that the black elder flowers contained a higher amount of polyphenols than the berries harvested in the same wild sites of their occurrence, and its content significantly depended on the wild site where they were harvested. The results proved a positive correlation between the content of polyphenolic compounds and the antioxidant activity of the black elder raw material. The research methods applied (FRAP, DPPH) confirmed the high antioxidant activity of black elder raw material; however, this activity was the highest in the case of the black elder flowers.

Key words: black elder, flowers, berries, antioxidant properties, FRAP, DPPH 

EWELINA KAMIŃSKA-KISZKA, ŁUKASZ WIT, LARYSA SIBIRNA,
VLADIMIR SIBIRNY, MYKHAILO GONCHAR

OZNACZANIE ZAWARTOŚCI ETANOLU METODĄ ENZYMATYCZNĄ W NAPOJACH ALKOHOLOWYCH I BEZALKOHOLOWYCH

Streszczenie

Celem niniejszej pracy była ocena przydatności metody enzymatycznej i zestawu analitycznego „Alkotest” do analizy ilościowej zawartości etanolu w winach, napojach owocowych i sokach, miodzie pitnym i piwie bezalkoholowym. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono przydatność metody enzymatycznej do oznaczania zawartości etanolu w badanych produktach. Zastosowana metoda jest znacząco tańsza w porównaniu z innymi metodami enzymatycznymi dzięki niskim kosztom preparatu oksydazy alkoholowej (AO), otrzymanego ze zmutowanego szczepu drożdży metylotroficznych *Hansenula polymorpha* C-105 (*gcr1 catX*) z zaburzoną represją kataboliczną syntezy AO. Wykazano, że różny skład chemiczny win owocowych i soków nieznacznie wpłynął na oznaczanie zawartości alkoholu. Porównanie metody „Alkotest” i jej modyfikacji „Multiple Addition Test” umożliwiło wnioskowanie o braku istotnego negatywnego wpływu komponentów występujących w winach owocowych na wyniki oznaczania stężenia etanolu. Zastosowanie metod „Multiple Addition Test” i chromatografii gazowej (GC) potwierdziło ten wniosek. Wyniki uzyskane z porównania obu metod były zgodne, a współczynniki korelacji wynosiły odpowiednio $r = 0,997$ ($p < 0,0001$) w przypadku win owocowych czerwonych oraz $r = 0,998$ ($p < 0,0001$) – win owocowych białych.

Słowa kluczowe: alkohol, oksydaza alkoholowa, wina owocowe, napoje owocowe, soki

Wprowadzenie

Testy na obecność etanolu i oznaczania jego zawartości są ważne do kontroli procesów fermentacji oraz w certyfikacji różnych napojów alkoholowych i bezalkoholowych. Istnieje wiele różnych chemicznych i fizykochemicznych metod oznaczania

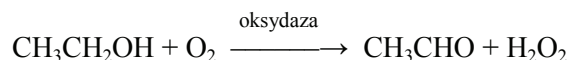
Mgr E. Kamińska-Kiszka, mgr Ł. Wit, Zamiejscowy Wydz. Biotechnologii Uniwersytetu Rzeszowskiego, ul. Sokołowska 26, 36-100 Kolbuszowa; mgr L. Sibirna, dr V. Sibirny, Wydz. Biologiczno-Rolniczy Uniwersytetu Rzeszowskiego, ul. Ćwiklińskiej 2, 35-601 Rzeszów; prof. dr hab M. Gonchar, Zamiejscowy Wydz. Biotechnologii Uniwersytetu Rzeszowskiego, ul. Sokołowska 26, 36-100 Kolbuszowa, Instytut Biologii Komórki Państwowej Akademii Nauk Ukrainy we Lwowie, ul. Drahomanowa 14/16, 27005 Lwów, Ukraina

zawartości alkoholi [9, 10]. Najprostsze polegają na destylacji alkoholu, a następnie densymetrycznej lub refraktometrycznej analizie destylatu [6]. Wadami tych metod są czasochłonność, niska dokładność i trudność wykonania oznaczeń seryjnych. Chemiczne metody oznaczania alkoholi polegają na reakcji utleniania etanolu dwuchromianem potasu lub innym utleniaczem. Zawartość alkoholu oznacza się przez fotometryczny pomiar stężenia roztworu utleniacza lub miareczkowanie dwuchromianu tiosiarczanem sodu. Ich zaletą jest niski koszt analizy. W Polsce najpowszechniej wykorzystuje się metody chemiczne, których zastosowanie regulują odpowiednie normy [11]. Jednak prawie wszystkie te metody cechuje niska czułość i specyficzność, a ponadto nie mogą być stosowane w przypadku obecności w próbach różnych alkoholi. Spośród innych metod służących do oznaczania zawartości alkoholu na uwagę zasługują: chromatografia, chemo- i bio-sensorowe metody analizy alkoholi oraz metody enzymatyczne. W praktyce, szczególnie przydatna jest chromatografia gazowo-cieczowa, która zapewnia wysoką czułość, selektywność i możliwość jednoczesnej identyfikacji oraz ilościowego oznaczania różnych substancji [8]. Jednak z uwagi na wysoki koszt zakupu samego urządzenia i konieczność zatrudnienia wykwalifikowanego personelu nie jest metodą powszechnie stosowaną. Analogiczne ograniczenia dotyczą nowoczesnej, dającej możliwość bardzo szybkiej identyfikacji metody oznaczania etanolu za pomocą rezonansu jądrowo-magnetycznego (NMR) [6].

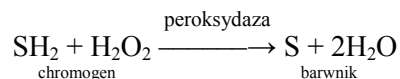
Już przed 50 laty zaproponowano metodę enzymatyczną oznaczania alkoholu etylowego polegającą na utlenieniu etanolu do aldehydu octowego za pomocą dehydrogenazy alkoholowej (ADH) w obecności dinukleotydu nikotynamidoadeninowego (NAD^+). Produkt tej reakcji (NADH) można oznaczyć spektrofotometrycznie przy długości fali $\lambda = 340 \text{ nm}$. Metoda jest wprawdzie selektywna, czuła i prosta w wykonaniu, ale z powodu wysokiej ceny enzymu i jego kofaktora NAD^+ nie należy do metod tanich [2].

Alternatywą dla dehydrogenazowej analizy etanolu jest wykorzystanie oksydazy alkoholowej (AO) drożdży metylotroficznych. W odróżnieniu od dehydrogenazy alkoholowej, AO zawiera ściśle związany z białkiem koenzym FAD, a reakcja, którą przeprowadza ma charakter nieodwracalny [3].

Reakcja utleniania alkoholu tlenem atmosferycznym do aldehydu octowego i nadtlenu wodoru katalizowana przez oksydazę alkoholową jest podstawą metody enzymatycznej AOP (oksydaza alkoholowa + peroksydaza chrzanowa):



Nadtlenek wodoru jest wykorzystywany następnie w reakcji katalizowanej przez drugi enzym – peroksydazę chrzanową do utlenienia bezbarwnego chromogenu do związku barwnego:



Powyższa reakcja jest podstawą analitycznego zastosowania AO w zestawie do oznaczania alkoholu zwanym „Alkotest”. Istotę pomiaru stanowi ilość wytworzonego nadtlenku wodoru. W zestawie tym, w przeciwieństwie do znanych analogów (np. 2,2-benzydyna, o-toluidyna, kwas 5-aminosalicylowy, 4-aminopirydyna i in.), jako chromogen wykorzystuje się nietoksyczną tetrametylobenzydynam (TMB-3,3',5,5') [7]. TMB pod wpływem nadtlenku wodoru i peroksydazy chrzanowej przekształca się w barwnik oznaczany fotometrycznie. Zestaw analityczny „Alkotest” został opracowany i opatentowany w Instytucie Biologii Komórki Państwowej Akademii Nauk Ukrainy [4]. W zaproponowanej modyfikacji w trakcie analizy z zastosowaniem peroksydazy wykorzystywana jest zmniejszona 10 do 20-krotnie ilość chromogenu TMB, a reakcja zatrzymywana jest przez dodawanie do mieszaniny reakcyjnej kwasu solnego o pH 1,4 - 2,1. W porównaniu z innymi metodami ten wariant analizy wykazuje szereg zalet tj. zwiększenie czułości (7-krotne), dokładność analizy [5] oraz zmniejszenie kosztów analizy, ponieważ AO zestawu „Alkotest” jest izolowana z komórek zmutowanego szczepu drożdży metylotroficznych *Hansenula polymorpha* C-105 (*gcr1 catX*). Mutant ten ma całkowicie zablokowaną produkcję katalazy i jest zdolny do ciągłej syntezy oksydazy alkoholowej podczas hodowli na podłożu mineralnym z glukozą [1].

Celem niniejszej pracy była ocena przydatności zastosowania metody enzymatycznej i odpowiedniego zestawu analitycznego „Alkotest” do analizy ilościowej zawartości etanolu w winach, napojach owocowych i sokach.

Material i metody badań

Do badań użyto napojów owocowych i soków firm: Tymbark, Cappy, Fortuna, Hortex, win owocowych: Specjał, Cezar, Canelli, Waldwein, Nalewka Babuni, a także napojów winopodobnych tj. Truskawkowa beczka i Lipa miodowa oraz miód pitny i piwo bezalkoholowe.

Oznaczanie zawartości etanolu w badanych próbach prowadzono z użyciem zestawu analitycznego „Alkotest” o następującym składzie:

- chromogen – sucha mieszanina 3,3',5,5'-tetrametylobenzydyny (TMB) ze składnikami buforu fosforanowego,
- enzymy – stabilizowana zawiesina oksydazy alkoholowej (AO) i peroksydazy chrzanowej w siarczanie amonu,
- standard – wzorcowy roztwór etanolu o stężeniu 10 g/l w obecności stabilizatora,
- 0,8 M HCl – odczynnik stosowany do zatrzymywania reakcji.

Do produkcji AO – komponentu zestawu „Alkotest” – wykorzystano pozbawiony aktywności katalazy szczep mutanta drożdży metylotroficznych z uszkodzoną kataboliczną represją glukozową *Hansenula polymorpha* C-105 (*gcr1 catX*). AO izolowano z bezkomórkowego ekstraktu *H. polymorpha* C-105 (*gcr1 catX*) przez strącanie siarczanem amonu w obecności 50 mM buforu fosforanowego o pH 7,5 i 2,5 mM EDTA. Do ekstraktu dodawano siarczan amonu (do 50 % nasycenia). Mieszaninę pozostawiano na 12 h w temp. 4 °C do całkowitego rozpuszczenia soli. Osad białek oddzielano przez wirowanie (10 tys. obr./min, 4 °C, 15 min), a supernatant zawierający AO traktowano (NH₄)₂SO₄ (do 70 % nasycenia). Po wirowaniu osad AO po dwukrotnym przepłukaniu schłodzonym 2,84 M roztworem siarczanu amonu z 2,5 mM EDTA zawieszano w minimalnej objętości tego roztworu i przechowywany w temp. -10 °C.

Przebieg oznaczania etanolu prowadzono zgodnie z metodą Gonchar i wsp. [3].

Aktywność AO oznaczano na podstawie ilości (μmole) nadtlenu wodoru wytwarzanego w ciągu 1 min w przeliczeniu na 1 mg białka. Mieszanina reakcyjna zawierała 2,5 ml 0,3 mM *o*-dianizydyny w 50 mM buforze fosforanowym, pH 7,5, 0,2 ml peroksydazy chrzanowej (1 mg/ml), 0,15 ml ekstraktu bezkomórkowego rozcieńczonego 100-krotnie. Mieszaninę inkubowano 5 min w temp. 30 °C, a następnie dodawano 0,15 ml 0,2 M metanolu. Całość inkubowano przez 20 min w temp. 30 °C. Reakcję zatrzymywano 0,8 M kwasem solnym. Nadtlenek wodoru analizowano spektrofotometrycznie przez oznaczanie ilości barwnego produktu utleniania *o*-dianizydyny w obecności peroksydazy przy długości fali $\lambda = 525$ nm.

Rozcieńczenia analizowanych próbek win (250×, 500×, 750×, 1000×, 1250× lub 1500×) wykonywano w zależności od oczekiwanej zawartości etanolu. Reakcje prowadzono w reżimie czasowym. Do 100 μl każdego rozcieńczenia badanej próby dodawano 3,5 ml mieszaniny chromogenu z enzymami w odstępach co 15 s. Reakcję hamowano po 15 min poprzez dodawanie 0,5 ml 0,8 M HCl do każdej próbki w tej samej kolejności i interwałach czasowych. W każdej serii wykonywano także próby kontrolne (dodawanie wody zamiast próbki) i próby wzorcowe (dodawanie standardowego roztworu etanolu zamiast próbki). Absorbancję mierzono przy długości fali $\lambda = 450$ nm wobec próby kontrolnej.

Oprócz standardowego oznaczania zawartości etanolu w próbkach metodą AOP z wykorzystaniem zestawu „Alkotest” zastosowano także jej modyfikację „Multiple Addition Test”. Metoda ta polegała na dodawaniu do oznaczonej objętości badanego wina w rozcieńczeniu 500× (100 μl) różnych ilości standardu etanolu (w celu wewnętrznej kalibracji na tle próbki badanej) i następnym oznaczeniu alkoholu według opisanej wyżej metody.

Do porównania wyników uzyskanych z metody AOP w modyfikacji „Multiple Addition Test” wykorzystano referencyjną metodę chromatografii gazowej (GC): Chromatograf LCM-80, kolumna 200×0,3 cm, detektor – katarometr. Do fiolki penicy-

linowej z 0,5 ml 50 % kwasu trójchlorooctowego (TCA) dodawano 0,5 ml badanej próbki. Fiolkę zamykano i wstrząsano. Za pomocą strzykawki dodawano 0,3 ml 30 % azotanu(III) sodu i po wymieszaniu 2 ml fazy gazowej wprowadzano do chromatografu. Jako standard wewnętrzny używano propanol; 2 ml 4 ‰ [g/l] propanolu mieszano z 2 ml badanej próbki i 1 ml mieszaniny dodawano do fiolki penicylinowej z 0,5 ml 50 % TCA. Po zamknięciu fiolki dodawano strzykawką 0,3 ml 30 % NaNO₂. Po 1 min mieszania, 2 ml fazy gazowej wstrzykiwano do chromatografu. Krzywą kalibracyjną wyznaczono z wykorzystaniem 1, 2, 3, 4 i 6 ‰ wodnego roztworu etanolu. Stężenie etanolu oznaczano na podstawie wysokości pików azotanu(III) etylu.

Wyniki i dyskusja

Wykorzystanie zestawu „Alkotest” w przeprowadzanych badaniach umożliwiło przeanalizowanie zawartości alkoholu w polskich winach owocowych, jak również w napojach i sokach owocowych.

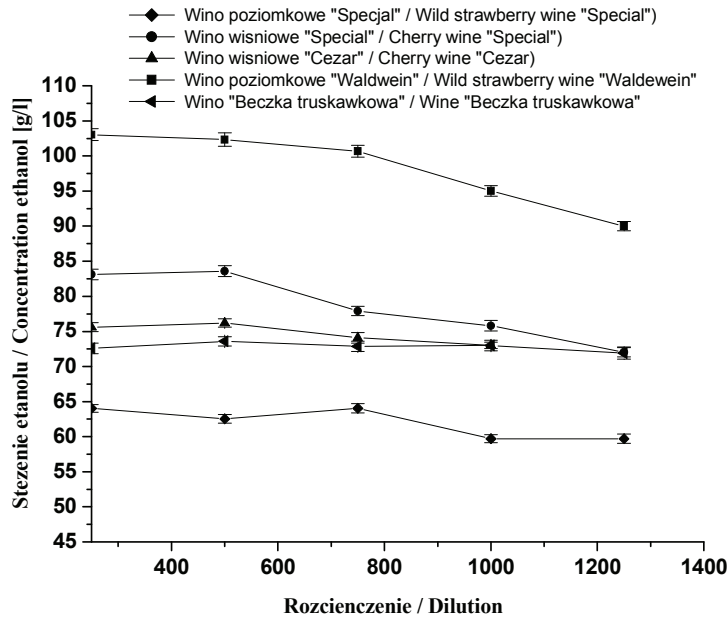
Wykorzystując metodę AOP do analizy zawartości etanolu nie prowadzi się destylacji alkoholu, która może eliminować komponenty wina czy soku, negatywnie wpływające na przebieg reakcji enzymatycznej. Do takich składników win należą np. fenole zakłócające działanie enzymów, substancje redukujące oraz pigmenty, które mogą być przyczyną uzyskania nieprawidłowych wyników.

Wina czerwone zawierają dużo fenoli, które podczas analizy mogą być utleniane przez H₂O₂, powstający w reakcji AO z etanolem w obecności peroksydazy. W takim przypadku reakcja utlenienia chromogenu TMB przez peroksydazę może konkurować z reakcją utleniania fenoli wina, co w konsekwencji może prowadzić do błędnych wyników. Warto zaznaczyć, że wpływ czerwonego wina na przebieg analizy etanolu jest bardziej istotny w porównaniu z winem białym. Zjawisko to tłumaczy się wyższym stężeniem pochodnych fenoli w winach czerwonych [12].

W celu potwierdzenia ewentualnego, negatywnego wpływu specyficznego składu chemicznego różnych win, soków i napojów owocowych na wyniki oznaczeń zawartości alkoholu, przeprowadzono stosowne analizy.

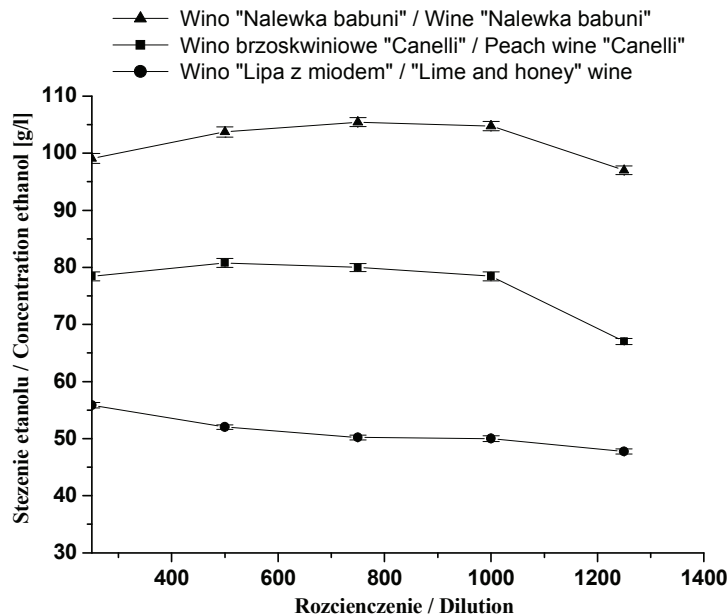
Pierwszym etapem badań było oznaczenie zawartości alkoholu w badanych winach ze standardowym wykorzystaniem zestawu enzymatycznego „Alkotest” w celu sprawdzenia przypuszczenia o możliwym negatywnym wpływie komponentów analizowanych produktów na wyniki oznaczania zawartości alkoholu. Na rys. 1. i 2. przedstawiono stężenia alkoholu w winach owocowych czerwonych i białych, odpowiednio, w zależności od ich rozcieńczenia.

Nie wykryto znacząco negatywnego wpływu chemicznego składu win na obliczone zawartości alkoholu, ponieważ w przypadku mniejszego rozcieńczenia, kiedy można oczekiwać największego negatywnego wpływu komponentów napojów na analizę enzymatyczną, te stężenia prawie nie zmniejszają się we wszystkich badanych



Rys. 1. Stężenie etanolu w winach czerwonych owocowych w zależności od rozcieńczenia próbek.

Fig. 1. Ethanol concentration in red fruit wines depending on the dilution of samples.



Rys. 2. Stężenie etanolu w winach białych owocowych w zależności od rozcieńczenia próbek.

Fig. 2. Ethanol concentration in white fruit wines depending on the dilution of samples.

Tabela 1

Stężenie etanolu w wybranych winach owocowych oznaczone metodami: rutynową AOP, „Multiple Addition Test”, techniką chromatografii gazowej.

Ethanol concentration in selected fruit wines as determined using the following methods: AOP routine method, „Multiple Addition Test”, and gas chromatography.

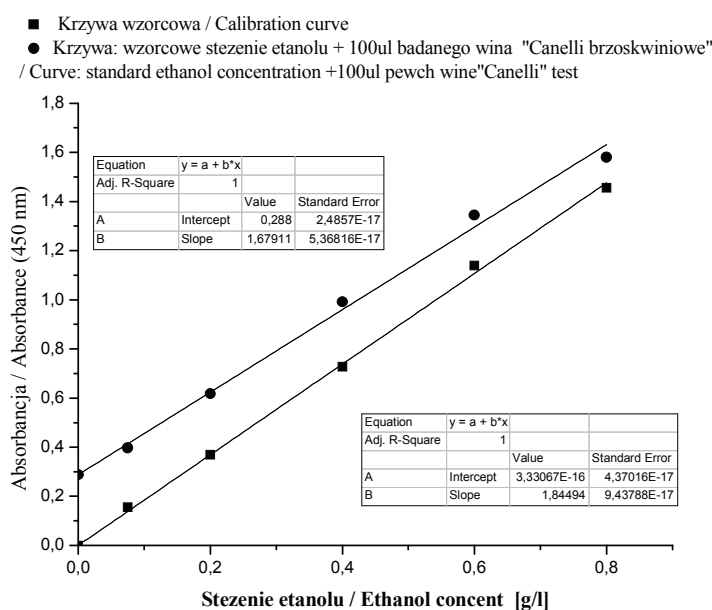
Wino Wine	Metoda / Method						
	Stężenie etanolu / Ethanol concentration [%]			Różnica wyników oznaczenia Difference in determination results			
	Rutynowa metoda AOP AOP Rou- tine Method	Multiple Addition Test (MAT)	Chromatografia gazowa / Gas Chromatography (GC)	Rutynowa AOP-GC AOP-GC Routine	MAT-GC	Test istotności różnicy Significance Test on Difference	
AOP-GC						MAT- GC	
Wino brzoskwinowe „Canelli” / Peach Wine „Canelli”	9,80 ± 0,50 N = 4	8,63 ± 0,43 N = 4	9,02 ± 0,11 N = 4	+0,72	-0,39	t = 3,05; p ≤ 0,05	t = 1,76; p ≤ 0,2
Wino poziomkowe „Special” Wild strawberry wine „Special”	9,22±0,46 N=4	9,94 ± 0,53 N=4	8,52 ± 0,11 N = 4	+0,70	+1,42	t = 2,97 p ≤ 0,05	t = 5,24; p ≤ 0,002

próbkach. Odwrotnie, występuje zmniejszenie obliczonego (rys. 1 i 2) stężenia alkoholu w miarę rozcieńczenia, co oczywiście, może wynikać z błędów odczytu małych wartości absorbancji w rozcieńczonych próbkach z bardzo małym stężeniem alkoholu.

W drugim etapie badań dokonano porównywania wyników oznaczania zawartości alkoholu w czerwonych i białych winach owocowych otrzymanych za pomocą rutynowej metody AOP oraz modyfikacji „Multiple Addition Test” (MAT) (rys. 3 i 4). Liniowość wykresu w obydwu metodach jest bardzo dobra (współczynniki korelacji liniowej wynoszą odpowiednio $r = 0,9976$ ($p < 0,0001$) w przypadku win czerwonych i $r = 0,9974$ ($p < 0,0001$) win białych. Krzywe kalibracyjne rutynowej metody i MAT mają podobne wartości nachylenia tj. odpowiednio 1,679 i 1,845 – w przypadku win czerwonych oraz 1,678 i 1,845 – w przypadku win białych. Różnice między współ-

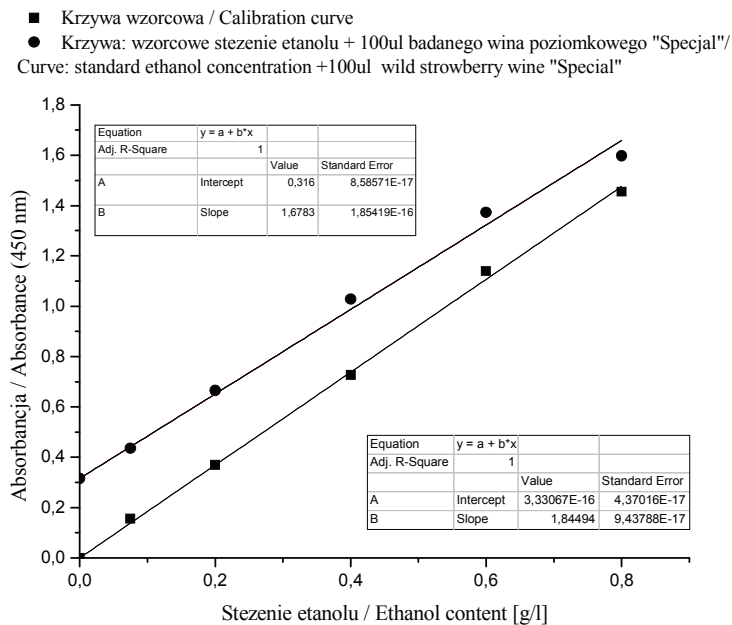
czynnikami kalibracyjnymi rutynowej metody i metody MAT nie przekraczają 9,0 %. Stężenia etanolu uzyskane z użyciem obydwóch metod są zgodne (tab. 1). Dane te, a także bardzo bliski do równoległego charakter krzywych kalibracyjnych wskazują, że obecność substancji potencjalnie hamujących w winach owocowych czerwonych i białych w nieznacznym sposób wpływają na przebieg reakcji utleniania TMB przez peroksydazę.

W kolejnym etapie badań przeprowadzono oznaczenie zawartości alkoholu w badanych próbkach za pomocą chromatografu gazowego (GC), która wykazała niewielkie różnice stężeń etanolu w porównaniu z metodą enzymatyczną. Stężenie etanolu mierzone techniką GC w próbkach wina czerwonego i białego wynosiło odpowiednio 8,52 i 9,02 %, natomiast w modyfikacji „Multiple Addition Test” (MAT) w winie czerwonym 9,94 %, a białym 8,63 % (tab. 1). Porównanie różnicy wyników rutynowej metody AOP i MAT w odniesieniu do GC wykazało, że MAT nie cechuje się lepszą korelacją wyników analitycznych w porównaniu z rutynową AOP (test istotności różnicy p waha się od 0,002 do 0,2 w zależności od typu wina; tab. 1). W związku z powyższym można stwierdzić, że do seryjnych oznaczeń alkoholu w winach (białych i czerwonych) zasadne jest stosowanie mniej skomplikowanego rutynowego wariantu analizy, który nie wymaga wewnętrznej kalibracji.



Rys. 3. Zawartość etanolu w białym winie owocowym „Camelli brzoskwiniowe” metodą “Multiple Addition Test”.

Fig. 3. Ethanol content in white peach wine “Camelli” by “Multiple Addition Test” method.



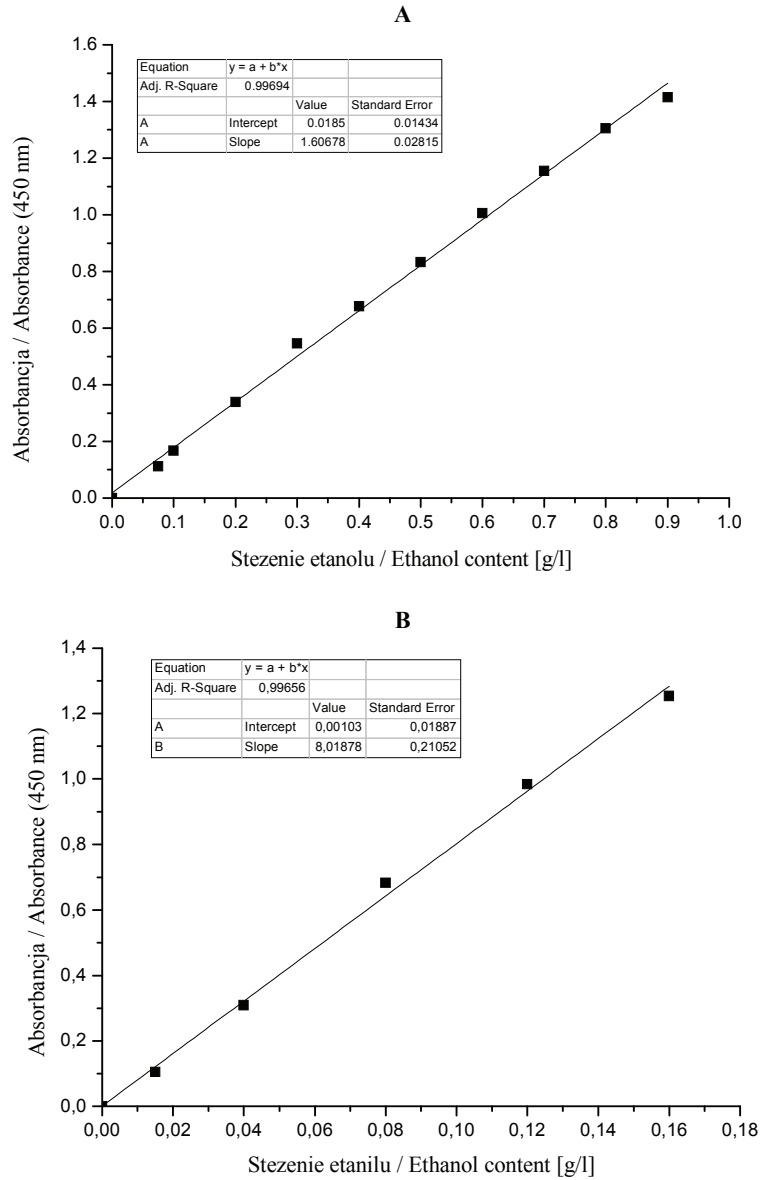
Rys. 4. Zawartość etanolu w czerwonym winie owocowym „Special wiśniowe” metodą „Multiple Addition Test”.

Fig. 4. Ethanol content in red cherry wine “Special” by „Multiple Addition Test” method.

W tab. 1. przedstawiono zastosowane metody oznaczania stężenia alkoholu w wybranych białych i czerwonych winach owocowych.

W celu zwiększenia czułości metody oznaczanie zawartości etanolu w sokach i napojach bezalkoholowych wykonano z dodatkiem 5-krotnie wyższego stężenia enzymów. Przy wykorzystaniu rutynowego wariantu metody AOP, liniowość krzywej kalibracyjnej była zachowana do stężenia analitu 0,9 g/l (rys. 5A). Przy 5-krotnym zwiększeniu stężenia enzymów (AO i PO) w mieszaninie reakcyjnej (rys. 5B) zaobserwowano również 5-krotne zwiększenie nachylenia krzywej kalibracyjnej (8,02 vs. 1,61), czego można było oczekiwać na podstawie zakończenia reakcji enzymatycznej na etapie 5-10 % enzymatycznego przekształcenia analitu [2]. Przy zastosowaniu takiej metody w badanych sokach i napojach bezalkoholowych wykryto śladowe ilości alkoholu, co nie jest możliwe z wykorzystaniem standardowej metody. Ten wariant metody mimo użycia większej ilości enzymów wykazuje 5-krotnie wyższą czułość (tab. 2).

Zaletami enzymatycznej metody z zastosowaniem zestawu „Alkotest” są dobre właściwości analityczne, wysoka stabilność i powtarzalność wyników, co pozwala na wykorzystanie zestawu do kontroli zawartości etanolu w czerwonych i białych winach owocowych, jak również w sokach i napojach bezalkoholowych.



Rys. 5. Krzywe kalibracyjne do oznaczania etanolu metodą AOP. A – w warunkach standardowych; B – z 5-krotnym stężeniem enzymów.

Fig. 5. Calibration curves to be used in determining ethanol using AOP method. A – under standard conditions; B – using a 5-fold higher concentration of enzymes.

Tabela 2

Stężenie etanolu w sokach i napojach bezalkoholowych metoda rutynową AOP i z udziałem 5-krotnego stężenia enzymów.

Ethanol concentration in juices and non-alcoholic beverages using AOP routine method and with the addition of 5-fold higher concentration of enzymes.

Soki i napoje bezalkoholowe Juices and non-alcoholic beverages	Napój truskawkowy „Cappy” Strawberry drink „Cappy”	Sok jabłkowy Antonówka „Fortuna” Apple juice Antonówka „Fortuna”	Malinowa pasja „Karmi” Raspberry passion „Karmi”	Piwo bezalkoholowe „TESKO” Non-alcoholic beer „TESCO”
Stężenie etanolu – metoda rutynowa AOP Ethanol concentration – AOP routine method [%]	0,035 ± 0,003	0,024 ± 0,002	0,009 ± 0,001	0,005 ± 0,0005
Stężenie etanolu z 5-krotnym stężeniem enzymów Ethanol concentration at 5-fold higher enzyme concentration [%]	0,068 ± 0,004	0,043 ± 0,003	0,022 ± 0,002	0,049 ± 0,003

Wnioski

1. Metoda enzymatyczna AOP z zastosowaniem „Alkotestu” pozwala na określenie z dużą dokładnością zawartości etanolu w winach owocowych, jak również w sokach i napojach bezalkoholowych. Cechuje ją wysoka czułość bardzo dobra liniowość w szerokim zakresie stężeń analitu.
2. Zastosowanie „Alkotestu” znacznie ułatwia oznaczanie stężenia etanolu, a analiza jest mniej czaso- i pracochłonna.
3. Porównanie rutynowej metody „Alkotest” i jej modyfikacji „Multiple Addition Test” wykazało brak istotnego wpływu hamujących komponentów występujących w winach owocowych, które działałyby negatywnie na wyniki oznaczania stężenia etanolu.
4. Porównywanie metody „Multiple Addition Test” z referencyjną metodą GC wykazało nieznaczne różnice zawartości etanolu w badanych próbach.
5. Zwiększenie 5-krotne stężenia enzymów w porównaniu z rutynową metodą „Alkotest” pozwoliło na wykrycie śladowych zawartości etanolu w badanych sokach, napojach oraz w piwie bezalkoholowym.

Literatura

- [1] Davin A., Vion-Dury J., Viout P., Cozzone P.J.: Rapid evaluation of ethanol content and metabolism in human plasma using quantitative proton magnetic resonance spectroscopy. *Alkohol*, 1994, **29**, 479-483.

- [2] Eienthal R., Danson M.J.: Enzyme Assays. Ed. Univ. Press, Oxford 2002, p. 302.
- [3] Gonchar M.V., Maidan M.M., Pavlishko H.M., Sibirny A.A.: A new oxidase-peroxidase kit for ethanol assays in alcoholic beverages. Food Technol. Biotechnol., 2001, **39** (1), 37-42.
- [4] Gonchar M.V., Maidan M.M., Sibirny A.A.: Sposob kilkisnoho wyznaczenia perekysu wodniu ta substrativ oksydaz u biologicznych objektach. Patent Ukrainy, 1996, 10752, Bull. N4.
- [5] Gonchar M.V., Sibirny A.A.: Sposob opredelenija perekisi wodoroda w biologicznych objektach. Awtorskoe svidetelstvo (patent) SSSR, 1991, 1636772. Bull. Izobretenij N11.
- [6] Helrich K.: Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 15th ed., Arlington, 1990, **2**, 739-745.
- [7] Holland V., Saunders B., Rose F., Walpole A.: A safer substitute for benzidine in the detection of blood, Tetrahedron, 1974, **30**, 3299-3302.
- [8] Jain N.C., Cravey R.H.: Analysis of alcohol. II. A review of gas chromatographic methods. J. Chromatogr. Sci., 1972, **10**, 263-267.
- [9] Mekhuzl N.A.: W: Sbornik mezhdunarodnykh metodov analiza i otsenki vin i susel (Collected Book of International Methods of Analysis and Estimation of Wines and Musts), Pishchevaya Promyshlennost, Moscow 1993, pp. 38-61.
- [10] Pavlishko H. M., Ryabinina O.V., Zhilyakova T. A., Sakharov I.Yu., Gerzhikova V.G, Gonchar M.V.: Oxidase-peroxidase method of ethanol assay in fermented musts and wine products. Applied Biochem. Microbiol., 2005, **41**, 604-609.
- [11] PN-90 A-79120/04. Oznaczanie zawartości alkoholu etylowego.
- [12] Somers T.C., Verette E.: Phenolic composition of natural wine types. In: Modern Methods of Plant Analysis. Linskeus H.F. and Jackson J.F. (Eds.). Springer, Berlin 1988, pp. 219-257.

DETERMINING THE CONTENT OF ETHANOL USING ENZYMATIC METHOD IN ALCOHOLIC AND NON-ALCOHOLIC BEVERAGES

S u m m a r y

The objective of the study was to assess the usefulness of enzymatic method and analytical „Alkotest” kit applied to perform a quantitative analysis of the ethanol content in wines, fruit drinks and juices, meads, and non-alcoholic beer. Based on the assessment results obtained, the usefulness of the enzymatic method was proved as regards its application in determining the ethanol content in the products under analysis. The method used is considerably less expensive compared to other enzymatic methods because of the low costs of alcohol oxidase preparation (AO) produced from a *Hansenula polymorpha* C-105 (*gcr 1 catX*), a mutated methylotrophic yeast strain with the disturbed catabolic repression of the AO synthesis. It was proved that the different chemical compositions of fruit wines and juices slightly impacted the determination of the content of alcohol therein. Based on the comparison of the „Alkotest” method and its modified „Multiple Addition Test” version, it was possible to state that there was no significant negative effect of components contained in fruit wines on the determination results of the ethanol concentration. The application of the „Multiple Addition Test” and Gas Chromatography (GC) methods confirmed the above conclusion. The results achieved from comparing the two methods were comparable, and the correlation coefficients amounted to, respectively, 0.997 at $p < 0.0001$ for red fruit wines and 0.998 at $p < 0.0001$ for white fruit wines.

Key words: alcohol, alcohol oxidase, fruit wines, fruit drinks, juices ☒

JOLANTA KOWALSKA, EWA MAJEWSKA, ANDRZEJ LENART

AKTYWNOŚĆ WODY NAPOJU KAKAOWEGO W PROSZKU O ZMODYFIKOWANYM SKŁADZIE SUROWCOWYM

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu zmiany składu surowcowego oraz procesu aglomeracji na aktywność wody napoju kakaowego w proszku. Surowce do badań stanowiły proszki (kakao, sacharoza, maltodekstryna średnioscukrzona, glukoza i fruktoza oraz mleko), z których przygotowywano mieszaniny, poddawane następnie aglomeracji. Podstawowy skład mieszaniny zawierał 20 % kakao i 80 % sacharozy. Zmiana składu surowcowego dotyczyła częściowego lub całkowitego zastąpienia sacharozy maltodekstryną, mieszaniną glukozy i fruktozy lub mlekiem w proszku.

Analizowane składniki w proszku charakteryzowały się zróżnicowaną początkową aktywnością wody. Najniższą wartość wykazało kakao, a najwyższą sacharoza. Mieszaniny o zróżnicowanym składzie surowcowym charakteryzowały się różną początkową aktywnością wody, która była uzależniona od wartości a_w poszczególnych składników i ich procentowego udziału w mieszaninie. Najniższą aktywnością wody charakteryzowały się mieszaniny zawierające mleko w proszku, a najwyższą produkty o składzie 20 % kakao i 80 % sacharozy lub glukozy oraz fruktozy. Na podstawie oznaczenia aktywności wody stwierdzono istotny wpływ zmiany składu surowcowego na aktywność wody badanych produktów. W mniejszym stopniu na aktywność badanych próbek napoju kakaowego w proszku wpłynął proces aglomeracji.

Słowa kluczowe: proszki spożywcze, aglomeracja, aktywność wody, trwałość żywności

Wprowadzenie

Woda obecna w żywności warunkuje chemiczne, fizyczne, i biologiczne (w tym mikrobiologiczne) zmiany składników danego produktu. Dostępność wody i jej wpływ na przebieg reakcji zachodzących w produktach spożywczych można określić na podstawie aktywności wody (a_w), definiowanej jako stosunek prężności pary wodnej nad roztworem do prężności pary wodnej nad czystą wodą, w warunkach stałej temperatury i ciśnienia. Aktywność wody ma wpływ na wygląd, konsystencję, zapach i smak oraz podatność wyrobu na zepsucie. Kontrola optymalnej aktywności wody, charaktery-

Dr inż. J. Kowalska, dr inż. E. Majewska, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności, prof. dr hab. A. Lenart, Katedra Inżynierii Żywności i Organizacji Produkcji, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-766 Warszawa

stycznej dla danego produktu, umożliwia uzyskanie najwyższej jakości, maksymalnej trwałości i zminimalizowanie zawartości substancji dodatkowych, np. konserwujących. Dlatego też aktywność wody odgrywa kluczową rolę w procesie kontroli jakości produktów żywnościowych, farmaceutycznych, kosmetycznych i innych [5].

Charakter higroskopijny żywności wiąże się ze zdolnością do pochłaniania wody w środowisku wilgotnym lub oddawania wody w środowisku suchym, co powoduje zmianę zawartości wody w produkcie. Zdolność adsorpcji i desorpcji pary wodnej są dla danego materiału cechami charakterystycznymi i zależą od jego składu chemicznego oraz struktury [2].

Produkty sypkie cechuje pylistość, segregacja podczas napełniania lub opróżniania zbiorników oraz wysoka higroskopijność w kontakcie z powietrzem, czego konsekwencją jest pogorszenie sypkości i powstawanie zbryleń. Pod względem technologicznym niekorzystne zmiany zachodzące w produktach sypkich można ograniczyć lub im zapobiec, stosując proces aglomeracji. Innym rozwiązaniem jest zapewnienie optymalnych warunków przechowywania żywności, poprzez ustalenie wilgotności otoczenia na takim poziomie, aby chroniła materiał przed adsorpcją lub desorpcją pary wodnej. Trwałość żywności higroskopijnej można również zapewnić poprzez właściwe opakowanie [7].

Celem pracy było określenie wpływu zmiany składu surowcowego oraz procesu aglomeracji na aktywność wody napoju kakaowego w proszku.

Materiał i metody badań

Surowce do badań stanowiły produkty w proszku: kakao niskotłuszczowe, sacharoza (w postaci instant) (kakao i sacharoza zostały zakupione w przedsiębiorstwie produkcyjnym "NOSTA"), maltodekstryna średnioscukrzona (wyprodukowana przez PPS PEPEES S.A. Łomża), glukoza (pakowana w Riber Foods Polska) i fruktoza (wyprodukowana w Czechach dla FA. Langsteiner) oraz mleko odtłuszczone (Spółdzielnia Mleczarska Gostyń). Podstawowy skład mieszaniny zawierał 20 % kakao i 80 % sacharozy. Do każdej mieszaniny dodano 0,1 % lecytyny w odniesieniu do masy produktu. Zmiana składu surowcowego dotyczyła częściowego lub całkowitego zastąpienia sacharozy maltodekstryną lub mieszaniną glukozy i fruktozy (dodawanych w jednakowych ilościach) lub mlekiem w proszku. Analizie poddano składniki, mieszaniny i aglomeraty, których charakterystykę i skład podano w tab. 1.

Technologia otrzymywania aglomeratów polegała na wymieszaniu składników mieszaniny w zbiorniku aglomeratora STREA 1 (Niro-Aeromatic AG) przez 2 min po wprowadzeniu ich w stan fluidalny. Po dokładnym wymieszaniu uruchamiano pompę dozującą wodę do dyszy rozpyłowej, która wprowadzała ciecz przez natrysk w postaci drobnych kropelek na materiał poddawany aglomeracji. Optymalne masowe natężenie przepływu cieczy nawilżającej, przy którym 0,3 kg proszku nawilżało się równomier-

nie, a czas nawilżania wynosił 15 min, przyjęto na poziomie $15 \cdot 10^{-5} \text{ kg} \cdot \text{s}^{-1}$, przy ciśnieniu sprężonego powietrza w dyszy rozpylającej 0,2 MPa. Po zakończeniu nawilżania mieszanin proszków otrzymany aglomerat dosuszano przez 15 min w temp. 68 °C.

Tabela 1

Składniki stosowane do wytwarzania napoju kakaowego w proszku i ich mieszaniny.
Ingredients used to make powdered cocoa beverage and mixtures thereof.

Nazwa produktu / Name of product	Symbol / Symbol	
Surowce Raw materials	Proszek Powder	Aglomerat Agglomerate
Kakao / Cocoa	1	2
Sacharoza / Sucrose	3	4
Maltodekstryna / Maltodextrin	5	6
Mleko w proszku odtłuszczone / Powdered non-fat milk	7	8
Glukoza / Glucose	9	10
Fruktoza / Fructose	11	12
Mieszaniny Mixtures	Mieszanina Mixture	Aglomerat Agglomerate
20 % kakao + 80 % sacharozy / 20 % of cocoa + 80 % of sucrose	13	14
20 % kakao + 40 % sacharozy + 40 % glukozy i fruktozy 20 % of cocoa + 40 % of sucrose + 40 % of glucose and fructose	15	16
20 % kakao + 40 % sacharozy + 40 % maltodekstryny 20 % of cocoa + 40 % of sucrose + 40 % of maltodextrin	17	18
20 % kakao + 40 % sacharozy + 40 % mleko w proszku 20 % of cocoa + 40 % of sucrose + 40 % of powdered milk	19	20
20 % kakao + 40 % maltodekstryny + 40 % mleko w proszku 20 % of cocoa + 40 % of maltodextrin + 40 % of powdered milk	21	22
20 % kakao + 40 % maltodekstryny + 40 % glukozy i fruktozy 20 % of cocoa + 40 % of maltodextrin + 40 % of glucose and fructose	23	24
20 % kakao + 40 % mleka w proszku + 40 % glukozy i fruktozy 20 % of cocoa + 40 % of powdered milk + 40 % of glucose and fructose	25	26
20 % kakao + 80 % glukozy i fruktozy 20 % of cocoa + 80 % of glucose and fructose	27	28

Otrzymane produkty poddawano analizie granulometrycznej na sitach o średnicy oczek od 0 mm do 2,0 mm. Do badań wykorzystywano frakcje o wielkości cząstek 0,2 - 2,0 mm.

W składnikach, mieszaninach i aglomeratach określano aktywność wody (a_w) przy użyciu aparatu firmy ROTRONIC, typ Hygroskop DT, w temp. 25 ± 1 °C, poprzez napełnienie pojemniczków do pomiaru a_w i umieszczeniu ich w celkach aparatu. Po zamknięciu wieczka odczekiwano kilka minut do ustabilizowania się mierzonej

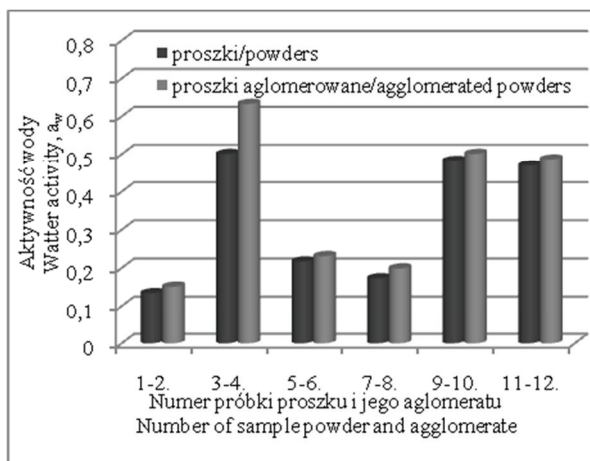
wartości. Pomiarów dokonywano w czterech równoległych powtórzeniach. Za wynik uznano średnią z pomiarów po odrzuceniu wyniku odbiegającego od pozostałych o 5 %, uznanych za błąd aparatu.

Wyniki i dyskusja

Zmiany o charakterze chemicznym, fizycznym i mikrobiologicznym zachodzą w produktach spożywczych w każdym zakresie aktywności wody. Różnią się jednak szybkością i intensywnością, przy czym w niektórych reakcjach i przy określonych wartościach a_w , woda może nawet zmieniać ich kierunek [12]. Zapewnienie właściwych warunków podczas przechowywania, w szczególności wilgotności i temperatury gwarantuje odpowiednią jakość surowców i wyrobów gotowych.

Każdy produkt wykazuje początkową aktywność wody, która warunkuje zdolność do adsorpcji lub desorpcji wody z otoczenia. Proszki spożywcze należą do grupy produktów, które cechują się niską początkową aktywnością wody, na poziomie 0,15 - 0,40. Jednocześnie charakteryzują się wysoką higroskopijnością i łatwo chłoną wodę z otoczenia, co z kolei ma wpływ na ich jakość i trwałość.

Spośród badanych surowców najniższą początkową aktywność wody wykazywało kakao - nr 1 (0,143) i mleko w proszku - nr 7 (0,173), natomiast najwyższą sacharoza nr 3 (0,501). Pozostałe surowce wykazywały aktywność wody od 0,217 – maltodekstryna (nr 5) do 0,482 – glukoza (nr 9) (tab. 1; rys. 1).

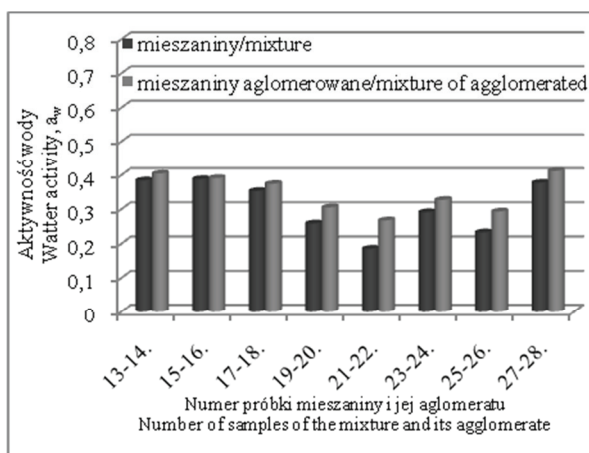


Rys. 1. Aktywność wody surowców i ich aglomeratów (oznaczenia jak w tab. 1).

Fig. 1. Water activity of raw materials and their agglomerates (denotations as in Tab. 1).

Wpływ aktywności wody różnych produktów spożywczych na przebieg reakcji chemicznych i mikrobiologicznych analizowali Rahman [11] i Lewicki [9]. Wskazali

oni próg aktywności wody charakterystyczny dla wybranych produktów spożywczych, po przekroczeniu którego wzrasta działanie poszczególnych enzymów, co warunkuje przebieg i intensywność reakcji chemicznych. Aktywność wody glukozy określono na poziomie 0,4, mleka – 0,2 - 0,3, kawy rozpuszczalnej – 0,45, herbaty granulowanej – 0,35. Określono również wpływ aktywności wody na przebieg zmian mikrobiologicznych w wybranych produktach spożywczych.



Rys. 2. Aktywność wody mieszanin i ich aglomeratów (oznaczenia jak w tab. 1).

Fig. 2. Water activity of mixtures and their agglomerates (denotations as in Tab. 1).

Z badanych surowców przygotowano mieszanki, z których każda zawierała 20 % kakao, natomiast 80 % stanowiły pozostałe surowce, które dodawano w różnych ilościach. Podstawowy skład mieszanki zawierał 20 % kakao + 80 % sacharozy. Jest to skład napojów kakaowych w proszku dostępnych w punktach handlowych. Ze względu na wysoką kaloryczność takich produktów podjęto próbę zmodyfikowania składu surowcowego przez częściowe lub całkowite zastąpienie sacharozy innym składnikiem - maltodekstryną, mlekiem w proszku lub mieszaniną glukozy i fruktozy (tab. 1).

Na podstawie analizy zmian aktywności wody w badanych produktach o zmodyfikowanym składzie surowcowym stwierdzono, że najniższą wartością badanego parametru charakteryzowały się próbki zawierające w składzie mleko w proszku. Spośród otrzymanych mieszanin najniższą aktywnością wody (0,185) charakteryzowała się próbka nr 21, zawierająca w składzie kakao, maltodekstrynę i mleko w proszku (rys. 2). Można przyjąć, że wartość ta była pośrednia pomiędzy a_w mleka w proszku (0,175) oraz proszku kakaowego (0,134) i maltodekstryny (0,217), uwzględniając jednocześnie ich udział procentowy w mieszaninie. Na poziomie 0,232 oraz 0,258 określono aktywność wody pozostałych mieszanin zawierających w składzie mleko

w proszku (próbki nr 25 oraz 19). Pierwsza z nich była z dodatkiem glukozy i fruktozy, których a_w wynosiła odpowiednio 0,482 i 0,469, natomiast druga – sacharozy, której aktywność wody była najwyższa i wynosiła 0,501. Najwyższą wartość aktywności wody wykazały próbki nr 15 (0,388) i 27 (0,377) o składzie odpowiednio 20 % kakao + 80 % sacharozy oraz 20 % kakao + 80 % glukozy i fruktozy. Otrzymane wartości wynikały z poziomu a_w poszczególnych surowców.

Podobne zależności otrzymała Kowalska i wsp. [6], badając właściwości sorpcyjnych mieszanin proszków spożywczych z uwzględnieniem wpływu składu mieszaniny. Stwierdzono, że zmieszanie składników o różnych zdolnościach do adsorbowania wody spowodowało uśrednienie uzyskiwanych wartości równowagowej zawartości wody, przy czym mieszaniny zawierające duże ilości białek charakteryzowały się zwiększoną zdolnością chłonięcia wody, zaś duża zawartość węglowodanów spowodowała jej zmniejszenie.

W celu poprawienia właściwości żywności w proszku poddaje się ją często operacji aglomerowania. Jej celem jest poprawa określonych właściwości produktów sypkich [1]. Dotyczy to głównie sypkości, łatwiejszej rozpuszczalności w cieczach, ograniczenia zdolności do pylenia i zbrylania oraz braku segregacji komponentów w układach wieloskładnikowych, co zapewnia jednorodność materiału [3, 4, 10].

Aglomeracji poddano wszystkie surowce i mieszaniny. Spośród surowców aglomerowanych najwyższą aktywnością wody a_w charakteryzowała się sacharoza - nr 4 (0,633), natomiast najniższą kakao - nr 2 (0,151) i mleko w proszku - nr 8 (0,199). Maltodekstryna wykazała a_w na poziomie 0,231 (nr 6), natomiast glukoza i fruktoza - 0,497 (nr 10) i 0,476 (nr 12) (tab. 1; rys. 1).

Spośród mieszanin aglomerowanych najniższą aktywność wody (0,267) wykazały próbki nr 22 i 26 zawierające odpowiednio w składzie kakao, maltodekstrynę i mleko w proszku oraz kakao, mleko oraz glukozę i fruktozę (rys. 2). Aktywność wody pozostałych próbek wynosiła powyżej 0,3, a próbek zawierającej w składzie 20 % kakao i 80 % sacharozy (nr 14) oraz 20 % kakao i 80 % glukozy i fruktozy (nr 28) odpowiednio 0,404 i 0,412.

Na podstawie przeprowadzonego pomiaru podjęto próbę określenia wpływu aglomeracji na aktywność wody badanych produktów o zmodyfikowanym składzie surowcowym. W tym celu dokonano porównania aktywności wody surowców oraz mieszanin i ich aglomeratów.

Analiza surowców wykazała największy wzrost aktywności wody po procesie aglomeracji w przypadku sacharozy (o około 21 %) i mleka w proszku (o około 15 %) (rys. 1). Natomiast proces aglomeracji nie wpłynął na aktywność wody glukozy i fruktozy.

Wszystkie aglomerowane mieszaniny uzyskały wyższą aktywność wody w porównaniu z produktem nieaglomerowanym (rys. 1 i 2). Spośród badanych mieszanin

najmniejszy wpływ procesu aglomeracji na aktywność wody wykazano w próbkach zawierających w składzie kakao i sacharozę (nr 13 i 14), kakao oraz glukozę i fruktozę (nr 15 i 16) oraz kakao, sacharozę i maltodekstrynę (nr 17 i 18). Natomiast największy wzrost badanego parametru po procesie aglomeracji wykazały próbki nr 19 i 20 (około 16 %), zawierające w składzie kakao, sacharozę i mleko w proszku, nr 25 i 26 (około 14 %) o składzie 20 % kakao + 40 % mleka w proszku + 40 % glukozy i fruktozy oraz nr 21 i 22 (o około 13 %) - 20 % kakao + 40 % maltodekstryny + 40 % mleka w proszku (rys. 2). Aktywność wody pozostałych produktów (nr 23 i 24 oraz 27 i 28) po procesie aglomeracji była wyższa o około 10 % w porównaniu z wartością a_w mieszanin o tym samym składzie surowcowym. Analiza statystyczna potwierdziła wpływ aglomeracji na aktywność wody badanych mieszanin.

Wpływ aglomeracji na zdolność do adsorpcji pary wodnej przez proszki aglomerowane badała Kowalska i wsp. [8]. Analizie poddano proszki, mieszaniny i ich aglomeraty charakteryzujące się zbliżoną zawartością białka i węglowodanów, natomiast dwa produkty były z dodatkiem tłuszczu. Stwierdzono istotny wpływ procesu aglomeracji na zdolność produktów do adsorpcji pary wodnej. Zaobserwowano mniejszą ilość zaabsorbowanej wody przez aglomeraty zawierające w składzie tłuszcz, w porównaniu z mieszaninami o tym samym składzie surowcowym.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że modyfikacja składu surowcowego ma wpływ na początkową aktywność wody. Tym samym odgrywa istotną rolę w kształtowaniu zdolności produktu do pochłaniania lub oddawania wody z otoczenia. Na podstawie analizy wariancji wykazano wpływ zarówno procesu aglomeracji, jak i zmiany składu surowcowego na aktywność wody badanych produktów. Stwierdzono również, że częściowe lub całkowite zastąpienie sacharozy innym składnikiem spowodowało większy wzrost aktywności wody w odniesieniu do wyników uzyskanych z porównania wpływu aglomeracji na badany parametr, co potwierdziła analiza statystyczna.

Wnioski

1. Analizowane składniki w proszku charakteryzowały się zróżnicowaną początkową aktywnością wody. Najniższą wartość wykazało kakao, a najwyższą sacharoza.
2. Mieszaniny o zróżnicowanym składzie surowcowym charakteryzowały się różną początkową aktywnością wody, która była uzależniona od wartości a_w poszczególnych składników i ich udziału procentowego w mieszaninie. Najniższe wartości aktywności wody wykazały mieszaniny zawierające w składzie mleko w proszku, a najwyższe produkty o składzie 20 % kakao i 80 % sacharozy lub glukozy oraz fruktozy.
3. Proces aglomeracji wpłynął na wzrost aktywności wody większości produktów, w porównaniu z mieszaninami o tym samym składzie surowcowym, średnio

- o 13 %. Wyjątkiem były aglomeraty zawierające w składzie sacharozę (poza produktem z dodatkiem mleka w proszku), w przypadku których nie wykazano wpływu aglomeracji na badany parametr.
4. Na podstawie oznaczenia aktywności wody stwierdzono statystycznie istotny wpływ zmiany składu surowcowego oraz procesu aglomeracji na aktywność wody większości badanych produktów. Analiza wariancji wskazała na większy wpływ zmiany składu surowcowego w porównaniu z wpływem procesu aglomeracji.

Badania wykonano w ramach pracy naukowej finansowanej ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (projekt badawczy własny nr N N3 12 261534).

Literatura

- [1] Domian E.: Aglomeracja w przemyśle spożywczym. *Przem. Spoż.*, 2002, **8**, 80-88.
- [2] Domian E., Lenart A.: Adsorpcja pary wodnej przez żywność w proszku. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2000, **4 (25)**, 27-35.
- [3] Fitzpatrick J., Ahrené L.: Food powder handling and processing: Industry problems, knowledge barriers and research opportunities. *Chem. Eng. and Proc.*, 2005, **44**, 209-214.
- [4] Horabik J., Molenda M.: Makro- i mikroskopowe modele materiałów sypkich. *Acta Agrophysica.*, 2003, **93**, 17-31.
- [5] Janowicz M., Lenart A., Sikora K.: Adsorpcja pary wodnej przez ciastka biszkoptowe wielowarstwowe. *Inżynieria Rolnicza.*, 2007, **5**, 205-211
- [6] Kowalska H., Domian E., Janowicz M., Lenart A.: Właściwości sorpcyjne wybranych mieszanin proszków spożywczych o składzie białkowo-węglowodanowym. *Inżynieria Rolnicza.*, 2005, **11**, 259-265.
- [7] Kowalska J., Lenart A., Dobrowolska J.: Wpływu czasu przechowywania na właściwości ogólne i stabilność kakao instant z dodatkiem kwasu L-askorbinowego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.*, 2006, **1 (46)**, 83-90.
- [8] Kowalska J., Lenart A., Dobrowolska J.: Wpływ aglomeracji na stabilność kwasu L-askorbinowego w przechowywanym kakao instant. *Inżynieria i Aparatura Chemiczna*, 2009, **1 (48)**, 29-30.
- [9] Lewicki P. P. (ed. by M. Shafiur Rahman): Data and models of water activity. *Food properties Handbook*, CRS Press, 2009, pp. 33-152.
- [10] Poszytek K., Domian E., Lenart A.: Wpływ aglomeracji w mechanicznie generowanym złożu fluidalnym na skład granulometryczny wybranych proszków spożywczych. *Acta Agrophysica*, 2006, **7**, 179-190.
- [11] Rahman S. M. (ed.), Water activity and sorption properties of food. *Food Properties Handbook*, CRC Press, N.Y.T., 1995, pp. 56-83.
- [12] Wirkowska M., Bryś J., Kowalski B.: Wpływ aktywności wody na stabilność hydrolityczną i oksydacyjną tłuszczu wyekstrahowanego z ziaren kukurydzy. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **5 (60)**, 273-281.

WATER ACTIVITY OF POWDERED COCOA BEVERAGE WITH A MODIFIED COMPOSITION OF RAW MATERIALS

S u m m a r y

The objective of the study was to determine the effect of changes in the raw material composition, as well as in the agglomeration process on water activity of powdered cocoa beverage. The raw materials analyzed were powders (cocoa, sucrose, medium-saccharified maltodextrin, glucose and fructose, and milk); the mixtures from those powders, mixtures were prepared and, next, agglomerated. A basic composition of the mixture contained 20% of cocoa and 80% of sucrose. The change in the composition of raw material consisted in partially or fully replacing the sucrose with the maltodextrin, the mixture of glucose and fructose, or with the powdered milk.

The powder ingredients analyzed were characterized by a different water activity. Cocoa showed the lowest value, and sucrose the highest. The mixtures of different composition were characterized by different initial water activity, which depended on the a_w values of individual components and of their per cent content in the mixture. The mixtures containing powdered milk were characterized by the lowest water activity, whereas the products containing 20 % of cocoa and 80 % of sucrose or glucose and of fructose showed the highest water activity. Based on the water activity determined, it was found that the changes in the composition of raw material had a significant effect on the water activity level of the products analyzed. The agglomeration process affected the activity of the tested samples of powdered cocoa beverage to a lesser extent.

Key words: food powders, agglomeration, water activity, shelf life of food ☒

SABINA GALUS, ANDRZEJ LENART

WPLYW STĘŻENIA BIAŁKA NA KINETYKĘ ADSORPCJI PARY WODNEJ PRZEZ POWŁOKI OTRZYMYWANE NA BAZIE IZOLATU BIAŁEK SERWATKOWYCH

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu zawartości białka w ilości od 7 do 10 % w roztworze powłokotwórczym na kinetykę adsorpcji pary wodnej przez powłoki wytworzone na bazie izolatu białek serwatkowych. Proces adsorpcji prowadzono w ciągu 20 h w środowisku o wilgotności względnej 75,3 %. Wpływ białka na adsorpcję pary wodnej analizowano poprzez wyznaczenie krzywych kinetycznych w funkcji czasu i krzywych szybkości adsorpcji pary wodnej w funkcji zawartości wody. Analizie matematycznej poddano zależności przyrostu zawartości wody w funkcji czasu, opisując krzywe kinetyczne równaniem wykładniczym. Analiza uzyskanych parametrów równania wykazała bardzo dobre dopasowanie do danych eksperymentalnych. Na podstawie przeprowadzonej analizy wykazano wpływ zawartości białka na adsorpcję pary wodnej przez powłoki serwatkowe.

Słowa kluczowe: powłoki jadalne, adsorpcja pary wodnej, białka serwatkowe

Wprowadzenie

Proces powlekania jest obiecującą metodą poprawy jakości i bezpieczeństwa żywności, wydłużenia terminu przydatności do spożycia oraz poprawy jej funkcjonalności. Filmy i powłoki jadalne mogą być stosowane jako: samodzielne opakowanie, integralna powłoka, aktywny składnik lub warstwa pomiędzy składnikami produktu. Skuteczność oraz właściwości funkcjonalne powłok zależą od właściwości materiałów powłokotwórczych (białek, węglowodanów, tłuszczów), stosowanych plastyfikatorów oraz innych dodatków. Większość biopolimerów wykazuje właściwości hydrofilowe w porównaniu z występującymi na rynku materiałami opakowaniowymi. W celu wdrożenia materiałów powłokotwórczych do produkcji żywności niezbędne jest uwzględnienie wyników badań naukowych dotyczących ich właściwości użytkowych

Dr inż. S. Galus, prof. dr hab. A. Lenart, Katedra Inżynierii Żywności i Organizacji Produkcji, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa

[7]. Aby wytworzyć powłoki jadalne należy użyć dwóch podstawowych składników: naturalnego polimeru zdolnego do utworzenia matrycy oraz plastyfikatora w celu uplastycznienia jej struktury [19]. Główną funkcją powłok jadalnych jest utrzymanie odpowiedniej jakości produktów, na które zostały naniesione [13]. Wśród białek pochodzenia zwierzęcego do produkcji powłok jadalnych najczęściej stosowane są białka mleka, kolagen i żelatyna, włókna mięśniowe oraz białka jaj [11]. Białka serwatkowe są produktem ubocznym przemysłu mleczarskiego i mogą być stosowane do produkcji powłok jadalnych. Powłoki z nich otrzymywane charakteryzują się niską odpornością mechaniczną i wysoką przepuszczalnością pary wodnej, co wynika z dużej zawartości hydrofilowych amin i ich budowy strukturalnej [6]. Białka serwatkowe są produkowane w dużych ilościach i cechują się dobrymi właściwościami funkcjonalnymi, dlatego mogą być stosowane do wytwarzania powłok jadalnych [8]. Bardzo duży wpływ na właściwości powłok jadalnych ma zawartość wody, która jest czynnikiem determinującym właściwości użytkowe, jak również trwałość powłok. Woda, jako dominujący składnik żywności warunkuje biologiczne, biochemiczne, chemiczne i fizyczne przemiany wielu składników [12]. Znajomość właściwości sorpcyjnych powleczonej żywności jest pomocna przy wyznaczaniu okresu przechowywania wielu produktów oraz określenia zmian, jakie mogą wystąpić pod wpływem zmiennej wilgotności otoczenia [10]. Wpływ plastyfikatorów i substancji dodatkowych na właściwości fizyczne powłok serwatkowych był niejednokrotnie tematem prac badawczych, jednak informacje odnośnie wpływu ilości białka na adsorpcję pary wodnej są znikome.

Celem pracy było określenie wpływu ilości białka na kinetykę adsorpcji pary wodnej przez powłoki serwatkowe w ciągu 20 godzin procesu przy wilgotności względnej środowiska 75,3%.

Material i metody badań

Opracowania metody wytwarzania powłok serwatkowych dokonano na podstawie wcześniejsze prac dotyczących powłok na bazie białek serwatkowych [3, 15, 19]. Sporządzano wodne roztwory powłokotwórcze o 7 - 10 % stężeniu białka (izolat białek serwatkowych BiPRO, Davisco Foods International, INC., USA, min. 95 % białka w s.m.) przez 10-minutowe mieszanie z zastosowaniem mieszadła magnetycznego obracającego się z prędkością 700 obr./min. Jako plastyfikator stosowano glicerol w ilości 40 % względem białka. Roztwory ogrzewano w łaźni wodnej z wytrząsaniem 50 obr./min w temp. 80 °C przez 30 min. W tab. 1. przedstawiono skład surowcowy otrzymanych roztworów powłokotwórczych. Wartość pH roztworu była na poziomie około 7. Po wystudzeniu do temp. 20 - 25 °C roztwory filtrowano. Szalki Petriego o średnicy 15 cm stanowiły podłoże, na które wylewano jednakową ilość substancji wynoszącą 15 ml. Powłoki suszone w temp. 25 °C w ciągu 16 h w powietrzu o wilgot-

ności względnej 40 %, przechowywano w środowisku o wilgotności względnej 52,9 % przez 7 dni w temp. 25 °C.

Tabela 1

Skład surowcowy powłok serwatkowych.
Content of raw materials in whey coatings.

Izolat białek serwatkowych Whey protein isolate [g]	Glicerol Glycerol [g]	Glicerol Glycerol [%]	Woda Water [g]
7	2,8	40	90,2
8	3,2	40	88,8
9	3,6	40	87,4
10	4	40	86

Zawartość wody oznaczano metodą suszarkową. Rozdrobnione powłoki o masie około 1 g ważono na wadze analitycznej z dokładnością $\pm 0,0001$ g i umieszczano w naczynkach wagowych. Powłoki suszono w temp. 105 °C przez 24 h [17]. Oznaczenie wykonano w trzech powtórzeniach. Kinetykę adsorpcji pary wodnej powłok białkowych oznaczano, korzystając ze stanowiska zapewniającego ciągły pomiar masy próbek. Do badań używano wagi Mettler Toledo AE 240 z dokładnością $\pm 0,0001$ g przystosowanej do pracy ciągłej w warunkach stałej temperatury i wilgotności względnej powietrza. Pomiar kinetyki adsorpcji pary wodnej przeprowadzono przy aktywności wody 0,753 (wilgotność względna środowiska 75,3 %) w temp. 25 °C przez 20 h z zastosowaniem nasyconego roztworu chlorku sodu. Próbkę do badań kinetycznych stanowiło 0,5 g materiału. Zmiany masy rejestrowano za pomocą programu komputerowego POMIAR. Do interpretacji matematycznej zależności przyrostów zawartości wody od czasu zastosowano równanie wykładnicze:

$$u = a + b(1 - \exp^{-c\tau}) \quad (1)$$

gdzie: a, b, c – parametry równania; τ – czas adsorpcji, h; u – zawartość wody [g wody/g s.m.]

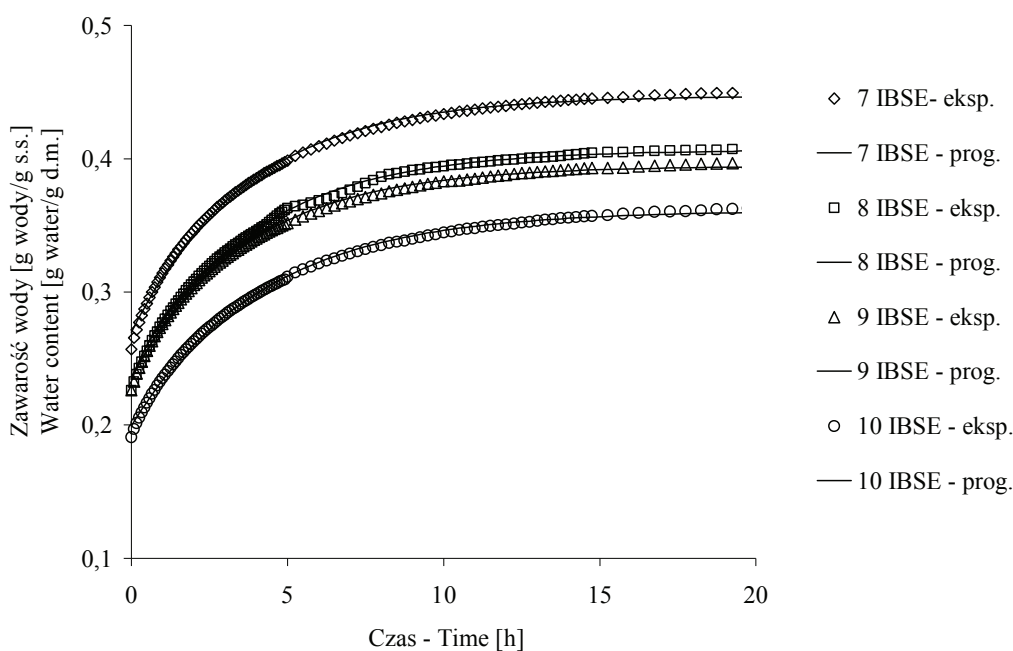
Wartości średnie i odchylenia standardowe obliczano w programie Microsoft Excel 2003. Ocenę przydatności równania wykładniczego do opisu uzyskanych krzywych kinetycznych adsorpcji pary wodnej prowadzono analizując współczynnik determinacji (R^2) oraz wartości błędu średniego względnego (MRE):

$$MRE = \frac{100}{N} \cdot \sum \left| \frac{u_e - u_p}{u_e} \right| \quad (2)$$

gdzie: u – zawartość wody, [g wody/g s.m.]; e – dane eksperymentalne; o – dane prognozowane; N – liczba danych.

Wyniki i dyskusja

Analizowano wpływ ilości białka z zakresu 7 - 10 % na adsorpcję pary wodnej przez powłoki serwatkowe przez wyznaczenie krzywych kinetycznych w funkcji czasu i krzywych szybkości adsorpcji pary wodnej w funkcji zawartości wody przy jednakowej aktywności wody środowiska 0,753 (wilgotność względna 75,3 %) w ciągu 20 h procesu. Biorąc pod uwagę przebieg krzywych zależności przyrostu zawartości wody od czasu zaobserwowano, że przebieg wszystkich krzywych był zbliżony do siebie kształtem (rys. 1). Stopień adsorpcji pary wodnej wszystkich materiałów był największy w pierwszych godzinach procesu, a następnie zmieniał się wraz z upływem czasu. Proces adsorpcji pary wodnej najintensywniej przebiegał w początkowej fazie procesu do 5 h, a następnie zbliżał się do wartości równowagowych, jednak stan równowagi wilgotnościowej nie został osiągnięty, o czym świadczą przyrosty zawartości wody w końcowych godzinach procesu. Buonocore i wsp. [1] wykazali podobne obserwacje w przypadku powłok kazeinowych, największą intensywność procesu adsorpcji



IBSE – izolat białek serwatkowych / whey protein isolate; eksp. – dane eksperymentalne / experimental data, prog. – dane prognozowane / forecast data.

Rys. 1. Zawarość wody w funkcji czasu powłok serwatkowych o różnej zawartości białka.

Fig. 1. Water content as a function of time of whey coatings with different content of protein.

pary wodnej przez pierwsze godziny procesu i spowolnienie wraz z upływem czasu. Powłoka z najmniejszym 7 % udziałem białka wykazywała największe przyrosty zawartości wody, zaś z najwyższym 10 % najmniejsze. Końcowe wartości zawartości wody po 20 h procesu wynosiły odpowiednio 0,363 i 0,450 g wody/g s.m. Duże zróżnicowanie położenia krzywych na wykresie związane było z różnicami początkowych zawartości wody w powłokach serwatkowych. Zaobserwowano zmniejszoną intensywność procesu adsorpcji pary wodnej wraz z większym udziałem białka w powłokach. Analizie matematycznej poddano zależności zawartości wody w funkcji czasu, opisując krzywe kinetyczne równaniem wykładniczym. Analiza uzyskanych parametrów równania wykładniczego wykazała bardzo dobre dopasowanie do danych eksperymentalnych (tab. 2). Wysoki współczynnik determinacji R^2 (0,998 - 0,999) oraz niskie wartości średnich błędów względnych MRE (0,433 - 0,548 %) wskazują na dobre opisanie danych doświadczalnych równaniem wykładniczym.

Tabela 2

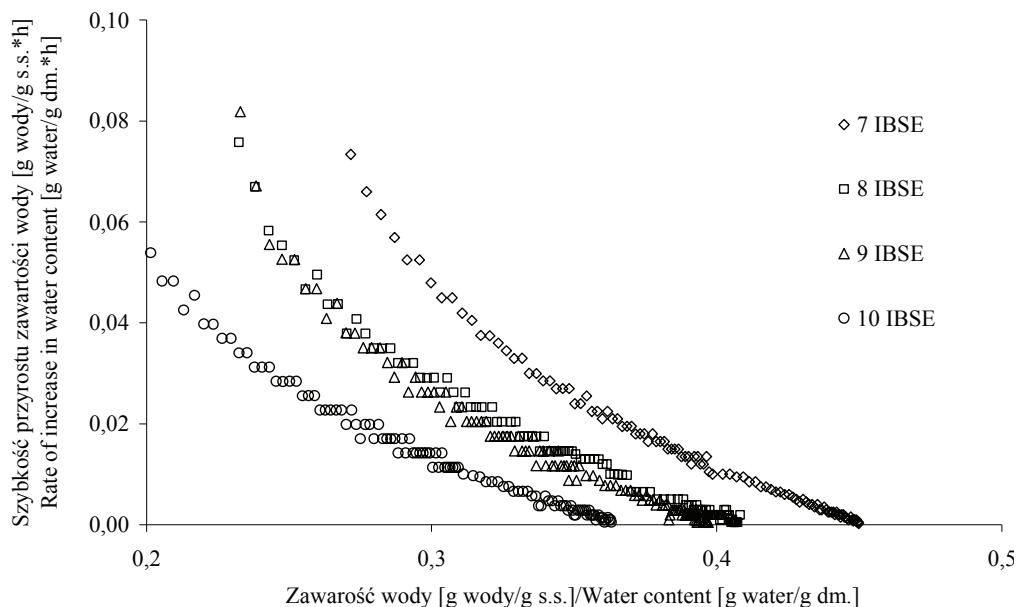
Parametry równania wykładniczego opisującego kinetykę adsorpcji pary wodnej przez powłoki serwatkowe o różnej zawartości białka.

Parameters of exponential equation to describe the kinetics of water vapour adsorption by whey coatings with different content of protein.

Izolat białek serwatkowych [%] Whey protein isolate [%]	Parametry równania Equation parameters	R^2	MRE [%]	Zawartość wody eksperymentalna [g wody/g s.s.] Experimental water content [g water/g d.m.]	Zawartość wody prognozowana [g wody/g s.s.] Forecast water content [g water/g d.m.]
7	a = 0,447 b = 0,397 c = 0,267	0,998	0,547	$u_0 = 0,254$ $u_{20} = 0,450$	$u_0 = 0,270$ $u_{20} = 0,446$
8	a = 0,407 b = 0,423 c = 0,266	0,999	0,433	$u_0 = 0,226$ $u_{20} = 0,408$	$u_0 = 0,234$ $u_{20} = 0,406$
9	a = 0,394 b = 0,401 c = 0,270	0,998	0,548	$u_0 = 0,226$ $u_{20} = 0,397$	$u_0 = 0,236$ $u_{20} = 0,394$
10	a = 0,361 b = 0,448 c = 0,238	0,998	0,533	$u_0 = 0,191$ $u_{20} = 0,363$	$u_0 = 0,199$ $u_{20} = 0,360$

Objaśnienia: / Explanatory notes:

R^2 – współczynnik determinacji / coefficient of determination; MRE – średni błąd względny / mean relative error; u_0 = początkowa zawartość wody / initial water content; u_{20} – końcowa zawartość wody po 20 h procesu / final water content after 20 hours of adsorption process.



IBSE – izolat białek serwatkowych / whey protein isolate

Rys. 2. Szybkość przyrostu adsorpcji pary wodnej w funkcji zawartości wody przez powłoki serwatkowe o różnej zawartości białka.

Fig. 2. Water vapour adsorption rate as a function of water content by whey coatings with different content of protein.

Wpływ zawartości białka na szybkość adsorpcji pary wodnej w funkcji zawartości wody przedstawiono na rys. 2. Analogicznie do krzywych kinetycznych, powłoka o 7 % zawartości białka wykazała największą szybkość procesu adsorpcji pary wodnej, a powłoka o 10 % udziale białka najmniejszą. Analizowane powłoki wykazały najwyższą szybkość adsorpcji przy początkowych zawartościach wody, mieszczących się w zakresie 0,20 - 0,35 g wody/g s.m. Wraz z przyrostem zawartości wody w powłokach szybkość procesu była coraz mniejsza. Zjawisko to związane było z dochodzeniem układu do stanu równowagi środowiskowej, jednak stan ten nie został osiągnięty po 20 h procesu.

Grubość i struktura powłok serwatkowych, jak również udział wody w materiale mają istotny wpływ na chłonięcie pary wodnej. Kokoszka i wsp. [9] wykazali istotny wpływ ilości izolatu białek serwatkowych na grubość powłok serwatkowych o jednokowej zawartości plastyfikatora. Zawartość białka miała znaczący wpływ na ilość zaadsorbowanej wody oraz na szybkość adsorpcji pary wodnej przez powłoki serwatkowe.

Wpływ zmiany składu surowcowego na właściwości sorpcyjne powłok białkowych był opisany również we wcześniejszych publikacjach. Fabra i wsp. [4] wykazali zmniejszenie stopnia chłonięcia wilgoci podczas analizy izoterm sorpcji pary wodnej przez powłoki kazeinowe z dodatkiem mieszaniny kwasu oleinowego i wosku pszczelego. Mahmoud i Savello [14] wykazali istotny wpływ glicerolu na właściwości sorpcyjne powłok na bazie białek serwatkowych. Rhim i wsp. [18] oraz Oses i wsp. [16] potwierdzili zwiększony przyrost zawartości wody przy większej zawartości glicerolu w powłokach białkowych związany z higroskopijnym charakterem plastyfikatora. Fabra i wsp. [5] wykazali podobne zależności powłok na bazie kazeiny z zastosowaniem glicerolu jako substancji plastyfikującej, jak również Cho i Rhee [2], analizując wpływ ilości i rodzaju plastyfikatora na zmianę ilości zaadsorbowanej wody przez powłoki sojowe w środowisku o różnej wilgotności względnej środowiska przez 50 h.

Wnioski

1. Zwiększenie zawartość białka wpływa na zmniejszenie adsorpcji pary wodnej przez powłoki serwatkowe.
2. W powłokach serwatkowych uzyskano największe przyrosty zawartości wody w pierwszych godzinach procesu adsorpcji.
3. Analiza parametrów równania wykładniczego wykazała dobre dopasowanie do danych eksperymentalnych.
4. Szybkość adsorpcji pary wodnej przez powłoki serwatkowe była największa na początku procesu przy małych zawartościach wody.
5. Stan równowagi wilgotnościowej nie został osiągnięty po 20 h procesu adsorpcji pary wodnej przez powłoki serwatkowe.

Literatura

- [1] Buonocore G.G., Del Nobile M.A., di Martino C., Gambacorta G., La Notte E., Nicolais L.: Modeling the water transport properties of casein-based edible coating. *J. Food Eng.*, 2003, **60**, 99-106.
- [2] Cho S.Y., Rhee Ch.: Sorption characteristics of soy protein films and their relation to mechanical properties. *LWT - Food Sci. Technol.*, 2002, **35** (2), 151-157.
- [3] Coupland J.N., Shaw N.B., Monahan F.J., O'Riordan E.D., O'Sullivan M.: Modeling the effect of glycerol on the moisture sorption behavior of whey protein edible films. *J. Food Eng.*, 2000, **43**, 25-30.
- [4] Fabra M.J., Talens P., Chirald A.: Microstructure and optical properties of sodium caseinate films containing oleic acid-beeswax mixtures. *Food Hydrocoll.*, 2009, **23** (3), 676-683.
- [5] Fabra M.J., Talens P., Chirald A.: Water sorption isotherms and phase transitions of sodium caseinate-lipid films as affected by lipid interactions. *Food Hydrocoll.*, 2010, **24** (4), 384-391.
- [6] Ghanbarzadeh B., Oromiehi A.R., Musavi M., Emam D-Jomeh Z., Razmi Rad E., Milani J.: Effect of plasticizing sugars on rheological and thermal properties of zein resins and mechanical properties of zein films. *Food Res. Int.*, 2006, **39** (8), 882-890.

- [7] Han J.H., Gennadios A.: Edible films and coatings: a review. In *Innovation in Food Packaging* ed. (by J.H. Han), Elsevier Academic Press, 2005, pp. 239-262.
- [8] Kaya S., Kaya A.: Microwave drying effects on properties of whey protein isolate edible films. *J. Food Eng.*, 2000, **43**, 91-96.
- [9] Kokoszka S., Debeaufort F., Lenart A., Voilley A.: Water vapor permeability, thermal and wetting properties of whey protein isolate based edible films. *Int. Dairy J.*, 2010, **20**, 53-60.
- [10] Kokoszka S., Lenart A.: Charakterystyka właściwości fizycznych powłok jadalnych. *Post. Techn. Przetw. Spoż.*, 2007, **17/30 (1)**, 47-51.
- [11] Lacroix M., Cooksey K.: Edible films and coatings from animal-origin proteins. In: *Innovative in packaging*. Elsevier Academic Press, 2005, pp. 301-317.
- [12] Lewicki P.P.: Raoult's law based food sorption isotherm. *J. Food Process Eng.*, 2000, **43**, 31-40.
- [13] Longares A., Monahan E.D., O'Riordan E.D., O'Sullivan M.: Physical properties and sensory evaluation of WPI films of varying thickness. *LWT - Food Sci. Technol.*, 2004, **37**, 545-550.
- [14] Mahmoud R., Savello P.A.: Mechanical properties of and water vapor transferability through whey protein films. *J. Dairy Sci.*, 1992, **75 (4)**, 942-946.
- [15] McHugh T.H., Krochta J.M.: Sorbitol vs glycerol-plasticized whey protein edible films: integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. *J. Am. Chem. Soc.*, 1994, **42**, 841-845.
- [16] Osés J., Fernandez-Pan I., Mendoza M., Maté J.I.: Stability of the mechanical properties of edible films based on whey protein isolate during storage at different relative humidity. *Food Hydrocoll.*, 2009, **23 (1)**, 125-131.
- [17] Rhim J-W., Gennadios A., Weller C.L., Cezeirat C., Hanna M.A.: Soy protein isolate – dialdehyde starch films. *Ind. Crops Prod.*, 1998, **8**, 195-203.
- [18] Rhim J-W., Gennadios A., Weller C.L., Hanna M.A.: Sodium dodecyl sulfate treatment improves properties of cast films from soy protein isolate. *Ind. Crops Prod.*, 2002, **15**, 199-205.
- [19] Shaw N.B., Monahan F.J., O'Riordan E.D., O'Sullivan M.: Effect of soya oil and glycerol on physical properties of composite WPI films. *J. Food Eng.*, 2002, **51 (4)**, 299-304.

EFFECT OF PROTEIN CONCENTRATION ON KINETICS OF WATER VAPOUR ADSORPTION BY COATINGS PREPARED ON THE BASIS OF WHEY PROTEIN ISOLATE

S u m m a r y

The objective of the study was to determine the effect of whey protein content amounting to 7 - 10 % in a coating-forming solution on the kinetics of water vapour adsorption by whey coatings formed on the basis of whey protein isolate. The adsorption process was conducted for 20 h in an environment with 75.3 % of relative humidity. The effect of protein on the water vapour adsorption was analyzed by tracing the kinetic curves as a function of time and the water vapour adsorption rate curves as a function of water content. The dependencies between the increases in water content as a function of time were mathematically analyzed and the kinetic curves were described using an exponential equation. The analysis of the equation parameters obtained proved that they very well corresponded to the experimental data. Based on the analysis performed, the effect was shown of the protein content on water vapour adsorption by whey coatings.

Key words: edible coatings, water vapour adsorption, whey proteins ☒

JOLANTA KRÓL, ANETA BRODZIAK, ANNA LITWIŃCZUK

PODSTAWOWY SKŁAD CHEMICZNY I ZAWARTOŚĆ WYBRANYCH BIAŁEK SERWATKOWYCH W MLEKU KRÓW RÓŻNYCH RAS I W SERWATCE PODPUSZCZKOWEJ

Streszczenie

Celem podjętych badań było określenie wpływu rasy krów na skład chemiczny i zawartość wybranych białek serwatkowych w mleku i serwatce podpuszczkowej. Badaniami objęto 2278 prób mleka, w tym 789 pochodziło od krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej, 486 – polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czerwono-białej, 768 – simentalskiej oraz 235 – jersey. Analizowano podstawowy skład chemiczny (zawartość białka ogólnego, kazeiny, tłuszczu, laktozy i suchej masy), a także wybranych białek serwatkowych (α -laktoalbuminy, β -laktoglobuliny, laktoferyny, albuminy serum i lizozymu). Stwierdzono istotny wpływ rasy na zawartość podstawowych składników chemicznych i wybranych białek serwatkowych. Krowy rasy jersey produkowały mleko wyróżniające się istotnie ($p \leq 0,01$) pod względem zawartości ocenianych składników. Serwatka uzyskana z mleka krów tej rasy charakteryzowała się największą zawartością białka ogólnego, w tym kazeiny. Istotnie więcej białek serwatkowych zawierało natomiast mleko i serwatka krów rasy simentalskiej. Wykazano, że serwatka zawierała ponad 50 % mniej suchej masy, w tym śladowe ilości tłuszczu i o ponad 70 % mniej kazeiny niż mleko.

Słowa kluczowe: rasy krów, mleko, serwatka podpuszczkowa, białka serwatkowe

Wprowadzenie

Głównym białkiem mleka jest kazeina, która stanowi około 80 % białka ogólnego. Jest to najważniejsze białko z uwagi na wysoką wartość technologiczną. Jej zawartość decyduje o szybkości powstawania skrzepu oraz jego zwięzłości [5, 9]. W aspekcie prozdrowotnym szczególnie ważna jest zawartość w mleku funkcjonalnych białek serwatkowych, a przede wszystkim: β -laktoglobuliny, α -laktoalbuminy oraz laktoferyny. Białka te wykazują wielokierunkowe oddziaływanie na organizm człowieka, zapobiegając występowaniu wielu schorzeń cywilizacyjnych [4, 7, 20]. Główne źródło tych białek stanowi serwatka, uboczny produkt w przemyśle mleczarskim przy produkcji

Dr inż. J. Król, prof. dr hab. A. Litwińczuk, Katedra Towaroznawstwa i Przetwórstwa Surowców Zwierzęcych, dr A. Brodziak, Katedra Hodowli i Ochrony Zasobów Genetycznych Bydła, Wydz. Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin

serów. Rocznie w Polsce powstaje ponad milion ton serwatki. W roku 2009 jej produkcja wyniosła 1,1 mln ton, w tym 160 tys. ton serwatki w postaci stałej, przy ogólnej produkcji mleka 12,4 mln ton od 2585 tys. krów [12]. Dawniej serwatkę traktowano jako odpad zanieczyszczający środowisko. Obecne technologie pozwalają na rozdzielanie poszczególnych frakcji białek serwatkowych, co umożliwi ich szersze wykorzystanie w przemyśle spożywczym i farmaceutycznym. Ich dodatek do żywności prowadzi do zwiększenia wartości odżywczej i poprawy cech sensorycznych produktów, jednocześnie podnosząc ich walory prozdrowotne [7, 10, 16].

Celem podjętych badań było określenie wpływu rasy krów na skład chemiczny i zawartość wybranych białek serwatkowych w mleku i serwatce podpuszczkowej.

Material i metody badań

Badaniami objęto mleko trzech podstawowych ras krów użytkowanych mlecznie w Polsce, tj. polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej, występującej w dwóch odmianach barwnych, tj. czarno- i czerwono-białej, jersey oraz simentalskiej. Krowy użytkowano w systemie intensywnym, tzn. utrzymywano je w oborach wolno stanowiskowych i żywiono według systemu TMR. W skład dawki pokarmowej wchodziły pasze objętościowe (kiszonka z kukurydzy, sianokiszonka, siano), treściwe oraz mieszanki mineralno-witaminowe. Łącznie do analiz pobrano 2278 próbek mleka, z czego 789 pochodziło od krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej, 486 – polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czerwono-białej, 768 – simentalskiej oraz 235 – jersey.

W celu uzyskania serwatki podpuszczkowej prowadzono enzymatyczną koagulację kazeiny za pomocą podpuszczki. W tym celu mleko odtłuszczano (wirując w temp. 4 °C przez 10 min przy 16000×g), a następnie podgrzewano do temp. 30 - 32 °C w łaźni wodnej. Podpuszczkę (0,66 g·100 cm⁻³; Fromase ® 220TL Granulate, DSM Food Specialities, Francja) dodawano w ilości 0,25 cm³ do 25 cm³ mleka.

W pobranych próbach mleka i serwatki podpuszczkowej oznaczano wartość pH – pHmetrem (Elmetron CP-401, Polska), podstawowy skład chemiczny, tj. zawartość: białka ogólnego, tłuszczu, laktozy i suchej masy – Infrared Milk Analyzer (Bentley Instruments, USA) i kazeiny – zgodnie z AOAC [1] oraz stężenie wybranych białek serwatkowych, tj. α -laktoalbuminy (α -La), β -laktoglobuliny (β -Lg), laktoferyny, krowiej albuminy serum (BSA) i lizozymu – wysokosprawną chromatografią ciecząową w odwróconym układzie faz (RP-HPLC). Wszystkie próbki przygotowano zgodnie z metodą opracowaną przez Romero i wsp. [19]. Po odtłuszczeniu próbki mleka doprowadzano do pH = 4,6 za pomocą 0,1 mol·dm⁻³ HCl (POCh, Polska) w celu kwasowej precypitacji kazein. Następnie z każdej próbki pobierano po 7 cm³ wydzielonej serwatki i wirowano (wirówką Universal 320R, Hettich Zentrifugen, Niemcy). Próbki po przefiltrowaniu przez bibułowe filtry jakościowe (Munktell, Niemcy) i strzykaw-

kowe filtry sterylne (Millipore typ GSTF, USA) poddawano analizie chromatograficznej. Rozdziału białek dokonywano przy użyciu chromatografu cieczowego ProStar 210 wyposażonego w detektor UV-Vis ProStar 325 (Varian, USA), z wykorzystaniem fazy ruchomej woda-acetonitryl w gradiencie i kolumny NUCLEOSIL 300-5 C18 (Varian, USA). Przeprowadzono również analizy substancji wzorcowych (Sigma, Niemcy). Identyfikacji jakościowej poszczególnych substancji dokonywano przy zastosowaniu programu Star 6.2 Chromatography Workstation (Varian, USA). Analizę ilościową wykonywano metodą wzorca zewnętrznego.

Dane dotyczące wydajności mlecznej krów uzyskano z dokumentacji hodowlanej prowadzonej przez Polską Federację Hodowców Bydła i Producentów Mleka.

Uzyskane wyniki opracowano statystycznie w programie StatSoft Inc. Statistica ver. 6, stosując jednoczynnikową analizę wariancji. Istotność różnic wyznaczono testem Tukey'a dla różnych liczebności, przy poziomie istotności $p \leq 0,05$ i $p \leq 0,01$.

Wyniki i dyskusja

Analizując wyniki zawarte w tab. 1. stwierdzono istotne różnice ($p \leq 0,01$) wydajności dobowej mleka ocenianych krów. Najwyższą wydajnością charakteryzowały się krowy rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej (27,1 kg). Istotnie mniej mleka produkowały krowy rasy jersey, tj. o 6,8 kg. Potwierdzeniem najwyższej wydajności dobowej krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej są wyniki badań innych autorów [2, 11].

Wykazano, że mleko krów rasy jersey wyróżniało się istotnie ($p \leq 0,01$) od mleka pozostałych ras pod względem zawartości podstawowych składników. Zawierało średnio o 1,47 % więcej suchej masy, w tym o 0,42 % kazeiny, 0,52 % białka ogólnego i 0,97 % tłuszczu. Dużą zawartość białka ogólnego (3,62 %), w tym kazeiny (2,74 %), przy najmniejszej zawartości tłuszczu (4,16 %), oznaczono w mleku krów rasy simentalskiej, co wpłynęło na uzyskanie istotnie ($p \leq 0,01$) najkorzystniejszego stosunku białkowo-tłuszczowego, tj. 0,87, świadczącego o przydatności technologicznej tego mleka, zwłaszcza do produkcji serów. Należy przy tym zaznaczyć, że w przypadku krów rasy jersey stwierdzono natomiast najniższy stosunek białkowo-tłuszczowy (0,79). Mleko krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej charakteryzowało się najmniejszą zawartością białka ogólnego, w tym kazeiny, przy stosunkowo dużej zawartości tłuszczu.

Wyniki uzyskane przez Croissant i wsp. [8] potwierdzają dużą zawartość podstawowych składników chemicznych w mleku krów rasy jersey. Barłowska i wsp. [2] wykazali, że najwięcej suchej masy (14,99 %, w tym 3,06% kazeiny, 4,19 % białka ogólnego, 5,34 % tłuszczu i 4,79 % laktozy) zawierało mleko pozyskiwane od krów rasy jersey, zaś najmniej od krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czerwono-

Tabela 1

Wydajność dobową, wartość pH i podstawowy skład chemiczny mleka krów ocenianych ras (średnia \pm błąd standardowy średniej).
Daily milk yield, pH value, and basic chemical composition of milk from breeds assessed (mean \pm standard error of mean).

Rasa / Breed	n	Wydajność dobową [kg] Daily milk yield [kg]	pH	Kazeina [%] Casein [%]	Białko ogólne [%] Total protein [%]	Tłuszcz [%] Fat [%]	Stosunek białkowo-tłuszczowy Protein to fat ratio	Laktoza [%] Lactose [%]	Sucha masa [%] Dry matter [%]
Polska holsztyńsko-fryzyjska odmiany czarno-białej Black and White cow variety of Polish Holstein-Friesian	789	27,1 ^C \pm 0,3	6,70 ^B \pm 0,01	2,63 ^A \pm 0,02	3,48 ^A \pm 0,02	4,25 ^B \pm 0,02	0,82 ^B \pm 0,01	4,77 \pm 0,01	13,15 ^A \pm 0,03
Polska holsztyńsko-fryzyjska odmiany czerwono-białej Red and White cow variety of Polish Holstein-Friesian	486	22,8 ^B \pm 0,4	6,68 ^A \pm 0,01	2,63 ^A \pm 0,02	3,49 ^A \pm 0,02	4,20 ^{AB} \pm 0,02	0,84 ^B \pm 0,01	4,79 \pm 0,01	13,13 ^A \pm 0,04
Simentalska Simmental	768	21,5 ^{AB} \pm 0,3	6,72 ^C \pm 0,01	2,74 ^B \pm 0,01	3,62 ^B \pm 0,02	4,06 ^A \pm 0,02	0,87 ^C \pm 0,01	4,73 \pm 0,01	13,16 ^A \pm 0,03
Jersey Jersey	235	20,3 ^A \pm 0,2	6,70 ^B \pm 0,01	3,09 ^C \pm 0,03	4,05 ^C \pm 0,04	5,17 ^C \pm 0,06	0,79 ^A \pm 0,01	4,75 \pm 0,02	14,62 ^B \pm 0,08
Ogółem Total	2278	23,0 \pm 0,2	6,71 \pm 0,01	2,76 \pm 0,02	3,67 \pm 0,03	4,45 \pm 0,03	0,83 \pm 0,01	4,76 \pm 0,02	13,51 \pm 0,05

Objaśnienia: / Explanations:

Wartości średnie oznaczone różnymi literami w kolumnach różnią się statystycznie istotnie: A, B, C – przy $p \leq 0,01$.
Mean values denoted by various letters in columns differ statistically significantly: A, B, C – at $p \leq 0,01$.

Tabela 2

Zawartość wybranych białek serwatkowych w mleku krów ocenianych ras (średnia \pm błąd standardowy średniej).
Content of selected whey proteins in milk from breeds assessed (mean \pm standard error of mean).

Rasa / Breed	α -La α -lactalbumin [g·dm ⁻³]	β -Lg β - lactoglobulin [g·dm ⁻³]	BSA Bovine albumin serum [g·dm ⁻³]	Laktoferyna Lactoferrin [mg·dm ⁻³]	Lizozym Lysozyme [μ g·dm ⁻³]	α -La/ β -Lg
Polska holsztyńsko-fryzyjska odmiany czarno-białej Black and White cow variety of Polish Holstein-Friesian	0,97 ^A \pm 0,01	2,92 ^A \pm 0,01	0,43 ^A \pm 0,01	97,81 ^A \pm 0,58	8,04 ^A \pm 0,12	0,334 ^A \pm 0,001
Polska holsztyńsko-fryzyjska odmiany czerwono-białej Red and White cow variety of Polish Holstein-Friesian	1,00 ^A \pm 0,01	3,00 ^B \pm 0,02	0,47 ^B \pm 0,01	96,55 ^A \pm 0,75	9,88 ^B \pm 0,20	0,332 ^A \pm 0,002
Simentalska Simmental	1,16 ^C \pm 0,01	3,34 ^D \pm 0,02	0,47 ^B \pm 0,01	119,65 ^C \pm 0,67	10,60 ^B \pm 0,10	0,346 ^B \pm 0,002
Jersey Jersey	1,07 ^B \pm 0,01	3,15 ^C \pm 0,03	0,49 ^B \pm 0,01	105,55 ^B \pm 0,96	12,34 ^C \pm 0,20	0,342 ^B \pm 0,002
Ogółem Total	1,06 \pm 0,01	3,11 \pm 0,02	0,46 \pm 0,01	104,95 \pm 0,89	10,21 \pm 0,14	0,337 \pm 0,002

Objaśnienia jak pod tab. 1. / Explanations as in Tab. 1.

T a b e l a 3

Wartość pH, podstawowy skład chemiczny i zawartość głównych białek serwatkowych w serwatce podpuszczkowej (średnia \pm błąd standardowy średniej).
pH value, basic chemical composition, and content of main whey proteins in rennet whey (mean \pm standard error of mean).

Rasa / Breed	pH	Kazeina Casein [%]	Białko ogólne Crude protein [%]	Tłuszcz Fat [%]	Laktoza Lactose [%]	Sucha masa Dry matter [%]	α -La α -lactalbumin [g·dm ⁻³]	β -Lg β -lactoglobulin [g·dm ⁻³]	α -La/ β -Lg
Polska holsztyńsko-fryzyjska odmiany czarno-białej Black and White cow variety of Polish Holstein-Friesian	6,30 \pm 0,01	0,69 ^{ab} \pm 0,01	1,43 ^{AB} \pm 0,01	0,05 \pm 0,01	4,27 ^A \pm 0,02	6,63 \pm 0,05	0,95 ^A \pm 0,01	2,87 ^A \pm 0,01	0,319 \pm 0,004
Polska holsztyńsko-fryzyjska odmiany czerwono-białej Red and White cow variety of Polish Holstein-Friesian	6,35 \pm 0,01	0,72 ^{ab} \pm 0,01	1,39 ^{AB} \pm 0,01	0,04 \pm 0,01	4,51 ^B \pm 0,04	6,63 \pm 0,06	0,95 ^A \pm 0,01	2,81 ^A \pm 0,01	0,331 \pm 0,005
Simentalska Simmental	6,42 \pm 0,01	0,62 ^a \pm 0,01	1,22 ^A \pm 0,01	0,06 \pm 0,01	4,44 ^{AB} \pm 0,03	6,40 \pm 0,04	1,12 ^B \pm 0,01	3,28 ^B \pm 0,04	0,339 \pm 0,003
Jersey Jersey	6,34 \pm 0,01	0,89 ^b \pm 0,01	1,66 ^B \pm 0,01	0,06 \pm 0,01	4,33 ^{AB} \pm 0,03	6,72 \pm 0,05	0,99 ^{AB} \pm 0,01	3,06 ^{AB} \pm 0,03	0,323 \pm 0,003
Ogółem Total	6,37 \pm 0,01	0,76 \pm 0,01	1,45 \pm 0,01	0,06 \pm 0,01	4,38 \pm 0,03	6,61 \pm 0,04	1,01 \pm 0,01	3,02 \pm 0,03	0,329 \pm 0,03

Objaśnienia: / Explanations:

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

białej, tj. 13,16 %, w tym 2,45 % kazeiny, 3,34 % białka ogólnego, 4,39 % tłuszczu i 4,78 % laktozy. Kuczaj i Blicharski [14] wykazali natomiast, że mleko krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej, w porównaniu z czerwono-białą, zawierało więcej białka i tłuszczu, przy mniej korzystnych ich proporcjach.

Wartość pH ocenianego mleka kształtowała się od 6,68 (polska holsztyńsko-fryzyjska odmiany czerwono-białej) do 6,72 (simentalska). Uzyskane wartości świadczą o świeżości analizowanego surowca, a zarazem o jego przydatności do przetworstwa.

Rasa krów istotnie ($p \leq 0,01$) wpływała również na zawartość analizowanych białek serwatkowych (tab. 2). Mleko pozyskiwane od krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej zawierało mniejszą ilość głównych albumin, tj. α -laktoalbuminy i β -laktoglobuliny, co wpłynęło na uzyskanie najmniejszej proporcji tych białek. Krowy rasy simentalskiej i jersey produkowały natomiast mleko zawierające więcej, odpowiednio o: $0,18 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ i $0,08 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ α -La oraz $0,38$ i $0,19 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ β -Lg. Zawartość BSA kształtowała się od $0,43 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ w przypadku rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej do $0,49 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ w przypadku rasy jersey. Mleko pozyskiwane od krów rasy simentalskiej i jersey charakteryzowało się również największym stężeniem laktoferyny i lizozymu. W porównaniu z rasą polską holsztyńsko-fryzyjską różnice zawartości tych białek, na korzyść krów rasy simentalskiej i jersey, kształtowały się, odpowiednio: $22,47 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ i $1,64 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{dm}^{-3}$ oraz $8,37 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ i $3,38 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{dm}^{-3}$. Analiza wyników uzyskanych przez innych autorów [13, 15, 21]. dot. mleka krów różnych ras, wskazuje na dużą zmienność zawartości poszczególnych białek serwatkowych. Lindmark-Månsson i wsp. [15] w mleku surowym pochodzącym z 9 farm zlokalizowanych na terenie Szwecji uzyskali średnio $1,0 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ ($1,0 - 1,1 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$) α -La i $3,5 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ ($2,9 - 4,5 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$) β -Lg oraz $90 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ ($70 - 110 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$) laktoferyny i były to ilości porównywalne z wynikami własnymi w mleku krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej obu odmian. Wyższy poziom laktoferyny ($145,66 - 204,89 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$) w mleku krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej uzyskali Wielgosz-Groth i wsp. [22]. W porównaniu z wynikami własnymi, na znacznie mniejszą zawartość laktoferyny ($7,30 - 14,73 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$), przy niemalże dwukrotnie większym stężeniu lizozymu (średnio $15,6 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{dm}^{-3}$), w mleku krów czarno-białych wskazują Reklewska i wsp. [18]. Z kolei, Wedholm i wsp. [21], analizując mleko krów dwóch ras szwedzkich, tj. czerwono-białych i holsztyńskich, nie wykazali wpływu rasy na wydajność mleczną oraz poziom omawianych białek serwatkowych.

W tab. 3. przedstawiono parametry fizykochemiczne i zawartość głównych białek serwatkowych w serwatce podpuszczkowej. Wykazano, że w odniesieniu do wartości pH mleka, wartość pH serwatki obniżyła się najmniej (o 0,28) – w przypadku rasy jersey, a najwięcej, tzn. o 0,47, w przypadku polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej. Procentowy udział suchej masy w serwatce stanowił niespełna 50 %

suchej masy mleka. Serwatka zawierała średnio 1,45 % białka ogólnego, tzn. o ponad 60 % mniej w stosunku do średniej zawartości białka w mleku, wynoszącej 3,67 %. Największą koncentracją białka charakteryzowała się serwatka uzyskana z mleka krów rasy jersey (1,66 %). Zawartość kazeiny w serwatce kształtowała się od 0,62 % (rasa simentalska) do 0,89 % (rasa jersey). W porównaniu z mlekiem średnia zawartość kazeiny w serwatce zmniejszyła się o ponad 70 %. W niewielkim stopniu zmieniała się natomiast koncentracja głównych białek serwatkowych, tj. α -La i β -Lg. Podobnie, jak w przypadku mleka, największą zawartość tych białek stwierdzono w serwatce uzyskanej od krów rasy simentalskiej i jersey. Udział laktozy w serwatce zmniejszył się nieznacznie (niespełna 10 %). Największą zawartością laktozy charakteryzowała się serwatka uzyskana z mleka krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czerwono-białej (4,51 %), a najmniejszą – odmiany czarno-białej (4,27 %). Zawartość tłuszczu w serwatce wynosiła od 0,04 % (polska holsztyńsko-fryzyjska odmiany czerwono-białej) do 0,06 % (rasa simentalska i jersey). Wyniki własne znajdują potwierdzenie w badaniach Bylund [6], wskazujących na 50 - 60 % zawartość składników odżywczych mleka w serwatce. Wykazano, że ich udział jest warunkowany składem chemicznym mleka oraz rodzajem zastosowanej technologii przetwarzania [3]. Zazwyczaj w surowej serwatce znajduje się od 0,05 do 0,30 % (m/v) pyłu kazeinowego [24]. Według Zadow [23] białko w serwatce podpuszczkowej stanowi od 0,8 do 0,9 %, choć L. Zander i Z. Zander [24] podają 0,62 %. Wyniki własne wskazują na większą zawartość białka ogólnego i laktozy. Räsänen i wsp. [17] podają, że zawartość laktozy w serwatce wynosi 3,54 - 4,18 %. Zawartość tłuszczu w serwatce w proszku stanowi natomiast średnio 0,8 % [25], a według Zadow [23] od 0,37 do 1,52 %. Większa koncentracja głównych białek serwatkowych, a zwłaszcza β -laktoglobuliny, w serwatce uzyskanej od rasy simentalskiej i jersey potencjalnie może mieć wpływ na poprawę właściwości funkcjonalnych, w tym pianotwórczych i żelujących, roztworów białek serwatkowych.

Wnioski

1. Stwierdzono istotny wpływ rasy krów (przy $p \leq 0,05$ i $p \leq 0,01$) na zawartość podstawowych składników chemicznych i wybranych białek serwatkowych w mleku i serwatce podpuszczkowej.
2. Krowy rasy jersey produkowały mleko wyróżniające się istotnie ($p \leq 0,01$) pod względem zawartości ocenianych składników, tj. suchej masy, białka ogólnego, kazeiny i tłuszczu. Serwatka podpuszczkowa uzyskana z mleka krów tej rasy charakteryzowała się również największą zawartością białka ogólnego, w tym kazeiny.
3. Istotnie więcej białek serwatkowych zawierało mleko krów rasy simentalskiej i uzyskana z tego mleka serwatka.

4. Wykazano, że serwatka zawierała ponad 50 % mniej suchej masy, w tym śladowe ilości tłuszczu i o ponad 70 % mniej kazeiny niż mleko.

Literatura


- [1] AOAC: Official Methods of Analysis. Casein Nitrogen Content of Milk. 998.06. AOAC International, 2000, Chapter **33**, 52.
- [2] Barłowska J., Litwińczuk Z., Król J., Topyła B.: Technological usefulness of milk of cows of six breeds maintained in Poland relative to a lactation phase. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2006, **15 (56)**, 17-21.
- [3] Bednarski W.: Doskonalenie technologii oraz organizacji przetwarzania serwatki w Polsce. *Przem. Spoż.*, 2001, **2**, 32-34.
- [4] Bhat Z.F., Bhat H.: Milk and dairy products as functional foods: a review. *Int. J. Dairy Sci.*, 2011, **6**, 1, 1-12.
- [5] Bonczar G., Domagała J., Walczycka M.: The influence of ultrafiltration of ewe's milk on soft cheeses properties. *EJPAU*, 2002, **5 (1)**, #02.
- [6] Bylund G.: Dairy processing handbook. Tetra Pack Processing Systems AB, Sweden, 1995.
- [7] Chatterton D.E.W., Smithers G., Roupas P., Brodkorb A.: Bioactivity of β -lactoglobulin and α -lactalbumin – technological implications for processing. *Int. Dairy J.*, 2006, **16**, 1229-1240.
- [8] Croissant A.E., Washburn S.P., Dean L.L., Drake M.A.: Chemical properties and consumer perception of fluid milk from conventional and pasture-based production systems. *J. Dairy Sci.*, 2007, **90 (11)**, 4942-4953.
- [9] Felenćzak A., Gil Z., Ormian M.: Kappa-kazeina jako wskaźnik przydatności technologicznej mleka. *Rocz. Nauk. Zoot.*, 2000, **8**, 9-13.
- [10] Glibowski P.: Zastosowanie białek serwatkowych w przemyśle spożywczym. *Przeł. Mlecz.*, 2004, **9**, 10-13.
- [11] Heins B.J., Hansen L.B., Seykora A.J., Johnson D.G., Linn J.G., Romano J.E., Hazel A.R.: Cross-breeds of Jersey x Holstein compared with pure Holsteins for productivity, fertility, and body and udder measurements during first lactation. *J. Dairy Sci.*, 2008, **91 (3)**, 1270-1278.
- [12] Rynek mleka – stan i perspektywy. Analizy rynkowe – kwiecień 2010. IERiGŻ – PIB, Warszawa 2010.
- [13] Król J., Litwińczuk Z., Brodziak A., Sawicka-Zugaj W.: Bioactive protein content in milk from local breeds of cows included in the genetic resources conservation programme. *Ann. Anim. Sci.*, 2010, **10 (3)**, 213-221.
- [14] Kuczaj M., Blicharski P.: Porównanie wydajności mlecznej krów rasy czarno- i czerwono-białej utrzymywanych w tych samych warunkach środowiskowych. *Med. Wet.*, 2005, **61 (3)**, 293-296.
- [15] Lindmark-Månsson H., Fonden R., Pettersson H.E.: Composition of Swedish dairy milk. *Int. Dairy J.*, 2003, **13**, 409-425.
- [16] McIntosh G.H., Royle P.J., Le Leu R.K., Regester G.O., Johnson M.A., Grinstead R.L., Kenward R.S., Smithers G.W.: Whey Proteins as Functional Food Ingredients? *Int. Dairy J.*, 1998, **8**, 425-434.
- [17] Räsänen T.L., Alhonen L., Sinervirta R., Keinänen T., Herzig K.H., Suppola S., Khomutov A.R., Vepsäläinen J., Jänne J.: A polyamine analogue prevents acute pancreatitis and restores early liver regeneration in transgenic rats with activated polyamine catabolism. *J. Biol. Chem.*, 2002, **277**, 39867-39872.

- [18] Reklewska B., Bernatowicz E., Reklewski Z., Nałęcz-Tarwacka T., Kuczyńska B., Zdziarski K., Oprządek A.: Zawartość biologicznie aktywnych składników w mleku krów zależnie od systemu żywienia i sezonu. *Zesz. Nauk. Przgl. Hod.*, 2003, **68**, 85-98.
- [19] Romero C., Perez-Andujar O., Jimenes S.: Detection of cow's milk in ewe's or goat's milk by HPLC. *Chromatographia*, 1996, **42**, 181-184.
- [20] Smithers, G.W.: Whey and whey proteins – from 'Gutter-to-Gold'. *Int. Dairy J.*, 2008, **18**, 695-704.
- [21] Wedholm A., Hallén E., Larsen L.B., Lindmark-Månsson H., Karlsson A.H., All-mere T.: Comparison of milk protein composition in a Swedish and a Danish dairy herd using reversed phase HPLC. *Acta Agricult. Scand. Section A*, 2006, **56**, 8-15.
- [22] Wielgosz-Groth Z., Sobczuk-Szul M., Wroński M., Rzemieniewski A.: Wpływ sezonu i poziomu produkcji na skład białkowy mleka krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej. *Biul. Nauk.*, 2009, **30**, 135-139.
- [23] Zadov J.G.: *Whey and lactose processing*. Elsevier Applied Science, London 1992.
- [24] Zander L., Zander Z.: Współczesne techniki przetwarzania serwatki. *Przem. Spoż.*, 2007, **4**, 6-8.
- [25] Żbikowska A., Żbikowski Z.: Wpływ reakcji biochemicznych w proszkach mlecznych na właściwości funkcjonalne. *Przgl. Mlecz.*, 2007, **5**, 10-14.

BASIC CHEMICAL COMPOSITION AND CONTENT OF SELECTED WHEY PROTEINS IN MILK FROM DIFFERENT COW BREEDS AND IN RENNET WHEY

S u m m a r y

The objective of the research conducted was to determine the effect of cow breed on the chemical composition and content of some selected whey proteins in milk and in rennet whey. The research comprised 2278 milk samples in total, i.e. 789 samples of milk from the Black and White cow variety of the Polish Holstein-Friesian breed, 486 from the Red and White cow variety of the Polish Holstein-Friesian breed, 768 from the Simmental, and 235 from the Jersey cows. Analyzed was the basic chemical composition of milk (i.e. the contents of total protein, casein, fat, lactose, and dry matter), as well as of the selected whey proteins (α -lactalbumin, β -lactoglobulin, lactoferrin, bovine albumin serum, and lysozyme). It was found that the breed had a significant effect on the content of basic chemical compounds and on the content of selected whey proteins. The Jersey cows produced milk with the contents of the components analyzed being significantly ($p \leq 0.01$) above average. The whey from milk of that cow breed was also characterized by the highest content of total protein including casein. However, the milk and whey from Simmental cows had significantly more whey proteins. It was shown that the content of dry matter in the whey was more than 50 % lower compared to milk, and it also contained trace quantities of fat and the casein content therein was ca. 70 % lower.

Key words: cow breeds, milk, rennet whey, whey proteins 

MAŁGORZATA KOWALSKA, ANNA ŻBIKOWSKA, AGNIESZKA GÓRECKA

WPLYW WYBRANYCH ZAGĘSTNIKÓW NA ROZKŁAD KROPEL OLEJU W EMULSJACH NISKOTŁUSZCZOWYCH

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu wielkości dodatku, rodzaju oraz układu zastosowanych zagęstników na rozkład kropeł oleju w emulsjach niskotłuszczowych. W pracy zastosowano następujące zagęstniki: hydroksyfosforan diskrobiowy (skrobia instant z kukurydzy woskowej, skrobia z tapioki), naturalne gumy (ksantanowa, guar, mączka chleba świętojańskiego). W otrzymanych emulsjach tłuszczowych oznaczono lepkość, rozkład i średnią wielkość cząstek. Określono współczynnik dyspersji.

Stwierdzono, że majonez niskotłuszczowy zawierający dodatki: 3 % hydroksypropylofosforanu diskrobiowego (przeznaczonego do gotowania) i 0,7 % mączki chleba świętojańskiego jest najlepiej skomponowaną emulsją.

Słowa kluczowe: emulsje niskotłuszczowe, zagęstniki, lepkość, wielkość cząstek

Wprowadzenie

Emulsje są to dwufazowe układy stanowiące w miarę stabilną mieszaninę dwóch roztworów, z których jeden zawiera wodę i rozpuszczone w niej substancje hydrofilowe, a drugi jest jednorodną mieszaniną składników hydrofobowych, głównie lipidów. Stabilność każdego układu zdyspergowanego warunkuje obecność związków obniżających napięcie międzyfazowe i energię wewnętrzną układu oraz ewentualnych substancji hamujących łączenie się cząstek fazy rozproszonej (koalescencję). Istotnym elementem nadającym emulsji odpowiednią stabilność jest również wielkość i rozkład cząsteczek fazy rozproszonej, a także ich koncentracja [4, 5, 18]. Poza tym wielkość kropeł tłuszczu wpływa na smak, teksturę i wygląd emulsji [7]. Układy koloidalne i dyspersyjne są z natury niestabilne, jednak można je określać jako kinetycznie stabilne, jeśli tempo zmian jest wystarczająco małe [12, 20].

Dr inż. M. Kowalska, Katedra Chemii, Wydz. Materiałoznawstwa Technologii i Wzornictwa, Politechnika Radomska, 26-600 Radom ul. Chrobrego 27, dr inż. A. Żbikowska, dr inż. A. Górecka, Zakład Technologii Tłuszczów i Koncentratów Spożywczych, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 156 C, 02-776 Warszawa

Pod względem mechanizmów fizykochemicznych typy niestabilności emulsji można podzielić na dwie grupy: niestabilności odwracalne i nieodwracalne. Śmietankowanie i sedymentacja są przykładem niestabilności odwracalnych. W przypadku śmietankowania cząstki fazy rozproszonej dążą do powierzchni układu, nie zmieniając swoich wielkości. Ten typ niestabilności występuje częściej w emulsjach typu „olej w wodzie” niż „woda w oleju”. W przypadku sedymentacji cząstki fazy rozproszonej gromadzą się na dnie naczynia, w którym znajduje się emulsja, również nie zmieniając swoich rozmiarów.

W przypadku flokulacji cząstki fazy rozproszonej skupiają się ze sobą, ale bez znacznego przemieszczania się w kierunku powierzchni czy dolnych obszarów układu. W tym przypadku bardzo często dochodzi do zlewania poszczególnych cząsteczek w większe krople, czyli do koalescencji. Koalescencja jest procesem nieodwracalnym, co skutkuje niemożliwością odtworzenia pierwotnego rozmiaru cząstek fazy rozproszonej, czyli przywrócenia emulsji. Proces koalescencji najczęściej kończy się całkowitym rozdzieleniem fazy wodnej i olejowej, czyli tzw. złamaniem emulsji [1, 13].

Do rozdziału faz może również dojść w wyniku dojrzenia Oswalda [2, 6]. Zjawisko to inaczej nazwane dyfuzją molekularną może wystąpić w przypadku, gdy ciśnienie wewnątrz kropeł fazy zdyspergowanej jest wyższe niż w fazie ciągłej. Rozpuszczalność fazy wewnętrznej jest wyższa w mniejszych micelach niż w większych. Różnica ciśnień prowadzi do dyfuzji składników emulsji fazy wewnętrznej z mniejszych miceli do większych. Podczas tego procesu następuje wyrównanie ciśnień wewnątrz niejednorodnych miceli. Proces ten prowadzi w konsekwencji do zaniku małych miceli na rzecz dużych [16].

Jednym ze sposobów zwiększania stabilności emulsji jest dodatek hydrokoloïdów. Są to wielkocząsteczkowe hydrofilowe biopolimery stosowane jako funkcjonalne dodatki do żywności, mające na celu poprawę jej tekstury i stabilności [19]. Hydrokoloïdy mogą stabilizować emulsje poprzez zwiększenie lepkości fazy ciągłej np. guma ksantanowa, ale także działając jako powierzchniowo czynny środek tworzący gruby film wokół kropeł emulsji [5]. Dodatek modyfikowanej skrobi z kukurydzy woskowej również zapobiega agregacji kuleczek olejowych i sedymentacji [3].

Celem pracy było określenie wpływu wielkości dodatku, rodzaju oraz układu zastosowanych zagęstników na rozkład kropeł oleju w emulsjach niskotłuszczowych.

Material i metody badań

Do wytworzenia emulsji niskotłuszczowych zastosowano: olej rzepakowy rafinowany (Zakłady Przemysłu Tłuszczowego w Warszawie), cukier biały „Srebrna łyżeczka” (Cukrownia Głinojeck), musztardę sarepską (Develey Polska), sól jodowaną Solino (Inowrocławskie Kopalnie Soli), ocet spirytusowy 10 % (Społem Kielce) oraz wodę.

Substancjami zagęszczającymi były (charakterystyki preparatów podane przez producentów):

1. Hydroksypropylofosforan diskrobiowy:

- hfd 1 – skrobia instant (stosowana na zimno) z kukurydzy woskowej (Ultra-TEX 2000 firmy National Starch & Chemical). Lepkość oznaczona w wiskografie Brabendera: 1400 BU min. (B113TR: 4,6 %, 30 °C, 10 min, pH 3), 1200 BU min. (B113TR: 4,6 %, 95 °C, pH 3);
- hfd 2 – skrobia z tapioki do gotowania (National Frigex firmy National Starch & Chemical). Temperatura kleikowania skrobi – 64 °C. Lepkość oznaczona w wiskografie Brabendera: 280-380 BU pik (B191: 6 % skrobi, 95 °C, pH 6), 50 BU min. wzrost (B191: 6 % skrobi, 95 °C, 10 min, pH 6).

2. Naturalne gumy:

- ksan – guma ksantanowa (firmy Arnaud Polska) o masie cząsteczkowej ok. $1000 \cdot 10^3$ Da, rozpuszczalna w zimnej wodzie;
- guar – guma guar (firmy Arnaud Polska) o masie cząsteczkowej $50 \cdot 10^3$ - $800 \cdot 10^3$ Da, rozpuszczalna w zimnej wodzie;
- mchś – mączka chleba świętojańskiego (firmy Arnaud Polska) o masie cząsteczkowej powyżej $300 \cdot 10^3$ Da, rozpuszczalna w temp. powyżej 85 °C.

Receptury emulsji majonezowych

Receptury emulsji niskotłuszczowych otrzymywanych metodą „na zimno” i „na gorąco” opracowano na podstawie specyfikacji poszczególnych preparatów. Zawartość składników we wszystkich emulsjach wynosiła (m/m): 5 % oleju, 1 % octu, 2,5 % cukru, 1,7 % soli, 2 % musztardy. Dodatek wody stanowił uzupełnienie składników do 100 %. Emulsje różniły się między sobą rodzajem i ilością zastosowanej substancji zagęszczającej (tab. 1). Emulsje majonezowe otrzymywano w homogenizatorze laboratoryjnym – młynku koloidalnym próżniowym typ HP-1,5 firmy PT-Masz.

Technologia emulsji majonezowych metodą „na zimno”

Przed właściwym procesem emulgowania mieszano cukier i sól. Surowce były automatycznie transportowane do mieszalnika za pomocą pompy próżniowej. Przepływomierzami dostarczano do układu wodę, ocet i olej. Olej wprowadzano stosując dwie szybkości dozowania ze względu na fakt, że początkowo olej należy dostarczać do układu powoli, a następnie sukcesywnie zwiększać szybkość podawania. Proces homogenizacji emulsji przebiegał przy zredukowanym ciśnieniu (o 24 - 48 % w stosunku do ciśnienia atmosferycznego). Prędkość homogenizacji wynosiła 3000 obr./min, a czas 90 s. Fazę wodną homogenizowano przez 60 s, a następnie fazę olejową z wodną przez 30 s; pod koniec homogenizacji dodawano ocet.

Tabela 1

Wielkości dodatku zagęstnika do emulsji majonezowych niskotłuszczowych.
Amounts of thickeners added to fat-low mayonnaise emulsions.

Lp./Pos.	Metoda Method	Dodatek zagęstnika [%] Thickener addition [%]				
		hfd 1	hfd 2	ksant	guar	mchś
1	Na zimno cold method	7	–	0,3	–	–
2		5	–	0,5	–	–
3		3	–	0,7	–	–
4		7	–	–	0,3	–
5		5	–	–	0,5	–
6		3	–	–	0,7	–
7	Na gorąco hot method	-	7	–	–	0,3
8		-	5	–	–	0,5
9			3	–	–	0,7

Otrzymywanie emulsji majonezowych metodą „na gorąco”

W przypadku emulsji majonezowych otrzymywanych „metodą na gorąco” fazę wodną ogrzewano do temp. 95 °C, przetrzymywano w tej temp. przez 5 min, a następnie schładzano do temp. 25 °C. Tak przygotowaną fazę wodną poddawano homogenizacji, stosując takie same parametry, jak przy wytwarzaniu emulsji metodą „na zimno”.

Metody badań

W pracy oznaczano średnią wielkość i rozkład cząstek oraz lepkość dziewięciu emulsji różniących się dodatkami wpływającymi na ich stabilność (tab. 1).

Pomiar lepkości pozornej wykonywano przy użyciu reometru Rheotest-2 Typ RV 2 zgodnie z instrukcją urządzenia (1978). Pomiar przeprowadzano w temp. próbki 20 ± 1 °C Do cylindra pomiarowego odważano 15 g próbki i umieszczano w zestawie pomiarowym. Pomiarów dokonywano przy ustawieniu przełącznika zakresów w położeniu I, przekładni szybkości obrotów w pozycji 1. oraz dźwigni włącznikowej w położeniu a. Do pomiaru stosowano trzpień H. Zastosowana szybkość ścinania wynosiła 0,3333 s⁻¹. Pomiaru dokonywano odczytując wskazanie współczynnika kąтового α .

Lepkość emulsji majonezowych obliczono z równania:

$$\eta = Z \cdot \alpha / 10 \text{ Dr}$$

gdzie:

η – lepkość [Pa·s],

D_r – szybkość ścinania [s^{-1}],

Z – stała aparatu 24,428 [dyn/cm²].

Oznaczenie wielkości cząstek fazy zdyspergowanej metodą dyfrakcji laserowej dokonywano przy użyciu spektrometru laserowego Microtrac FRA/UPA (Leed's & Northrup, USA) zgodnie z instrukcją urządzenia. Wielkość cząstek oznaczano w ciągu 30 s. Wykonano trzy serie pomiarów każdej emulsji. Współczynnik dyspersji k obliczano z równania:

$$k = (a - b)/c$$

a – największa wielkość kropli tłuszczu w 90 % wszystkich cząstek,

b – największa wielkość kropli tłuszczu w 10 % wszystkich cząstek,

c – największa wielkość kropli tłuszczu w 50 % wszystkich cząstek.

Wszystkie oznaczenia powtarzano trzykrotnie, a wyniki opracowano statystycznie (analiza wariancji) przy użyciu programu komputerowego Statgraphics plus 4.1. Ocena istotności różnic pomiędzy średnimi wykonano testem Duncana przy $p < 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Trudności związane z uzyskaniem produktów o obniżonej zawartości tłuszczu zmuszają technologów żywności do poszukiwania różnego rodzaju dodatków, które zapewniają odpowiednią stabilność m.in. majonezom niskotłuszczowym. W doświadczeniu otrzymano majonezy o obniżonej zawartości tłuszczu różniące się układem dodatków (rodzaj i ilość), mogących wpływać na rozkład i wielkość cząstek fazy zdyspergowanej oraz lepkość.

W tab. 2. przedstawiono: średnią wielkość krotek oleju w emulsji, liczbę frakcji, współczynnik dyspersji i lepkość zmierzone po 24 h od wytworzenia emulsji.

Otrzymane emulsje charakteryzowały się zróżnicowaną lepkością od 58,6 do 175,9 Pa·s. Emulsje z dodatkiem hydroksypropylofosforanu diskrobiowego i gumy ksantanowej (w ilościach odpowiednio: 7 i 0,3 % oraz 5 i 0,5 %) charakteryzowały się największą lepkością (odpowiednio 175,9 i 131,9 Pa·s), emulsja z dodatkiem 3 % hfd 1 i 0,7 % gumy ksantanowej miała znacznie mniejszą lepkość (87,9 Pa·s), ale wszystkie te emulsje cechowały się dość wysoką średnią wielkością cząstek (tab. 2). Wielkość cząstek fazy zdyspergowanej zależy od wielu czynników, m.in. prędkości i czasu homogenizacji, dodatku emulgatora, innych składników emulsji, np. soli, lepkości fazy wodnej [2, 10, 14, 17]. Poza tym niejednokrotnie na rozkład i wielkość cząstek fazy rozproszonej emulsji wpływ mają warunki przechowywania emulsji [8]. W warunkach omawianej pracy wpływ na badane parametry miał dodatek hydrokolidów. Stopień dyspersji fazy tłuszczowej, a tym samym wielkość cząstek fazy zdyspergowanej, zależy od procesu homogenizacji, ale także od lepkości fazy ciągłej [11] i ma wpływ na właściwości emulsji, np. smak, konsystencję oraz stabilność. W przypadku emulsji

niskotłuszczowych faza wodna ma duży wpływ na lepkość końcową emulsji. Z kolei lepkość fazy wodnej istotnie wpływa na stopień dyspersji oleju; im ma ona większą lepkość, tym trudniejsze jest uzyskanie odpowiedniej dyspersji oleju [9].

Tabela 2

Charakterystyka emulsji.
Profile of emulsions.

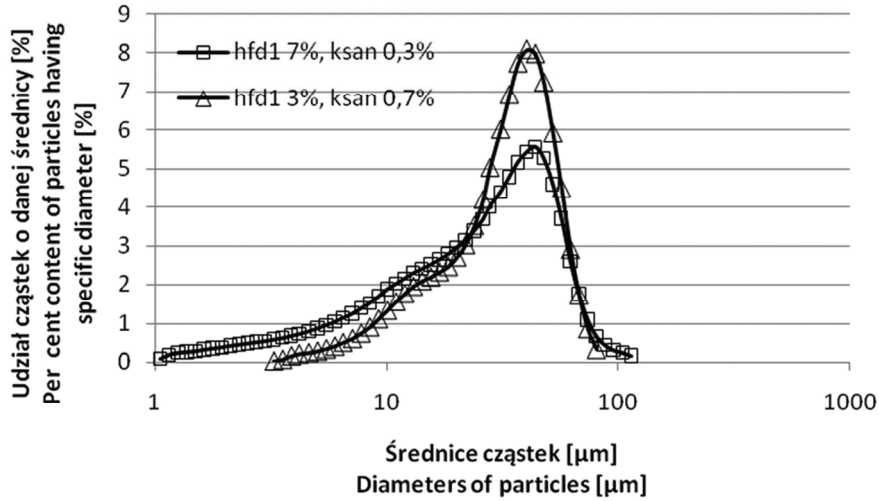
Próbka Sample	Emulsja Emulsion	Liczba frakcji w emulsji Number of fractions in emulsion	Współczynnik dyspersji Dispersion index	Średnia wielkość cząstek Average particle size [μm]	Lepkość Viscosity [Pa·s]
1	hfd1 7%, ksan 0,3%	1	1,82	31,72 ^c \pm 0,11	175,9 ⁱ \pm 0,90
2	hfd1 5%, ksan 0,5%	1	1,46	36,46 ^f \pm 0,13	131,9 ^f \pm 0,71
3	hfd1 3%, ksan 0,7%	1	1,24	35,63 ^e \pm 0,21	87,9 ^c \pm 0,23
4	hfd1 7%, guar 0,3%	3	3,41	24,90 ^a \pm 0,20	142,9 ^h \pm 0,71
5	hfd1 5%, guar 0,5%	1	1,16	32,37 ^d \pm 0,06	109,9 ^e \pm 0,28
6	hfd1 3%, guar 0,7%	3	2,02	27,08 ^b \pm 0,07	68,4 ^b \pm 0,09
7	hfd2 7%, mchś 0,3%	2	1,32	42,66 ^g \pm 0,08	134,4 ^g \pm 0,72
8	hfd2 5%, mchś 0,5%	1	1,21	44,33 ^h \pm 0,21	100,2 ^d \pm 0,05
9	hfd2 3%, mchś 0,7%	1	1,16	42,03 ^g \pm 0,22	58,6 ^a \pm 0,06

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Różne litery (a, b, c...) w tej samej kolumnie oznaczają różnice statystycznie istotne ($p < 0,05$) / Different letters (a, b, c...) in the same column denote statistically significant differences ($p < 0,05$).

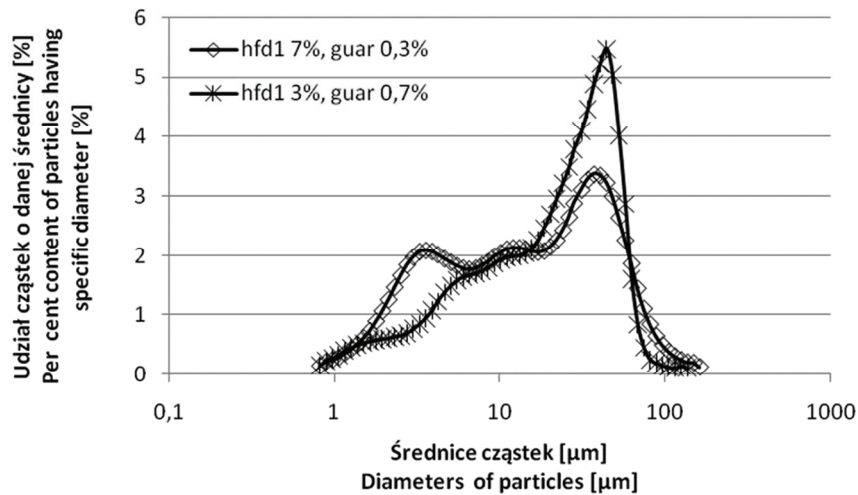
Współczynniki dyspersji emulsji z dodatkiem hydroksypropylofosforanu diskrobowego i gumy ksantanowej (w ilościach odpowiednio: 7 i 0,3 % oraz 5 i 0,5 %) i emulsji z dodatkiem 3 % hfd1 i 0,7 % gumy ksantanowej przyjmowały stosunkowo małe wartości, co świadczy o tym, że krople tłuszczu były zbliżone do siebie pod względem wielkości. Również we wszystkich tych emulsjach można było wyróżnić jedną frakcję (rys. 1). Na podstawie przytoczonych powyżej wyników można wnioskować, że guma ksantanowa, niezależnie od wielkości dodatku, utrudnia dyspersję tłuszczu – krople tłuszczu mają duże rozmiary oraz są zbliżone do siebie pod względem wielkości.

W emulsjach z dodatkiem gumy guar rozkład wielkości kropeł oleju był bardziej zróżnicowany. Emulsja z dodatkiem 7 % hfd1 i 0,3 % gumy guar charakteryzowała się średnią wielkością cząstek wynoszącą 24,90 μm , zbliżoną do średniej wielkości cząstek emulsji z dodatkiem 3 % hfd1 i 0,7 % gumy guar (27,08 μm). Współczynnik



Rys. 1. Udział cząstek o danej średnicy i ich rozkład w niskotłuszczowej emulsji majonezowej, zawierającej dodatek 7 % hfd1 i 0,3 % gumy ksantanowej oraz w emulsji zawierającej dodatek 3 % hfd1 i 0,7 % gumy ksantanowej, po 24 h od wytworzenia.

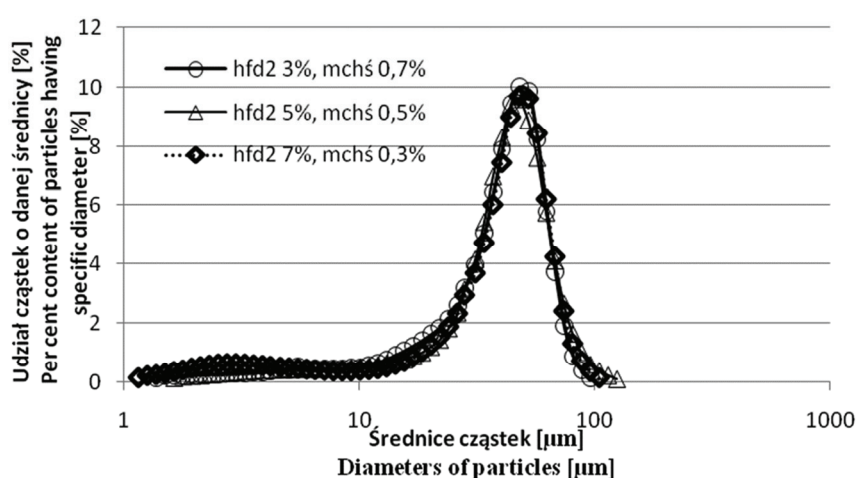
Fig. 1. Per cent content of particles showing a specific diameter and their distribution in the low-fat mayonnaise emulsion containing 7 % of hfd1 and 0.3 % of xanthan gum added and in the emulsion with 3 % of hfd1 and 0.7 % of xanthan gum, 24 h after manufacturing.



Rys. 2. Udział cząstek o danej średnicy i ich rozkład w niskotłuszczowej emulsji majonezowej, zawierającej dodatek 7 % hfd1 i 0,3 % gumy guar oraz w emulsji zawierającej dodatek 3 % hfd1 i 0,7 % gumy guar, po 24 h od wytworzenia.

Fig. 2. Per cent content of particles showing a specific diameter their distribution in the low-fat mayonnaise emulsion with 7 % of hfd1 and 0.3 % of guar gum added and in the emulsion with 3 % of hfd1 and 0.7 % of guar gum, 24 h after manufacturing.

dyspersji tych emulsji był stosunkowo wysoki (tab. 1) i można było wyróżnić w nich 3 frakcje (rys. 2). Natomiast emulsja z dodatkiem 5 % hfd1 i 0,5 % gumy guar charakteryzowała się wyższą średnią wielkością cząstek (32,37 μm) i niższym współczynnikiem dyspersji, a także wyróżniono w niej tylko jedną frakcję. Fakt ten świadczy o niskim stopniu zdyspergowania tłuszczu w tej emulsji. Zatem w przypadku emulsji z dodatkiem gumy guar stwierdzono, że na stopień dyspersji fazy olejowej ma wpływ wielkość dodatku gumy guar (im większy, tym bardziej utrudniona dyspersja), ale równocześnie i lepkość emulsji (im mniejsza, tym łatwiejsza dyspersja oleju).



Rys. 3. Udział cząstek o danej średnicy i ich rozkład w niskotłuszczowej emulsji majonezowej, zawierającej dodatek 7 % hfd2 i 0,3 % mchś, w emulsji zawierającej dodatek 5 % hfd1 i 0,5 % mchś oraz w emulsji zawierającej 3 % hfd2 i 0,7 % mchś, po 24 h od wytworzenia.

Fig. 3. Per cent content of particles with specific diameters and their distribution in low-fat mayonnaise emulsion with 7 % of hfd1 and 0.3 % of mchś added, in the emulsion with 5 % of hfd1 and 0.5 % of mchś added, and in the emulsion with 3 % of hfd1 and 0.7 % of mchś, 24 h after manufacturing.

W przypadku emulsji otrzymywanych „na gorąco” z dodatkiem hydroksypropylofosforanu kleikującego na gorąco (hfd2) i dodatku teksturotwórczego (mączki chleba świętojańskiego – mchś) emulsje, niezależnie od zastosowanej proporcji skrobi do drugiego hydrokoloidu, charakteryzowały się najwyższymi średnimi wielkościami cząstek tłuszczu, mimo że ich lepkość była porównywalna lub mniejsza niż emulsji otrzymywanych „na zimno” o analogicznym dodatku substancji zagęszczających. Miały one również stosunkowo niski współczynnik dyspersji, co może świadczyć o zbliżonych rozmiarach cząstek tłuszczu. W emulsjach tych wyróżniono jedną lub dwie frakcje (rys. 3). Analizując powyższe spostrzeżenia można przypuszczać, że w przypadku emulsji otrzymywanych „na gorąco” trudno jest zdyspergować fazę olejową w fazie

wodnej, do otrzymywania takich emulsji należałoby zastosować inne parametry homogenizacji, np. większą liczbę obrotów lub wydłużyć czas procesu. Jednak odnosząc się do parametrów charakteryzujących rozkład emulsji czyli liczbę frakcji, współczynnik dyspersji oraz analizując lepkość i średnią wielkość cząstek emulsji układ zawierający hydroksypropylofosforan diskrobiowy stosowany „na gorąco” (w ilości 3 %) z dodatkiem mączki chleba świętojańskiego (w ilości 0,7 %) jest bliski układowi monodispersyjnemu i dlatego wydaje się być emulsją o najlepiej dobranym składzie.

Wnioski

1. Emulsje otrzymywane metodą „na zimno” z większym dodatkiem hydroksypropylofosforanu diskrobiowego i mniejszym dodatkiem drugiego hydrokoloidu (gumy ksantanowej, guar), mimo wysokiej lepkości, charakteryzowały się mniejszą wielkością cząstek i wyższym współczynnikiem dyspersji w porównaniu do emulsji z mniejszą ilością skrobi i z większym dodatkiem drugiego hydrokoloidu (pomimo mniejszej lepkości). Na tej podstawie można przypuszczać, że dodatek gumy ksantanowej i guar utrudnia dyspersję fazy olejowej. Należy więc uwzględnić ten fakt w doborze czasu i szybkości homogenizacji emulsji z tymi hydrokoloidami.
2. W emulsjach otrzymywanych „na gorąco” trudniej jest, w porównaniu do metody „na zimno”, dyspergować olej w fazie wodnej, prawdopodobnie jest to związane z tworzeniem się silnych wiązań między hydrokoloidami fazy wodnej podczas jej podgrzewania.
3. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że emulsja zawierająca hydroksypropylofosforan diskrobiowy stosowany „na gorąco” (w ilości 3 %) z dodatkiem mączki chleba świętojańskiego (w ilości 0,7 %) jest układem o najlepiej dobranym składzie.

Literatura

- [1] Buffo R.A., Reineccius G.A., Oehlert G.W.: Factors affecting the emulsifying and rheological properties of gum acacia in beverage emulsion. *Food Hydrocolloids*, 2001, **15**, 53-66.
- [2] Chanamai R., McClements D.J.: Creaming stability of flocculated monodisperse oil-in-water emulsions. *J. Colloid Int. Sci.*, 2000, **225**, 214-218.
- [3] Chanami R., McClements D.J.: Depletion flocculation of beverage emulsions by gum Arabic and modified starch. *J. Food Sci.*, 2001, **66** (3), 457-463.
- [4] Coupland J. N., McClements D. J.: Droplet size determination in food emulsions: comparison of ultrasonic and light scattering methods. *J. Food Eng.*, 2001, **50**, 117-120.
- [5] Dickinson E., Elverson D.J., Murray B.S.: On the film-forming and emulsion-stabilizing properties of gum Arabic: dilution and flocculation aspects. *Food Hydrocolloids*, 1989, **3** (2), 101-114.
- [6] Dłużewska E., Leszczyński K.: Stabilność i cechy reologiczne emulsji napojowych z dodatkiem gumy ghatti. *Postępy Techniki Przetw. Spoż.*, 2006, **1**, 21-24

- [7] Goudappel G.J.W., van Duynhoven J.P.M., Mooren M.M.W.: Measurement of oil droplet size distributions in food oil/water emulsions by time domain pulsed field gradient NMR. *J. Colloid Int. Sci.*, 2001, **239**, 535-542.
- [8] Gruczyńska E., Kowalski B., Kowalska M., Śmiechowski K.: Charakterystyka wybranych majonezów oraz wpływ temperatury i czasu przechowywania na ich stabilność. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **4 (49)**, 154-166.
- [9] Huang X., Kakuda Y., Cui W.: Hydrocolloids in emulsions: particle size distribution and interfacial activity. *Food Hydrocolloids*, 2001, **15**, 533-542.
- [10] Kowalska M., Górecka A., Śmiechowski K., Krygier K.: Fizyczna stabilność emulsji niskotłuszczowej w zależności od zastosowanych hydrokoloidów. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **2 (47) Supl.**, 143-152.
- [11] Langton M., Jordansson E., Altskär A., Sørensen Ch., Hermansson A.-M.: Microstructure and image analysis of mayonnaises. *Food Hydrocolloids*, 1999, **13**, 113-125.
- [12] Mengual O., Meunier G., Cayre I., Puech K., Snabre P.: Turbiscan M.A.: 2000 multiple light scattering measurement for concentrated emulsion and suspension instability analysis. *Talanta*, 1999, **50**, 445-456.
- [13] McClements D.J.: *Food emulsion: Principles, practice and techniques*. Second edition. CRC Press LLC, New York 1999.
- [14] Pal R.: Rheology of high internal phase ratio emulsions. *Food Hydrocolloids*, 2006, **20**, 997-1005.
- [15] Pal R.: Viscosity models for multiple emulsions. *Food Hydrocolloids*, 2008, **22**, 428-438.
- [16] Roland I., Piel G., Delattre L., Evrard B.: Systematic characterization of oil-in-water emulsions for formulation design. *Inter. J. Pharmaceutics*, 2003, **263 (1-2)**, 85-94.
- [17] Saitoa M., Yin L., Kobayashic I., Nakajima M.: Comparison of stability of bovine serum albumin-stabilized emulsions prepared by microchannel emulsification and homogenization. *Food Hydrocolloids*, 2006, **20**, 1020-1028.
- [18] Schubert H., Ax K., Behrend O.: Product engineering of dispersed systems. *Trends in Food Sci. Technol.*, 2003, **14**, 9-16.
- [19] Sharma S.C.: Gums and hydrocolloids in oil-water emulsion. *Food Technol.*, 1981, **1**, 59-67.
- [20] Ursica L., Tita D., Palici I., Tita B., Vlaia V.: Particle size analysis of some water/oil/water multiple emulsions. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2005, **37**, 931-936.

EFFECT OF SELECTED THICKENERS ON OIL DROPLET-SIZE DISTRIBUTION IN LOW-FAT EMULSIONS

S u m m a r y

The objective of the paper was to determine the effect of the amount added, kind, and system of the thickeners applied on the oil droplet size distribution in low-fat emulsions. The following thickeners were applied in the analysis: hydroxyphosphate distarch (instant starch from waxen corn, and starch from tapioca), natural gums (xanthan gum, guar, and carob starch). The following was determined in the fat emulsions: viscosity, distribution, and the average droplet size. The dispersion index was determined.

It was found that the low-fat mayonnaise containing the additions: 3 % of hydroxyphosphate distarch (planned for cooking) and 0.7 % of carob starch was the most appropriately formulated emulsion.

Key words: low-fat emulsions, thickeners, viscosity, particle size 

STANISŁAW WAJDA, EWA BURCZYK, RAFAŁ WINARSKI,
TOMASZ DASZKIEWICZ

WSKAŹNIK WYDAJNOŚCI RZEŻNEJ BUHAJKÓW I JEGO ZWIĄZEK Z WARTOŚCIĄ HANDLOWĄ TUSZ

Streszczenie

Materiał doświadczalny stanowiło 167 buhajków rasy holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej, żywionych dawką pokarmową z dużym udziałem pasz treściwych, z dodatkiem siana i słomy. Opas doświadczalny prowadzono do uzyskania przez buhajki masy około 570 kg. Tusze objętych badaniami buhajków, pomimo ich intensywnego żywienia i przyrostów dobowych powyżej 1 kg, zostały zaklasyfikowane w systemie EUROP do klas R (22,75 %) i O (77,25 %), natomiast w ocenie otluszczenia do klasy 1. (11,38 %), klasy 2. (58,69 %) oraz klasy 3. (29,94 %). Buhajki, których tusze zaliczono do klasy R charakteryzowały się większą średnią: masą ciała po zakończeniu opasu, masą przedubojową, masą tuszy ciepłej, a także większą o 1,52 % średnią wartością wskaźnika wydajności rzeźnej. Z kolei buhajki, których tusze zaklasyfikowano pod względem otluszczenia do klasy 1., w porównaniu z buhajkami, których tusze zaliczono do klas 2. i 3., odznaczały się mniejszymi przyrostami dobowymi oraz mniejszą masą przedubojową, a po uboju mniejszą masą tuszy oraz niższym wskaźnikiem wydajności rzeźnej. Przeprowadzone badania wykazały dużą zmienność średniej wartości wskaźnika wydajności rzeźnej buhajków oraz występowanie dodatniej i statystycznie istotnej współzależności wydajności rzeźnej z masą ich tuszy, a ujemnej z masą przedubojową.

Słowa kluczowe: buhajki, tusza, wydajność rzeźna, EUROP, wartość handlowa

Wprowadzenie

O końcowym efekcie ekonomicznym produkcji bydła rzeźnego decyduje cena, jaką producent uzyska sprzedając zwierzęta. Aktualnie skup bydła rzeźnego w Polsce odbywa się na podstawie określanych przyżyciowo: masy i oceny umięśnienia zwierząt lub też na podstawie masy tuszy i klasy tuszy ustalonej w systemie poubojowej klasyfikacji EUROP. System rozliczania poubojowego, pomimo tego że wciąż zawiera elementy subiektywnej oceny wartości rzeźnej (klasyfikacja tusz odbywa się na podstawie

Prof. dr hab. S. Wajda, mgr inż. E. Burczyk, dr inż. R. Winarski, dr hab. T. Daszkiewicz, prof. UWM, Katedra Towaroznawstwa i Przetwórstwa Surowców Zwierzęcych, Wydz. Bioinżynierii Zwierząt, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, ul. M. Oczapowskiego 5, 10-719 Olsztyn

oceny wzrokowej) jest bardziej obiektywny. Wynika to m.in. z faktu, że w systemie poubojowej oceny możliwe jest dokładne ustalenie masy tuszy, za którą producent uzyska zapłatę.

Znajomość masy tuszy umożliwia obliczenie wartości wskaźnika wydajności rzeźnej, który jest podstawowym parametrem charakteryzującym wartość rzeźną zwierząt. Wielkość wskaźnika wydajności rzeźnej może pozostawać w związku z rasą [1, 3, 5, 8, 12] i płcią bydła [10, 13, 22], a także jego żywieniem [9, 12, 15] oraz warunkami obrotu przedubojowego [4, 17]. Dla producenta istotne jest uzyskanie informacji na temat ewentualnych różnic występujących w cenie uzyskiwanej w skupie za żywe zwierzęta (tej samej rasy i żywionych w ten sam sposób) oraz przy ich rozliczeniu w systemie poubojowej klasyfikacji EUROP.

Celem przeprowadzonych badań była analiza zmienności wskaźnika wydajności rzeźnej buhajków rasy holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej i jej związku z ich wartością handlową przy rozliczeniu prowadzonym za żywe zwierzęta oraz w systemie poubojowej klasyfikacji EUROP.

Materiał i metody badań

Materiał doświadczalny stanowiło 167 buhajków rasy holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej, zakupionych od indywidualnych producentów. Średnia masa zakupionych zwierząt w momencie rozpoczęcia opasu doświadczalnego wynosiła 90 kg (\pm 20 kg). Opas buhajków prowadzono w czterech etapach. Do masy ciała ok. 130 kg (I etap) buhajki żywiono mieszanką firmową „CIELAK” (1 - 2 kg) oraz sianem do woli. W II etapie opasu, tj. do masy ciała 230 - 250 kg zwierzęta otrzymywały od 3 do 4,3 kg mieszanki treściwej i 1,2 kg siana. W III etapie opasu, tj. do masy ciała 400 - 420 kg buhajki otrzymywały od 4,9 do 6,1 kg paszy treściwej, a w IV etapie opasu, tj. do masy ciała około 570 kg – od 6,7 do 8,1 kg mieszanki treściwej. W dwóch ostatnich okresach opasu buhajki otrzymywały, oprócz paszy treściwej, od 1,4 do 1,8 kg słomy. Zastosowane w czasie opasu mieszanki treściwe składały się z kukurydzy, jęczmienia, żyta, poekstrakcyjnej śruty rzepakowej, otrąb pszennych, wysłoków buraczanych suszonych, NaCl i premiksu.

Po zakończeniu opasu buhajki ważono i przewożono do zakładów mięsnych. W zakładach mięsnych zwierzęta były przetrzymywane w magazynie żywca w pojedynczych kojcach przez 20 h, a następnie ważone i poddane ubojowi. Po obróbce poubojowej tusze zostały sklasyfikowane według systemu EUROP. Na podstawie masy przedubojowej buhajków i masy ich tuszy cieplej obliczano wartość wskaźnika wydajności rzeźnej.

Wyniki badań opracowano statystycznie w programie komputerowym Statistica (data analysis software system), wersja 9.0 [18] z wykorzystaniem testu t-Studenta

oraz jednoczynnikowej analizy wariancji. W pracy określono także współczynniki korelacji prostej (r) między badanymi cechami.

Wyniki i dyskusja

W tab. 1. zestawiono średnie wartości analizowanych cech w zależności od klasy uformowania tuszy buhajków w systemie EUROP.

Tabela 1

Wyniki opasu i wskaźnik wydajności rzeźnej buhajków w zależności od klasy uformowania tuszy.
Fattening results and slaughter yield indicator of young bulls depending on the Carcass Conformation Class.

Wyszczególnienie Specification	Miara statyst. Statistical measure	Klasa uformowania tuszy Carcass Conformation Class	
		R	O
Liczebność The number	[szt.]	38	129
	pcs. [%]	22,75	77,25
Masa buhajków na początku doświadczenia [kg] Body weight of young bulls at the beginning of experiment [kg]	\bar{X}	86,87	92,71
	s	19,54	19,16
Masa buhajków na końcu doświadczenia [kg] Body weight of young bulls at the end of experiment [kg]	\bar{X}	579,63 ^{aa}	563,29 ^{aa}
	s	41,41	37,05
Przyrosty dobowe [kg] Daily increases in weight [kg]	\bar{X}	1,09	1,15
	s	0,21	0,18
Masa buhajków przed ubojem [kg] Pre-slaughter body weight of young bulls [kg]	\bar{X}	557,42 ^A	538,16 ^A
	s	40,37	33,66
Masa tuszy ciepłej [kg] Hot carcass weight [kg]	\bar{X}	315,45 ^A	296,25 ^A
	s	23,60	19,83
Wskaźnik wydajności rzeźnej [%] Slaughter yield indicator [%]	\bar{X}	56,65 ^A	55,09 ^A
	s	2,76	2,47

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Wartości oznaczone takimi samymi literami w wierszach różnią się statystycznie istotnie, AA - $P \leq 0,01$; aa - $P \leq 0,05$ / Values denoted by the same letters in lines differ statistically significant, AA - $P \leq 0.01$; aa - $P \leq 0.05$

Tusze buhajków, pomimo ich intensywnego żywienia i przyrostów dobowych powyżej 1 kg, zostały zaklasyfikowane w systemie EUROP do klas R (22,75 %) i O (77,25 %). Słabe uformowanie tusz bydła rzeźnego rasy holsztyńsko-fryzyjskiej potwierdzają między innymi Schön i wsp. [17], w badaniach których tusze buhajków

zaklasyfikowano do klasy O3. W badaniach własnych buhajki, których tusze zaliczono do klasy R charakteryzowały się większą o około 15 kg średnią masą ciała po zakończeniu opasu ($P \leq 0,05$), większą masą przedubojową ($P \leq 0,01$) i w konsekwencji również większą masą tuszy ciepłej ($P \leq 0,01$). Na zbliżonym poziomie ($P > 0,05$) kształtowały się natomiast przyrosty dobowe zwierząt (ok. 1,1 kg), których tusze zostały zaliczone do klasy R i O. Analizując średnie wartości wymienionych wskaźników, należy zwrócić uwagę na różnice między masą zwierząt po zakończeniu opasu i ich masą przedubojową, która wynosiła 22 - 25 kg. Są to naturalne straty występujące w trakcie obrotu przedubojowego zwierząt rzeźnych, związane z opróżnianiem z treści przewodu pokarmowego oraz wydalaniem przez zwierzęta moczu. W związku z tym w praktyce, przy zakupie bydła bezpośrednio od producenta, stosuje się odliczenie do 5 % masy zwierzęcia za tzw. „okarmienie”. Faktyczny stopień okarmienia zwierzęcia jest trudny do ustalenia, dlatego zwykle stosuje się maksymalną wielkość odliczenia. Jest to niekorzystne rozwiązanie dla producenta bydła, ponieważ 5-procentowe odliczenie jest zwykle zbyt wysokie w stosunku do faktycznego okarmienia zwierząt, zwłaszcza dobrze umięśnionych. Dowodzą tego uzyskane wyniki, według których straty masy ciała buhajków w obrocie przedubojowym, zaliczone do klasy R oraz klasy O, wynosiły odpowiednio ok. 3,8 i 4,5 %. Należy także podkreślić, że straty producenta żywca wołowego z tytułu zawyżonego potrącenia za okarmienie zwierząt są z reguły dodatkowo powiększone z tytułu zaniżonej oceny stopnia ich umięśnienia.

W przeprowadzonych badaniach średnia wartość wskaźnika wydajności rzeźnej buhajków, których tusze zaliczono do klasy uformowania R była o 1,56 % większa ($P \leq 0,01$) od stwierdzonej w grupie buhajków, których tusze zaklasyfikowano do klasy O (tab. 1). Zbliżone do stwierdzonych w prezentowanych badaniach średnie wartości wskaźnika wydajności rzeźnej buhajków rasy holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej stwierdzili Litwińczuk [11] (54,60 %), Choroszy i Choroszy [2] (55,20 %) oraz Młynek i Litwińczuk [13] (54,90 %). Niższe wartości wskaźnika wydajności rzeźnej odnotowali Oprządek i wsp. [16] (50,94 %), natomiast wyższe wartości podają Młynek i Guliński [14] (57,60 %).

W tab. 2. zestawiono średnie wartości analizowanych cech w zależności od klasy otluszczenia tuszy buhajków w systemie EUROP. Tylko 11,38 % tusz zaliczono do klasy 1. otluszczenia, natomiast najwięcej (58,69 %) do klasy 2. otluszczenia. Pozostałe 29,94 % tusz zaklasyfikowano do 3. klasy otluszczenia. Uzyskane wyniki, wskazujące na występowanie umiarkowanego otluszczenia tusz buhajków rasy holsztyńsko-fryzyjskiej, potwierdzają wyniki innych badaczy [7, 15, 20]. Analiza masy buhajków przed rozpoczęciem i po zakończeniu opasu, masy przedubojowej, masy tuszy ciepłej oraz przyrostów dobowych wykazała, że zwierzęta, których tusze zaliczono do klas 2. i 3. otluszczenia, w porównaniu ze zwierzętami, których tusze zaklasyfikowano do klasy 1. otluszczenia, charakteryzowały się wyższymi średnimi wartościami tych cech (róż-

nice potwierdzone statystycznie na poziomie $P \leq 0,05$ oraz $P \leq 0,01$). Najwyższą średnią wartością wskaźnika wydajności rzeźnej (55,91 %) odznaczały się buhajki, których tusze zaliczono do klasy 3. otłuszczenia. Jego wartość była odpowiednio o 1,73 ($P \leq 0,05$) oraz 0,46 % większa od stwierdzonej w przypadku buhajków, których tusze zaliczono do klasy 1. i 2. otłuszczenia.

Tabela 2

Wyniki opasu i wskaźnik wydajności rzeźnej buhajków w zależności od klasy otłuszczenia tuszy.
Fattening results and slaughter yield indicator depending on carcass fatness class.

Wyszczególnienie Specification	Miara statyst. Statistical Measure	Klasa otłuszczenia tuszy Carcass fatness class		
		1	2	3
Liczebność The number	szt. pcs.	19	98	50
Masa buhajków na początku doświadczenia [kg] Body weight of young bulls at the beginning of experiment [kg]	\bar{x} s	76,00 ^{AB} 12,40	92,47 ^A 19,90	95,08 ^B 17,87
Masa buhajków na końcu do- świadczenia [kg] Body weight of young bulls at the end of experiment [kg]	\bar{x} s	542,74 ^{Aa} 33,90	566,00 ^a 39,10	578,20 ^A 35,12
Przyrosty dobowe [kg] Daily increases in weight [kg]	\bar{x} s	0,92 ^A 0,11	1,14 ^A 0,17	1,21 ^A 0,18
Masa buhajków przed ubojem [kg] Pres-laughter weight of young bulls	\bar{x} s	524,21 ^{Aa} 33,66	541,58 ^a 35,06	551,40 ^A 36,75
Masa tuszy ciepłej [kg] Hot carcass weight [kg]	\bar{x} s	284,22 ^A 24,44	299,94 ^A 19,44	308,20 ^A 23,19
Wskaźnik wydajności rzeźnej [%] Slaughter yield indicator [%]	\bar{x} s	54,18 ^a 2,36	55,45 2,65	55,91 ^a 2,51

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

Jednym z podstawowych parametrów charakteryzujących wartość rzeźną była jest wskaźnik wydajności rzeźnej [6, 19, 21, 22]. W tab. 3. zestawiono wartości współczynników korelacji prostej między wskaźnikiem wydajności rzeźnej oraz pozostałymi badanymi cechami. Wydajność rzeźna buhajków była statystycznie istotnie ($P \leq 0,01$) dodatnio skorelowana z masą tuszy ($r = 0,45$). Ujemne wartości współczynników kore-

lacji prostej stwierdzono natomiast między wydajnością rzeźną i masą przedubojową ($r = -0,19$; $P \leq 0,05$) oraz przyrostami dobowymi ($r = -0,14$; $P > 0,05$).

Tabela 3

Współczynniki korelacji między masą buhajków, masą tusz i wskaźnikiem wydajności rzeźnej.
Correlation coefficient between live-weight, carcass weight and carcass dressing percentage.

Wyszczególnienie Specification	Przyrosty dobowe Daily gain [kg]	Masa buhajków przed ubojem Preslaughter bodyweight of young bulls [kg]	Masa tuszy cieplej Hot carcass weight [kg]
Wskaźnik wydajności rzeźnej [%] Carcass dressing percentage	- 0,142	- 0,192 ^x	0,454 ^{xx}

^{xx} - $P \leq 0,01$; ^x - $P \leq 0,05$

Tabela 4

Udział tusz o różnym wskaźniku wydajności rzeźnej.
Per cent content of carcasses with different indicators of their slaughter yield.

Wskaźnik wydajności rzeźnej Slaughter yield indicator [%]	Klasa uformowania tuszy Carcass conformation class				Wartość przy rozliczaniu poubojowym Value at post-slaughter settling [zł]	Cena 1kg żywca Price of 1 kg of livestock [zł]
	R		O			
	N = 38	[%]	N = 129	[%]		
>59,1	3	7,89	6	4,65	3 273	5,95
58,01 – 59,00	6	15,79	8	6,20	3 218	5,85
57,01 – 58,00	7	18,42	9	6,98	3 163	5,75
56,01 – 57,00	9	23,68	27	20,93	3 108	5,65
55,01 – 56,00	5	13,16	20	15,50	3 053	5,55
54,01 – 55,00	4	10,53	13	10,08	2 998	5,45
53,01 – 54,00	3	7,89	15	11,63	2 943	5,35
52,01 – 53,00	-	-	15	11,63	2 888	5,25
51,01 – 52,00	-	-	11	8,53	2 833	5,15
< 51,00	1	2,63	5	3,88	2 778	5,05

Buhajki rasy holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej charakteryzowały się dużą zmiennością wskaźnika wydajności rzeźnej (tab. 4). Należy jednak podkreślić, że średnia wartość wskaźnika wydajności rzeźnej ponad 70 % buhajków (71,05 %), któ-

rych tusze zaliczono do klasy uformowania R, mieściła się w przedziale wartości 55,01 - 59 %, podczas gdy średnia wydajność rzeźna prawie 70 % buhajków (69,77 %), których tusze zaliczono do klasy uformowania O mieściła się w przedziale wartości 52,01 - 57 %. Uzyskane wyniki badań korespondują z danymi literatury [7], według których wartość wskaźnika wydajności rzeźnej w UE w różnych latach wykazywała także dużą zmienność.

Analiza zmienności wskaźnika wydajności rzeźnej jest istotna zarówno dla skupujących bydło rzeźne, jak i producentów. Na podstawie wielkości tego wskaźnika można bowiem obliczyć różnicę między ceną uzyskiwaną w skupie za żywe zwierzę oraz ceną uzyskiwaną przy rozliczeniu poubojowym, tj. za masę i klasę tuszy w systemie EUROP. Na podstawie przeprowadzonych obliczeń (tab. 4) stwierdzono, że z uwagi na zmienność wskaźnika wydajności rzeźnej buhajków rasy holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej, w obrębie tej samej klasy uformowania ich tuszy, za zwierzę o masie 570 kg, na podstawie rozliczenia poubojowego producent może uzyskać od 2778 zł – przy niskim wskaźniku wydajności rzeźnej do 3273 zł – przy wysokiej wartości tego wskaźnika. W tej sytuacji, aby rozliczenie za buhajki dokonywane na podstawie określanych przyżyciowo masy i oceny umięśnienia zwierząt było wiarygodne, cena za 1 kg żywca powinna wahać się od 5,05 zł do 5,95 zł. Takie zróżnicowanie cen za żywca jest w praktyce niemożliwe do ustalenia, a tym samym należność, jaką uzyskuje producent w skupie za żywe bydło najczęściej nie odpowiada jego rzeczywistej wartości rzeźnej.

Wnioski

1. Tusze buhajków rasy holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej, pomimo ich intensywnego żywienia i przyrostów dobowych powyżej 1 kg, zostały zaklasyfikowane w systemie EUROP do klas R (22,75 %) i O (77,25 %), natomiast w ocenie otluszczenia do klasy 1. (11,38 %), klasy 2. (58,69 %) oraz klasy 3. (29,94 %).
2. Buhajki, których tusze zaliczono do klasy R charakteryzowały się większą średnią: masą ciała po zakończeniu opasu, masą przedubojową, masą tuszy cieplej, a także większą (o 1,52 %) średnią wartością wskaźnika wydajności rzeźnej. Z kolei buhajki, których tusze zaklasyfikowano pod względem otluszczenia do klasy 1., w porównaniu z buhajkami, których tusze zaliczono do klas 2. i 3., odznaczały się mniejszymi przyrostami dobowymi oraz mniejszą masą przedubojową, a po uboju mniejszą masą tuszy oraz niższym wskaźnikiem wydajności rzeźnej.
3. Przeprowadzone badania wykazały dużą zmienność średniej wartości wskaźnika wydajności rzeźnej buhajków oraz występowanie dodatniej i statystycznie istotnej współzależności wydajności rzeźnej z masą ich tuszy, a ujemnej z masą przedubojową. W praktyce oznacza to, że przy trudnościach związanych z określeniem rzeczywistej wartości rzeźnej (masy tuszy i umięśnienia) żywego zwierzęcia, znacz-

nie korzystniejszym dla producenta systemem rozliczania za bydło rzeźne jest system poubojowej klasyfikacji EUROP.

Literatura

- [1] Chambraz A., Scheeder M.R.L., Kreuzer M., Dufey P.A.: Meat quality of Angus, Charolais and Limousin steers compared at the same intramuscular fat content. *Meat Sci.*, 2003, **63**, 491-500.
- [2] Choroszy B., Choroszy Z.: Wykorzystanie bydła rasy simentalskiej i mieszańców phf x simentalska do produkcji dobrej jakości żywca wołowego. *Rocz. Nauk. Pol. Tow. Zoot.*, 2007, **3 (2)**, 91-95.
- [3] Daszkiewicz T., Wajda S.: Wartość rzeźna oraz jakość mięsa buhajków rasy czarno-białej i limousine. *Rocz. Inst. Przem. Mięś. i Tłuszcz.*, 2002, **39**, 17-25.
- [4] Florowski T., Pisula A.: Wpływ transportu bydła i przechowywania mięsa na jego zmiany ilościowe i jakościowe. *Wieś Jutra*, 2007, **11 (112)**, 1-5.
- [5] Gigli S., Vincenti F., Iacurto M., Saltalamacchia F.: Variability in quality traits of traditional processed meat from young bulls – breed and environment effects. *Rocz. Nauk. Pol. Tow. Zoot.*, 2007, **3(4)**, 309-315.
- [6] Grodzki H. (pod red.): Chów bydła mięsnego. Wielkopolskie Wyd. Roln., Poznań 2009.
- [7] Heiden M.: Abbau der Rinderbestände verlangsamte sich. *Fleischwirtschaft*, 2007, **11**, 18-26.
- [8] Kamieniecki H., Pilarczyk R., Sablik P., Surmacz F., Wójcik J.: Ocena wyników opasu intensywnego buhajków mieszańców międzyrasowych. *Zesz. Nauk. Prz. Hod.*, 2003, **68 (1)**, 307-314.
- [9] Kinal S., Lubojemska B., Gajewczyk P.: Wpływ żywienia bydła opasowego na kształtowanie się cech jakościowych mięsa wołowego. *Rocz. Inst. Przem. Mięś. i Tłuszcz.*, 2007, **45/1**, 89-98.
- [10] Kögel J.: Einfluss von Produktionstechnik Kategorie und Rasse auf die Rindfleischqualität. *Lohmann Information*, 1999, **2**, 15-21.
- [11] Litwińczuk A.: Wartość rzeźna i jakość mięsa buhajków cb oraz mieszańców cb (F_1 i R_1) z rasą limousine. *Prace i Mat. Zoot.*, 1999, **55**, 75-83.
- [12] Miciński J., Klupczyński J., Ostoja H., Cierach M., Dymnicka M., Łozicki A., Daszkiewicz T.: Wpływ rasy i żywienia buhajków na wyniki klasyfikacji ich tusz w systemie EUROP oraz ocenę tekstury mięsa. *Zywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **3 (44)** Supl., 147-156.
- [13] Młynek K., Litwińczuk Z.: Slaughter value and physic-chemical meat quality of black-and-white cattle and commodity crossbreds slaughtered at different body weight. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2001, **10/51**, 3(S), 149-152.
- [14] Młynek K., Guliński P.: The effect of growth rate and at slaughter on dressing percentage and colour, pH_{48} and microstructure of *longissimus dorsi* muscle in Black-andWhite (BW) bulls vs commercial crossbreds of BW with beef breeds. *Anim. Sci. Pap. Rep.*, 2007, **25 (2)**, 65-71.
- [15] Oler A., Chaberski R., Krężel S.: Effects of the ration composition on carcass and beef quality of young bulls. *Zesz. Nauk. AR Wrocław*, 2004, **501**, 211-216.
- [16] Oprządek J., Dymnicki E., Reklewski Z.: Zmiany tempa wzrostu i składu tkankowego tuszy młodego bydła w zależności od rasy. *Rocz. Nauk. Pol. Tow. Zoot.*, 2007, **3 (2)**, 103-109.
- [17] Schöne F., Kirchheim U., Kinast C., Waßmut R., Reichardt W.: Qualität des Fleisches von Jungbulen. *Fleischwirtschaft*, 2006, **11**, 101-107.
- [18] Statsoft, Inc. Statistica (data analysis software system) version 9.0. www.statsoft.com. 2009
- [19] Wajda S.: The future of slaughter animal grading in the EUROP system. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2001, **10/51**, 3(S), 38-41.
- [20] Wajda S., Daszkiewicz T.: Wartość rzeźna i jakość mięsa z tusz buhajków zaliczonych do różnych klas umięśnienia i otluszczenia w systemie EUROP. *Zesz. Nauk. Pol. Tow. Zoot.*, 2000, **51**, 409-417.

- [21] Wajda S., Daszkiewicz T.: Wartość rzeźna i jakość mięsa z tusz buhajków zaliczonych do różnych klas otluszczenia w systemie EUROP. Roczn. Inst. Przem. Mięś. i Tłuszcz., 2001, **41**, 155-162.
- [22] Wiegand D., Schnäckel W., Schnäckel D., Fahr R., Knape Ch., Heckenberger G.: Fleischqualität von Rindern aus extensiver Weidehaltung. Fleischwirtschaft, 2006, **1**, 98-104.

INDICATOR OF YOUNG BULLS SLAUGHTER YIELD AND ITS REFERENCE TO THE COMMERCIAL VALUE OF CARCASSES

S u m m a r y

The research material comprised 167 young bulls of Black and White variety of Holstein-Friesian breed, which were fed feed doses containing a high per cent amount of nutritive feed with hay and straw added. The experimental fattening was performed till the young bulls had a weight of about 570 kg. Despite the intense feeding of the young bulls analyzed and despite the daily increases of more than 1 kg in their weight, their carcasses were classified, under the EUROP system, into the R class (22.75 %) and into the O class (77.25 %); as for their fatness, they were classified into Class 1 (11.38 %), Class 2 (58.69 %), and Class 3 (29.94 %). The young bulls with carcasses classified into the R class were characterized by higher mean values of their body weight after the completed fattening, their pre-slaughter weight, their hot carcass weight, and also by a 1.2 % higher mean value of the slaughter yield indicator. On the other hand, the young bulls with carcasses classified into the Fatness Class 1 had lower daily increases in their body weight, a lower pre-slaughter body weight, a lower post-slaughter carcass weight, and a lower indicator of their slaughter yield. The research performed proved a high fluctuation in the mean values of slaughter yield indicator of young bulls, as well as a positive and statistically significant correlation existing between their slaughter yield and their carcass weight, and a negative correlation between this yield and the pre-slaughter weight.

Key words: young bulls, carcass, slaughter yield, EUROP, commercial value ☒

MARZENA ZAJĄC, ANETA MIDURA, KRYSZYNA PALKA,
EWELINA WĘSIERSKA, KRZYSZTOF KRZYSZTOFORSKI

SKŁAD CHEMICZNY, ROZPUSZCZALNOŚĆ KOLAGENU ŚRÓDMIEŚNIOWEGO I TEKSTURA WYBRANYCH MIĘŚNI WOŁOWYCH

Streszczenie

Celem pracy było określenie składu chemicznego ośmiu mięśni jałowic oraz zmian rozpuszczalności kolagenu śródmieśniowego, profilu tekstury i siły cięcia w 2. i 14. dniu ich dojrzewania poubojowego. Badania prowadzono na mięśniach: *pectoralis profundus* (PP), *infraspinatus* (IS), *triceps brachii* (TB), *serratus ventralis* (SV), *biceps femoris* (BF), *semimembranosus* (SM), *semitendinosus* (ST) oraz *longissimus dorsi (thoracis et lumborum)* (LD) pełnomięsnych jałowic rasy nizinnej czarno-białej. Oznaczenia chemiczne mięśni surowych i grillowanych wykonywano zgodnie z Polskimi Normami, a rozpuszczalność kolagenu zmodyfikowaną metodą Liu i wsp. Analizę profilu tekstury (TPA) i pomiary siły cięcia mięśni grillowanych przeprowadzono przy użyciu teksturometru TA-XT2.

Analizowane mięśnie wołowe różniły się podstawowym składem chemicznym oraz zawartością kolagenu. Wśród mięśni surowych najwięcej kolagenu rozpuszczalnego zawierał LD, a najmniej SM oraz BF, natomiast wśród grillowanych odpowiednio IS i TB. Rozpuszczalność kolagenu w mięśniach surowych i grillowanych po 14 dniach dojrzewania poubojowego zwiększyła się średnio o około 5,5 %, w porównaniu z próbami po 2 dniach dojrzewania. Największymi wartościami twardości TPA i żujności TPA charakteryzowały się mięśnie ST i SM, a najmniejszymi SV, IS oraz LD. Wartość siły cięcia SM była największa, a IS najmniejsza. Niezależnie od rodzaju mięśnia, wartości parametrów TPA twardości i żujności oraz siły cięcia zmniejszyły się po 14 dniach dojrzewania poubojowego odpowiednio o około 17 N i 6 N oraz 20 N.

Słowa kluczowe: mięśnie wołowe, skład chemiczny, dojrzewanie poubojowe, kolagen rozpuszczalny, TPA, siła cięcia

Wprowadzenie

Mięso wołowe jest źródłem pełnowartościowego i łatwo przyswajalnego białka zwierzęcego. Ponadto dostarcza niezbędnych mikroelementów (żelaza, cynku, miedzi,

Dr inż. M. Zajac, mgr inż. A. Midura, prof. dr hab. K. Palka, dr E. Węsierska, dr inż. K. Krzysztoporski, Katedra Przetwórstwa Produktów Zwierzęcych, Wydz. Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków

seleniu), CLA oraz witamin z grupy B. Ma ono także określone walory sensoryczne. Na jakość mięsa wołowego wpływa rasa, płeć i wiek zwierząt oraz postępowanie przed i poubojowe [5, 9]. Istotnym składnikiem strukturalnym mięśni współdecydującym o ich kruchości jest tkanka łączna, w której ilościowo przeważa kolagen. Jego zawartość w mięśniach wołowych może się wahać od 1 do 15 % suchej masy [24]. Zidentyfikowano i wyizolowano ponad 20 różnych typów genetycznych kolagenu. Cztery z nich mają istotne znaczenie w tkance mięśniowej – I, II i III, które łączą się we włókna oraz typ IV, amorficzny. Typy I i III występują we wszystkich omięsnych przy czym w *epimysium* znajduje się głównie typ I, w *perimysium* przeważa typ III, natomiast w *endomysium* typ IV [1, 24]. Zawartość kolagenu w mięśniach zależy od gatunku, rasy, wieku, płci, sposobu odżywiania i kondycji zwierząt. Dlatego też ilości oznaczone przez różnych autorów w tym samym mięśniu jednego gatunku zwierząt mogą się różnić [26]. W czasie dojrzewania poubojowego mięsa wołowego zachodzi degradacja białek cytoszkieletowych [23] oraz proteoglikanów wewnątrzmięśniowej tkanki łącznej [15], co ma istotny wpływ na wodochłonność i teksturę mięsa po ogrzewaniu [17]. Teksturę mięsa można analizować sensorycznie lub metodami instrumentalnymi. Kruchość określana jest zazwyczaj na podstawie wartości siły cięcia próbki w poprzek włókien mięśniowych. Zależność pomiędzy siłą cięcia i kruchością mięsa jest odwrotnie proporcjonalna. Natomiast analiza profilu tekstury (TPA), wykonywana na podstawie testu podwójnego ściskania próbki wzdłuż włókien mięśniowych, pozwala na obliczenie takich jej parametrów jak twardość, sprężystość, odbojność, żujność, spójność. Twardość oznacza siłę konieczną do osiągnięcia określonego odkształcenia próbki, sprężystość to szybkość powrotu ze stanu zdeformowanego do stanu wyjściowego po dwóch ściśnięciach, natomiast odbojność (sprężystość natychmiastowa) to zdolność powrotu do formy wyjściowej po pierwszym ściśnięciu, spójność (kohezja) jest miarą wytrzymałości wewnętrznych wiązań tworzących zrąb produktu, a żujność to energia potrzebna do rozdrobnienia (żucia) produktu – jest parametrem wtórnym zależnym od twardości, kohezji i sprężystości [17]. Ruiz de Huidobro i wsp. [25] stwierdzili, że wyniki pomiarów TPA i analizy sensorycznej są wysoko skorelowane.

Celem pracy było określenie podstawowego składu chemicznego mięśni jałowic: *pectoralis profundus* (PP), *infraspinatus* (IS), *triceps brachii* (TB), *serratus ventralis* (SV), *biceps femoris* (BF), *semimembranosus* (SM), *semitendinosus* (ST) oraz *longissimus dorsi (thoracis et lumborum)* (LD), oraz porównanie zawartości kolagenu rozpuszczalnego, profilu tekstury i siły cięcia w 2. i 14. dniu ich dojrzewania poubojowego.

Material i metody badań

Materiałem badawczym były mięśnie zakupione w Zakładzie Przetwórstwa Mięsnego MARKAM w Kasince Małej, wycięte w 2. dniu po uboju z wychłodzonych

lewych półtuszy jałowic rasy nizinnej czarno-białej, o pH około 5,6. Analizowano następujące mięśnie: *pectoralis profundus* (PP), *infraspinatus* (IS), *triceps brachii* (TB) i *serratus ventralis* (SV) z ćwierćtuszy przedniej; *biceps femoris* (BF), *semimembranosus* (SM), i *semitendinosus* (ST) z ćwierćtuszy tylnej oraz *longissimus dorsi (thoracis et lumborum)* (LD). Wycięte mięśnie pakowano próżniowo, przewożono w termotorbie i przechowywano w temp. 4 °C do 14. dnia po uboju. W mięśniach surowych analizowano: podstawowy skład chemiczny (woda, białko ogólne, tłuszcz) w 2. dniu oraz zawartość kolagenu ogólnego i nierozpuszczalnego w 2. i 14. dniu dojrzewania. Następnie plastry mięsa grillowano w otwartym piekarniku elektrycznym, na folii aluminiowej, odwracając steki co 3 min, do osiągnięcia temp. wewnętrznej 70 °C. Po ogrzewaniu próby wychładzano do 18 - 20 °C. W mięśniach grillowanych analizowano: podstawowy skład chemiczny w 2. dniu oraz zawartość kolagenu ogólnego i nierozpuszczalnego, siłę cięcia i profil tekstury (TPA) w 2. i 14. dniu dojrzewania poubojowego.

Pomiary pH mięśni wykonywano za pomocą pH-metru sztyletowego (CP-411). Podstawowy skład chemiczny oznaczano zgodnie z Polskimi Normami: zawartość wody metodą suszarkową [20]; zawartość białka metodą Kjeldahla [19], przy użyciu zestawu typu 322 firmy Büchi (Szwajcaria), oznaczony azot przeliczano na białko stosując mnożnik 6,25; zawartość tłuszczu według PN-ISO 1444:2000 [21]; zawartość hydroksyproliny zgodnie z PN-ISO 3496:2000 [22], hydroksyprolinę przeliczano na kolagen ogólny, stosując mnożnik 7,25.

Zawartość kolagenu nierozpuszczalnego oznaczano według Liu i wsp. [10] z modyfikacjami. Około 5 g próbki mięsa homogenizowano z 24 cm³ wody destylowanej. Homogenat ogrzewano w łaźni wodnej o temp. 77 °C przez 70 min, a następnie wirowano w wirówce K-24 firmy Janetzky z szybkością 10000 obr./min przez 20 min. Supernatant zlewano, osad przemywano wodą destylowaną i wirowano jak wyżej. Osad hydrolizowano przy użyciu 30 cm³ 3M H₂SO₄ w temp. 105 °C przez 16 h. Dalej postępowano tak samo, jak przy oznaczaniu kolagenu ogólnego. Z różnicy zawartości kolagenu ogólnego i nierozpuszczalnego wyliczano kolagen rozpuszczalny, którego ilość wyrażano w procentach kolagenu ogólnego.

W celu zmierzenia siły cięcia z plastrów mięśni grillowanych w 2. i 14. dniu dojrzewania wycinano próbki w formie walca o średnicy 14 mm i wysokości 15 mm, które umieszczano w teksturometrze TA-XT2 firmy Stable Micro Systems. Do pomiaru używano przystawki Warnera-Bratzlera z trójkątnym wycięciem noża. Do analizy profilu tekstury z grillowanych plastrów mięsa wycinano również próbki w formie walca o średnicy 14 mm i długości 15 mm, które analizowano przy użyciu teksturometru TA-XT2 z przystawką w kształcie walca o średnicy 50 mm. Stosowano test podwójnego ściskania i następujące parametry pomiaru: powierzchnia styku walca z próbką 154 mm², prędkość przesuwu walca podczas testu 2 mm/s, dystans deformacji próby

70 % wysokości, przerwa pomiędzy naciskami elementu ściskającego 3 s. Wykonano 2 serie doświadczeń, po 3 powtórzenia w każdej serii w przypadku oznaczeń chemicznych oraz po 7 powtórzeń pomiarów siły cięcia i analiz profilu tekstury.

Analizę statystyczną prowadzono przy użyciu programu Statistica 8.0. Obliczono wartości średnich arytmetycznych oraz odchyłeń standardowych. Wpływ badanych czynników doświadczalnych na analizowane właściwości mięśni oceniano stosując dwuczynnikową analizę wariancji. W celu określenia istotności różnic między wartościami średnimi stosowano test Duncana.

Wyniki i dyskusja

Szczegółowe wyniki pomiarów dotyczące właściwości fizykochemicznych analizowanych mięśni zamieszczono w tab.1 - 3. Natomiast wyniki analiz wariancji w tab. 4 - 6.

Tabela 1

Skład chemiczny mięśni wołowych surowych (S) i grillowanych (G) po 2 dniach dojrzewania poubojowego.

Chemical composition of raw (S) and grilled (G) beef muscles 2 days after post-slaughter ageing.

Mięsień Muscle	Obróbka Treatment	Woda Water [%]	Białko (Nx6,25) Protein [%]	Kolagen ogólny Total collagen [%]	Tłuszcz Fat [%]
LD	S	74,23 ± 0,19	21,19 ± 0,21	0,29 ± 0,01	3,94 ± 0,01
	G	60,89 ± 0,05	31,37 ± 0,16	0,55 ± 0,01	6,86 ± 0,02
BF	S	74,04 ± 0,09	20,74 ± 0,07	0,33 ± 0,01	4,64 ± 0,09
	G	62,49 ± 0,03	27,71 ± 0,21	0,90 ± 0,01	9,55 ± 0,05
SM	S	75,18 ± 0,05	22,30 ± 0,01	0,31 ± 0,01	2,38 ± 0,11
	G	65,93 ± 0,06	30,01 ± 0,02	0,69 ± 0,01	5,03 ± 0,02
ST	S	75,45 ± 0,06	21,97 ± 0,14	0,40 ± 0,01	2,77 ± 0,03
	G	64,62 ± 0,13	30,31 ± 0,06	0,94 ± 0,01	5,04 ± 0,01
IS	S	73,68 ± 0,08	19,85 ± 0,14	0,96 ± 0,02	5,15 ± 0,09
	G	62,33 ± 0,07	27,44 ± 0,05	1,59 ± 0,01	9,97 ± 0,02
PP	S	74,65 ± 0,15	21,58 ± 0,12	0,47 ± 0,02	3,98 ± 0,07
	G	65,32 ± 0,11	28,68 ± 0,07	1,17 ± 0,01	5,98 ± 0,07
TB	S	74,11 ± 0,09	21,68 ± 0,12	0,35 ± 0,01	3,53 ± 0,03
	G	64,38 ± 0,11	27,40 ± 0,10	0,93 ± 0,01	7,73 ± 0,12
SV	S	74,54 ± 0,19	20,10 ± 0,01	0,39 ± 0,01	5,30 ± 0,19
	G	60,59 ± 0,12	27,38 ± 0,08	0,97 ± 0,02	11,70 ± 0,09

W tab. 1. przedstawiono skład chemiczny mięśni surowych i grillowanych. Wpływ rodzaju mięśnia oraz grillowania na skład chemiczny analizowanych mięśni był wysoko istotny (tab. 4). Niezależnie od obróbki mięśnie LD i SV zawierały najmniej (67,6 %), a SM i ST i PP najwięcej (około 70 %) wody. Średnia zawartość białka ogólnego wahała się w granicach od 23,7 (IS i SV) do około 26,2 % (LD, SM i ST), a kolagenu ogólnego od 0,4 % (LD) do 1,3 % (IS). Najmniej tłuszczu (3,7 %) oznaczono w SM, a najwięcej w IS i SV (odpowiednio 7,6 i 8,5 %) (tab. 4). Po grillowaniu zawartość wody w mięśniach zmniejszyła się średnio o 11 %, co spowodowało zwiększenie procentowego udziału pozostałych składników: białka ogólnego średnio o 7,5 %, kolagenu ogólnego o 0,5 % oraz tłuszczu o 3,7 % (tab. 4). Uzyskane wyniki są generalnie zgodne z danymi innych autorów, z wyjątkiem zawartości tłuszczu, która może się różnić w zależności od użytego surowca, ponieważ zależy od takich czynników, jak: rasa zwierzęcia, wiek i sposób żywienia. W badaniach Grześkowiak i wsp. [6] prowadzonych na różnych mięśniach bydła rasy czarno-białej stwierdzono zawartość tłuszczu w zakresie 2,9 - 6,9 %, ale również mięśnie IS oraz SV zawierały go najwięcej, a mięsień SM najmniej. Podobne wyniki uzyskali Cecchi i wsp. [4] oraz McKeith i wsp. [12].

Tabela 2

Zawartość kolagenu rozpuszczalnego determinowana czasem dojrzewania poubojowego i grillowaniem mięśni.

Content of soluble collage determined by post-slaughter ageing time and by the grilling of muscles.

Mięsień Muscle	Kolagen rozpuszczalny [% kolagenu ogólnego] Soluble collagen [% of total collagen]			
	Mięśnie surowe / Raw muscles		Mięśnie grillowane / Grilled muscles	
	Czas dojrzewania poubojowego [dni] Time of post-slaughter ageing [days]			
	2	14	2	14
LD	23,00 ± 0,24	30,00 ± 0,82	26,13 ± 0,29	25,30 ± 0,30
BF	4,50 ± 0,50	10,25 ± 0,25	23,52 ± 0,48	22,62 ± 0,37
SM	8,07 ± 0,36	7,50 ± 0,50	27,05 ± 0,10	17,07 ± 0,37
ST	10,00 ± 0,45	25,00 ± 0,46	30,03 ± 0,10	37,12 ± 0,15
IS	21,67 ± 0,31	21,25 ± 0,25	35,00 ± 0,30	48,10 ± 0,10
PP	12,03 ± 0,32	13,00 ± 0,50	27,25 ± 0,25	48,20 ± 0,20
TB	10,01 ± 0,12	18,07 ± 0,10	17,90 ± 0,16	21,13 ± 0,13
SV	10,47 ± 0,46	20,37 ± 0,27	19,22 ± 0,23	31,07 ± 0,10

W tab. 2. przedstawiono wyniki dotyczące zawartości kolagenu rozpuszczalnego w mięśniach surowych i grillowanych w 2. i 14. dniu po uboju. Stwierdzono wysoko istotny wpływ rodzaju mięśnia oraz czasu dojrzewania poubojowego na rozpuszczal-

ność kolagenu śródmięśniowego (tab. 5), z wyjątkiem surowych mięśni SM i PP (tab. 2). Niezależnie od czasu dojrzewania zawartość kolagenu rozpuszczalnego była najmniejsza w surowych mięśniach BF, SM i PP i wynosiła odpowiednio 7,4; 7,8 i 12,5 % kolagenu ogólnego, a największa w surowym LD (26,5 %) (tab. 5). Po grillowaniu rozpuszczalność kolagenu w mięśniach generalnie zwiększyła się. Największą zawartością kolagenu rozpuszczalnego charakteryzowały się grillowane mięśnie IS i PP, a najmniejszą SM i TB (tab. 2 i 5). Niezależnie od rodzaju mięśnia i sposobu obróbki, po 14-dniowym dojrzewaniu poubojowym następowało zwiększenie rozpuszczalności kolagenu śródmięśniowego, średnio o 5,5 % (tab. 5). Na podkreślenie zasługuje fakt, że w grillowanych mięśniach IS oraz PP, pochodzących z ćwierćtuszy przedniej i zawierających najwięcej kolagenu ogólnego (tab. 4) jego rozpuszczalność była największa, porównywalna z kolagenem mięśnia ST z ćwierćtuszy tylnej. Natomiast zawartość kolagenu rozpuszczalnego w grillowanym mięśniu SV była zbliżona do LD (tab. 5).

W tab. 3. przedstawiono profil tekstury i siłę cięcia mięśni grillowanych w 2. i 14. dniu dojrzewania poubojowego. Wartości wszystkich parametrów TPA mięśni grillowanych w 2. dniu dojrzewania mięśni były wyższe w porównaniu z próbami analizowanymi w 14. dniu. Wpływ rodzaju mięśnia na analizowane parametry tekstury był również wysoko istotny (tab. 6). Największą twardością TPA, niezależnie od czasu dojrzewania, charakteryzowały się mięśnie ST (137,2 N) i SM (114,7 N) z ćwierćtuszy tylnej, a najmniejszą IS i SV (około 53 N) z ćwierćtuszy przedniej. Podobne zależności stwierdzono w zakresie żujności TPA analizowanych mięśni, odpowiednio ST (31,9 N) i SM (24,9 N) oraz IS (11,7 N) i SV (12,3 N), (tab. 6). Największą sprężystością charakteryzowały się mięśnie ST i PP, a najmniejszą SV. Największe wartości spójności stwierdzono w mięśniach IS, PP i TB, a najmniejsze w LD oraz SV. Wartości odbojności były największe w IS, a najmniejsze w LD (tab. 6). Również wpływ czasu dojrzewania poubojowego na parametry tekstury grillowanych mięśni (z wyjątkiem odbojności) był wysoko istotny (tab. 6). Twardość TPA zmniejszyła się po 14 dniach przechowywania poubojowego średnio o 17 N, a żujność TPA o 6 N (tab. 6). Największy wpływ dojrzewania poubojowego na wyżej wymienione parametry TPA stwierdzono w mięśniach SM i ST z ćwierćtuszy tylnej oraz PP i SV z ćwierćtuszy przedniej (tab. 3). Również wartości sprężystości i spójności mięśni grillowanych po 14 dniach dojrzewania były niższe w porównaniu z próbami po 2 dniach dojrzewania (tab. 6).

Zaobserwowana ogólna tendencja spadkowa wartości parametrów TPA mięśni bydlęcych ogrzewanych po dłuższym czasie dojrzewania poubojowego jest zgodna z wynikami badań Palki [18] oraz Sobczaka i wsp. [28].

Stwierdzono wysoko istotny wpływ zarówno rodzaju mięśnia, jak i czasu dojrzewania poubojowego na siłę cięcia (tab. 3 i 6). Niezależnie od czasu dojrzewania poubojowego mięsień SM charakteryzował się największą (84,9 N), a IS najmniejszą

Tabela 3

Parametry TPA i siła cięcia mięśni wołowych grillowanych w 2. i 14. dniu dojrzewania w temp. 4 °C.
TPA parameters and shear force of beef muscles grilled on the 2nd and 14th day of ageing at 4°C.

Mięsień Muscle	Czas [dni] Time [days]	Parametry tekstury i siła cięcia TPA parameters and shear force					
		Twardość Hardness [N]	Sprężystość Springiness [-]	Spójność Cohesiveness [-]	Żujność Chewiness [N]	Odbojność Resilience [-]	Siła cięcia Shear force [N]
LD	2	64,63 ± 0,95	0,48 ± 0,02	0,47 ± 0,01	14,90 ± 0,65	0,19 ± 0,01	62,78 ± 5,20
	14	62,63 ± 0,32	0,43 ± 0,01	0,45 ± 0,01	12,12 ± 0,35	0,20 ± 0,01	36,59 ± 2,45
BF	2	101,67 ± 1,53	0,46 ± 0,01	0,49 ± 0,01	24,33 ± 0,58	0,22 ± 0,01	52,48 ± 3,43
	14	100,17 ± 0,76	0,46 ± 0,01	0,48 ± 0,01	23,12 ± 0,40	0,21 ± 0,01	36,59 ± 2,45
SM	2	125,80 ± 0,85	0,47 ± 0,01	0,50 ± 0,01	29,20 ± 0,40	0,22 ± 0,01	102,71 ± 2,45
	14	103,60 ± 0,80	0,42 ± 0,01	0,48 ± 0,01	20,55 ± 0,75	0,19 ± 0,01	67,20 ± 3,43
ST	2	160,17 ± 0,65	0,49 ± 0,01	0,50 ± 0,01	39,20 ± 0,40	0,22 ± 0,01	73,57 ± 4,90
	14	114,25 ± 0,93	0,44 ± 0,01	0,49 ± 0,01	24,54 ± 0,75	0,21 ± 0,01	56,21 ± 2,45
IS	2	58,05 ± 0,25	0,45 ± 0,02	0,51 ± 0,01	13,40 ± 0,40	0,24 ± 0,01	41,89 ± 2,45
	14	48,60 ± 0,60	0,44 ± 0,01	0,49 ± 0,01	10,10 ± 0,30	0,23 ± 0,01	31,39 ± 2,94
PP	2	107,17 ± 0,37	0,49 ± 0,02	0,51 ± 0,01	27,86 ± 0,65	0,22 ± 0,01	67,69 ± 2,94
	14	83,89 ± 0,70	0,46 ± 0,01	0,50 ± 0,01	19,59 ± 0,50	0,21 ± 0,01	52,68 ± 4,61
TB	2	72,46 ± 0,81	0,45 ± 0,02	0,52 ± 0,01	18,08 ± 0,30	0,22 ± 0,01	70,63 ± 3,92
	14	59,29 ± 0,30	0,45 ± 0,02	0,48 ± 0,01	14,08 ± 0,30	0,22 ± 0,01	52,19 ± 3,82
SV	2	65,51 ± 0,50	0,42 ± 0,02	0,48 ± 0,01	16,37 ± 0,40	0,22 ± 0,01	72,30 ± 4,41
	14	40,71 ± 0,50	0,40 ± 0,01	0,46 ± 0,01	8,15 ± 0,25	0,18 ± 0,01	48,36 ± 3,43

T a b e l a 4

Średnie najmniejszych kwadratów z 2-czynnikowej analizy wariancji dotyczącej wpływu rodzaju mięsna i grillowania na skład chemiczny mięśni wołowych. Least Squares (LS) Means obtained based on 2-factor analysis of variance referring to the effect of kind of muscle and grilling on chemical composition of beef muscles.

Cechy zmienności Traits of variability	Mięsień Muscle								Obróbka Treatment	
	LD	BF	SM	ST	IS	PP	TB	SV	S Raw	G Grilled
Woda Water [%]	67,56 ^A	68,23 ^B	70,56 ^C	70,04 ^D	68,00 ^F	69,98 ^D	69,24 ^F	67,56 ^A	74,49 ^A	63,32 ^B
Białko Protein (Nx6,25) [%]	26,28 ^A	24,22 ^B	26,16 ^A	26,14 ^A	23,65 ^C	25,13 ^D	24,54 ^E	23,74 ^C	21,18 ^A	28,79 ^B
Kolagen ogólny Total collagen [%]	0,42 ^A	0,62 ^B	0,50 ^C	0,67 ^D	1,27 ^E	0,82 ^F	0,64 ^G	0,68 ^D	0,44 ^A	0,97 ^B
Tłuszcz Fat [%]	5,40 ^A	7,09 ^B	3,70 ^C	3,91 ^D	7,56 ^E	4,93 ^F	5,63 ^G	8,50 ^H	3,96 ^A	7,72 ^B

Objaśnienia: / Explanatory notes:

A, B, ... Różne litery w tym samym wierszu oznaczają różnice wysoko istotne ($p \leq 0,01$), oddzielnie dla każdego czynnika doświadczalnego / Different letters in the same row indicate highly significant differences ($p \leq 0,01$), separately for each experimental factor

Tabela 6

Średnie najmniejszych kwadratów z 2-czynnikowej analizy wariancji dotyczącej wpływu rodzaju mięśnia i czasu dojrzewania poubojowego na parametry TPA i siłę cięcia mięśni wołowych grillowanych.
 Least Squares (LS) Means obtained based on 2-factor analysis of variance referring to the effect of kind of muscle and time of post-slaughter ageing on the TPA parameters and shear force of grilled beef muscles.

Cechy zmienności Traits of variability	Mięsień Muscle										Czas dojrzewania [dni] Time of post-slaughter ageing [days]	
	LD	BF	SM	ST	IS	PP	TB	SV	2	14		
	Twardość Hardness [N]	63,63 ^A	100,92 ^B	114,70 ^C	137,21 ^D	53,30 ^E	95,53 ^F	65,87 ^G	53,15 ^E	94,24 ^A	76,83 ^B	
Sprężystość Springiness [-]	0,45 ^A	0,46 ^A	0,44 ^A	0,47 ^B	0,44 ^A	0,47 ^B	0,45 ^A	0,41 ^C	0,46 ^A	0,44 ^B		
Spójność Cohesiveness [-]	0,46 ^A	0,48 ^B	0,49 ^{BC}	0,49 ^{BC}	0,50 ^{BC}	0,50 ^{BC}	0,50 ^{BC}	0,47 ^{AB}	0,50 ^A	0,48 ^B		
Żujność Chewiness [N]	13,51 ^A	23,73 ^B	24,88 ^C	31,87 ^D	11,75 ^E	23,73 ^B	16,08 ^F	12,26 ^G	22,77 ^A	16,68 ^B		
Odbojność Resilience [-]	0,19 ^A	0,22 ^B	0,20 ^A	0,22 ^B	0,24 ^C	0,22 ^B	0,22 ^B	0,20 ^A	0,22 ^A	0,21 ^A		
Siła cięcia Shear force [N]	49,74 ^A	44,63 ^A	84,95 ^B	64,94 ^C	36,59 ^D	60,13 ^E	61,41 ^E	60,33 ^F	67,98 ^A	47,68 ^B		

Objaśnienia jak pod tab. 4. / Explanatory notes as in Tab. 4.

T a b e l a 5

Średnie najmniejszych kwadratów z 2-czynnikowej analizy wariancji dotyczącej wpływu rodzaju mięśnia i czasu dojrzewania poubojowego na rozpuszczalność kolagenu śródmięśniowego mięśni wołowych surowych (S) i grillowanych (G).
 Least Squares (LS) Means obtained based on 2-factor analysis of variance referring to the effect of kind of muscle and time of post-slaughter ageing on solubility of intramuscular collagen of raw (S) and grilled (G) beef muscles.

Cechy zmienności Traits of variability	Mięsień Muscle								Czas dojrzewania [dni] Time of post-slaughter ageing [days]	
	LD	BF	SM	ST	IS	PP	TB	SV	2	14
Kolagen rozp. Soluble collagen (S) [% of total collagen]	26,50 ^A	7,37 ^B	7,78 ^B	17,50 ^C	21,46 ^D	12,52 ^E	14,04 ^F	15,42 ^G	12,47 ^A	18,18 ^B
Kolagen rozp. Soluble collagen (G) [% of total collagen]	25,72 ^A	23,07 ^B	22,06 ^C	33,57 ^D	41,55 ^E	37,73 ^F	19,51 ^G	25,14 ^H	25,76 ^A	31,33 ^B

Objaśnienia jak pod tab. 4. / Explanatory notes as in Tab. 4.

(36,6 N) siłą cięcia. Po 14-dniowym dojrzewaniu poubojowym wartość siły cięcia analizowanych mięśni zmniejszyła się średnio o 20 N (tab. 6), co świadczy o poprawie ich kruchości. Grześkowiak i wsp. [7], analizując mięśnie młodych krów rasy nizinnej czarno-białej, również stwierdzili, że SM charakteryzuje się największą, a IS najmniejszą wartością siły cięcia. We wcześniejszych badaniach autorów [16], dotyczących analizy sensorycznej mięśni jałowic innej rasy, mięśnie IS, TB i SV zostały wysoko ocenione, m.in. za kruchość, która była porównywalna z kruchością LD. Podobne wyniki uzyskali Belew i wsp. [2], zaliczając IS i SV do grupy mięśni bardzo kruchych, TB i LD (*thoracis et lumborum*) do kruchych, SM i ST do średnio kruchych, a PP do twardych. Mięsień IS pod względem kruchości porównywali nawet do polędwicy (*psaos major*). Maher i wsp. [11] na podstawie przeprowadzonych analiz ustalili zależność pomiędzy wartością siły cięcia około 50 N, a mięsem ocenianym w analizie sensorycznej jako „lekkie kruche”. Natomiast Shackelford i wsp. [27] jako graniczną pomiędzy twardym i kruchym LD sugerowali wartość siły cięcia około 60 N. Z kolei Miller i wsp. [13] stwierdzili, że rozróżnienie w ocenie konsumentów pomiędzy próbkami twardymi i kruchymi koreluje z siłą cięcia równą 45 N.

Według Millera [14] przetłuszczenie śródmięśniowe zwiększa kruchość mięsa m.in. dlatego, że tłuszcz jest bardziej miękki niż włókna mięśniowe. Ponadto tworzy on swoistą ochronę włókien przed szybką denaturacją cieplną oraz zatrzymuje wodę w mięsie, co poprawia wrażenie kruchości mięsa ogrzewanego. W przedmiotowych badaniach korelacje określone pomiędzy zawartością tłuszczu a twardością TPA i siłą cięcia wynosiły odpowiednio $r = -0,63$ i $r = -0,30$, niezależnie od tego czy tłuszcz oznaczano w mięsie surowym czy ogrzewanym. Caine i wsp. [3] stwierdzili, że sprężystość i odbojność są również silnie związane z zawartością tłuszczu śródmięśniowego. W badaniach własnych nie potwierdzono korelacji pomiędzy zawartością tłuszczu a odbojnością, stwierdzono natomiast zależności pomiędzy jego ilością a sprężystością ($r = -0,41$), spójnością ($r = -0,42$) i żujnością ($r = -0,61$).

Innym czynnikiem uznawanym za przyczynę różnic kruchości mięsa jest zawartość i rozpuszczalność kolagenu śródmięśniowego. W badaniach przeprowadzonych przez von Seggerna i wsp. [29] mięśnie IS i BF zawierały odpowiednio 2,0 i 1,6 %, a LD 0,4 % kolagenu ogólnego. Są to wartości wyższe od uzyskanych w niniejszych badaniach (tab. 1). Palka [17], analizując mięsień ST pieczony do temp. wewnętrznej 70 °C w 12. dniu dojrzewania poubojowego stwierdziła, że 26 % kolagenu ogólnego stanowi kolagen rozpuszczalny. W niniejszych badaniach w ST grillowanym po 14 dniach dojrzewania jego ilość wynosiła 37 % (tab. 2). Wskazuje to, że niewiele dłuższy czas przechowywania chłodniczego może powodować znaczne zwiększenie rozpuszczalności kolagenu śródmięśniowego. Zawartość kolagenu ogólnego była skorelowana z odbojnością ($r = 0,58$) i spójnością ($r = 0,37$). Ponadto stwierdzono dodatnią korelację pomiędzy procentowym udziałem kolagenu nierozpuszczalnego a siłą

cięcia ($r = 0,32$). Young i Braggins [30] nie wykazali zależności pomiędzy rozpuszczalnością kolagenu a teksturą w ogrzewanym mięśni SM owiec, stwierdzając równocześnie silne korelacje pomiędzy kruchością a rozpuszczalnością kolagenu w tym samym mięśni nieogrzewanym. Uznali, że w przypadku SM większy wpływ na teksturę ma ogólna zawartość kolagenu, a nie jego rozpuszczalność. Palka [18] stwierdziła dodatnią korelację siły cięcia pieczonego mięśnia wołowego ST z ogólną zawartością kolagenu śródmięśniowego. Natomiast Jeremiach i wsp. [8] wskazali na dodatnią zależność pomiędzy udziałem kolagenu rozpuszczalnego a kruchością oznaczaną sensorycznie.

Wnioski

1. Analizowane mięśnie wołowe różnią się pod względem podstawowego składu chemicznego oraz zawartości kolagenu. Największą zawartością wody charakteryzują się mięśnie SM, ST i PP, a najmniejszą LD i SV. Najwięcej białka ogólnego i najmniej tłuszczu zawierają LD, SM i ST, a najmniej białka i najwięcej tłuszczu IS i SV.
2. Najwięcej kolagenu ogólnego zawiera IS, a najmniej LD. Wśród mięśni surowych najwięcej kolagenu rozpuszczalnego zawiera LD, a najmniej SM oraz BF, natomiast wśród grillowanych odpowiednio IS i TB. Po 14-dniowym dojrzewaniu po ubojowym rozpuszczalność kolagenu śródmięśniowego w mięśniach surowych i grillowanych zwiększa się średnio o około 5,5 %.
3. Największymi wartościami twardości TPA i żujności TPA charakteryzują się mięśnie ST i SM, a najmniejszymi SV, IS oraz LD. Natomiast wartość siły cięcia SM jest największa, a IS najmniejsza. Niezależnie od rodzaju mięśnia, wartości parametrów TPA twardości i żujności oraz siły cięcia zmniejszają się po 14 dniach dojrzewania odpowiednio o 17 N, 6 N i 20 N.

Praca naukowa finansowana ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach projektu badawczego 2 PO6T 038 29.

Literatura

- [1] Bailey A.J., Light N.D.: Connective tissue in meat and meat products. Elsevier Appl. Sci., London 1989.
- [2] Belew J.B., Brooks J.C., McKenna D.R., Savell J.W.: Warner-Bratzler shear evaluations of 40 bovine muscles. Meat Sci., 2003, **64**, 507-512.
- [3] Caine W.R., Aalhus J.L., Best D.R., Dugan M.E.R., Jeremiach L.E.: Relationship of the texture profile analysis and Warner-Bratzler shear force with sensory characteristics of beef rib steaks. Meat Sci., 2003, **64**, 333-339.

- [4] Cecchi L.A., Hoffman D.L., Egbert W.R., Jones W.R.: Chemical and physical characteristics of beef chuck muscles: Effect of electrical stimulation, hot boning and high temperature conditioning. *J. Food Sci.*, 1988, **53**(2), 411-415.
- [5] Daszkiewicz T., Wajda S.: Masa przedubojowa buhajków a ich wydajność rzeźna i jakość mięsa. *Gosp. Mięś.*, 2002, **2**, 16-18.
- [6] Grześkowiak E., Borzuta K., Wichlacz H., Strzelecki J.: Sensory traits of 13 culinary cuts obtained from carcasses of young Black-and-White slaughter cattle. *Anim. Sci. Papers and Rep.*, 2002, **20S**, 1, 179-186.
- [7] Grześkowiak E., Borzuta K., Strzelecki J.: Porównanie jakości różnych tusz młodego bydła rzeźnego rasy ncb. *Gosp. Mięś.*, 2006, **9**, 16-18.
- [8] Jeremiach L.E., Dugan M.E.R., Aalhus J.L., Gibson L.L.: Assessment of the relationship between chemical components and palatability of major beef muscles and muscle groups. *Meat Sci.*, 2003, **65**, 1013-1019.
- [9] Kolczak T.: Kruchosc mięsa. *Gosp. Mięś.*, 2007, **11**, 8, 10-11.
- [10] Liu A., Nishimura T., Takahashi K.: Structural changes in endomysium and perimysium during post-mortem aging of chicken *Semitenidinosus* muscle-Contribution of structural weakening of intramuscular connective tissue to meat tenderization. *Meat Sci.*, 1994, **38**, 315-328.
- [11] Maher S.C., Mullen A.M., Moloney A.P., Buckley D.J., Kerry J.P.: Quantifying the extent of variation in the eating quality traits of the *M. longissimus dorsi* and *M. semimembranosus* of conventionally processed Irish beef. *Meat Sci.*, 2004, **66**, 351-360.
- [12] McKeith F.K., DeVol D.L., Miles R.S., Bechtel P.J., Carr T.R.: Chemical and sensory properties of thirteen major beef muscles. *J. Food Sci.*, 1985, **50**, 869-872.
- [13] Miller M.F., Carr M.A., Ramsey C.B., Crockett K.L., Hoover L.C.: Consumer thresholds for establishing the value of beef tenderness. *J. Anim., Sci.*, 2001, **79**, 3062-3068.
- [14] Miller R.K.: Palatability. W: *Encyclopedia of Meat Sciences*. Elsevier Ltd., 2004, pp. 256-266.
- [15] Nishimura T., Kuzuoka S., Taneichi A., Hattori A.: Changes in proteoglycans during postmortem ageing of meat. *Proc. 45th Int. Congr. Meat Sci. Technol.*, Yokohama, Japan, 1999, pp. 320-321.
- [16] Nowak M., Palka K., Troy D.: Skład chemiczny i jakość wybranych mięśni bydlęcych. *Żywność. Nauka Technologia. Jakość*, 2005, **3** (44) *Supl*, 176-184.
- [17] Palka K.: Zmiany w mikrostrukturze i teksturze mięśni bydlęcych podczas dojrzewania poubojowego i ogrzewania. *Zesz. Nauk. AR, Kraków*, 2000, nr 270.
- [18] Palka K.: The influence of post-mortem ageing and roasting on the microstructure, texture and collagen solubility of bovine *semitenidinosus* muscle. *Meat Sci.*, 2003, **64**, 191-198.
- [19] PN-A-04018:1975/Az3:2002. Produkty rolno-żywnościowe. Oznaczanie azotu metodą Kjeldahla i przeliczanie na białko.
- [20] PN-ISO 1442:2000. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości wody.
- [21] PN-ISO 1444:2000. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości tłuszczu wolnego.
- [22] PN-ISO 3496:2000. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości hydroksyproliny.
- [23] Pospiech E., Grześ B.: Wybrane białka cytoszkieletowe i ich rola w kształtowaniu właściwości funkcjonalnych tkanki mięśniowej. *Żywność. Technologia. Jakość*, 1997, **4**, 3(12), 5-19.
- [24] Purslow P.P.: Intramuscular connective tissue and its role in meat quality. *Meat Sci.*, 2005, **70**, 435-447.
- [25] Ruiz de Huidobro F., Miguel E., Blázquez B., Onega E.: A comparison between two methods (Warner-Bratzler and texture profile analysis) for testing either raw meat or cooked meat. *Meat Sci.*, 2005, **69**, 527-536.
- [26] Sadowska M.: Kolagen mięsa. Budowa, oznaczanie i właściwości funkcjonalne. *Rozpr. hab. Politechnika Gdańska, Gdańsk* 1992.

- [27] Shackelford S.D., Koohmaraie M., Whipple G., Wheeler T.L., Miller M.F., Crouse J.D., Reagan J.O.: Predictors of beef tenderness: development and verification. *J. Food Sci.*, 1991, **56** (5), 1130-1135, 1140.
- [28] Sobczak M., Lachowicz K., Kamieniecki H., Wójcik J., Gajowiecki L., Żochowska J., Żych A., Kotowicz M., Sablik P., Rzewuska E.: The effect of cattle genotype on texture of selected muscles during post-mortem ageing. *EJPAU, Food Sci. Technol.*, 2005, **8** (3).
- [29] Von Seggern D.D., Calkins C.R., Johnson D.D., Brickler J.E., Gwartney B.L.: Muscle profiling: Characterizing the muscles of the beef chuck and round. *Meat Sci.*, 2005, **71**, 39-51.
- [30] Young O.A., Braggins T.J.: Tenderness of ovine *Semimembranosus*: Is collagen concentration or solubility the critical factor? *Meat Sci.*, 1993, **35**, 213-222.

CHEMICAL COMPOSITION, SOLUBILITY OF INTRAMUSCULAR COLLAGEN, AND TEXTURE OF SELECTED BEEF MUSCLES

S u m m a r y

The objective of the study was to determine the chemical composition of eight heifer muscles and the changes in solubility of intramuscular collagen, texture profile, and shear force at the 2nd and 14th day of their post-slaughter ageing. The investigations were carried out on the following muscles: *pectoralis profundus* (PP), *infraspinatus* (IS), *triceps brachii* (TB), *serratus ventralis* (SV), *biceps femoris* (BF), *semimembranosus* (SM), *semitendinosus* (ST), and *longissimus dorsi (thoracis et lumborum)* (LD) of the well fleshed heifers of the lowland black-white breed. The chemical determinations of raw and grilled muscles were performed according to the relevant Polish Standards, and the solubility of collagen according to the modified method of Liu et.al. [1994]. The Texture Profile Analysis (TPA) and shear force measurements of grilled muscles were conducted using a TA-XT2 texture analyzer.

The beef muscles under analysis varied in their basic chemical composition and in their collagen content. Among the raw muscles, LD contained the highest amount, and SM and BF the lowest amount of soluble collagen, whereas among the grilled muscles: IS and TB respectively. 14 days after the slaughter ageing, the collagen solubility in raw and grilled muscles increased by ca. 5.5 % on average compared to the samples analyzed 2 days after the ageing. The ST and SM muscles were characterized by the highest TPA hardness and TPA chewiness values, whereas the SV, IS and LD by the the lowest. The shear force values were the highest in SM, and the lowest in IS. Irrespective of the muscle type, the values of the parameters: TPA hardness, chewiness, and shear force values decreased 14 days after the post-slaughter ageing by about 17N, 6N, and 20N, respectively.

Key words: beef muscles, chemical composition, post-slaughter ageing, soluble collagen, TPA, shear force ☒

PIOTR DOMARADZKI, PIOTR SKAŁECKI, MARIUSZ FLOREK,
ANNA LITWIŃCZUK

WPLYW PRZECHOWYWANIA ZAMRAŻALNICZEGO NA WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNE MIĘSA WOŁOWEGO PAKOWANEGO PRÓŻNIOWO

Streszczenie

Celem pracy była ocena wpływu zamrażalniczego przechowywania (przez 30 dni) na parametry tekstury i właściwości fizykochemiczne pakowanego próżniowo mięsa wołowego. Materiał badawczy stanowiły próby mięśnia najdłuższego grzbietu z odcinka lędźwiowego (MLL) pobrane z 20 prawych półtuszy buhajków w wieku około 18 miesięcy, rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej. Każdą z prób dzielono na dwie części i pakowano próżniowo w worki polietylenowe. Następnie jedną z nich analizowano po 48 h od uboju, drugą badano natomiast po zamrażalniczym przechowywaniu przez 30 dni w temperaturze $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. W próbach oznaczono pH, przewodność elektryczną właściwą – EC [mS/cm], barwę wg CIE $L^*a^*b^*$, wskaźnik TBARS, wyciek rozmrażalniczy (w mięsie po mrożeniu), wyciek termiczny, parametry tekstury (TPA i siłę cięcia) oraz podstawowy skład chemiczny (w mięsie przed mrożeniem). Stwierdzono, że przechowywanie zamrażalnicze spowodowało istotny wzrost przewodności elektrycznej właściwej, gumistości i twardości oraz istotne obniżenie sprężystości i siły cięcia. Zaobserwowano również istotny wzrost udziału barwy żółtej (b^*). Uzyskane wyniki wykazały jednak, że pomimo wystąpienia zmian, jakość fizykochemiczna mięsa wołowego po zamrażalniczym przechowywaniu przez 30 dni była zadowalająca.

Słowa kluczowe: wołowina, właściwości fizykochemiczne, tekstura, zamrażanie, pakowanie próżniowe

Wprowadzenie

Mięso należy do grupy artykułów żywnościowych o ograniczonej trwałości tzn. jest podatne na naturalne, ciągłe i z reguły nieodwracalne przemiany fizyczne, chemiczne, biochemiczne i mikrobiologiczne. Łatwość psucia się mięsa wynika przede wszystkim z dużej zawartości wody, która wraz z białkami i węglowodanami stanowi doskonałą pożywkę dla mikroorganizmów oraz tłuszczu, który ulega procesom przy-

Mgr inż. P. Domaradzki, dr inż. P. Skąlecki, dr hab. inż. M. Florek, prof. dr hab. A. Litwińczuk, Katedra Towaroznawstwa i Przetwórstwa Surowców Zwierzęcych, Wydz. Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin

spieszającym psucie (utlenianie, jęłczenie). Ich efektem są progresywne niekorzystne zmiany właściwości sensorycznych, przydatności użytkowej i wartości odżywczej. Charakter tych zmian jakościowych jest uzależniony przede wszystkim od surowca i zastosowanej technologii przetwarzania i utrwalania [13].

Zamrażanie jest powszechnie stosowaną metodą pozwalającą zachować wysoką jakość oraz trwałość łatwo psującego się mięsa [13]. Ponadto zamrażanie wraz z technologią zamrażalniczego przechowywania są niezastąpione przy zagospodarowaniu surowca mięsnego w okresie nadwyżek jego podaży na rynku [11].

Do najważniejszych uwarunkowań, determinujących jakość mrożonego mięsa należą: dobry surowiec, odpowiednie parametry zamrażania (w tym przede wszystkim szybkość zamrażania), przechowywania i rozmrażania. Oznacza to, że jakość mrożonego mięsa zależy zarówno od pierwotnych zmian poprzedzających zamrażanie, jak i zmian wtórnych, występujących na poszczególnych etapach obróbki zamrażalniczej i przechowalniczej [13].

Proces zamrażania i przechowywania zamrażalniczego poza zabezpieczeniem początkowych cech sensorycznych i wartości odżywczych surowca wpływa również na zdolność żelowania białek mięśniowych po obróbce termicznej. Jest to niezwykle istotne przy produkcji wędlin, gdzie białka tkanki mięśniowej powinny odznaczać się maksymalnymi właściwościami żelującymi [6]. Farouk i wsp. [5] stwierdzili, że mięso wołowe przechowywane w stanie zamrażalniczym przez 30 dni odznaczało się wyższą zdolnością żelowania w porównaniu do mięsa świeżego tuż po wystąpieniu stężenia. Związane to było z większą rozpuszczalnością białek mięśniowych w surowcu po mrożeniu. Przechowywanie zamrażalnicze i późniejsze rozmrażanie mięsa wpływa bowiem na wydłużenie czasu aktywności endogennych enzymów proteolitycznych, odpowiedzialnych za degradację białek tkanki mięśniowej i rozluźnienie jej struktury.

Celem pracy była ocena wpływu zamrażalniczego przechowywania (przez 30 dni) na parametry tekstury i właściwości fizykochemiczne mięsa wołowego pakowanego próżniowo.

Materiał i metody badań

Materiałem badawczym były próby mięśnia najdłuższego grzbietu z odcinka lędźwiowego (*m. longissim lumborum* - MLL) pobrane z 20 prawych półtuszy młodego bydła rzeźnego w wieku około 18 miesięcy, rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej. Zwierzęta pochodziły z gospodarstw indywidualnych woj. lubelskiego, w których stosowano opas w systemie półintensywnym. Podstawową paszą w okresie letnim była zielonka z traw i kiszonka z kukurydzy, natomiast w okresie zimowym kiszonka z kukurydzy. Uzupełnieniem dawki było siano łąkowe oraz śruta zbożowa.

Uboju bydła dokonywano zgodnie z technologią obowiązującą w przemyśle mięsnym i pod nadzorem inspekcji weterynaryjnej. Tusze zwierząt zostały ocenione wg systemu EUROP i zakwalifikowane pod względem uformowania do klas: O (50 % tusz), O⁺ (25 % tusz) oraz R⁻ (25 % tusz), natomiast pod względem odfuszczenia po 25 % tusz do czterech podklas tj. 2, 2⁺, 3⁻ oraz 3.

W trakcie technologicznego rozbioru wychłodzonych (przez 24 h) półtusze pobrano próby mięśnia MLL. Każdą z prób dzielono na dwie części, ważono, a następnie pakowano próżniowo w woreczki polietylenowe i przechowywano w temp. 4 °C. Następnie jedną z nich analizowano po 48 h od uboju, natomiast drugą część zamrożono w powietrzu w warunkach konwekcji swobodnej w zamrażarce (w temp. -20 °C) i przechowywano w tej temperaturze przez 30 dni. Po wyznaczonym terminie przechowywania próby rozmrażano w nienaruszonych woreczkach polietylenowych w temp. 4 °C przez 24 h. Ilość wycieku rozmrażalniczego [%] określano z różnicy masy próby mięsa przed mrożeniem i po rozmrożeniu.

Ocena jakości fizykochemicznej mięsa obejmowała oznaczenie przewodności elektrycznej właściwej – EC [mS/cm] i pH, które mierzono za pomocą aparatu PQM I/Kombi. Barwę mięsa oceniano instrumentalnie za pomocą miernika nasycenia barwy Minolta CR-310. W głowicy pomiarowej wykorzystano iluminację szeroko-kątową (oświetlenie szeroko-obrazowe), geometrię 0° kąta projekcji oraz 50 mm obszar pomiarowy. Miernik kalibrowano przy użyciu białej płytki wzorcowej CR-A44. Wyniki podano jako trójchromatyczne wartości w przestrzeni barw CIE L* a* b* [4].

Wyciek termiczny i pomiary instrumentalne oznaczano przed i po mrożeniu mięsa na próbach o masie 75 ± 1 g. Próby w szczelnie zamkniętych woreczkach foliowych poddawano obróbce cieplnej w łaźni wodnej o temp. 70 °C przez 60 min, następnie studzono pod bieżącą wodą przez 30 min i przechowywano w temp. 4 °C przez 24 h. Procentowy wyciek termiczny obliczano na podstawie różnicy masy próby przed i po obróbce termicznej. Próby te wykorzystywano następnie do oceny tekstury za pomocą wieloczynnościowej maszyny wytrzymałościowej Zwick/Roell Proline B0.5. Test TPA wykonywano na próbach o wymiarach 20×20×20 mm, poddając je dwukrotnemu ścisłaniu (przy stałej prędkości głowicy 100 mm/min) do 50 % ich pierwotnej wysokości (w odstępach 3 s pomiędzy pomiarami i prostopadle do kierunku włókien mięśniowych), rejestrując następujące parametry: gumiałość, żujność, twardość i sprężystość. Test TPA wykonywano na trzech różnych próbkach (o temp. 20 ± 2 °C) reprezentujących pojedynczą próbę mięśnia. Do testu określającego maksymalną siłę cięcia (Fmax. w N) wykorzystano nóż szerometryczny (V-blade) Warnera-Bratzlera. Cięciu (przy prędkości głowicy 100 mm/min) poddawano próbki mięsa w kształcie prostopadłościanu o przekroju 10 mm² (minimum 5 z każdej próby) wycinane równolegle do kierunku włókien mięśniowych. Wyniki pomiarów siły cięcia i testu TPA opracowano z wykorzystaniem programu TestXpert II.

Stabilność oksydacyjną lipidów określano na podstawie wskaźnika TBARS wg metody opisanej przez Witte i wsp. [28], wykorzystując spektrofotometr Varian Cary BIO (dł. fali 530 nm). Wyniki wyrażano w mg aldehydu malonowego (MDA) na 1 kg mięsa.

Wszystkie pomiary i analizy mięsa wykonano po 48 h i po zamrażalniczym przechowywaniu.

W próbach mięśni przed zamrożeniem określano również podstawowy skład chemiczny, tj. zawartość wody metodą suszenia (103 °C) wg PN-ISO 1442:2000 [19], białka ogólnego metodą Kjeldahla przy użyciu aparatu Büchi B-324 wg PN-75/A 04018 [18], tłuszczu wolnego metodą Soxhleta przy użyciu aparatu Büchi B-811 wg PN-ISO 1444:2000 [20], zawartość popiołu metodą spalania wg PN-ISO 936:2000 [21].

Analizę statystyczną wykonano za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji, wykorzystując program StatSoft Statistica ver. 6.0. Istotność różnic pomiędzy średnimi w poszczególnych grupach weryfikowano testem Tukey'a.

Wyniki i dyskusja

Skład chemiczny mięsa decyduje zarówno o jego wartości odżywczej, jak i przydatności przetwórczej. Badane mięso zawierało średnio 75,2 % wody, 22,8 % białka, 0,9 % tłuszczu i 0,9 % związków mineralnych w postaci popiołu. Uzyskane wyniki potwierdzają rezultaty wcześniejszych badań innych autorów.

Według Litwińczuka i wsp. [15] średnia zawartość wody w mięśni MLL młodego bydła rzeźnego rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej wynosiła 75,9 %, białka 21,3 %, tłuszczu 1,3 % oraz związków mineralnych w postaci popiołu 1,3 %. Także Florek i wsp. [8] podają udział podstawowych składników chemicznych na podobnym poziomie, zaznaczając jednocześnie, że zmienność składu chemicznego mięsa wołowego zależy od rodzaju mięśnia, płci zwierząt, stopnia umięśnienia i otluszczenia tuszy oraz wieku, rasy czy kategorii bydła. Z kolei Pospiech i wsp. [22] podają, że w przypadku mięśnia najdłuższego grzbietu, jednego z najbardziej bogatych w białko, zawartość tego składnika zawiera się najczęściej w granicach od 19 do 23 %.

Wskaźnik pH jest podstawowym parametrem oceny jakości mięsa, a jego graniczna wartość w przypadku mięsa świeżego wynosi 6,0 [14], natomiast do produkcji wołowiny kulinarnej nadaje się tylko mięso o pH poniżej 5,8 [27]. Pod względem właściwości fizykochemicznych mięsa wołowego (tab. 1) nie stwierdzono istotnego wpływu mrożenia i zamrażalniczego przechowywania na wartość pH. Świadczy to o dobrej wyjściowej jakości surowca i właściwych warunkach przechowywania zamrażalniczego.

Analizując zmianę przewodności elektrycznej właściwej istotnie ($P \leq 0,01$) wyższą jej wartość stwierdzono w próbach mięsa po mrożeniu (16,13 mS/cm) (tab. 1). Wskazuje to na pewne uszkodzenie komórek mięśniowych w czasie kolejnych etapów związanych z utrwalaniem mięsa w niskich temperaturach tzn. mrożenie, przechowywanie i rozmrażanie. Pliquett i wsp. [17] wykazali związek przewodności elektrycznej właściwej (EC) tkanki mięśniowej z wielkością wycieku naturalnego. Niską wartością EC charakteryzuje się tkanka mięśniowa o nienaruszonych błonach komórkowych. Wraz ze wzrostem zawartości wody wewnątrz mięśnia i przemieszczaniem się płynów w przestrzeniach śród- i międzykomórkowych wartość przewodności elektrycznej wzrasta, co związane jest z osłabieniem błon strukturalnych.

Wielkość wycieku w procesie rozmrażania uważana jest za syntetyczny wskaźnik ogólnej jakości zamrożonego produktu. Wielkość wycieku z tkanki mięśniowej podczas rozmrażania w standardowych warunkach może być jedną z miar stopnia uszkodzenia struktury histologicznej tkanki mięśniowej w procesie zamrażania, a więc może stanowić pośrednią ocenę różnych metod mrożenia [24]. Ponadto wraz z wyciekaniem zamrażalniczym ubywa wielu cennych substancji odżywczych m.in. białek, niebiałkowych związków azotowych, cukrów, a także substancji mineralnych i witamin [12].

Potwierdzeniem naruszenia integralności błon komórkowych oraz osłabienia utrzymywania wody przez miofilamenty w trakcie przechowywania zamrażalniczego surowca jest zarówno istotny wzrost przewodności elektrycznej właściwej w mięsie po mrożeniu, jak również wielkość (4,62 %) wycieku rozmrażalniczego (tab. 1). Uzyskany wynik zbliżony jest do wartości podawanych przez Chwastowską i Kondratowicza [3], którzy, w zależności od sposobu rozmrażania i czasu przechowywania zamrażalniczego mięsa wieprzowego, stwierdzili ubytki masy w zakresie od 3,74 do 6,98 %. Z kolei Stanisławczyk i Znamiorska [25] oznaczyły od 6,74 do 8,68 % wycieku rozmrażalniczego w mięsie końskim składowanym zamrażalniczo. W badaniach własnych nie stwierdzono istotnego wpływu mrożenia i zamrażalniczego przechowywania na ilość wycieku termicznego. W przypadku mięsa przed i po mrożeniu wynosił on około 30 %.

Oceniając parametry barwy mięsa przed i po utrwaleniu zamrażalniczym, nie stwierdzono istotnych różnic wartości L^* i a^* . Niemniej jednak w mięsie mrożonym obserwowano zmniejszenie jasności L^* (o 1,2 jedn.) oraz wzrost udziału barwy czerwonej a^* (o 1,85 jedn.). Udział barwy żółtej b^* w mięsie mrożonym był natomiast istotnie ($P \leq 0,05$) większy w porównaniu z mięsem niepoddanym zamrażalniczemu przechowywaniu, (odpowiednio 5,77 i 3,84) (tab. 1). Podobne tendencje zmniejszenia wartości parametru L^* oraz wzrostu wartości parametru b^* między mięsem ocenianym w drugim dniu chłodniczego dojrzewania a mięsem podanym zamrażalniczemu przechowywaniu stwierdzili Litwińczuk i wsp. [16]. Stanisławczyk i Znamiorska [25] również wskazują, że proces składowania zamrażalniczego powoduje pociemnienie barwy mięsa [25].

Tabela 1

Właściwości fizykochemiczne, wodochłonność oraz TBARS mięśnia najdłuższego grzbietu z odcinka lędźwiowego (*m. longissimus lumborum*) buhajków rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej, determinowane zamrażalniczym przechowywaniem.

Effect of freezing storage on physicochemical properties, water-holding capacity, and TBARS of *m. longissimus lumborum* from bullocks of Black-and-White variety, Polish Holstein-Friesian breed.

Wyszczególnienie Specification		Mięso przed mrożeniem Meat before freezing	Mięso po mrożeniu Meat after freezing
pH	\bar{X}	5,50	5,48
	s	0,05	0,06
EC [mS/cm] Electrical conductivity	\bar{X}	7,20 ^A	16,13 ^B
	s	1,82	3,11
Wyciek termiczny [%] Cooking loss	\bar{X}	30,01	30,37
	s	7,65	5,87
Wyciek rozmrażniczy [%] Thawing loss	\bar{X}	–	4,62
	s		0,98
Barwa wg CIE Colour according to CIE			
L*	\bar{X}	36,64	35,44
	s	0,92	2,00
a*	\bar{X}	23,53	25,38
	s	1,44	0,96
b*	\bar{X}	3,84 ^a	5,77 ^b
	s	0,84	1,11
TBARS [mgMDA/kg]	\bar{X}	0,346	0,355
	s	0,08	0,07

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Wartości średnie oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się statystycznie istotnie: A, B $p \leq 0,01$; a, b $p \leq 0,05$ / Means denoted by different letters in rows differ statistically significantly: A, B $p \leq 0,01$; a, b $p \leq 0,05$

Barwa jest podstawową cechą sensoryczną wołowiny i oceniana jest przez konsumentów przed kruchością i smakowitością, stanowiąc widoczną wskazówkę jakości i świeżości mięsa [1]. Dlatego też w sprzedaży detalicznej barwa jest najważniejszym ocenianym samodzielnie wyróżnikiem związanym z wyglądem i to na jej podstawie nabywca decyduje się na zakup wołowiny [7]. Barwa mięsa jest określana przede wszystkim przez ilość i chemiczny status mioglobiny. Siła i penetracja tlenu w powierzchniowej warstwie mięsa powoduje szybkie utlenianie purpurowo czerwonej mioglobiny do jasnoczerwonej oksymoglobiny i powolną autooksydację do brązowej metmioglobiny [10]. Szybkość i zakres zmian barwy mięsa są determinowane przez dostęp tlenu atmosferycznego. Ulegają one nasileniu wraz z wydłużeniem czasu przechowywania zamrażalniczego mięsa. Sprzyja im również silne odwodnienie po-

wierzchniowej warstwy surowca, ułatwiając penetrację cząsteczek tlenu w głąb tkanki. Częściowa tylko odwracalność negatywnych zmian barwy uzyskiwana po rozmrożeniu surowca sprawia, że są one wysoce niepożądane. Najprostszą metodą zapobiegania jest zabezpieczanie powierzchni mięsa przed wysuszeniem oraz dostępem tlenu atmosferycznego, co można osiągnąć m.in. poprzez zastosowanie odpowiedniej metody przechowywania mięsa [2].

W przeprowadzonych badaniach nie stwierdzono istotnego wpływu przechowywania zamrażalniczego na wartość TBARS. Świadczy to o nieznacznych zmianach związanych z utlenianiem lipidów, dobrych warunkach przechowywania zamrażalniczego oraz ochronnej roli pakowania próżniowego. Do podobnych wniosków doszli wcześniej Viera i wsp. [26], którzy mimo stopniowego zwiększania wartości TBARS podczas zamrażalniczego przechowywania wołowiny nie wykazali istotnych zmian w mięsie mrożonym przez 30 dni. Dopiero w próbach mięsa przechowywanego przez 3 miesiące w stanie zamrożonym, ww. autorzy stwierdzili istotnie wyższą wartość wskaźnika TBARS w odniesieniu do mięsa niemrożonego.

Tekstura jest podstawowym parametrem jakościowym i zarazem stanowi bardzo ważną cechę sensoryczną mięsa czerwonego [7]. Oceniając wyróżniki profilowej analizy tekstury, stwierdzono istotnie ($P \leq 0,01$) wyższą gumiastość i twardość w mięsie po rozmrożeniu (odpowiednio 52,90 N i 164,25 N) w porównaniu z mięsem niemrożonym (odpowiednio 37,32 N i 100,40 N) (tab. 2).

Tabela 2

Parametry tekstury mięśnia najdłuższego grzbietu z odcinka lędźwiowego (*m. longissimus lumborum*) buhajków rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej, determinowane zamrażalniczym przechowywaniem.

Effect of freezing storage on texture parameters of *musculus longissimus lumborum* from bullocks of Black-and-White variety, Polish Holstein-Friesian breed.

Wyszczególnienie Specification		Mięso przed mrożeniem Meat before freezing	Mięso po mrożeniu Meat after freezing
Gumiastość [N] Guminess	\bar{X} s	37,32 ^A 6,21	52,90 ^B 0,99
Żujność [N*mm] Chewiness	\bar{X} s	17,62 1,40	17,81 0,09
Twardość [N] Hardness	\bar{X} s	100,40 ^A 35,56	154,25 ^B 15,59
Sprężystość [mm] Springiness	\bar{X} s	0,48 ^B 0,06	0,37 ^A 0,03
Siła cięcia - F max [N] Shear force	\bar{X} s	85,60 ^B 27,11	48,42 ^A 15,35

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

Przechowywanie zamrażalnicze spowodowało natomiast istotne ($P \leq 0,01$) zmniejszenie sprężystości (o 0,11 mm) oraz siły cięcia (blisko 1,5 raza) w porównaniu wynikami prób niemrożonych.

W dostępnej literaturze nie ma zgodności co do wpływu przechowywania zamrażalniczego na teksturę mięsa wołowego. Zdaniem Shanks i wsp. [23] przechowywanie zamrażalnicze zwiększa kruchość mięsa wołowego i jest szczególnie ważne w przypadku mięsa niepoddanego procesowi dojrzewania. Przeciwnie Litwińczuk i wsp. [16] podają, że mięso wołowe przechowywane w stanie zamrożonym przez 60 dni charakteryzowało się najwyższą siłą cięcia ocenianą instrumentalnie, w porównaniu z mięsem analizowanym w różnych dniach chłodniczego dojrzewania. Kołczak i wsp. [9] nie zaobserwowali istotnych zmian parametrów TPA mięsa wołowego po rozmrożeniu. Stwierdzili natomiast zmniejszenie jego kruchości (wzrost siły cięcia) w porównaniu z mięsem przed mrożeniem. Różnice kruchości były szczególnie widoczne w mięsie krów, co mogło być związane, jak zauważają cytowani autorzy, z największym, spośród ocenianych kategorii bydła, wyciekami rozmrażalniczym w mięsie tych zwierząt.

Wnioski

1. Przechowywanie zamrażalnicze mięsa wołowego w warunkach konwencjonalnych w powietrzu spowodowało nieodwracalne zmiany w strukturze tkankowej oraz zmiany właściwości białek mięsa, o czym świadczy istotny wzrost przewodności elektrycznej właściwej i wielkość wycieku rozmrażalniczego.
2. Utrwalenie mięsa poprzez mrożenie spowodowało istotny ($P \leq 0,05$) wzrost udziału barwy żółtej.
3. Stwierdzono istotny ($P \leq 0,01$) wzrost gumiaistości i twardości oraz spadek sprężystości i siły cięcia mięsa wołowego przechowywanego w warunkach zamrażalniczych.
4. Wykazano, że jakość fizykochemiczna mięsa wołowego pakowanego próżniowo i następnie przechowywanego w warunkach zamrażalniczych przez 30 dni była zadowalająca.

Literatura

- [1] Carpenter C.E., Cornforth D.P., Whittier D.: Consumer preferences for beef colour and packaging did not affect eating satisfaction. *Meat Sci.*, 2001, **57**, 359-363.
- [2] Cegiłka A.: Technologiczne aspekty procesu zamrażania i rozmrażania mięsa a jego jakość. *Gosp. Mięs.*, 2009, **7**, 12-18.
- [3] Chwastowska I., Kondratowicz J.: Właściwości technologiczne mięsa wieprzowego w zależności od czasu zamrażalniczego przechowywania i metody rozmrażania. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **3 (44)**, 11-20.
- [4] CIE, Commission Internationale de l'Eclairage. *Colorimetry (2nd ed.)*, Vienna 1976.

- [5] Farouk M.M., Wieliczko K., Podmore C., Agnew M.P., Frost D.A.: Loss of protein functionality in frozen beef may be caused by interactions involving fat oxidation products and free amino groups. Proc 47th ICoMST, Krakow, Poland 2001, vol. 1, p. 282-283.
- [6] Farouk M.M., Wieliczko K.J.: Optimum time for using chilled beef in gelled products. J. Food Sci., 2003, **68** (1), 164-167.
- [7] Florek M., Litwińczuk A., Skalecki P., Ryszkowska-Siwko M.: Changes of physicochemical properties of bullocks and heifers meat during 14 days of ageing under vacuum. Pol. J. Food Nutr. Sci., 2007, **3** (57), 281-288.
- [8] Florek M., Litwińczuk Z., Kędzierska-Matyssek M., Grodzicki T., Skalecki P.: Wartość odżywcza mięsa z lędźwiowej części mięśnia najdłuższego i półścięgnistego uda młodego bydła rzeźnego. Med. Wet., 2007, **63** (2), 242-246.
- [9] Kołczak T., Palka K., Łącki J.: Water retention, shear force and texture parameters of cattle psoas and semitendinosus muscles unfrozen and frozen during post-mortem ageing. Pol. J. Food Nutr. Sci., 2005, **1**, 17-26.
- [10] Kołczak T.: Jakość wołowiny. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2008, **1** (56), 5-22.
- [11] Kondratowicz J.: Wpływ nowoczesnych metod mrożenia na jakość mięsa i tłuszczu wieprzowego po różnym okresie przechowywania w niskich temperaturach. Acta Acad. Agricult. Techn. Olst., Zootechnica 1991, **34**, 3-61.
- [12] Kopeć A.: Czy swobodny wyciek rozmrażalniczy może być obiektywnym wskaźnikiem zmian jakości mięsa w czasie przechowywania zamrażalniczego? Gosp. Mięś., 2003, **6**, 18-20.
- [13] Kozłowicz K., Kluza F., Góral D.: Uwarunkowania jakości mięsa zamrażanego i przechowywanego w niskich temperaturach. Chłodnictwo, 2006, **1-2**, 60-64.
- [14] Litwińczuk A., Litwińczuk Z., Barłowska J., Florek M.: Surowce zwierzęce: ocena i wykorzystanie. PWRiL, Warszawa 2004.
- [15] Litwińczuk Z., Florek M., Pietraszek K.: Physico-chemical quality of meat from heifers and young bulls of the Black-and White (BW) variety of Polish Holstein-Friesian breed, and commercial BW crossbreds sired by Limousine and Charolaise bulls. Anim. Sci. Pap. Rep., 2006, **24** (2 suppl.), 179-186.
- [16] Litwińczuk Z., Florek M., Ryszkowska-Siwko M.: Changes in beef meat colour and tenderness after different cold storage and freezing periods. Ann. Anim. Sci., 2005, **2** suppl., 91-94.
- [17] Pliquet F., Pliquet U., Robekamp W.: Beurteilung der reifung des M. long. dorsi und M. semitendinosus durch impulsimpedanzmessungen. Fleischwirtschaft, 1990, **70**, 1468-1470.
- [18] PN-75/A 04018. Produkty rolniczo-żywnościowe. Oznaczanie azotu metodą Kjeldahla i przeliczanie na białko.
- [19] PN-ISO 1442:2000. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości wody (metoda odwoławcza).
- [20] PN-ISO 1444:2000. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości tłuszczu wolnego.
- [21] PN-ISO 936:2000. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie popiołu całkowitego.
- [22] Pospiech E., Grześ B., Łyczyński A., Borzuta K., Szalata M., Mikołajczak B., Iwańska E.: Białka mięśniowe, ich przemiany a kruchość mięsa. Mięso i Wędliny, 2003, **1**, 26-33.
- [23] Shanks, B. C., Wulf, D. M., Maddock, R. J.: Technical note: The effect of freezing on Warner-Bratzler shear force values of beef longissimus steaks across several postmortem ageing periods. J. Anim. Sci., 2002, **80** (8), 2122-2125.
- [24] Sobina I.: Badania zmian jakości mięsa wieprzowego normalnego i wadliwego (PSE i DFD) w procesie autolizy w zależności od temperatury składowania. Acta Acad. Agricult. Techn. Olst., Zootechnica, 1998, **1**, 5-98.
- [25] Stanisławczyk R., Znamirska A.: Changes in physico-chemical properties of horsemeat during frozen storage. Acta Sci. Pol., Technol. Aliment. 2005, **4** (2), 89-96.

- [26] Vieira C., Diaz M.T., Martínez B., García-Cachán M.D.: Effect of frozen storage conditions (temperature and length of storage) on microbiological and sensory quality of rustic crossbred beef at different states of ageing. *Meat Sci.*, 2009, **83**, 398-404.
- [27] Wajda S.: Wartość uzysku elementów detalicznych i kulinarnych w porównaniu z mięsem drobnym tusz jałówek. *Gosp. Mięs.*, 2007, **9**, 8-10.
- [28] Witte V.C., Krause G.F., Bailey M.E.: A new extraction method for determining 2-thiobarbituric acid values of pork and beef during storage. *J. Food Sci.*, 1970, **35**, 582-585.

EFFECT OF FREEZING STORAGE ON PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF VACUUM-PACKED BEEF

S u m m a r y

The objective of the study was to assess the impact of freezing storage (for 30 days) on the texture parameters and physicochemical properties of a vacuum-packed beef. The research material consisted of *musculus longissimus lumborum* (MLL) samples taken from 20 right half-carcasses of bullocks aged approximately 18 months, of the Black-and-White variety, the Polish Holstein-Friesian breed. Each sample was divided into two parts and vacuum-packed in polyethylene bags. Next, one part was analyzed 48 hours after slaughter, and the other part was tested after freezing storage for 30 days at -20 °C. In the samples, the following parameters were determined: pH, specific electrical conductivity - EC (mS/cm), colour according to CIE L*a*b*, TBARS index, thawing loss (in meat after freezing), cooking loss, texture parameters (TPA and shear force), and basic chemical composition (in the analyzed meat before freezing.). It was found that the freezing storage caused the electrical conductivity, gumminess and hardness to significantly increase and the springiness and shear force to significantly decrease. Additionally, a significant increase in the per cent content of yellow colour (b*) was observed. The results obtained showed that, despite the occurred changes, the physicochemical quality of beef after the 30 day freezing storage was satisfactory.

Key words: beef, physicochemical properties, texture, freezing, vacuum packaging ☒

RYSZARD MACURA, MAGDALENA MICHALCZYK, JOANNA BANAŚ

**WPLYW OLEJKÓW ETERYCZNYCH KOLENDRY SIEWNEJ
(*CORIANDRUM SATIVUM* L.) I MELISY (*MELISSA OFFICINALIS* L.)
NA JAKOŚĆ PRZECHOWYWANEGO MIELONEGO MIĘSA
CIEŁĘCEGO**

Streszczenie

W pracy zbadano wpływ dodatku olejków kolendry oraz melisy w stężeniach 0,02 % oraz ich mieszaniny (0,01 % + 0,01 %) na trwałość przechowywanego chłodniczo mielonego mięsa cielęcego. Mięso po zapakowaniu próżniowym składowano w temperaturze 0 i 6 °C przez 2 tygodnie. Analizowano świeży surowiec oraz próby po 1 i 2 tygodniach przechowywania. Badania obejmowały określenie: ogólnej liczby bakterii, liczby bakterii fermentacji mlekowej, bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* oraz drożdży i pleśni. Oznaczono ponadto wartość pH, liczbę kwasową, nadtlenkową i wskaźnik TBA oraz przeprowadzono analizę sensoryczną.

Oba zastosowane olejki eteryczne oraz ich mieszanina były wyraźnie wyczuwalne również po ugotowaniu mięsa. Olejek kolendry ze względów sensorycznych okazał się bardziej przydatny. Oba zastosowane olejki wpłynęły na opóźnienie pojawienia się zapachu zepsutego mięsa. Dodatek tych substancji wywarł hamujący wpływ na wzrost bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* oraz pleśni. Natomiast poziom zanieczyszczenia bakteriami fermentacji mlekowej oraz drożdżami był w trakcie przechowywania zbliżony do tego, jaki oznaczono w próbach kontrolnych niezawierających olejków. Wykazano wpływ zastosowanych dodatków na wartość pH próbek składowanych w wyższej temperaturze. Nie stwierdzono korzystnego wpływu zastosowanych dodatków na wskaźniki jęlczenia tłuszczu, które po okresie przechowywania nie różniły się znacząco od wyników świeżego mięsa.

Słowa kluczowe: mielone mięso cielęce, olejki eteryczne, przechowywanie, zanieczyszczenie mikrobiologiczne

Wprowadzenie

Obserwuje się wzmożone zainteresowanie olejkami eterycznymi jako substancjami o działaniu antymikrobiologicznym. Publikowanych jest wiele prac dotyczących

Dr hab. inż. R. Macura, dr inż. M. Michalczyk, dr J. Banaś, Katedra Chłodnictwa i Koncentratów Spożywczych, Wydz. Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie ul. Balicka 122, 30-149 Kraków

wpływu tych substancji na mikroorganizmy obecne w żywności. Jednak prace te dotyczą w przeważającej części izolowanych kultur bakteryjnych hodowanych na podłożach mikrobiologicznych [2, 13, 17, 24]. Wykazano skuteczność rozmaitych olejków eterycznych w stosunku do takich bakterii, jak: *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella flexneri*, *Staphylococcus epidermis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Helicobacter pylori* i innych [2, 5, 13]. Olejki eteryczne wykazują również działanie cytotoksyczne w stosunku do grzybów, wirusów, pierwotniaków, pasożytów, owadów, ale też w stosunku do organizmów wyższych [2]. Badania modelowe często uwzględniają dość duże stężenia tych substancji w podłożach mikrobiologicznych [2, 17]. Uwzględnienie właściwości sensorycznych produktów konserwowanych w ten sposób nie pozwala na dowolnie duży dodatek substancji aromatycznych. Innym ograniczeniem w stosowaniu tych związków jest ich wpływ na organizm ludzki. Pomimo że w postaci ziół i przypraw stanowią element jadłospisu, olejki eteryczne nie należą do substancji obojętnych fizjologicznie [3, 13]. Mogą m.in. działać cytotoksycznie, powodować wydzielanie estrogenu, działać jako anty- lub prooksydanty, wpływać na działanie i aktywność autonomicznego systemu nerwowego, zmieniać napięcie naczyń, obniżać lub podnosić ciśnienie [2, 14].

W żywności występuje równocześnie wiele różnych drobnoustrojów w tym samym produkcie. Ponadto same składniki produktu spożywczego wchodzi w interakcje z dodanymi olejkami. Wpływa to na skuteczność stosowania tych środków. Skandamis i wsp. [24] wykazali, że np. *Salmonella typhimurium* była znacznie silniej inhibitowana w podłożu płynnym zawierającym 0,03 % olejku eterycznego oregano niż w podłożu stałym zawierającym ten sam dodatek. Na podłożu stałym autorzy stwierdzili jedynie opóźnienie rozpoczęcia wzrostu i niewielką redukcję maksymalnej liczby bakterii, podczas gdy w podłożu płynnym nastąpiło całkowite zahamowanie wzrostu tych drobnoustrojów.

Jednym z ziół przyprawowych stosowanych w kuchni jest kolendra. Olejek z niej ma udowodnione właściwości antymikrobiologiczne [2]. Zastosowanie jej w formie olejku jest tym atrakcyjniejsze, że jako przyprawa należy do najbardziej zanieczyszczonych mikrobiologicznie [12]. Drugim olejkiem wybranym do badań, o uznanych właściwościach antymikrobiologicznych, była melisa.

Celem pracy było określenie wpływu olejków kolendrowego oraz melisowego, wykazujących właściwości antymikrobiologiczne w stosunku do drobnoustrojów hodowanych na podłożach mikrobiologicznych, na trwałość przechowywanego mielonego mięsa cielęcego.

Material i metody badań

Surowcem do badań było mięso cielęce (łopatka), pozyskane z ubojni 24 h po uboju, zmielone w wilku laboratoryjnym zaopatrzonym w sitko o średnicy oczek

3 mm. Mielone mięso podzielono na cztery części. Do pierwszej dodano olejek eteryczny kolendry siewnej (*Coriandrum sativum L.*) w ilości stanowiącej 0,02 %, do drugiej części olejek eteryczny melisy (*Melissa officinalis L.*) w tej samej ilości. Trzecią porcję wymieszano z obydwoma olejkami w ilości po 0,01 % każdy. Użyto 100 % naturalnych olejków eterycznych dostępnych w handlu. Czwarta porcja stanowiła próbę kontrolną bez dodatków. Próbkę zapakowano próżniowo w woreczki przy zastosowaniu pakowaczki Vac-Star 1000. Część surowca przechowywano w temp. 0 ± 1 °C, natomiast resztę w temp. 6 ± 1 °C. Analizy wykonywano na świeżym surowcu przed dodaniem olejków eterycznych oraz na próbach przechowywanych: po 1 i po 2 tygodniach składowania.

W ramach analiz mikrobiologicznych oznaczano ogólną liczbę bakterii tlenowych (OLB), zanieczyszczenie bakteriami z rodziny *Enterobacteriaceae*, liczbę bakterii mlekowych oraz drożdży i pleśni. Ogólną liczbę bakterii oznaczano na podłożu PCA (Merck), prowadząc inkubację w temp. 30 °C przez 48 h [4]. Liczbę bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* określano metodą płytkową na podłożu VRBG, prowadząc hodowlę przez 24 h w temp. 37 °C [18]. Liczbę drożdży i pleśni oznaczano na podłożu z chloramfenikolem, prowadząc 4-dniową inkubację w temp. 25 ± 1 °C [16]. Liczbę bakterii kwasu mlekowego (LAB) identyfikowano na podłożu MRS (Man, Rogosa, Sharpe). Inkubację prowadzono w temp. 30 °C w ciągu 72 h [19].

Ocenę sensoryczną przeprowadzał 5-osobowy panel, sprawdzony pod względem wrażliwości sensorycznej i przeszkolony [22]. Ocena obejmowała analizę zapachu mięsa surowego oraz analizę zapachu i smaku klopsów z tego mięsa ugotowanych w wodzie. Ocenę wykonywano metodą punktową, porównując wyróżniki ocenianego mięsa z wyróżnikami zestawionymi w uprzednio opracowanej tabeli. Stosowano skalę ocen: 5 pkt – mięso bardzo dobrej jakości, 4 pkt – mięso dobrej jakości, 3 pkt – wyznaczały granicę akceptowalności, 2 pkt oraz 1 pkt były ocenami dyskwalifikującymi, oznaczającymi mięso złej i bardzo złej jakości.

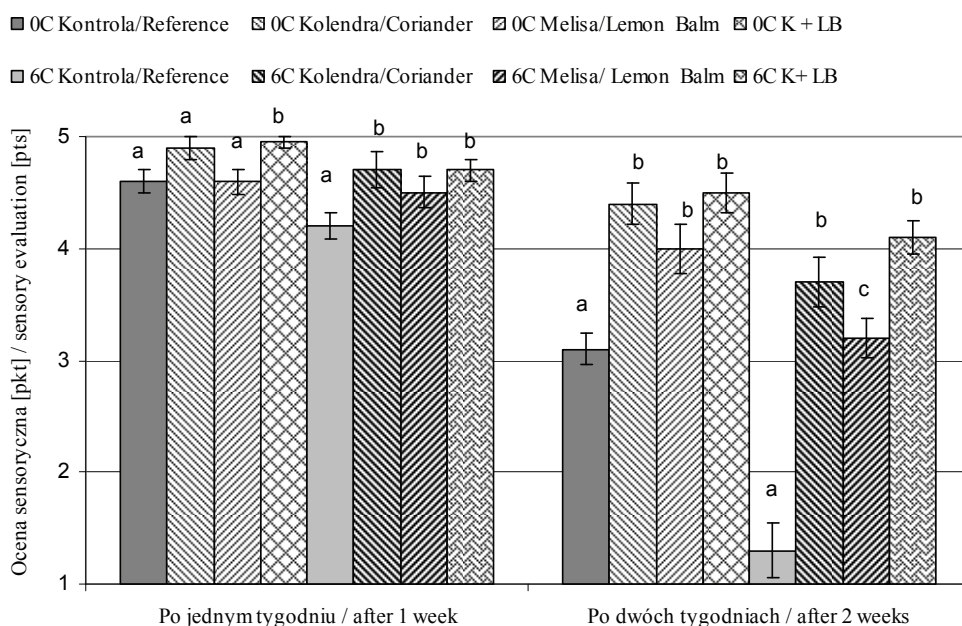
W świeżym surowcu oraz po dwóch tygodniach przechowywania oznaczano liczby tłuszczowe. Liczbę kwasową [mg/g tłuszczu] oznaczano zgodnie z PN-EN ISO 660 [20], natomiast liczbę nadtlenkową [ilość milirównoważników aktywnego tlenu na kg mięsa] określano zgodnie z PN-85/A-82100 [21]. Wartość wskaźnika TBA analizowano metodą ekstrakcyjną, z zastosowaniem wskaźnika tiobarbiturowego. Absorbancję mierzono przy długości fali $\lambda = 533$ nm. Wyniki pomiaru wyrażano jako mg dialdehydu malonowego (MDA) na kg surowca (mięsa) [11].

Pomiary pH wykonywano przy zastosowaniu pehametru HI 9025 (Singapur).

Analizy wykonywano w trzech powtórzeniach w jednej serii badań. Obliczenia statystyczne, w tym wyznaczenie istotności różnic na poziomie istotności $\alpha = 0,05$, przeprowadzono przy użyciu pakietu CSS Statistica.

Wyniki i dyskusja

Zastosowane dodatki olejków eterycznych wyraźnie wpłynęły na cechy sensoryczne mięsa i były we wszystkich przypadkach wyczuwalne. Jakość sensoryczna mięsa cielęcego przechowywanego w temp. 0 °C była akceptowana nawet po 2 tygodniach przechowywania (rys. 1).

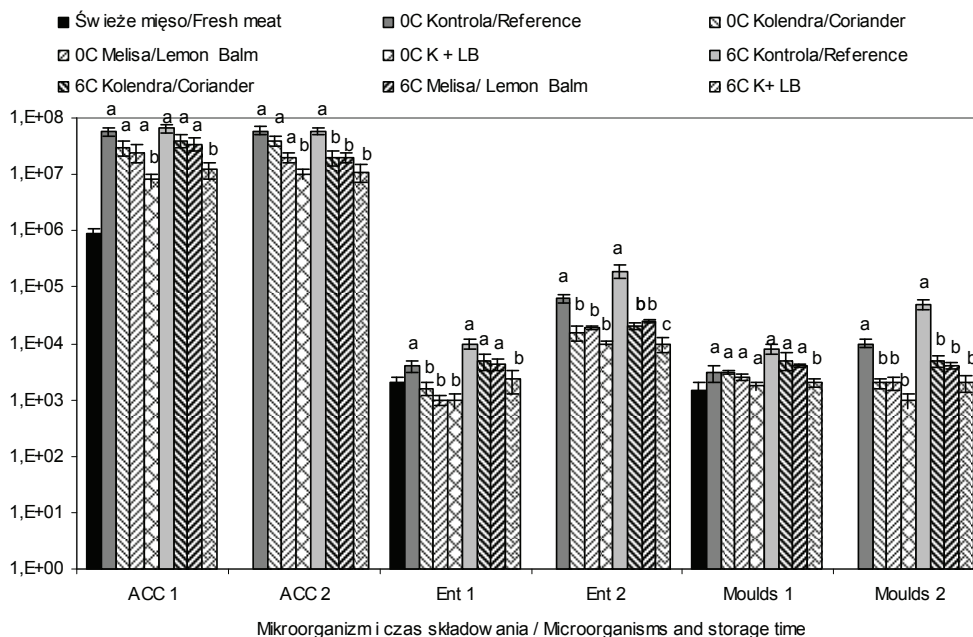


Rys. 1. Wyniki oceny sensorycznej mielonego mięsa cielęcego przechowywanego w temp. 0 °C (0C) i 6 °C (6C), po 1 i 2 tygodniach składowania. Ocena sensoryczna mięsa świeżego to 5 punktów. Wartości oznaczone taką samą literą nie różnią się statystycznie istotnie w obrębie tej samej grupy obejmującej próbę kontrolną i próby z olejkami przy $p > 0,05$.

Fig. 1. Sensory evaluation of ground veal stored at 0 °C (0C) and 6 °C (6C) after 1 and 2 weeks of its storage. Sensory assessment of fresh meat was rated 5 points. The values denoted by the same letters do not differ statistically significantly within the same group comprising both the control sample and the samples with essential oils at $p > 0.05$.

Natomiast próby składowane w temperaturze 6 °C niezawierające dodatku olejku po tym czasie stały się nieprzydatne do spożycia (rys. 1). Dodatek olejku kolendrowego, melisowego lub ich mieszanki pozwoliły na uzyskanie produktu sensorycznie akceptowanego jeszcze po dwóch tygodniach składowania w wyższej z badanych temperatur. W niższej temperaturze, po tym samym czasie, mięso z olejkami wykazywało cechy sensoryczne mięsa świeższego niż próba kontrolna. Stwierdzono bardziej korzystny wpływ olejku z kolendry niż melisy na jakość sensoryczną mięsa. Govaris

i wsp. [6] stwierdzili korzystny wpływ dodatku olejku oregano na jakość sensoryczną przechowywanego mięsa jagnięcego. Jednak przy wyższych dodatkach olejku oregano zauważyli oni, że w początkowym okresie przechowywania jakość sensoryczna w porównaniu z próbą kontrolną była niższa, natomiast w trakcie dalszego składowania próby z dodatkami były ocenione wyżej niż kontrolne.

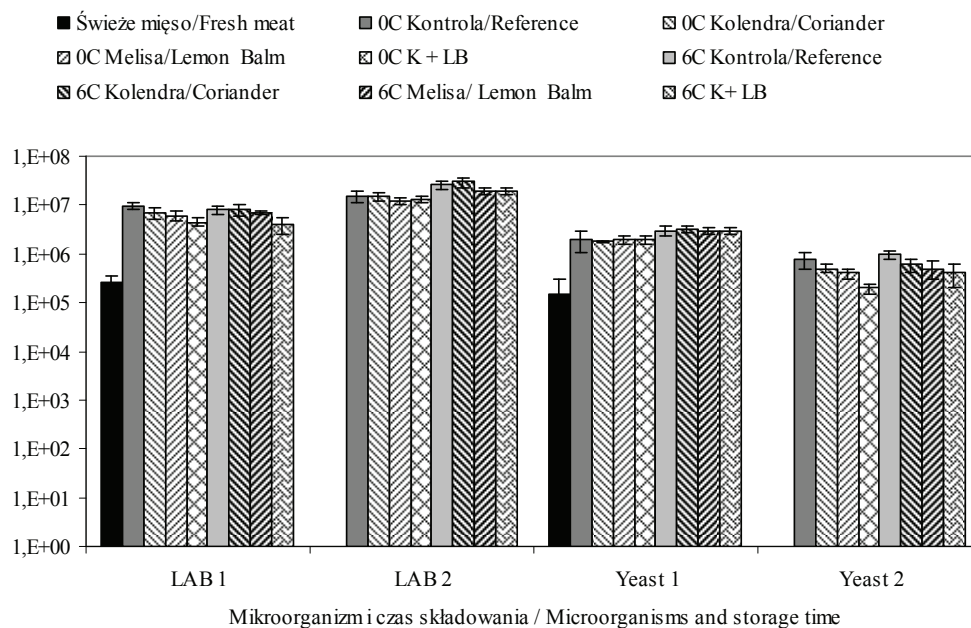


Rys. 2. Zanieczyszczenie mikrobiologiczne mielonego mięsa cielęcego przechowywanego w temp. 0 °C (0C) i 6 °C (6C), po 1 i 2 tygodniach składowania – ogólna liczba bakterii (ACC), *Enterobacteriaceae* (Ent), pleśń (Moulds). Wartości oznaczone taką samą literą nie różnią się statystycznie istotnie w obrębie tej samej grupy obejmującej próbę kontrolną i próby z olejkami przy $p > 0,05$.

Fig. 2. Microbial contamination of ground veal stored at 0 °C (0C) and 6 °C (6C) after 1 and 2 weeks of its storage - Total Aerobic Colony Count (ACC), Enterobacteriaceae (Ent), Moulds (Moulds). The values denoted by the same letters do not differ statistically significantly within the same group comprising the control sample and the samples with essential oils at $p > 0.05$.

Wyniki uzyskane w trakcie analiz mikrobiologicznych przedstawiono na rys. 2 i 3. Pewne zmniejszenie, w stosunku do próby kontrolnej, liczby wykrywanych drobnoustrojów w przechowywanych próbach zawierających dodatek olejków eterycznych dotyczyło głównie bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* oraz pleśni, natomiast nie odnotowano statystycznie istotnego wpływu badanych dodatków na wzrost bakterii kwasu mlekowego oraz drożdży. W próbach mięsa i jego przetworów pakowanych próżniowo bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae*, do których należy wiele mikroorganizmów chorobotwórczych, odgrywają istotną rolę, ponieważ to w ich kierunku,

a także w kierunku bakterii fermentacji mlekowej może nastąpić zmiana wzajemnych proporcji mikroflory [7, 10]. Stąd też spowolnienie wzrostu wykrywanych bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* w próbach z dodatkiem olejków aromatycznych, szczególnie wyraźnie zauważalne po drugim tygodniu przechowywania, jest zjawiskiem bardzo korzystnym.



Rys. 3. Zanieczyszczenie mikrobiologiczne mielonego mięsa cielęcego przechowywanego w temp. 0 °C (0C) i 6 °C (6C), po 1 i 2 tygodniach składowania – bakterie fermentacji mlekowej (LAB), drożdże (Yeast). Wartości nie różnią się statystycznie istotnie w obrębie tej samej grupy obejmującej próbę kontrolną i próby z olejkami przy $p > 0,05$.

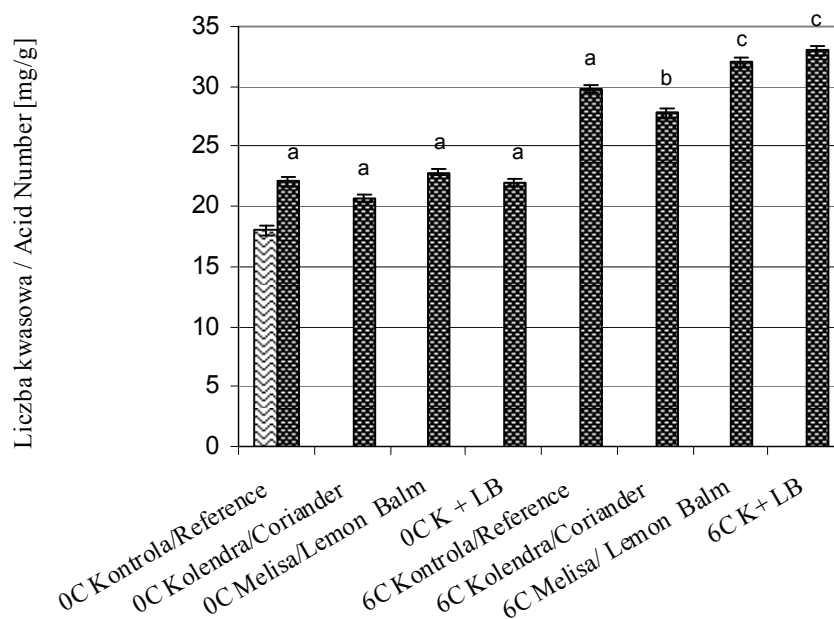
Fig. 3. Microbial contamination of ground veal stored at 0°C (0C) and 6°C (6C) after 1 and 2 weeks of its storage - lactic acid bacteria (LAB), Yeast (Yeast). The values denoted by the same letters do not differ statistically significantly within the same group comprising the control sample and the samples with essential oils at $p > 0.05$.

Być może jednym z czynników, który wpłynął w większości przypadków na brak wyraźnego wpływu zastosowanych dodatków na wykrywaną w czasie przechowywania ogólną liczbę bakterii było dość wysokie początkowe zanieczyszczenie prób mięsa. Drobnoustroje w początkowej fazie wzrostu wykazują bowiem większą wrażliwość na czynniki zewnętrzne [28]. Jednak według kryteriów oceny zaproponowanej przez Skrócki [25] badany świeży surowiec należy uznać jeszcze za mięso dobrej jakości mikrobiologicznej.

Nie stwierdzono związku pomiędzy temperaturą przechowywania prób a skutecznością zastosowanych olejków. W pracy dotyczącej wpływu olejku oregano na wzrost *Salmonella enteritidis*, Govaris i wsp. [6] stwierdzili większą skuteczność tej substancji w wyższej z temperatur przechowywania mięsa.

Wskaźnik TBA świeżego mięsa wynosił 3,83 mg MDA/g, natomiast wartość liczby nadtlenkowej 8,55 meq/kg. W trakcie przechowywania wartości tych wskaźników pozostawały na niezmiennym poziomie (różnice statystycznie nieistotne). Może to być efektem profilu kwasów tłuszczowych obecnych w fazie lipidowej mięsa cielęcego. Zawiera ona stosunkowo dużo kwasów nasyconych [1] oraz relatywnie niski stosunek ilości kwasów nienasyconych do nasyconych [15]. Ponadto istnieją doniesienia o obecności w mięsie cielęcym substancji o działaniu antyoksydacyjnym [23], co wydają się potwierdzać otrzymane wyniki.

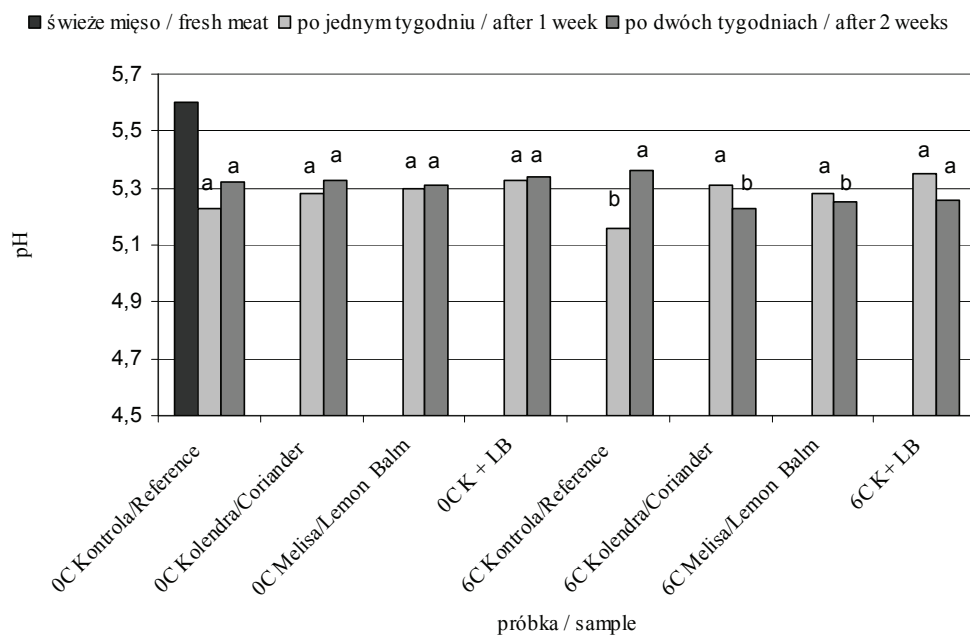
☐ Świeże mięso / Fresh meat ■ Przechowywane mięso / Stored meat



Rys. 4. Liczba kwasowa tłuszczu mielonego mięsa cielęcego przechowywanego w temp. 0 °C (0C) i 6 °C (6C), po 2 tygodniach składowania. Wartości oznaczone taką samą literą nie różnią się statystycznie istotnie w obrębie tej samej grupy, obejmującej próbę kontrolną i próby z olejkami przy $p > 0,05$.

Fig. 4. Acid number of fat in ground veal stored at 0°C (0C) and 6°C (6C) after 1 and 2 weeks of its storage. The values denoted by the same letters do not differ statistically significantly within the same group comprising the control sample and the samples with essential oils at $p > 0.05$.

Stwierdzono niewielki wzrost liczby kwasowej w przechowywanych próbach (rys. 4), zwłaszcza tych składowanych w temperaturze 6°C. Największy był on w materiale zawierającym dodatek olejku melisy, a najmniejszy w próbach z 0,02 % olejku kolendry. Obserwowana w przypadku melisy tendencja zmian liczby kwasowej była odwrotna do stwierdzonej przez Karpińską-Tymoszczyk w badaniach przechowalniczych mięsa indyczego z dodatkiem rozmarynu [9]. Z otrzymanych tam rezultatów wynika, że dodatek rozmarynu oprócz działania inhibitującego utlenianie spowodował także ograniczenia zakresu zmian o charakterze hydrolitycznym w porównaniu z próbą kontrolną. Korzystny wpływ ekstraktu rozmarynu na obniżenie wskaźników jęlczenia tłuszczu stwierdzili również Hęś i wsp. [8]. Substancje wchodzące w skład olejku z melisy najprawdopodobniej katalizują hydrolityczny rozpad fazy tłuszczowej i/lub zwiększają aktywność lipaz. Natomiast olejek eteryczny z kolendry wykazuje słabe działanie hamujące te przemiany, podobnie jak wspomniany rozmaryn. Stosunkowo niewielki wzrost wartości liczby kwasowej analizowanych prób w czasie przechowywania wykazuje podobną tendencję, jak w przypadku wcześniejszych badań mięsa i jego przetworów [9, 15, 26].



Rys. 5. Wartość pH mielonego mięsa cielęcego przechowywanego w temp. 0 °C (0C) i 6 °C (6C), po 1 i 2 tygodniach składowania. Wartości oznaczone taką samą literą nie różnią się statystycznie istotnie w obrębie tej samej grupy obejmującej próbę kontrolną i próby z olejkami przy $p > 0,05$.

Fig. 5. pH value of ground veal stored at 0°C (0C) and 6°C (6C) after 1 and 2 weeks of storage. The values denoted by the same letters do not differ statistically significantly within the same group comprising the control sample and the samples with essential oils at $p > 0.05$.

Rezultaty pomiarów pH składowanego mięsa przedstawiono na rys. 5. Spadek wartości pH wszystkich prób już po pierwszym tygodniu przechowywania należy zapewne przypisać głównie działalności bakterii fermentacji mlekowej, których wykrywana liczba wzrosła w tym czasie o ponad 1 cykl logarytmiczny (rys. 3). Według Skrótki [25] mięso o pH powyżej 6,0 lub poniżej 5,3 jest już mięsem złej jakości. Próby przechowywane w temp. 0 °C zawierające dodatek olejków charakteryzowały się pH na granicy tej wartości. Natomiast próby przechowywane w temp. 6 °C charakteryzowały się akceptowanym pH jedynie po pierwszym tygodniu przechowywania i to wtedy, kiedy zawierały któryś z olejków eterycznych. Po dwóch tygodniach przechowywania pH mięsa składowanego w temp. 6 °C było poniżej wartości 5,3, z wyłączeniem próby kontrolnej. Jednak w jej przypadku należy sądzić, że wzrost pH do wartości wyższej był objawem procesu zepsucia przebiegającego z wydzielaniem zasadowych produktów rozkładu białka, co również obserwowano w przypadku innych przetworów mięsnych [27].

Wnioski

1. Użyte olejki wpłynęły w sposób pozytywny na ograniczenie niepożądanego zapachu przechowywanych prób mięsa surowego oraz smaku i zapachu mięsa gotowanego.
2. Dodatek olejków eterycznych wywarł wyraźny hamujący wpływ na wzrost bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* oraz pleśni. W przypadku bakterii kwasu mlekowego i drożdży nie odnotowano istotnych zmian w porównaniu z próbą kontrolną, jednak dodatek olejków w sposób korzystny wpłynął na wartości pH przechowywanego mięsa.
3. Wskaźniki jęlczenia tłuszczu po okresie przechowywania nie różniły się znacząco w porównaniu z odnośnymi wskaźnikami mięsa świeżego. Nie stwierdzono korzystnego wpływu zastosowanych dodatków na otrzymane wartości.
4. Zastosowanie olejków eterycznych jako substancji o właściwościach konserwujących powinno uwzględniać tradycje kulinarne dotyczące doboru przypraw do określonego typu mięsa czy jego przetworu. Wynika to z wyraźnego wpływu tych olejków na cechy sensoryczne utrwalanych produktów.

Literatura

- [1] Alfaia C.P.M., Castro M.L.F., Martins S.I.V., Portugal A.P.V., Alves S.P.A., Fontes C.M.G., Bessa R.J.B., Prates J.A.M.: Influence of slaughter season and muscle type on fatty acid composition, conjugated linoleic acid isomeric distribution and nutritional quality of intramuscular fat in Arouquesa-PDO veal. *Meat Sci.*, 2007, **76**, 787-795.
- [2] Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M.: Biological effects of essential oils – A review. *Food Chem. Toxicol.*, 2008, **46**, 446-475.

- [3] Brud W.: Aktywność biologiczna olejków eterycznych stosowanych w aromatach spożywczych. *Przem. Spoż.*, 2000, **4**, 14-15.
- [4] Burbianka M., Pliszka A., Burzyńska H.: *Mikrobiologia żywności*. PZWL. Warszawa 1983.
- [5] Burt S.: Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *Int. J. Food Microbiol.*, 2004, **94**, 223-253.
- [6] Govaris A., Solomakos N., Pexara A., Chatzopoulou P.S.: The antimicrobial effect of oregano essential oil, nisin and their combination against *Salmonella Enteritidis* in minced sheep meat during refrigerated storage. *Int. J. Food Microbiol.*, 2010, **137**, 175-180.
- [7] Gram L., Ravn L., Rasch M., Bruhn J.B., Christensen A.B., Givskov M.: Food spoilage – interactions between food spoilage bacteria. *Int. J. Food Microbiol.*, 2002, **78**, 79-97.
- [8] Hęś M., Korczak J., Pycz J., Kowalski R.: Influence of lipid stabilization on the retention of available lysine and methionine in stored raw polish sausage. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, **4 (65)**, 19-25.
- [9] Karpińska-Tymoszczyk M., Effect of the addition of ground rosemary on the quality and shelf-life of turkey meatballs during refrigerated storage. *Br. Poultry Sci.*, 2008, **49**, 742-750.
- [10] Kordowska-Wiater M., Łukasiewicz B.: Wpływ sposobu pakowania na jakość mikrobiologiczną pasztetów. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **2 (43)**, 84-94.
- [11] Kryłowska-Kułas M.: *Badanie jakości produktów spożywczych*. PWE, Warszawa 1993, ss. 80-81.
- [12] Kulczak M., Remiszewski M., Korbas E., Jeżewska M., Czajkowska D.: Ocena jakości kolendry mielonej poddanej procesowi dekontaminacji z zastosowaniem pary wodnej i jej trwałość przechowalnicza. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **1 (46) Supl.**, 59-66.
- [13] Kunicka-Styczyńska A.: Olejki eteryczne naturalne substancje antydeobnoustrojowe. *Przem. Spoż.*, 2009, **63 (5)**, 30-32.
- [14] Lahlou S., Fernandes Figueiredo A., Caldas Magalhães P.J., Leal-Cardoso J.H., Duarte Gloria P.: Cardiovascular effects of methyleugenol, a natural constituent of many plants essential oils, in normotensive rats. *Life Sciences*, 2004, **74**, 2401-2412.
- [15] Makala H.: Effect of enriching model meat products with oils, abundant in polyunsaturated fatty acids on the selected quality parameters. *EJPAU*, 2007, **10 (2)**, 15.
- [16] *Microbiology Manual*. Merck. E. Merck. Darmstadt 1994, pp. 256-257.
- [17] Ouattara B., Simard R.E., Holley R.A., Piette G.J-P., Bégin A.: Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. *Int. J. Food Microbiol.*, 1997, **37**, 155-162.
- [18] PN-A-04023:2001. *Mikrobiologia żywności. Wykrywanie i identyfikacja drobnoustrojów z rodziny Enterobacteriaceae*.
- [19] PN-ISO 15214. 2002. *Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby mezofilnych bakterii fermentacji mlekowej. Metoda płytkowa w temperaturze 30 °C*.
- [20] PN-EN ISO 660. 2005. *Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczenie liczby kwasowej i kwasowości*.
- [21] PN-85/A-82100. *Wyroby garmażeryjne. Metody badań chemicznych*.
- [22] PN ISO 8586-1. *Analiza sensoryczna - Ogólne wytyczne wyboru, szkolenia i monitorowania oceniających*.
- [23] Prates J.A.M., Quaresma M.A., Bessa R.J.B., Fontes C.M.G.A., Alfaia C.P.M.: Simultaneous HPLC quantification of total cholesterol, tocopherols and β -carotene in Barrosã-PDO veal. *Food Chem.*, 2006, **94**, 469-477.
- [24] Skandamis P., Tsigaria E., Nychas G.-J.E.: Ecophysiological attributes of *Salmonella typhimurium* in liquid culture and within a gelatin gel with or without the addition of oregano essential oil. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 2000, **16**, 31-35.

- [25] Skrótki A.: Hygienic quality of commercial minced meat as indicated by aerobic microorganisms and Coliform bacteria. *Z. Lebensm. Unters Forsch A*, 1997, **204**, 391-394.
- [26] Summo C., Caponio F., Paradiso V.M., Pasqualone A., Gomes T.: Vacuum-packed ripened sausages: Evolution of oxidative and hydrolytic degradation of lipid fraction during long-term storage and influence on the sensory properties. *Meat Sci.*, 2010, **84**, 147-151.
- [27] Węsierska E.: Trwałość mikrobiologiczna homogenizowanych kielbas drobiowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **6 (55)**, 295-303.
- [28] Żakowska Z., Stobińska H.: *Mikrobiologia i higiena w przemyśle spożywczym*. Wyd. Politechniki Łódzkiej, Łódź 2000, ss. 144-145.

EFFECT OF ESSENTIAL OILS OF CORIANDER (*CORIANDRUM SATIVUM L.*) AND LEMON BALM (*MELISSA OFFICINALIS L.*) ON QUALITY OF STORED GROUND VEAL

S u m m a r y

Under this study, it was researched into the effect of the addition of coriander (*Coriandrum sativum L.*) essential oils and lemon balm (*Melissa officinalis L.*) on the stability of ground veal stored at chilling temperatures. The effect was assessed when those oils were added separately (each oil concentration of 0.02 %) and jointly as a mixture (their concentration in the mixture: 0.01 % and 0.01 %). The vacuum packed samples of meat were stored at 0 and 6 °C for two weeks. Samples of fresh meat and meat after 1 and 2 week storage were analyzed. The analyses comprised the determination of the following counts: total bacteria, lactic acid bacteria, *Enterobacteriaceae* bacteria, and yeast and mould. Additionally, in the samples, the following parameters were determined: pH, acid number, peroxide value, and TBA value; a sensory assessment was also carried out.

The two oils and their mixture were clearly perceptible, even after the meat was cooked. The coriander essential oil appeared to be more useful in terms of the sensory features of the meat. The two oils applied delayed the occurrence of the spoiled meat odour. Their addition had an inhibiting effect on the growth of *Enterobacteriaceae* and moulds. However, during storage, the levels of meat contamination by lactic acid bacteria and yeasts were similar to those found in the control samples with no oils contained therein. It was proved that the oils added to meat impacted the pH value of samples stored at a higher temperature. No beneficial effect was found of the additives on fat rancidity indices, which, at the end of the storage period, did not significantly differ from the indices of the fresh meat.

Key words: ground veal, essential oils, storage, microbial contamination ☒

KAROLINA SEMERIAK, ANDRZEJ JARMOLUK

WPLYW NATURALNYCH ANTYOKSYDANTÓW NA BARWĘ PEKLOWANYCH PRZETWORÓW MIĘSNYCH

Streszczenie

W pracy podjęto próbę zwiększenia stabilności barwy chłodniczo przechowywanych, peklowanych przetworów mięsnych, wytwarzanych z zastosowaniem naturalnych przeciwutleniaczy w formie ekstraktów z rozmarynu, szalwii i goździka. Surowiec mięsny stanowiły mięśnie czterogłowe uda (*m. quadriceps femoris*) pozyskiwane z tusz wieprzowych 48 h *post mortem*. Mięso rozdrabniano w wilku laboratoryjnym, a następnie homogenizowano z solanką peklującą o składzie 2 % peklosoli (zawierającej 99,5 % NaCl i 0,5 % NaNO₂), 0,5 % fosforanów i 0,5 % karagenu oraz ekstraktami naturalnych przeciwutleniaczy (ekstrakt rozmarynu na poziomie 200, 400 ppm oraz ekstrakt szalwii w ilości 100 i 200 ppm). Zmienność barwy eksperymentalnych przetworów poddanych naświetlaniu (250 lx) przez: 0, 1, 3, 6, 12, 24 h oceniano bezpośrednio po obróbce cieplnej oraz po miesięcznym chłodniczym składowaniu próbek. Zmienność barwy oceniono na podstawie oznaczenia parametrów wyróżników barwy L*a*b*, stopnia konwersji barwników hemowych (CFR - *Colour Forming Ratio*) oraz analizy sensorycznej. Stwierdzono, że zastosowanie w procesie wytwarzania eksperymentalnych przetworów ekstraktu rozmarynu wpłynęło na przesunięciem tonu ich barwy w kierunku czerwonym. W próbach z zastosowaniem ekstraktu szalwii wykazano rozjaśnienie barwy. Maksymalnym stopniem konwersji barwników hemowych charakteryzowały się warianty zawierające 400 ppm ekstraktu rozmarynu i 200 ppm ekstraktu szalwii.

Słowa kluczowe: peklowanie mięsa, stabilność barwy, naturalne antyoksydanty, rozmaryn, szalwia

Wprowadzenie

Barwa peklowanych przetworów mięsnych jest istotnym czynnikiem mającym wpływ na decyzje konsumenckie dotyczące zakupu produktu [14, 15]. Od szeregu lat są badania mające na celu optymalizację procesu peklowania i stabilizację barwy tego typu przetworów [11, 19, 20]. Dotychczas, największy postęp osiągnięto w wyniku pakowania próżniowego lub w modyfikowanej atmosferze oraz kształtowania barwy produktów za pomocą barwników naturalnych bądź identycznych z naturalnymi [3, 24,

Mgr inż. K. Semeriak, dr hab. A. Jarmoluk, prof. UP, Katedra Technologii Surowców Zwierzęcych i Zarządzania Jakością, Wydz. Nauk o Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu ul. Chelmońskiego 37/41, 51-360 Wrocław

26]. Nowoczesne sposoby pakowania pozwalają nie tylko zachować barwę, ale i przedłużyć termin przydatności do spożycia przetworów mięsnych, stanowiąc ochronę przed zepsuciem mikrobiologicznym [25]. Kolejnym rozwiązaniem jest stosowanie barwników, jednak odpowiadają one jedynie za kształtowanie barwy, nie wykazując żadnego dodatkowego działania mającego na celu przedłużenie trwałości produktów [5]. Konieczne więc są dalsze badania umożliwiające rozpoznanie nowych metod ograniczenia procesów deterioracji barwy peklowanych przetworów mięsnych oraz przedłużenia jej trwałości. Faustman i wsp. [6], udowodnili silną korelację pomiędzy utlenianiem tłuszczu a oksydacją oksymyoglobiny i nitrozomyoglobiny, co powoduje obniżenie jakości przetworów zarówno w aspekcie odżywczym, jak i sensorycznym. Skutecznym sposobem ograniczania zmian barwy produktów finalnych mogłoby być zastosowanie przeciwutleniaczy. Praktyczny brak zastrzeżeń natury zdrowotnej oraz możliwości wytwarzania ekstraktów bądź olejków zawierających naturalne przeciwutleniacze stwarzają nowe perspektywy ich zastosowania w przemyśle mięsnym [12, 13].

Celem pracy było określenie możliwości zwiększenia stabilności barwy chłodniczo przechowywanych i naświetlanych, peklowanych przetworów mięsnych, w wyniku zastosowania naturalnych przeciwutleniaczy w formie dodatku ekstraktów z rozmarynu, szałwii i goździka.

Material i metody badań

Material do badań stanowił wieprzowy mięsień czterogłowy (*m. quadriceps femoris*) wchodzący w skład mięśni pośladkowych (tzw. „myszka”), pozyskiwany 48 h *post mortem*, o pH w przedziale 5,6 - 5,8. Jako naturalne przeciwutleniacze zastosowano ekstrakt rozmarynu „Stabiloton WS”, ekstrakt szałwii „Salbei-extract”, ekstrakt goździka „Clove extract”, (RAPS) oraz izoaskorbinian sodu (REGIS). Jako składników solanki peklującej użyto peklosoli (Kopalnia Soli „Solino” S.A., Inowrocław), mieszaniny fosforanów Hamina S (Vassen-Schoemaker) oraz mieszaniny karagenów R-250 firmy AMCO. Doświadczenie zrealizowano według frakcyjnego modelu trójwartościowego Boxa-Behnkena. Jako czynniki zmienności przyjęto ekstrakt rozmarynu na poziomie 0, 200, 400 ppm oraz ekstrakt szałwii w ilości: 0, 100 i 200 ppm. Ekstrakt goździka zastosowano na stałym poziomie 100 ppm (tab. 1). Jednocześnie do każdej z eksperymentalnych próbek (z powodu silnego napowietrzania w czasie homogenizacji) zastosowano stały (1000 ppm) dodatek izoaskorbinianu sodu. Doświadczenie zrealizowano w dwóch odrębnych powtórzeniach produkcyjnych. Surowiec mięsny rozdrabniano w wilku W-82AN („Spomasz” Żary) o średnicy gardzieli równej 82 mm oraz siatce o średnicy oczek 3 mm.

Tabela 1

Model doświadczenia i kodowanie wariantów.
Experiment Model and variants encoding.

Kod wariantu Variant code	Ekstrakt rozmarynu Rosemary extract [ppm]	Ekstrakt szalwii Sage extract [ppm]	Ekstrakt goździka Clove extract [ppm]	Izoaskorbinian sodu Isoascorbic acid [ppm]
R0S0	0	0	100	1000
R0S100	0	100		
R0S200	0	200		
R200S0	200	0		
R200S100	200	100		
R200S200	200	200		
R400S0	400	0		
R400S100	400	100		
R400S200	400	200		

Rozdrobnione mięso o masie 50 g homogenizowano ze składnikami recepturowymi za pomocą homogenizatora BÜCHI Mixer B-400 w ciągu 3 s przy prędkości obrotowej zespołu nożowego 9000 obr./min. Stosunek solanki peklującej do mięsa wynosił 1 : 1. Do sporządzenia solanki użyto 2 % peklosoli (zawierającej 99,5 % NaCl i 0,5 % NaNO₂), 0,5 % fosforanów i 0,5 % karagenu. Tak przygotowanym homogenatem napełniano naczynia polipropylenowe typu Falcon (50 ml) i pozostawiano w chłodni na 24 h. Następnie prowadzono obróbkę termiczną półproduktu w łaźni wodnej o temp. 80 °C (±0,5 °C), do osiągnięcia 72 °C (±0,1 °C) w centrum geometrycznym wyrobów. Gotowe produkty chłodzono w wodzie z lodem do temp. ok. 5 °C. Każdy z doświadczalnych wariantów sporządzano w trzech partiach po 12 próbek. Jedną z nich poddawano badaniom po 24 h chłodniczego przechowywania, natomiast drugą po okresie chłodniczego składowania trwającego 4 tygodnie. Próbkę wychłodzonych przetworów krojono w plastry, pakowano do woreczków z folii wielowarstwowej (PA/PE), zamykano próżniowo i poddawano, w warunkach chłodniczych, 24-godzinnemu naświetlaniu białym światłem jarzeniowym o natężeniu oświetlenia około 250 lx. Z każdego wariantu naświetlaniu poddawano 5 próbek.

Pomiar barwy wykonywano przy użyciu kolorymetru odbiciowego MINOLTA CR-400 wykorzystując iluminant D65 i 10 stopniowy kąt obserwacji. Kolorymetr kalibrowano wobec wzorca bieli o następujących wartościach współczynników: $Y = 93,8$, $x = 0,3158$, $y = 0,3323$. Każdy pomiar przeprowadzano dla dwóch wzorców. Pierwszy (I) z nich był wzorcem bieli, natomiast drugi (II) stanowił zdefiniowany wzorec barwy tj. wartości parametrów barwy wariantu R0S0, niepoddanego przechowywaniu. Pomiar barwy wykonywano po: 0, 1, 3, 6, 12 i 24 h ekspozycji próbek na światło.

Czas 0 odpowiadał pomiarowi prowadzonemu bezpośrednio po przekrojeniu próbki. Pomiar fizycznych wyróżników barwy wykonywano w trzech miejscach zapakowanego w folię PA/PE doświadczalnego homogenatu. Wyniki przedstawiono w systemie $L^*a^*b^*$ [10]. Parametry $L^*a^*b^*$ oznaczono według wzorca I, natomiast współczynniki charakteryzujące dynamikę zmian barwy homogenatów podczas naświetlania (ΔL^* , Δa^* , Δb^* , ΔE^*ab) według wzorca II. Oznaczenie stopnia przereagowania barwników hemowych mięsa CFR (Colour Forming Ratio) prowadzono metodą opracowaną przez Sakata [22], polegającą na oznaczaniu barwników ogółem i nitrozobarwników w eksperymentalnych homogenatach. Zawartość barwników hemowych ogółem oznaczano w rozdrobionej próbce produktu (5 g), którą przenoszono ilościowo do zaciemnionych naczyń za pomocą roztworu acetonu i HCl. Następnie próbkę homogenizowano i sączono. Mierzono absorbancję (A_{383}) przesącza przy długości fali $\lambda = 383$ nm. Próbę odniesienia stanowił roztwór ekstrakcyjny. Zawartość nitrozobarwników w produkcie oznaczono jak wyżej, z tą różnicą, że próbkę zalewano roztworem acetonu i wody. Mierzono absorbancję (A_{395}) przesącza przy długości fali 395 nm. Wszystkie czynności, z wyjątkiem pomiarów absorbancji, wykonywano w ciemni. Udział barwników nitrozohemowych w ogólnej ilości barwników hemowych mięsa obliczano z równania:

$$CFR = \frac{A_{395}[nm]}{A_{383}[nm]} * 1,2 * 100\%$$

gdzie:

1, 2 – współczynnik różnicy w molekularnej ekstynkcji między ekstraktem barwników nitrozohemowych i ekstraktem barwników ogółem,

A_{395} – absorbancja ekstraktu barwników nitrozohemowych,

A_{383} – absorbancja ekstraktu ogólnej ilości barwników.

Analizę sensoryczną barwy eksperymentalnych produktów prowadzono metodą skalowania, przy zastosowaniu pięciopunktowej skali ocen typu hedonicznego. Ocenę sensoryczną wykonywał panel 6 przeszkolonych osób, w pomieszczeniu oświetlonym światłem sztucznym. Zakodowane próbki oceniano w postaci plasterków o grubości 5 mm, w temp. 18 ± 2 °C [2, 21].

Analizę statystyczną wyników przeprowadzono przy użyciu programu Statistica v.6.1. Do weryfikacji zmienności i wizualizacji wyników wykorzystano metodę płaszczyzny odpowiedzi modelu Boxa-Behnkena oraz wieloczynnikową analizę wariancji, weryfikując istotność różnic wielokrotnym testem rozstępu Duncana. Wszystkie analizy wykonano na poziomie istotności $p \leq 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Wzrost udziału ekstraktu rozmarynu w próbach od 0 do 400 ppm powodował zmniejszenie wartości parametru L^* o ok. 3 % (tab. 2). Do podobnej konkluzji doszli

Balentine i wsp. [1], Fernández-López i wsp. [7], Hernández-Hernández i wsp. [9], sugerując przyciemniające działanie ekstraktu rozmarynu.

Tabela 2

Wartości fizycznych parametrów barwy modelowych homogenatów w założonych okresach przechowywania.

Physical parameter values of model homogenates colour for assumed storage periods.

Okres przechow. [tyg] Storage period [week]	Rodzaj czynnika Factor type	Poziom czynnika Factor level [ppm]	Wyróżniki barwy Colour features		
			L*	a*	b*
0	ekstrakt rozmarynu rosemary extract	0	67,16 ^a	8,80 ^a	3,94 ^a
		200	66,53 ^b	9,42 ^b	4,30 ^b
		400	64,92 ^c	12,50 ^c	4,49 ^c
	ekstrakt szalwii sage extract	0	66,09 ^a	9,39 ^a	4,37 ^a
		100	66,24 ^a	9,68 ^b	4,19 ^b
		200	66,28 ^a	9,55 ^{ab}	4,17 ^b
4	ekstrakt rozmarynu rosemary extract	0	67,69 ^a	7,38 ^a	4,47 ^a
		200	66,31 ^b	8,38 ^b	4,85 ^c
		400	66,48 ^b	8,28 ^b	4,78 ^b
	ekstrakt szalwii sage extract	0	66,49 ^a	8,46 ^a	4,71 ^{ab}
		100	67,24 ^c	7,69 ^b	4,65 ^a
		200	66,75 ^b	7,90 ^c	4,73 ^b

Objaśnienia: / Explanatory notes:

*a-c – różnice statystycznie istotne na poziomie $p < 0,05$ / statistically significant differences at $p < 0,05$; przypisane kolumnowo, rozpatrywane osobno dla 0 i 4 tygodni / ascribed per column, investigated separately for periods of 0 and 4 weeks

Największą wartość współczynnika L* (66,28) oznaczono w próbkach wariantu ROS200, wykazując jednocześnie rozjaśniający wpływ ekstraktu szalwii (tab. 2). Analogiczną zależność przedstawiła Karpińska-Tymoszczyk [11], stwierdzając rozjaśniające działanie szalwii na barwę peklowanych przetworów mięsnych. Minimalną wartością (64,92) omawianego wyróżnika charakteryzowało się mięso wariantu R400S0 (tab. 2). Wprowadzenie 400 ppm ekstraktu rozmarynu powodowało zwiększenie udziału składowej barwy czerwonej o 42 % (tab. 2). Potwierdzeniem tych wyników są badania przeprowadzone przez Valentine i wsp. [1]. Nie wykazano istotnej zależności pomiędzy stężeniem ekstraktu szalwii a wartością parametru a*. Do odmiennych wniosków doszli McCarthy i wsp. [17], stwierdzając, że przetwory wieprzowe z dodatkiem ekstraktu szalwii wykazują wyższe wartości parametru a* niż próby z dodatkiem ekstraktu rozmarynu. Minimalną wartość (9,02) analizowanego parametru identyfikowano

w próbkę kontrolnej, natomiast maksymalny udział (12,50) składowej barwy czerwonej a^* w ogólnym jej tonie oznaczono w próbkach wariantów sporządzonych jedynie z dodatkiem 400 ppm ekstraktu rozmarynu (tab. 2). Dodatek 200 ppm ekstraktu rozmarynu zwiększał wartość wyróżnika b^* o 9 %, natomiast wprowadzenie 400 ppm omawianego ekstraktu do homogenatu powodowało wzrost wartości b^* o 13,9 % w odniesieniu do próby kontrolnej (tab. 2). Analogiczne wyniki badań uzyskali Balentine i wsp. [1], stwierdzając istotny wpływ dodatku ekstraktu rozmarynu na udział barwy żółtej w ogólnym tonie. Próbkę sporządzoną jedynie z dodatkiem ekstraktu szaławii charakteryzowały się najmniejszą wartością (2,46) współczynnika b^* , natomiast największą wartość parametru (3,47) zanotowano w homogenatach zawierających 400 ppm ekstraktu rozmarynu i 100 ppm ekstraktu szaławii.

Tabela 3

Wyniki stopnia konwersji barwników hemowych w założonych okresach przechowywania.
Results of Colour Forming Ratio (CFR) for assumed storage periods.

Okres przechowywania [tyg] Storage period [week]	Rodzaj czynnika Factor type	Poziom czynnika Factor level [ppm]	CFR CFR [%]
0	ekstrakt rozmarynu rosemary extract	0	90,0 ^a
		200	89,5 ^a
		400	95,3 ^b
	ekstrakt szaławii sage extract	0	91,6 ^a
		100	92,2 ^a
		200	90,9 ^a
4	ekstrakt rozmarynu rosemary extract	0	92,6 ^a
		200	92,3 ^a
		400	92,7 ^a
	ekstrakt szaławii sage extract	0	93,5 ^a
		100	92,0 ^a
		200	92,0 ^a

Objaśnienia jak pod tab. 2 / Explanatory notes as In Tab. 1.

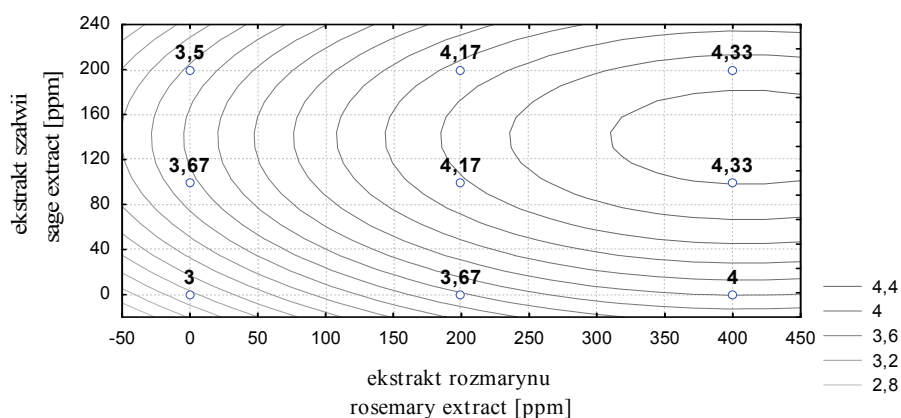
Analizując zależności pomiędzy dodatkami ekstraktów antyoksydantów a stopniem konwersji barwników hemowych, wykazano wpływ wysokiego stężenia ekstraktu rozmarynu na zmienność wartości CFR (tab. 3). W doświadczalnych homogenatach z zawartością 400 ppm ekstraktu rozmarynu wartość CRF wzrosła o 6 % w porównaniu z próbkami sporządzonymi z 200 ppm dodatkiem tego ekstraktu (tab. 3). Minimalnym udziałem (85,4 %) nitrozomioglobiny w ogólnej zawartości barwników hemowych charakteryzowała się próba sporządzona z dodatkiem obu ekstraktów na pozio-

mie 200 ppm (R200S200). Największym zaś stopniem konwersji (wartość CFR równa 97 %) cechowały się próbki, do których sporządzenia wykorzystano maksymalne ilości obu ekstraktów.

Najwyższą pożądalnością sensoryczną barwy charakteryzowały się eksperymentalne przetwory wytwarzane z dodatkiem ekstraktu rozmarynu – warianty R200 i R400. Produkty sporządzone z maksymalnym stężeniu ekstraktu rozmarynu (R400) i wzrastającym udziale ekstraktu szałwii cechowały się najwyższą (około 4,33 – warianty R400S100 i R400S200) pożądalnością barwy (rys. 1).

Według Karpińskiej-Tymoszczyk [11] wprowadzenie 0,1 % ekstraktu szałwii wyraźnie zwiększa wartości ocen barwy w analizie sensorycznej. Wykazano istotne rozjaśnienie barwy wszystkich doświadczalnych próbek na skutek poddania ich 3-godzinemu naświetlaniu białym światłem jarzeniowym.

Pomiar wszystkich parametrów obrazujących zmianę barwy podczas naświetlania (ΔL^* , Δa^* , Δb^* , ΔE^*_{ab}) wykonano w odniesieniu do próby kontrolnej, wyprodukowanej bez dodatku antyoksydantów. Najniższą wartością (-2,70) parametru Δa^* charakteryzowały się próby poddane 24-godzinnemu działaniu światła (tab. 4). Istotną zmianę barwy wykazano po upływie 3 h naświetlania – wartość wyróżnika ΔE^*_{ab} wzrosła o ok. 50 % z poziomu 1,68 (0 h) do 3,06 (3 h) (tab. 4).



Rys. 1 Wpływ ekstraktów rozmarynu i szałwii na pożądalność sensoryczną barwy wytworzonych homogenatów ($R^2 = 0,985$), niepodanych procesowi przechowywania.

Fig. 1. Effect of rosemary and sage extracts on sensory acceptability of colour of manufactured homogenates ($R^2 = 0.985$), which did not undergo the storage process.

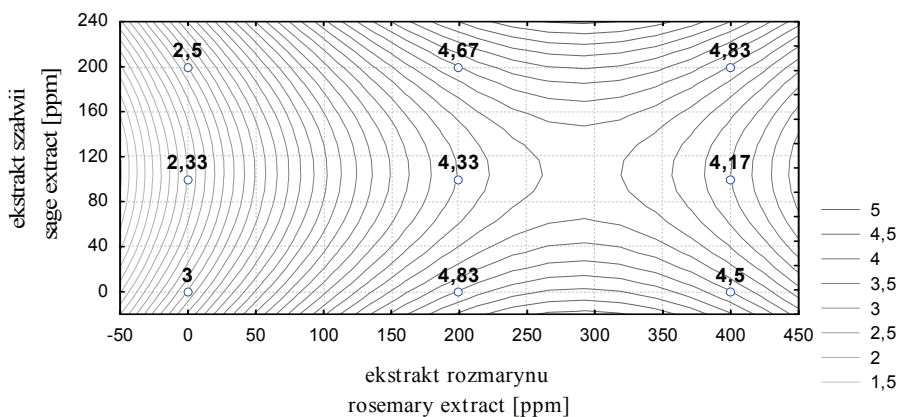
Tabela 4

Wartości fizycznych parametrów barwy modelowych próbek w zależności od czasu naświetlania, w założonych okresach przechowywania.

Physical parameter values of colour of model samples depending on light exposure time for assumed storage periods

Okres przechow. [tyg] Storage peiord [week]	Czas Time [h]	Wyróżniki barwy Colour features						
		L*	a*	b*	ΔL^*	Δa^*	Δb^*	ΔE^*ab
0	0	66,72 ^b	10,87 ^c	2,96 ^a	0,36 ^b	0,16 ^d	0,37 ^a	1,68 ^a
	1	66,40 ^b	10,58 ^c	3,58 ^b	0,21 ^b	-0,24 ^c	0,98 ^b	1,99 ^a
	3	65,01 ^a	9,44 ^b	4,54 ^c	-1,16 ^a	-1,38 ^b	1,94 ^c	3,06 ^b
	6	66,33 ^b	9,10 ^b	4,64 ^c	0,14 ^b	-1,72 ^b	2,04 ^c	3,03 ^b
	12	66,29 ^b	9,13 ^b	4,66 ^c	0,11 ^b	-1,70 ^b	2,05 ^c	3,06 ^b
	24	66,47 ^b	8,12 ^a	5,08 ^d	0,28 ^b	-2,70 ^a	2,48 ^d	3,93 ^c
4	0	67,48 ^c	9,72 ^f	2,87 ^a	-0,19 ^c	0,29 ^f	-0,31 ^a	0,99 ^a
	1	66,65 ^b	9,05 ^e	3,94 ^b	-1,02 ^b	-0,38 ^e	0,76 ^b	1,77 ^b
	3	66,79 ^b	8,48 ^d	4,70 ^c	-0,87 ^b	-0,94 ^d	1,52 ^c	2,31 ^c
	6	66,75 ^b	7,99 ^c	5,05 ^d	-0,92 ^b	-1,43 ^c	1,87 ^d	2,70 ^d
	12	67,41 ^c	7,05 ^b	5,58 ^e	-0,26 ^c	-2,37 ^b	2,39 ^e	3,54 ^e
	24	65,88 ^a	5,80 ^a	6,048 ^f	-1,79 ^a	-3,62 ^a	2,86 ^f	5,07 ^f

Objaśnienia jak pod tab. 2 / Explanatory notes as In Tab. 1.

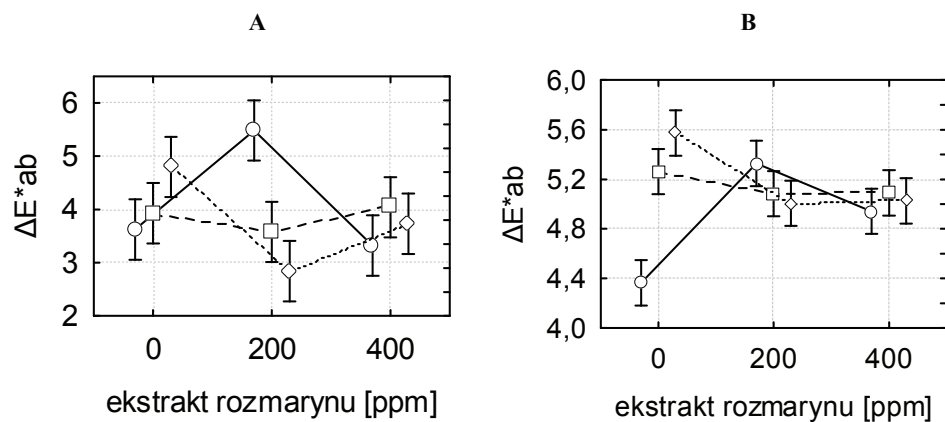


Rys. 2. Wpływ ekstraktów rozmarynu i szalwii na pożądalność sensoryczną barwy wytworzonych homogenatów przechowywanych przez 4 tygodnie ($R^2 = 0,985$)

Fig. 2. Effect of rosemary and sage extracts on sensory acceptability of colour of manufactured homogenates stored for 4 weeks ($R^2 = 0,985$)

Maksymalną wartością (3,93) parametru ΔE^*ab charakteryzowały się próby R200S0, wystawione na 24-godzinne działanie oświetlenia (tab. 4, rys. 3A). Czterotygodniowe chłodnicze przechowywanie eksperymentalnych próbek (bez dostępu światła), niezależnie od innych czynników, powodowało ich rozjaśnienie. Oznaczono wzrost wartości wyróżnika L^* z poziomu 66,21 w próbkach nieprzechowywanych, do 66,83 po 4 tygodniach składowania w chłodni (tab. 2). W odniesieniu do ekwiwalentnych prób poddanych pomiarom bezpośrednio po wytworzeniu, zauważalne jest zmniejszenie oddziaływania 400 ppm ekstraktu rozmarynu na pociemnienie barwy. Do podobnych wniosków doszli Nassu i wsp. [18], stwierdzając obniżenie efektywności działania ekstraktu rozmarynu podczas przechowywania. Po chłodniczym składowaniu nie zanotowano rozjaśniającego działania ekstraktu szalwii, co miało miejsce przy ocenie próbek bezpośrednio po ich sporządzeniu. Homogenaty, do których sporządzenia wykorzystano największe stężenia obu ekstraktów (R400S200), cechowały się minimalną wartością (66,51) parametru L^* , co analogicznie do wyników Georgantelis i wsp. [8] wskazuje na addytywność oddziaływań obu naturalnych przeciwutleniaczy.

Analizując wpływ chłodniczego przechowywania na zmienność udziału składowej barwy czerwonej w ogólnym jej tonie, wykazano zmniejszenie wartości parametru a^* o 19% w odniesieniu do próbek nieprzechowywanych (tab. 2).



Rys. 3 Wpływ ekstraktu szalwii i rozmarynu na zmienność parametru ΔE^*ab po 24 h naświetlania, A – próby nieprzechowywane, B – próby przechowywane przez 4 tygodnie; ekstrakt szalwii 0 ppm, \square ekstrakt szalwii 100 ppm, \diamond ekstrakt szalwii 200 ppm.

Fig. 3. Effect of rosemary and sage extracts on variations of ΔE^*ab parameter 24 h after 24 h exposure to light; A- fresh (not stored) samples; B – samples stored for 4 weeks; sage extract 0 ppm, \square sage extract 100 ppm, \diamond sage extract 200 ppm.

Zauważono zmniejszenie efektywności w oddziaływaniu na parametr a^* 400 ppm ekstraktu rozmarynu (tab. 2). Djenane i wsp. [4] udowodnili stabilizujący wpływ na barwę ekstraktu rozmarynu po 29 dniach przechowywania. Do podobnej konkluzji doszli Sánchez-Escalante i wsp. [23], Lund i wsp. [12] oraz Sebranek i wsp. [24], wykazując skuteczność działania ekstraktu rozmarynu na stabilizację składowej czerwonej barwy przechowywanych chłodniczo produktów mięsnych. Najmniejszy udział (7,90) składowej barwy czerwonej w ogólnym tonie wyznaczono w homogenacie wariantu R0S200, potwierdzając negatywne oddziaływanie ekstraktu szaławii na barwę przechowywanych próbek. Największą wartością czerwonej barwy cechowały się homogenaty wytwarzane z dodatkiem 200 ppm ekstraktu rozmarynu (R200S0) – średnia wartość a^* wyniosła 8,38 (tab. 2). Fernández-López i wsp. [7] stwierdzili, że dodatek ekstraktu rozmarynu na poziomie 200 ppm najefektywniej zwiększał trwałość składowej czerwonej barwy. W produktach eksperymentalnych, po miesięcznym przechowywaniu, stwierdzono wzrost udziału składowej barwy żółtej w ogólnym tonie z wartości 4,49 (w próbkach nieprzechowywanych) do wartości 4,85 (tab. 2).

Chłodnicze składowanie próbek wpłynęło na zwiększenie wartości stopnia konwersji barwników (CFR) z poziomu ok. 91,6 % (we wszystkich próbkach nieprzechowywanych) do 92,5 % we wszystkich próbkach przechowywanych 4 tygodnie. Podczas procesu przechowywania oddziaływanie ekstraktu rozmarynu na wartość omawianego parametru uległo zmniejszeniu (tab. 3). Minimalny udział (87,8 %) barwników nitrozowych w ogólnej zawartości barwników oznaczono w mięsie wariantu sporządzonego z dodatkiem ekstraktu rozmarynu i ekstraktu szaławii na poziomie 200 ppm (R200S200). Homogenaty wykonane z dodatkiem 200 ppm ekstraktu rozmarynu i bez dodatku szaławii cechowały się najwyższym stopniem konwersji barwników, wartość CFR próbek wariantu R200S0 wynosiła 93,5 % (tab. 3). Oceniając eksperymentalne homogenaty po czterech tygodniach chłodniczego składowania, stwierdzono, że ich wyróżniki jakościowe charakteryzowały się wartościami porównywalnymi, jak w próbkach bezpośrednio po wytworzeniu.

Produkty wytwarzane z wykorzystaniem maksymalnych stężeń obu ekstraktów przeciwutleniaczy oraz wariant sporządzony z udziałem jedynie 200 ppm ekstraktu rozmarynu odznaczały się największą pożądalnością barwy (rys. 2). Wyniki te znajdują potwierdzenie w badaniach Nassu i wsp. [18], według których dodatek 0,05 % ekstraktu rozmarynu poprawia akceptację sensoryczną barwy przechowywanych przetworów.

Wydłużenie czasu ekspozycji na światło powodowało zmniejszenie wartości ΔL^* chłodniczo przechowywanych przetworów mięsnych, analogicznie jak w próbkach nieprzechowywanych, przy czym wartość parametru próbek poddanych działaniu oświetlenia przez 24 h wynosiła -1,79 (tab. 4). Balentine i wsp. [1] wykazali ochronne działanie ekstraktu, który przeciwdziałał rozjaśnianiu barwy w czasie ekspozycji w ladzie chłodniczej. Analizując zmienność parametru Δa^* w doświadczalnych pró-

bach poddanych miesięcznemu przechowywaniu, zauważono zmniejszający się udział składowej barwy czerwonej w ogólnym jej tonie wraz ze wzrostem czasu ekspozycji na światło (tab. 4). Po upływie doby od rozpoczęcia naświetlania wartość omawianego współczynnika uległa 12-krotnemu zmniejszeniu z wartości ok. 0,29 do 3,62 (tab. 4). Wg Martinez i wsp. [16], barwa doświadczalnych wieprzowych kielbasek sporządzonych z dodatkiem ekstraktu rozmarynu i kwasu askorbinowego wykazywała bardziej czerwoną barwę w odniesieniu do próby kontrolnej, podczas 4 dni ekspozycji na działanie standardowego światła fluorescencyjnego.

Oceniając wpływ okresu przechowywania na całkowitą zmianę barwy, stwierdzono istotne zróżnicowanie międzywariantowe, przy czym największą wartością parametru ΔE^*ab , równą 5,57, charakteryzowały się próbki sporządzone z dodatkiem 200 ppm ekstraktu szałwii i bez dodatku ekstraktu rozmarynu (rys. 3B). Największe odbarwienie wykazano w przechowywanych homogenatach wystawionych na 12- i 24-godzinne działanie oświetlenia. Po upływie doby od rozpoczęcia ekspozycji oznaczono 5-krotny wzrost wartości wyróżnika ΔE^*ab (tab. 4).

Wnioski

1. Wprowadzenie ekstraktu rozmarynu do peklowanych homogenatów mięsa wieprzowego powoduje przesunięcie tonu ich barwy po obróbce cieplnej w kierunku odcieni czerwonych i mniejszej jasności.
2. Ekstrakt rozmarynu znacznie zwiększa stabilność barwy peklowanych przetworów mięsnych w czasie ich ekspozycji na sztuczne światło jarzeniowe.
3. Zastosowane ekstrakty naturalnych przeciwutleniaczy charakteryzują się wysoką efektywnością działania w czasie chłodniczego składowania peklowanych przetworów mięsnych, do których je wprowadzono.
4. Wprowadzenie do peklowanych homogenatów mięsnych 400 ppm ekstraktu rozmarynu i 200 ppm ekstraktu szałwii maksymalizuje stopień konwersji barwników hemowych (CFR) na poziomie 97 %.
5. Spośród wszystkich ocenianych mieszanin naturalnych antyoksydantów, najefektywniejszy pod względem kształtowania pożądalności sensorycznej i stabilności barwy peklowanych przetworów mięsnych jest ekstrakt rozmarynu w ilości 400 ppm.
6. Najbardziej pożądaną sensorycznie barwę eksperymentalnych peklowanych przetworów mięsnych osiągnięto przy jednoczesnym zastosowaniu: 400, 200 i 100 ppm dodatku ekstraktów, odpowiednio rozmarynu, szałwii i goździka.

Literatura

- [1] Balentine C., Crandall P., O'Bryan C., Duong D., Pohlman F.: The pre- and post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef. *Meat Sci.*, 2006, **73**, 413-421.
- [2] Baryłko-Piekielna N.: Zarys analizy sensorycznej żywności. WNT, Warszawa 1975
- [3] Carpenter C., Daren P., Cornforth D., Whittier D.: Consumer preferences for beef color and packaging did not affect eating satisfaction. *Meat Sci.*, 2001, **57**, 359-363.
- [4] Djenane D., Sánchez-Escalante A., Beltra'n J.A., Roncale's P.: Ability of α -tocopherol, taurine and rosemary, in combination with vitamin C, to increase the oxidative stability of beef steaks packaged in modified atmosphere. *Food Chem.*, 2002, **76**, 407-415.
- [5] Duda Z., Pietrasik Z., Jarmoluk A.: Wpływ zmiennego poziomu wybranych preparatów barwotwórczych na wyróżniki barwy modelowych kielbas o obniżonym dodatku azotynu sodu. *Technologia Alimentaria*, 2003, **2(1)**, 143-153.
- [6] Faustman C., Cassens R.: The biochemical basis for discoloration in meat: a review. *J. Muscle Foods*, 1990, **1**, 217-243.
- [7] Fernández-López J., Zhi N., Aleson-Carbonell A., Pérez-Alvarez J., Kuri V.: Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: application in beef meatballs. *Meat Sci.*, 2005, **69**, 371-380.
- [8] Georgantelis D., Blekas G., Katikou P., Ambrosiadis I., Fletouris D.: Effect of rosemary extract, chitosan and α -tocopherol on lipid oxidation and colour stability during frozen storage of beef burgers. *Meat Sci.*, 2007, **75**, 266-274.
- [9] Hernández-Hernández E., Ponce-Alquicira E., Jaramillo-Flores M., Guerrero Legarreta I.: Antioxidant effect rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and oregano (*Origanum vulgare* L.) extracts on TBARS and colour of model raw pork batters. *Meat Sci.*, 2009, **81**, 410-417.
- [10] Hunter R., Harold R.: The measurement of appearance. Sec. Ed. A Wiley-Interscience Publication John Wiley & Sons., New York 1987.
- [11] Karpńska-Tymoszczyk M.: Effects of sage extract (*Salvia officinalis*) and a mixture of sage extract and sodium isoascorbate on the quality and shelf life of vacuum-packed turkey meatballs. *J. Muscle Foods*, 2007, **18**, 420-434.
- [12] Lund M., Skibsted L.: The combined effect of antioxidants and modified atmosphere packaging on protein and lipid oxidation in beef patties during chill storage. *Meat Sci.*, 2007, **76**, 226-233.
- [13] Madsen H., Bertelsen G.: Spices as antioxidants. *Trends Food Sci. Technol.*, 1995, **6 (8)**, 271-277.
- [14] Madsen H., Sorensen B., Skibsted L., Bertelsen G.: The antioxidative activity of summer savory and rosemary in dressing stored exposed to light or in darkness. *Food Chem.*, 1998, **63 (2)**, 173-180.
- [15] Mancini R., Hunt M.: Current research in meat color. *Meat Sci.*, 2005, **71**, 100-121.
- [16] Martinez L., Cilla I., Beltran J., Roncales P.: Effect of illumination on the display life of fresh pork sausages packaged in modified atmosphere. Influence of the addition of rosemary, ascorbic acid and black pepper. *Meat Sci.*, 2007, **75**, 443-450.
- [17] McCarthy T., Kerry J., Kerry F., Lynch P., Buckley D.: Assessment of the antioxidant potential of natural food and plant extracts in fresh and previously frozen pork patties. *Meat Sci.*, 2001, **57 (2)**, 177-184.
- [18] Nassua R., Guaraldo Gonc L., Azevedo M., da Silvab P., Beserrac F.: Oxidative stability of fermented goat meat sausage with different levels of natural antioxidant. *Meat Sci.*, 2003, **63**, 43-49.
- [19] Naveena B., Muthukumar M., Sen A., Babji Y., Murthy T.: Improvement of shelf-life of buffalo meat using lactic acid, clove oil and vitamin C during retail display. *Meat Sci.*, 2006, **74**, 409-415.
- [20] Pegg R., Shahidi F.: Nitrite curing of meat. The *N*-nitrosamine problems and nitrite alternatives. Food & Nutrition Press, inc., 2000.
- [21] PN-ISO 4121:1998. Analiza sensoryczna. Metodologia.

- [22] Sakata R.: Studies on physicochemical characteristics of red pigments in meat products. *Anim. Sci. J.*, 2000, **71**, 1-16.
- [23] Sánchez-Escalante A., Djenane D., Torrecano G., Beltrán J., Roncalés P.: The effects of ascorbic acid, taurine, carnosine and rosemary powder on colour and lipid stability of beef patties packaged in modified atmosphere. *Meat Sci.*, 2001, **58**, 421-429.
- [24] Sebranek J., Sewalt V., Robbins K., Houser T.: Comparison of a natural rosemary extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. *Meat Sci.*, 2005, **69** (2), 289-296.
- [25] Smulevich G., Droghetti E., Focardi C., Coletta M., Ciaccio C., Nocentini M.: A rapid spectroscopic method to detect the fraudulent treatment of tuna fish with carbon monoxide. *Food Chem.*, 2007, **101**, 1071-1077.
- [26] Wilkinson B., Janz J., Morel P., Purchas R., Hendriks W.: The effect of modified atmosphere packaging with carbon monoxide on the storage quality of master-packaged fresh pork. *Meat Sci.*, 2006, **73**, 605-610.

EFFECT OF NATURAL ANTIOXIDANTS ON COLOUR STABILITY OF CURED MEAT PRODUCTS

S u m m a r y

The objective of this study was the attempt to increase the colour stability of cured meat products stored at chilling conditions, which were manufactured with the addition of natural antioxidants in the form of rosemary, sage, and clove extracts. The meat material studied comprised *m. quadriceps femoris* taken from 48 h post-mortem pig carcasses. The meat was minced in a laboratory grinder; next, it was homogenized using a curing brine of the following composition: 2 % of curing salts (99.5 % of NaCl and 0.5 % of NaNO₂), 0.5 % of phosphates, 0.5 % of carrageenan, and natural antioxidant extracts (the amounts of rosemary extracts were 200 and 400 ppm, the amounts sage extract were 100 and 200 ppm). The colour variations of experimental meat products exposed to light (250 lx) for 0, 1, 3, 6, 12, and 24 h were assessed directly after their thermal treatment, and one month after their chilling storage. The colour variations were assessed based on the determined parameters of L*, a*, b* colour features, Colour Forming Ratio (CFR), and sensory analysis results. It was found that the rosemary extract added during the manufacturing process of experimental meat products impacted their colour tone that became redder. The addition of sage extract to the experimental meat samples during their production process caused their colour to become lighter. The variants containing 400 ppm of rosemary extract and 200 ppm of sage extracts were characterized by the highest (max) heme pigment conversion degree of the meat colour.

Key words: curing of meat, colour stability, natural antioxidants, rosemary, sage ☒

KAMILA MAZUR, KAZIMIERZ KOŁODZIEJ, WIKTOR KOŁODZIEJSKI

OCENA PRZYDATNOŚCI TECHNOLOGICZNEJ ODPADOWYCH SKÓR Z ŁOSOSI DO POZYSKIWANIA Z NICH OLEJU RYBNEGO METODĄ TŁOCZENIA

Streszczenie

Tłuszcz zawarty w skórkach łososi to cenny naturalny olej rybny. Jest on bogaty w n-3 wielonienasycone kwasy tłuszczowe, a substancje białkowe w nim zawarte to w większości białka kolagenowe. Dlatego też skóry z łososi stanowią dobry surowiec do pozyskiwania z nich oleju rybnego oraz do wytwarzania kolagenu i żelatyny. Warunkiem wykorzystywania skór z łososi do wytwarzania kolagenu lub żelatyny jest usunięcie z nich tłuszczu, bez powodowania cieplnej lub chemicznej denaturacji białek kolagenowych, co umożliwiają metody fizyczne.

Stwierdzono, że najprostszą i najbardziej efektywną metodą wydzielania oleju ze skór łososi jest tłoczenie. Wykazano, że przy zastosowaniu ciśnienia o wielkości około 3 MPa można wydzielić ze skór do 90 % zawartego w nich oleju rybnego. W wyciekach skór łososi zawartość pozostałego tłuszczu wynosi jeszcze około 10 %. W przypadku wykorzystywania takich skór do wytwarzania kolagenu lub żelatyny pozostały w nich tłuszcz powinien być usuwany innymi metodami.

Słowa kluczowe: skóry z łososi, olej rybny, metoda tłoczenia

Wprowadzenie

W przemyśle rybnym w Polsce nastąpił dynamiczny wzrost przetwórstwa łososi pochodzących z norweskich hodowli, głównie na eksportowe produkty wędzone. W roku 2008 import do Polski świeżych łososi, patroszonych z głowami, z przeznaczeniem do przetwórstwa, wyniósł ponad 75 tysięcy ton, z tego na eksportowe produkty przeznaczono około 40 tysięcy ton [1]. Przy przetwarzaniu takiego surowca na produkty wędzone, głównie plastrowane filety bez skóry, surowce odpadowe: głowy, kręgosłupy, płetwy, skóry i inne, stanowią łącznie, według szacunkowych danych z zakładów przetwórstwa rybnego, około 45 % masy przetworzonego surowca. W ciągu roku w Polsce powstaje ponad 33 tysiące ton rybnych odpadów z łososi,

z czego ponad 1,6 tysiąca ton to surowe i wędzone skóry. Ocena ilościowa i charakterystyka surowców odpadowych z łososi wykazały, że procentowy udział tych surowców w stosunku do masy ryb patroszonych z głowami wynosi: głowy 12 %, kręgosłupy 11 %, skóry 5 %.

Stan mikrobiologiczny odpadów z przetwórstwa łososi oraz zawartość w nich znacznych ilości substancji użytecznych żywieniowo: białek i tłuszczu, w tym wielonienasyconych kwasów tłuszczowych omega-3 (PUFA) oraz soli mineralnych uzasadniają poszukiwania nowych kierunków ich wykorzystywania.

Odpady z przetwórstwa łososi, szczególnie skóry mogą stanowić dobry surowiec do wytwarzania innowacyjnych produktów rynkowych o dużej wartości dodanej, takich jak np. farmaceutyczny olej rybny o specyficznych właściwościach, a także kolagen i żelatyna.

Celem badań była charakterystyka odpadowych skór z łososi oraz określenie możliwości ich wykorzystywania jako surowca do pozyskiwania oleju rybnego, przy jednoczesnym uniknięciu denaturacji białek kolagenowych.

Materiał i metody badań

Materiałem badawczym były skóry z łososi hodowlanych, powstające przy odskórzaniu filetów z przeznaczeniem na produkty konsumpcyjne. Próby do badań pochodziły z trzech zakładów przetwarzających łososię, zlokalizowanych w województwie pomorskim. Pobierane były w marcu, kwietniu, maju oraz październiku 2008 r. Skóry, surowe i wędzone, po podzieleniu na partie i oznakowaniu, przechowywano w stanie zamrożonym. Próby do poszczególnych oznaczeń pobierano sukcesywnie.

Próby technologiczne miały na celu określenie optymalnych warunków pozyskiwania oleju ze skór łososi, bez powodowania chemicznej lub termicznej denaturacji białek kolagenowych. W tym celu wstępną obróbkę surowca przeprowadzono w zachowawczych warunkach temperaturowych, tak aby temperatura surowca nie przekraczała 15 °C [3, 5, 6]. Dla porównania wykonywano próby na skórkach surowych i wędzonych.

Postępowanie technologiczne obejmowało:

1. Wstępne przygotowanie skór: mizdrowanie (oddzielanie podskórnej tkanki mięsno-tłuszczowej) oraz rozdrabnianie skór w wilku z sitem o średnicy otworów Ø3 mm.
2. Mechaniczne wydzielanie oleju przez prasowanie: rozdrobnione skóry prasowano w prasie tłokowej. Wydzieloną frakcję ciekłą oczyszczano poprzez wirowanie w wirówce laboratoryjnej, przy obrotach 6 tys./min w ciągu 10 min.
3. Bezpośrednie wydzielanie oleju przez wirowanie: rozdrobnione skóry wirowano w wirówce laboratoryjnej, przy obrotach 6 tys./min w ciągu 10 min. Dokonywano ilościowej oceny obu rozdzielonych frakcji (stałej i ciekłej).

W przygotowanych próbach skór łososiowych oznaczano podstawowy skład chemiczny: zawartość suchej masy (metodą wagową), zawartość białka (metodą Kjeldahla w aparacie Kjeltex System), ogólną zawartość tłuszczu (metodą Soxhleta) oraz zawartość związków mineralnych w postaci popiołu (metodą wagową po mineralizacji próbki). Do oznaczenia poszczególnych kwasów tłuszczowych zawartych w pozyskanym oleju rybnym zastosowano technikę chromatografii gazowej z wykorzystaniem detektora FID. Oznaczenie zawartości hydroksyproliny wykonano zgodnie z metodyką normy [2]. Wszystkie oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach.

Efektywność operacji wyłaczania oleju z odpadowych skór łososi badano przy zastosowaniu modelowej prasy tłokowej i maksymalnym ciśnienia 3,13 MPa. Prasowano skóry poddane mizdrowaniu, a następnie rozdrobnione w wilku.

Wyniki i dyskusja

Podstawowy skład chemiczny skór z łososi

Wyniki badań podstawowego składu chemicznego poszczególnych odpadowych skór z łososi, powstających w procesie przetwórstwa tych ryb, wykazały istotne zróżnicowanie (tab. 1). W przypadku łososi hodowlanych istotny wpływ na skład chemiczny tkanki miały pasze, którymi karmione były ryby. Istotne jest również czy skóry oddzielano z fileta surowego, czy wędzonego oraz grubość pozostawionej warstwy podskórnej tkanki mięsno-tłuszczowej. Skóry łososiowe wraz z podskórną tkanką mięsno-tłuszczową, ze względu na stwierdzoną w nich wysoką zawartość wielonienasyconych kwasów tłuszczowych omega-3, stają się interesującym surowcem do pozyskiwania z nich produktów o cechach żywności funkcjonalnej.

Tabela 1

Zawartość podstawowych składników chemicznych w poszczególnych rodzajach odpadów łososiowych.
Contents of basic chemical components in individual types of salmon wastes.

Składnik / Component [%]	A	B	C	D
Sucha masa / Dry weight	44,7 ± 3,3	68,0 ± 5,2	66,2 ± 4,7	62,2 ± 0,6
Woda / Water	55,4 ± 3,3	32,1 ± 5,3	33,9 ± 4,6	37,9 ± 0,6
Azot ogólny (N _t) / Total nitrogen	3,5 ± 0,1	3,5 ± 0,7	6,3 ± 0,4	2,5 ± 0,1
Białko ogólne (N _t × 6,25) / Total protein	21,9 ± 0,9	21,6 ± 4,9	39,1 ± 2,5	15,5 ± 0,3
Tłuszcz / Fat	23,6 ± 5,4	47,8 ± 1,6	24,6 ± 205	43,4 ± 1,2
Popiół / Ash	1,6 ± 0,4	4,8 ± 0,1	7,2 ± 0,1	4,1 ± 0,1

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Zakres wartości z trzech oddzielnych prób / Range of values from three separate samples.

A – skóry surowych łososi z podskórną tkanką mięsno-tłuszczową / raw salmon skins with subcutaneous meat and adipose tissue;

B – skóry wędzonych łososi z podskórną tkanką mięsno-tłuszczową / smoked salmon skins with subcutaneous meat and adipose tissue;

C – skóry wędzonych łososi po usunięciu podskórnej tkanki mięsno-tłuszczowej / smoked salmon skins after removing subcutaneous meat and adipose tissue;

D – podskórna tkanka mięsno-tłuszczowa usunięta ze skór z wędzonych łososi / subcutaneous meat and adipose tissue removed from smoked salmon skins.

Wytłaczanie oleju ze skór

Stwierdzono, że maksymalne ciśnienie, jakie można zastosować do wytłaczania oleju z rozdrobnionych skór uzyskiwanych po odkórzeniu wędzonych filetów z łososi wynosi 3,13 MPa. Wyższe ciśnienie powodowało destrukcję mechaniczną i plastyfikację skór, co uniemożliwiało oddzielanie oleju od części stałych. Wyniki prób efektywności pozyskiwania oleju z odpadowych skór łososi przedstawiono w tab. 2.

Tabela 2

Efektywność wytłaczania, przy ciśnieniu 3,13 MPa, oleju z surowych i wędzonych skór łososi w zależności od sposobu przygotowania skór do prasowania.

Oil pressing effectiveness at a pressure of 3.13 MPa from raw salmon skins and smoked salmon skins depending on the skin preparation method.

Wyniki prasowania Results of pressing	Rodzaj i sposób przygotowania skór / Type and method of preparing skins			
	Surowe pokrojone Raw chopped	Surowe zmielone Raw minced	Wędzone oczyszczone, zmielone Smoked, cleaned, minced	
Materiał do prasy: Material for the press:			(I)	(II)
- masa próby [%] weight of sample [%]	100	100	100	100
- zawartość tłuszczu [%] content of fat [%]	29	29	27	27
Wytłoki: / Press cake:				
- masa względna [%] relative weight [%]	75,2	56,9	74,0	71,3
- zawartość tłuszczu [%] content of fat [%]	17,2	20,7	10,85	9,8
Fracja ciekła: Liquid fraction:				
- masa względna [%] relative weight [%]	24,8	43,1	26,0	28,7
- zawartość tłuszczu [%] content of fat [%]	65,0	39,7	73,0	67,0
Stopień odzysku - tłuszczu [%] Fat recovery degree [%]	55,5	59,0	70,3	71,1

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Względne odchylenie standardowe z dwóch prób wynosi do 1% / Relative standard deviation for 2 samples is up to 1%.

Analiza wyników efektywności wydzielania oleju rybnego z odpadowych skór łososi (tab. 2) wykazała, że ze zmielonych, wędzonych skór poddanych mizdrowaniu można pozyskać o około 10 % więcej oleju niż ze skór surowych poddanych identycznej obróbce wstępnej. Znaczący wpływ na większy odzysk oleju, w przypadku skór z wędzonych łososi, mógł mieć proces wędzenia oraz poprzedzające go solenie ryby.

Przy przetwarzaniu wytlóków skór łososi na kolagen lub żelatynę pozostały w nich tłuszcz (tab. 3) musiałby być usuwany innymi metodami niż prasowanie. Możliwą do wykorzystania metodą jest ługowanie wytlóków wodą, a następnie ich prasowanie lub odwirowywanie. Wstępne próby wykazały, że tym sposobem można w surowcu do przetwarzania na kolagen lub żelatynę zmniejszyć zawartość tłuszczu, w przeliczeniu na suchą masę, z ok. 17 do 4,9 %.

Tabela 3

Zawartość podstawowych składników chemicznych w wytlókach.
Content of basic chemical components in press cake.

Składnik / Component [%]	A	B
Sucha masa Dry weight	63,8 ± 0,2	29,4 ± 0,1
Woda Water	36,2 ± 0,2	70,6 ± 0,2
Białko ogólne Total protein	46,8 ± 0,1	25,6 ± 0,1
Azot ogólny Total nitrogen	4,8 ± 0,1	4,1 ± 0,1
Tłuszcz / Fat		
a) w mokrej masie / in wet weight	10,9 ± 0,3	1,4 ± 0,1
b) w suchej masie / in dry weight	17,0 ± 0,4	4,9 ± 0,3

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Zakres wartości z trzech oddzielnych prób / Range of values from three separate samples

A – skóry z wędzonych łososi po prasowaniu / smoked salmon skins after pressing;

B – rozdrobnione skóry z wędzonych łososi po ekstrakcji i prasowaniu / shredded smoked salmon skins after extraction and pressing.

Zawartość białek kolagenowym w odpadowych skórkach z łososi określano na podstawie oznaczania w nich ilości hydroksyprowliny. Stwierdzono istotną różnicę między zawartością hydroksyprowliny w skórkach z podskórną tkanką mięsno-tłuszczową (0,68 %) i w skórkach po odseparowaniu tej tkanki (1,21 %). W przypadku skór z tkanką podskórną koncentracja hydroksyprowliny, z uwagi na występowanie tkanki mięsno-tłuszczowej, była znacznie mniejsza niż w przypadku skór mizdrowanych. Wynika to z faktu, że im większa jest zawartość oleju rybnego, tym zawartość hydroksyprowliny

w skórkach jest mniejsza. W przypadku wytlóków uzyskanych po ich ekstrakcji wodą i odprasowaniu, zawartość hydroksyproliny zmalała istotnie z 2,62 % do 1,34 %, w wyniku uwodnienia wytlóków.

Zawartości hydroksyproliny w przeliczeniu na białka kolagenowe w poszczególnych rodzajach skórk łososiowych przedstawiono w tab. 4.

Tabela 4

Zawartość hydroksyproliny w skórkach łososiowych oraz w wytlókach i jej przeliczenie na białka kolagenowe.

Content of hydroxyproline in salmon skins and in press cake and its conversion into collagen protein.

Składnik Component [%]	A*	B*	C*	D*	E*	F*
Hydroksyprolina Hydroxyproline	1,21 ± 0,01	1,63 ± 0,04	0,68 ± 0,02	2,43 ± 0,01	2,62 ± 0,01	1,34 ± 0,01
Białka kolagenowe Collagenous protein	17,8 ± 0,01	24,0 ± 0,04	10,0 ± 0,02	35,7 ± 0,01	38,5 ± 0,01	19,7 ± 0,01

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Zakres wartości z dwóch oddzielnych prób / Range of values from three separate samples

*14,7 – współczynnik przeliczeniowy na białka kolagenowe / conversion factor into collagenous protein [4]

A – skórk z surowych łososi z podskórną tkanką mięsno-tłuszczową / raw salmon skins with subcutaneous meat and adipose tissue;

B – skórk z surowych łososi po usunięciu podskórnej tkanki mięsno-tłuszczowej / raw salmon skins after removing subcutaneous meat and adipose tissue;

C – skórk z wędzonych łososi z podskórną tkanką mięsno-tłuszczową / smoked salmon skins with subcutaneous meat and adipose tissue;

D – skórk z wędzonych łososi po usunięciu podskórnej tkanki mięsno-tłuszczowej / smoked salmon skins after removing subcutaneous meat and adipose tissue;

E – rozdrobnione skórk z wędzonych łososi po prasowaniu shredded smoked salmon skins after pressing;

F – rozdrobnione skórk z wędzonych łososi po ekstrakcji i prasowaniu / shredded smoked salmon skins after extraction and pressing.

Skład kwasowy olejów z odpadowych skórk z łososi

W olejach wydzielonych ze skórk wędzonych filetów łososi oraz z oddzielonej od skórk tkanki mięsno-tłuszczowej określono zawartość kwasów tłuszczowych.

W tab. 5. przedstawiono zawartość głównych grup kwasów tłuszczowych w olejach uzyskanych ze skórk łososi pochodzących z akwakultury oraz, dla porównania, w tłuszczu mięsa dzikich łososi atlantyckich, oznaczonych przez Westre i wsp. [7].

Tabela 5

Zawartość głównych grup kwasów tłuszczowych w olejach rybnych uzyskanych ze skór łososi hodowlanych oraz w oleju z mięsa dzikiego łososa atlantyckiego.

Content of major fatty acids groups in fish oils obtained from the skins of farmed salmons and in the oil from meat of wild Atlantic salmons.

Rodzaj kwasów tłuszczowych Type of fatty acids [%]	Olej ze skór z wędzonych łososi Oil from smoked salmon skins	Olej z tkanki podskórnej łososi oddzielonej od skór Oil from the subcutaneous tissue separated from salmon skins	Olej z mięsa łososa dzikiego atlantyckiego* Oil from wild Atlantic salmon meat
SFA	16,4	16,1	22,5
MUFA	38,0	38,4	50,3
PUFA	45,5	45,4	25,2
n-3	30,6	30,6	20,4
n-6	12,8	12,8	5,2
n-6/n-3	0,4	0,4	0,25
EPA+DHA	11,8	12,4	14,6
EPA	2,6	2,4	5,6
DHA	9,2	10,0	9,0
DPA	3,7	3,7	2,1
ALA	13,1	13,0	0,9

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Powtarzalność metody wyrażona, jako względne odchylenie standardowe średniej z 10 pomiarów jednej próbki wynosi do 0,5 % / Repeatability of the method expressed as a relative standard deviation for 10 measurements of one sample is up to 0.5%.

SFA – nasycone kwasy tłuszczowe; MUFA – jednonasycone kwasy tłuszczowe; PUFA – wielonienasycone kwasy tłuszczowe; EPA – kwas ikozapentaenowy / icosapentaenoic acid; DHA – kwas dokozaheksaenowy / docosahexaenoic acid; DPA – kwas dokozapentaenowy / docosapentaenoic acid; ALA – kwas α -linolenowy / α -linoleic acid.

* Źródło / Source [7]

Skład kwasowy tłuszczu zawartego w skórkach oraz w ciemnych mięśniach podskórnych był zbliżony. Łączny PUFA w składzie kwasowym tłuszczu przekracza 45 %; w tym kwasy n-3 PUFA stanowią 30 %. Porównanie składu kwasowego tłuszczu uzyskanego ze skór łososi pochodzących z akwakultury, ze składem kwasowym tłuszczu dzikiego łososa atlantyckiego wskazuje, że różnią się one znacząco. W tłuszczu łososi hodowlanych więcej jest kwasów tłuszczowych C18, jedno- i wielonienasyconych, szczególnie kwasu C18:3, n-3 (α -linolenowego, ALA).

Podsumowanie

Przeprowadzone próby wykorzystywania odpadowych skór z łososi wykazały, że możliwą do praktycznego stosowania metodą odzysku z nich oleju rybnego, z jednoczesnym zachowaniem właściwości białek kolagenowych, jest prasowanie. W celu zwiększenia stopnia odzysku oleju ze skór metodą prasowania korzystne jest mechaniczne oczyszczenie ich z pozostałości podskórnej tkanki mięsno-tłuszczowej. Z tak przygotowanych skór łososi metodą tłoczenia przy ciśnieniu około 3 MPa można wydzielić do 90 % oleju rybnego zawartego w odpadowych skórkach, uzyskując z 1 kg skór z wędzonych łososi około 340 g oleju. Wytłoki skór stanowią około 30 % pierwotnej masy odpadów skórnych, a zawartość w nich tłuszczu wynosi jeszcze około 10 %. W przypadku wykorzystywania takich wytłoków skór jako surowca do wytwarzania rybnego kolagenu lub żelatyny tłuszcz ten musiałby być usuwany innymi metodami niż wytlaczanie.

Literatura

- [1] Hryszko K., Seremak-Bulge J., Kuzebski E., Pieńkowska B., Rakowski M., Szostak S., Drożdż J.: Rynek ryb. Stan i perspektywy. Wyd. IERiGŻ-PIB, **13**, 28-30.
- [2] PN-ISO 3496: 2000. Zawartość hydroksyproliny, metoda spektrofotometryczna.
- [3] Reich G.: Kolagen. Zarys metod, wyniki i kierunki badań. WNT, Warszawa 1966.
- [4] Rogacka G.: Właściwości chemiczne kolagenu skór dorsza. Praca magisterska wykonana pod kierunkiem M. Sadowskiej, Politechnika Gdańska, Niepublikowana, Gdańsk 2000.
- [5] Skierka E., Sadowska M., Karwowska A.: The influence of different acids and pepsin on the extractability of collagen from the skin of Baltic cod. *Food Chem.*, 2007, **105**, 1302-1306.
- [6] Tylingo R.: Modyfikowanie kolagenu skór dorsza bałtyckiego poprzez tworzenie kompleksów z κ -karagenem i sieciowanie a funkcjonalne właściwości błon. Rozprawa doktorska wykonana w Katedrze Chemii, Technologii i Biotechnologii Żywności, pod kierunkiem M. Sadowskiej, Politechnika Gdańska, Gdańsk 2006.
- [7] Westre K., Holst J., Rimestad A. H., Paulsen D., Lie O.: Facts about fish. Norwegian Seafood Export Council. Seafood from Norway.

ASSESSMENT OF TECHNOLOGICAL USABILITY OF SALMON WASTE SKINS AS SOURCE OF FISH OIL OBTAINED USING PRESSING METHOD

S u m m a r y

Fat contained in the salmon skins is valuable natural fish oil. It is rich in n-3 polyunsaturated fatty acids and the protein substances contained therein consist mainly of collagenous protein. Therefore, the salmon skins are a good source for producing fish oil and for manufacturing collagen and gelatine. A condition for using salmon skins in order to manufacture collagen or gelatine is to remove its fat causing thermal or chemical denaturation of collagenous proteins. This is possible provided physical methods are used.

It was found that the simplest and most effective method of releasing oil from salmon skins is pressing. It was shown that the application of ca. 3 MPa pressure makes it possible to release up to 90% of the fish oil contained in salmon skins. The content of residual fat in salmon press cake is still around 10%. If the press cake is intended for use as a raw material for producing fish collagen or gelatine, then, the fat therein should be removed using other methods.

Key words: salmon skins, fish oil, pressing method ☒

AGATA KAPTUROWSKA, IZABELA STOLARZEWICZ,
IZABELA CHMIELEWSKA, EWA BIAŁECKA-FLORJAŃCZYK

ULTRADŹWIĘKI – NARZĘDZIE DO INAKTYWACJI KOMÓREK DROŻDŻY ORAZ IZOLACJI BIAŁEK WEWNĄTRZKOMÓRKOWYCH

Streszczenie

Techniki ultradźwiękowe są od dawna stosowane w przemyśle spożywczym, przede wszystkim w procesach przetwarzania i utrwalania żywności. Celem pracy była ocena sonifikacji jako alternatywnej metody inaktywacji komórek drożdży. Dodatkowo rozważono zastosowanie sonifikacji do pozyskiwania roztworu białek wewnątrzkomórkowych. Komórki szczepu drożdży *Saccharomyces cerevisiae* 2200 oraz komórki świeżych drożdży piekarskich poddawano sonifikacji w głowicowym homogenizatorze ultradźwiękowym o częstotliwości 20 kHz. Zaobserwowano istotny wpływ czasu, cyklu pracy oraz mocy fali akustycznej na inaktywację komórek oraz stopień izolacji białek, które wydzielono z wydajnością 60 % ze szczepu drożdży *S. cerevisiae* 2200 i 43 % ze świeżych drożdży piekarskich. Dezintegracja struktury komórkowej drożdży za pomocą ultradźwięków może być dobrą laboratoryjną metodą permeabilizacji ściany komórkowej oraz izolacji białek. Liczba żywych komórek po procesie sonifikacji zmniejszyła się 100 do 1000-krotnie w porównaniu z początkową liczbą jtk/cm³, przy czym efekt ten może zostać zwielokrotniony przez połączenie działania ultradźwięków z czynnikiem termicznym.

Słowa kluczowe: niszczenie komórek, drożdże piekarskie, sonifikacja, ultradźwięki

Wprowadzenie

Techniki ultradźwiękowe są od dawna stosowane w przemyśle spożywczym zarówno w analizie żywności, jak i w procesach jej przetwarzania i utrwalania. Można się także nimi posłużyć w celu zwiększenia poziomu bezpieczeństwa produktów spożywczych [4, 5, 11].

W technologii żywności wykorzystuje się przede wszystkim zdolność fal ultradźwiękowych o dużej mocy i małej częstotliwości (20 - 100 kHz) do wywoływania

Mgr inż. A. Kapturowska, dr inż. I. Stolarzewicz, dr hab. inż. E. Białecką-Florjańczyk, prof. SGGW, Katedra Chemii, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa, mgr inż. I. Chmielewska, Międzywydziałowe Studium Biotechnologii, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

efektu kawitacji, który wpływa na fizykochemiczne oraz biochemiczne właściwości materiału, a w szczególności na dezintegrację struktur komórkowych. Niszczenie ścian i błon komórkowych przyczynia się do inaktywacji mikroorganizmów, ale jest także podstawą do łatwiejszego uwalniania zawartości komórki do środowiska i w ten sposób staje się ważnym etapem w procesie otrzymywania polisacharydów czy wewnątrzkomórkowych białek, w tym enzymów [3, 5, 6, 10].

Zjawisko kawitacji jest wynikiem implozji pęcherzyków gazu spowodowanej gwałtownymi zmianami ciśnienia (do 50 MPa) oraz temperatury (nawet do 5500 °C) [6, 12]. Siły mechaniczne, tworzące się wówczas w miejscu zderzenia pęcherzyków kawitacyjnych, oraz fala generowana po ich implozji są głównymi czynnikami odpowiedzialnymi za uszkodzenie komórek. Ultradźwięki mogą nieodwracalnie uszkadzać błonę komórkową. Taki proces nazywa się letalną sonoporacją (ang. *lethal sonoporation*) lub powodować odwracalne powstawanie porów w strukturze błony – taki proces nazywa się odwracalną sonoporacją (ang. *reparable sonoporation*). Proces ten jest wynikiem tzw. stresu ścinającego (ang. *shear stress*) wywołanego drganiami rezonansowymi powodującymi powstawanie w środowisku lokalnych mikroprzepływów o gwałtownie zmieniających się prędkościach. To z kolei przyczynia się do powstania wokół pęcherzyków dużych naprężeń ścinających, które oddziałują na materiał biologiczny i mogą powodować sonoporację [19, 20]. Efekt ten potęgowany jest dodatkowo przez substancje o charakterze rodników, tworzące się w wyniku termicznego rozkładu rozpuszczalnika i cząsteczek zawartych w zderzających się pęcherzykach [3]. Według Oyane i wsp. [15] niszczenie ściany komórkowej *S. cerevisiae* jest wynikiem działania formujących się w czasie sonolizy wody, rodników nadtlenkowych lub hydroksylowych. W procesie sonifikacji obserwowano obniżenie liczby komórek drożdży, pleśni, alg oraz bakterii m.in. *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolytica*, *Pseudomonas fluorescens* czy *Bacillus subtilis* [6, 9, 16]. Najtrudniej inaktywacji ulegają spory, najłatwiej komórki bakterii, a pośrednią odporność wykazują drożdże [3, 8]. Jednak o inaktywacji tych ostatnich organizmów przez fale ultradźwiękowe wiadomo niewiele [7, 10, 15].

Celem pracy było określenie przydatności sonifikacji, jako alternatywy w stosunku do innych powszechnie stosowanych metod, do dezaktywacji komórek drożdży. Badania przeprowadzono na świeżych komórkach prasowanych drożdży piekarskich oraz na komórkach szczepu laboratoryjnego *Saccharomyces cerevisiae* 2200. Ponadto w pracy zbadano możliwość zastosowania ultradźwięków w procesie dezintegracji komórek tych mikroorganizmów m.in. w celu pozyskiwania białek wewnątrzkomórkowych, a w szczególności enzymów, mogących znaleźć zastosowanie jako katalizatory reakcji chemicznych wykorzystywanych w biotechnologii i technologii żywności.

Material i metody badań

Badania prowadzono z użyciem prasowanych drożdży piekarskich *Saccharomyces cerevisiae* produkowanych przez firmę Lallemand (Józefów, Polska) oraz szczepu laboratoryjnego *Saccharomyces cerevisiae* 2200 należącego do Kolekcji Czystych Kultur Zakładu Mikrobiologii i Biotechnologii Żywności Wydziału Nauk o Żywności SGGW w Warszawie. Materiał mikrobiologiczny przechowywano w warunkach chłodniczych w temp. 4 °C, szczep laboratoryjny przechowywano na skosach YPD (2 % glukozy, 2 % peptonu, 1 % ekstraktu drożdżowego) z dodatkiem 2 % agaru. Szczep laboratoryjny *Saccharomyces cerevisiae* namnażano, prowadząc 24-godzinną hodowlę stacjonarną w bioreaktorze BioFlo 3000 przez 24 h w temp. 28 °C na podłożu melasowym (6 °Błg, pH 7) w objętości roboczej 4 dm³; drożdże prasowane zgodnie z deklaracją producenta były również namnażane na podłożu melasowym.

Dezintegrację komórek drożdży prowadzono za pomocą homogenizatora ultradźwiękowego (sonifikatora głowicowego) OmniRuptor4000 (Kennesaw, USA) o częstotliwości 20 kHz i maksymalnej mocy 300 W. Stosowany cykl pracy (ang. *duty cycle*, wyznaczający sposób pulsacji) wynosił 60 i 90 %; fale ultradźwiękowe transmitowane do roztworu w trybie jeden impuls na sekundę, np. 60 % oznacza, że aktywny przedział czasu wynosił 0,6 s.

Jednorazowo poddawano działaniu ultradźwięków 4 g biomasy drożdży prasowanych lub 4 g odwirowanej biomasy szczepu laboratoryjnego drożdży *S. cerevisiae*, zawieszonych w 40 cm³ roztworu soli o pH 6,3 (MgCl₂, KH₂PO₄) w ciągu 5, 15 oraz 30 min. W trakcie sonifikacji próbkę chłodzono. Po przeprowadzonej dezintegracji komórki drożdży wirowano w wirówce szybkoobrotowej (20 °C, 10 min, 10000 rpm). Stężenie białek w supernatancie po procesie sonifikacji oznaczano metodą Lowry'ego, zaś zawartość białka w komórkach drożdży metodą Kjeldahla [18]. Liczbę komórek drożdży szczepu *S. cerevisiae* 2200 oznaczano metodą płytkową wgłębną po 72 h hodowli w temp. 28 °C, stosując stałe podłoże Sabourauda z dodatkiem chloramfenikolu. Suchą masę drożdży oznaczano metodą termogravimetryczną jako średnią z 3 powtórzeń.

Wyniki analizowano metodami statystycznymi za pomocą oprogramowania Statgraphics Plus for Windows 4.1©Statistical Graphics Corp. W celu weryfikacji hipotezy statystycznej o równości średnich obiektowych przeprowadzono jednoczynnikową oraz wieloczynnikową analizę wariancji. Do porównania średnich i wyodrębnienia grup jednorodnych stosowano test Tukey'a. Analizy prowadzono na poziomie istotności $\alpha = 0,05$.

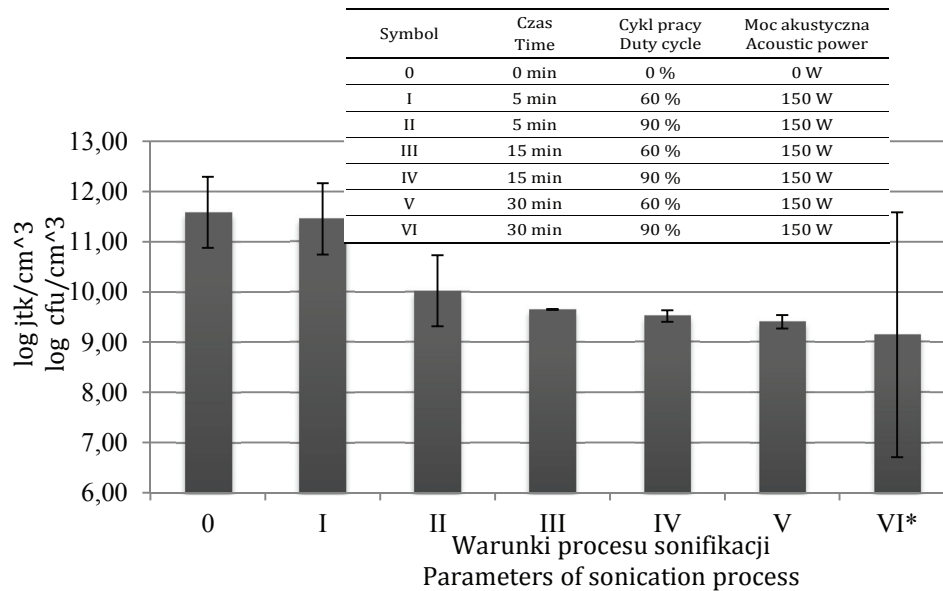
Wyniki i dyskusja

Wpływ ultradźwięków na liczbę komórek drożdży poddawanych sonifikacji

Udowodniono, że ultradźwięki przy cyklu pracy homogenizatora 60 lub 90 % powodowały częściową inaktywację komórek drożdży *Saccharomyces cerevisiae* szczepu 2200. Na przeżywalność komórek miał wpływ zarówno cykl pracy, jak i czas trwania procesu (rys. 1). Najniższe z zastosowanych parametrów sonifikacji (5 min, 60 %) były nieskuteczne w inaktywacji komórek drożdży. Zwiększenie cyklu pracy homogenizatora do 90 % w tym samym czasie powodowało obniżenie liczby komórek szczepu *S. cerevisiae* 2200 tylko o jeden cykl logarytmiczny, to jest średnio o 97,3 % (z $3,86 \times 10^{11}$ jtk/cm³ do $1,05 \times 10^{10}$ jtk/cm³) w stosunku do ich początkowej liczby. Natomiast wydłużenie czasu ekspozycji komórek na działanie fal do 15 i 30 min przy cyklu pracy 90 % poprawiło efektywność sonifikacji i pozwoliło na obniżenie ich liczby średnio z $3,86 \times 10^{11}$ jtk/cm³ do $4,47 \times 10^9 - 2,55 \times 10^9$ jtk/cm³ (tzn. o około 99 %), czyli o dwa cykle logarytmiczne.

W czasie sonifikacji uwalniana jest energia cieplna, powodująca wzrost temperatury zawiesiny komórek drożdży nawet powyżej 50 °C. Może to zaburzać ocenę efektywności sonifikacji, ponieważ temperatura stanowi dodatkowy czynnik inaktywujący drobnoustroje, czego przykładem są wyniki procesu prowadzonego w ciągu 30 min przy cyklu pracy sonifikatora 90 % charakteryzujące się dużym odchyleniem standardowym. Wynika to z trudności w utrzymaniu temperatury procesu, w stosowanym modelu aparatu, poniżej 45 °C, a więc poniżej temperatury uznawanej za letalną dla drożdży. Guerrero i wsp. [4], którzy badali wpływ temperatury na inaktywację drożdży *S. cerevisiae* (zastosowana początkowa liczba komórek 10^8 jtk/cm³) zaobserwowali w tej właśnie temperaturze znaczny spadek liczby żywych komórek drożdży w porównaniu z liczbą komórek pozostałą po procesie sonifikacji przeprowadzonym w temp. 35 °C. Spadek ten jest tym większy im wyższa jest temperatura zawiesiny komórek. Można zatem stwierdzić, że im wyższa temperatura procesu sonifikacji tym efekt działania ultradźwięków jest przez nią bardziej maskowany.

Z doniesień literaturowych wynika, że ważnym czynnikiem wpływającym na przeżywalność komórek *S. cerevisiae*, obok częstotliwości fali akustycznej, jest moc sonifikatora zastosowana w procesie dezintegracji. Ciccolini i wsp. [7] stwierdzili, że optymalną mocą aparatu przy częstotliwości fali 20 kHz jest 100 W. Wartość ta pozwoliła na 6-krotne zmniejszenie liczby komórek po 10 min ekspozycji. W przypadku zmniejszonej mocy (50 W) nie dochodziło do wywołania efektu kawitacji, natomiast wartość większa (180 W) czyniła proces sonifikacji bardzo mało wydajnym. Dlatego w przedstawionych badaniach zastosowano moc 150 W, która zapewniła kawitację oraz pozwoliła uniknąć nadmiernego wzrostu temperatury biomasy drożdży zawieszanej w buforze, obserwowanego przy wyższych wartościach.



Rys. 1. Wpływ warunków procesu sonifikacji na inaktywację komórek drożdży szczepu *Saccharomyces cerevisiae* 2200 (III – odchylenie standardowe na tyle niskie, że słupek błędu jest niewidoczny przy wybranej skali rysunku; *VI – duże odchylenie standardowe z przyczyn opisanych w tekście).

Fig. 1. Effect of sonication process conditions on inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* 2200 yeast cells (III – standard deviation is so low that the column with error is invisible at the selected scale of the Figure; *VI – high standard deviation because of the facts as described in the text).

Na omawiany efekt działania ultradźwięków duży wpływ wywiera także początkowa liczba komórek drożdży użytych do eksperymentu. I tak przy początkowej liczbie komórek *S. cerevisiae* 10^2 jtk/cm³ i częstotliwości fali 27,5 kHz, Tsukamoto i wsp. [10] uzyskali prawie 100-krotnie mniej żywych komórek drożdży, zaś przy liczbie 10^5 jtk/cm³ spadek ten był zaledwie 5-krotny. Oyane i wsp. [15], prowadząc podobne doświadczenia, poddawali działaniu ultradźwięków o częstotliwości 20 kHz zawiesinę komórek drożdży *S. cerevisiae* o początkowej liczbie 10^6 jtk/cm³. W ten sposób zredukowano 10-krotnie liczbę komórek drożdży w ciągu 30 min procesu przy zastosowaniu mocy na poziomie 200 W. Redukcję 1000-krotna liczby komórek tych mikroorganizmów osiągnięto dopiero po 90 min. W związku z tym autorzy uznali, że uszkodzenie ściany komórkowej drożdży oraz hamowanie syntezy RNA zachodzi już w pierwszych 18 min procesu, ale efekt ten jest trudny do zaobserwowania metodą płytkową, gdyż komórki potrafią regenerować się w ciągu 6 - 8 h od momentu ekspozycji na działanie fal ultradźwiękowych, co potwierdzono metodą cytometrii przepływowej wykorzystującej efekt wzrastającej fluorescencji podczas inkubacji komórek drożdży.

Natomiast w przypadku niniejszej pracy wyniki uzyskane podczas inaktywacji komórek drożdży piekarskich w ciągu 5 min pozwalają wnioskować o nieskuteczności procesu. Prawdopodobnie jest to spowodowane możliwością szybkiej regeneracji ściany komórkowej. Jej miejscową permeabilizację potwierdza pojawianie się białka w buforze, w którym zawieszono komórki drobnoustrojów (tab. 1). Ponadto pomimo, że kawitacja pozwala osiągnąć wysoki poziom dyspersji komórek drożdży w cieczy podczas homogenizacji za pomocą ultradźwięków, to jednak komórki drobnoustrojów wykazują tendencję do gromadzenia się w miejscach, gdzie efekt kawitacji nie zachodzi ze względu na powstającą falę stojącą, co może znacznie osłabiać inaktywację mikroorganizmów [10].

Choć uzyskane wyniki redukcji początkowej liczby komórek są obiecujące, to lepsze efekty inaktywacji wegetatywnych form mikroorganizmów w materiałach ciekłych można osiągnąć dopiero przy jednoczesnym poddaniu komórek działaniu innych czynników, takich jak temperatura lub ciśnienie. W związku z tym stale prowadzone są badania, których celem jest opracowanie nowych rozwiązań technologicznych [2, 7, 10, 14, 16] oraz obniżenie kosztów procesu [19].

Tabela 1

Ilość uwolnionego białka w procesie sonifikacji komórek drożdży szczepu *Saccharomyces cerevisiae* 2200, w ciągu 5 min przy cyklu pracy homogenizatora 90 %, determinowana początkową ich liczbą. Protein amounts released within the sonication process of yeast cells of *Saccharomyces cerevisiae* 2200 strain, during 5 min at a homogenizer's duty cycle of 90 %, determined by the initial number of those cells.

Liczba komórek drożdży [jtk/cm ³] Number of yeast cells [cfu/cm ³]	Ilość uwolnionego białka [mg/g s.s.] Protein released [mg/g d.m.]
$7,00 \times 10^{10}$	237 ± 19
$7,00 \times 10^9$	113 ± 34
$7,00 \times 10^8$	< 1
$7,00 \times 10^7$	< 1

Sonifikacja jako metoda izolacji białek wewnątrzkomórkowych

Z danych literaturowych wynika, że sonifikacja jest także dobrą metodą wydzielania enzymów i innych białek z komórek drobnoustrojów [12]. Do istotnych czynników wpływających na stopień dezintegracji komórek za pomocą fal ultradźwiękowych (oprócz takich parametrów, jak częstotliwość i moc fali akustycznej oraz czas jej działania) należą także objętość zawiesiny komórek poddawanych sonifikacji oraz ich liczba, kształt i rozmiar [1, 4]. Według Borthwick i wsp. [2] w tradycyjnych homogenizatorach ultradźwiękowych pracujących przy częstotliwości

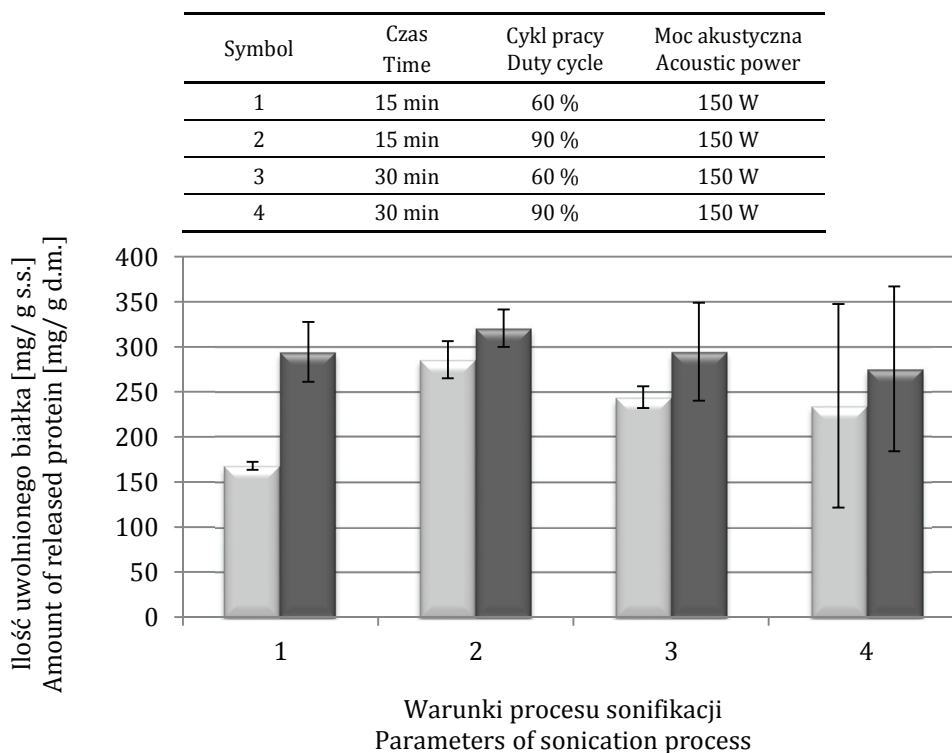
około 20 kHz optymalna objętość mieszaniny poddawanej sonifikacji wynosi 40 cm^3 , gdyż przy mniejszych objętościach formuje się warstwa aerozolu. Powstająca wówczas piana może wpływać na nadmierne natlenienie roztworu, mogące prowadzić do denaturacji białek znajdujących się w medium [17]. Obserwacje poczynione w trakcie badań własnych potwierdzają powyższe stwierdzenia.

W celu optymalizacji procesu pozyskiwania białek wewnątrzkomórkowych za pomocą homogenizatora OmniRuptor4000 określono wpływ początkowej liczby komórek drożdży szczepu *Saccharomyces cerevisiae* 2200 na ilość uwolnionego białka. Z uzyskanych wyników można wnioskować, że liczba komórek zdecydowanie wpływa na ilość uwolnionych białek w roztworze powstałym w wyniku procesu dezintegracji. Największą ilość uwolnionego białka ($237 \text{ mg/g s.s. drożdży}$) uzyskano przy parametrach: 5 min, 90 % cyklu pracy i moc 150 W, przygotowując 10-krotne rozcieńczenie zawiesiny komórek w buforze fosforanowym o początkowej liczbie rzędu 10^{11} jtk/g . Zastosowanie dziesięciokrotnie mniejszej ilości biomasy w jednostce objętości buforu powodowało spadek ilości uwalnianego białka (średnio $113 \text{ mg/g s.s. drożdży}$), ale w przeliczeniu na 1 g suchej substancji drożdży był to jedynie 2-krotny spadek ilości białka w roztworze (tab. 1). Iida i wsp. [8] informują z kolei, że w zakresie stężeń biomasy prasowanych drożdży piekarskich (Oriental Yeast, Japan) od $0,1 \text{ g/30 cm}^3$ do 1 g/30 cm^3 poddawanych działaniu fal ultradźwiękowych o częstotliwości 20 kHz w sonifikatorze głowicowym przez 5 min i mocy 100 W nie zaobserwowano zmian ilości białek uwalnianych do roztworu (średnio 50 mg/g biomasy), ale przy zawartości 10 g biomasy/ 30 cm^3 ilość uzyskiwanego białka zmniejszała się. Podobną ilość biomasy komórek drożdży *S. cerevisiae* stosowali Apar i Özbek [1], którzy stwierdzili, że w przedziale 30 - 150 g biomasy/ dm^3 przy parametrach: 15 min, 50 % cykl pracy i moc 60 W, ilość uwalnianego białka w czasie sonifikacji nie zależy od masy drożdży. Zastosowane w pracy ilości biomasy komórek drożdży wynosiły od 0,1 do 100 g/dm^3 , zatem były mniejsze od użytych przez wyżej cytowanych autorów. Dlatego można przyjąć, że w przypadku tych parametrów procesu (czyli określonej ilości energii) istnieje optymalna ilość biomasy, dla której proces wydzielania białka można przeprowadzić z największą wydajnością.

Na rys. 2. przedstawiono wpływ parametrów procesu sonifikacji na ilość uwalnianego białka z komórek drożdży szczepu *Saccharomyces cerevisiae* 2200 hodowanych na podłożu melasowym oraz z komórek świeżych drożdży prasowanych *S. cerevisiae* (stężenie biomasy w badanych roztworach wynosiło 100 g/dm^3). Analiza statystyczna wyników wykazała istotny wpływ parametru czasu (p-value = 0,0371) i rodzaju materiału biologicznego (p-value = 0) użytego do procesu oraz istnienie korelacji pomiędzy wymienionymi czynnikami a cyklem pracy homogenizatora (p-value odpowiednio 0,0013 i 0,0421). Zarówno w przypadku prasowanych drożdży piekarskich, jak i szczepu laboratoryjnego *S. cerevisiae* 2200 istotnie większą wydajność

procesu uzyskiwano w ciągu 15 min i przy 90 % cyklu roboczym ($NIR^T = 28,9$). Roztwór pochodzący z sonifikacji prasowanych drożdży piekarskich zawierał mniej białek (średnio 285,6 mg/g s.s.) aniżeli drożdży hodowanych na podłożu melasowym (średnio 320,6 mg/g s.s., $NIR^T = 63,1$) (rys. 2). Różnice wynikające z rodzaju zastosowanego materiału biologicznego mogą wynikać z większej podatności komórek szczepu *S. cerevisiae* 2200 na nieodwracalną sonoporację. Podobnie, jak w przypadku wpływu parametrów procesu na inaktywację czyli na liczbę jtk po procesie sonifikacji trwającym 30 min przy cyklu roboczym 90 %, ilość uwolnionego białka w ostatnim z analizowanych wariantów doświadczenia cechuje się wysokimi wartościami odchylenia standardowego (rys. 2).

- Świeże drożdże piekarskie / Raw baker's yeast
- Laboratoryjne drożdże hodowlane / Yeast cultured in laboratory



Rys. 2. Wpływ warunków procesu sonifikacji na ilość uwolnionego białka z komórek drożdży szczepu *Saccharomyces cerevisiae* 2200 hodowanych na podłożu melasowym oraz komórek świeżych drożdży prasowanych *S. cerevisiae*.

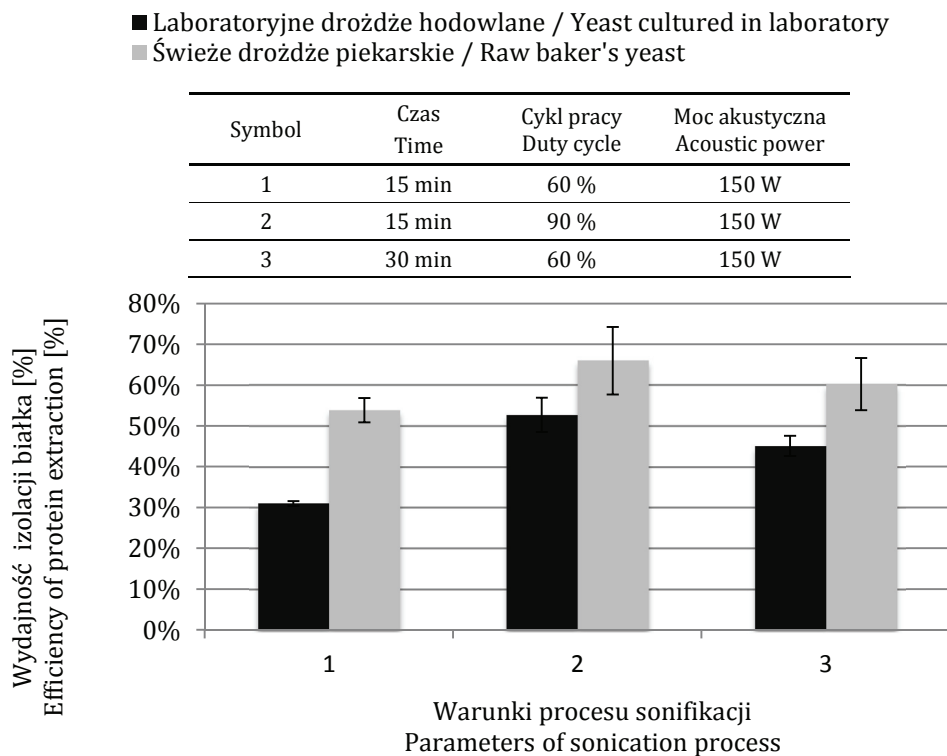
Fig. 2. Effect of sonication process conditions on the amount of protein released from yeast cells of *Saccharomyces cerevisiae* 2200 strain cultured on molasses medium and from pressed raw *S. cerevisiae*.

Oprócz takich czynników, jak: początkowa liczba komórek, temperatura procesu, rodzaj materiału biologicznego, istotny wpływ na wydajność izolacji białek podczas procesu sonifikacji ma typ zastosowanego aparatu emitującego fale ultradźwiękowe oraz jego moc. Ilość uwalnianego białka przez drożdże wzrasta liniowo w zakresie mocy homogenizatora głowicowego od 10 do 60 W przy stężeniu biomasy 0,1 g/30 cm³. Stosowanie mocy powyżej 180 W w badanym typie sonifikatora skutkuje denaturacją białka. Natomiast moc akustyczna 140 W poprawia wydajność procesu izolacji białek, ale czyni go nieekonomicznym z punktu widzenia ilości białka w odniesieniu do kJ zużytej energii. Jeśli chodzi o typ źródła fal ultradźwiękowych lepsze efekty zarówno w inaktywacji, jak i w uwalnianiu białek można uzyskać stosując aparat głowicowy o częstotliwości fali 20 kHz aniżeli myjkę ultradźwiękową emitującą fale o częstotliwości 130 kHz oraz poprzez połączone działania sonifikacji i homogenizacji mechanicznej, która prowadzi do delokalizacji aktywnych pęcherzyków [8].

W konsekwencji różnic ilości uwalnianych białek po sonifikacji można stwierdzić, że rodzaj materiału biologicznego w istotny sposób wpływa na wydajność procesu sonifikacji mierzoną procentowym udziałem ilości uwolnionego białka w stosunku do całkowitej zawartości białka w komórce (rys. 3). Niezależnie od zastosowanych parametrów doświadczenia wyższą wydajność osiągnięto w przypadku szczepu *Saccharomyces cerevisiae* 2200 – średnio 60 %, zaś w przypadku komórek prasowanych drożdży piekarskich jedynie 43 % ($NIR^T = 0,17$).

Izolacja białek za pomocą ultradźwięków (ang. UAE – *ultrasound assisted extraction*) była wykorzystywana jak dotąd jedynie w małej skali pilotażowej do izolacji białek sojowych, umożliwiając oszczędność około 70 % energii w porównaniu z metodami tradycyjnymi [20]. Jednocześnie na podstawie badań własnych można stwierdzić, że dezintegracja komórek drożdży za pomocą homogenizatora ultradźwiękowego stwarza możliwość otrzymywania enzymów oraz innych białek w warunkach laboratoryjnych. W zależności od zastosowanych parametrów czasu, mocy, cyklu pracy oraz początkowej liczby komórek uzyskano zawiesinę białek rzędu kilkuset mg/g s.s. drożdży.

W aspekcie potencjalnego wykorzystania sonifikacji jako metody izolacji enzymów wewnątrzkomórkowych, wykorzystywanych w katalizie chemicznej, niezbędna jest ocena jej wpływu na aktywność wspomnianych białek. Zatem konieczne są dalsze prace nad doбором aparatu i warunków sonifikacji w celu uzyskania jak najlepszej wydajności przy zachowaniu wysokiej aktywności katalitycznej izolowanych enzymów, które mogą katalizować reakcje syntezy związków stosowanych w technologii żywności, takich jak substancje zapachowe [13], biosurfaktanty czy antyutleniające.



Rys. 3. Porównanie wydajności izolacji białek z komórek prasowanych drożdży piekarskich oraz komórek drożdży szczepu *Saccharomyces cerevisiae* 2200 hodowanych na podłożu melasowym metodą dezintegracji komórek przy zastosowaniu fal ultradźwiękowych.

Fig. 3. Comparing extraction efficiency of proteins from pressed baker's yeast cells and from yeast cells of *S. cerevisiae* 2200 cultured on molasses medium using sonification-based cell disruption method.

Wnioski

1. Działanie ultradźwięków w cyklu pracy homogenizatora 60 i 90 %, mocy 150 W w ciągu 30 min i temperaturze 40 °C powoduje zmniejszenie liczby komórek drożdży *Saccharomyces cerevisiae* średnio o 2 cykle logarytmiczne przy początkowej liczbie 10^{10} - 10^{11} jtk/cm³.
2. Ultradźwięki mogą doprowadzić do dezintegracji ściany komórkowej, a tym samym do uwolnienia różnych frakcji białek komórkowych o stężeniu od 285 mg białka/g s.s. w przypadku prasowanych drożdży *Saccharomyces cerevisiae* do 320 mg białka/g s.s. w przypadku drożdży *Saccharomyces cerevisiae* 2200.
3. Sonifikacja jest dobrą metodą laboratoryjną do permeabilizacji ściany komórkowej drożdży i uwalniania białek wewnątrzkomórkowych.

Literatura

- [1] Apar D. K., Özbek B.: Protein Releasing Kinetics of Bakers' Yeast Cells by Ultrasound. *Chem. Biochem. Eng. Q.*, 2008, **22** (1), 113-118.
- [2] Borthwick K.A.J., Coakley W.T., McDonnell M.B., Nowotny H., Benes E., Groschl M.: Development of a novel compact sonicator for cell disruption. *J. Microbiol. Meth.*, 2005, **60**, 207-216.
- [3] Bury D., Jelen P., Kalab M.: Disruption of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* 11842 cells for lactose hydrolysis in dairy products: a comparison of sonication, high-pressure homogenization and bead milling. *Int. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2001, **2**, 23-29.
- [4] Ciccolini L., Taillandier P., Wilhem A. M., Delmas H., Strehaiano P.: Low frequency thermo-ultrasonification of *Saccharomyces cerevisiae*: effect of temperature and of ultrasonic power. *Chem. Engin. J.*, 1997, **65**, 145-149.
- [5] Dolatowski Z. J., Stadnik J., Stasiak D.: Applications of ultrasound in food technology. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.*, 2007, **6** (3), 89-99.
- [6] Drakopoulou S., Terzakis S., Fountoulakis M. S., Mantzavinos D., Manios T.: Ultrasound-induced inactivation of gram-negative and gram-positive bacteria in secondary treated municipal wastewater. *Ultra. Sonochem.*, 2009, **16**, 629-634.
- [7] Guerrero S., Lopez-Malo A., Alzamora S. M.: Effect of ultrasound on the survival of *Saccharomyces cerevisiae*: influence of temperature, pH and amplitude. *Int. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2001, **2**, 31-39.
- [8] Iida Y., Tuziuti T., Yasui K., Towata A.: Protein release from yeast cell as an evaluation method of physical effects in ultrasonic field. *Ultra. Sonochem.*, 2008, **15**, 995-1000.
- [9] Jiranek V., Grbin P., Yap A., Barnes M., Bates D.: High power ultrasonics as a novel tool offering new opportunities for managing wine microbiology. *Biotechnol. Lett.*, 2008, **30** (1), 1-6.
- [10] Tsukamoto I., Yim B., Stavarache C.E., Furuta M., Hashiba K., Maeda Y.: Inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* by ultrasonic irradiation. *Ultra. Sonochem.*, 2004, **11**, 61-65.
- [11] Kaczmarek L., Lewicki P.: Zastosowanie technik ultradźwiękowych w przetwarzaniu żywności. *Przem. Spoż.*, 2005, **9** (59), 34-36.
- [12] Knorr D., Zenker M., Heinz V., Lee D.: Applications and potential of ultrasonics in food processing. *Trends Food Sci. Tech.*, 2004, **15**, 261-266.
- [13] Krzyżkowska J., Białecka-Florjańczyk E., Stolarzewicz I.: Biotechnologiczne metody otrzymywania substancji zapachowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*. 2009, **3** (64), 5-18.
- [14] Mason T. J.: Sonochemistry and sonoprocessing: the link, the trends and (probably) the future. *Ultra. Sonochem.*, 2003, **10**, 175-179.
- [15] Oyane I., Takeda T., Oda Y., Sakata T., Furuta M., Okitsu K., Maeda Y., Nishimura R.: Comparison between the effects of ultrasound and γ -rays on the inactivation of *Saccharomyces cerevisiae*: Analyses of cell membrane permeability and DNA Or RNA synthesis by flow cytometry. *Ultra. Sonochem.*, 2009, **16**, 532-536.
- [16] Piyasena P., Mohareb E., McKellar R.C.: Inactivation of microbes using ultrasound: a review. *Int. J. Food Microbiol.*, 2003, **87**, 207-216.
- [17] Szewczyk K.W.: *Technologia biochemiczna*. Oficyna Wyd. Politechniki Warszawskiej, Warszawa 2003.
- [18] Toczko M., Grzebińska A.: *Materiały do ćwiczeń z biochemii*. Wyd. SGGW, Warszawa 2001.
- [19] Wu J.: Shear stress in cells generated by ultrasound. *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, 2007, **93**, 363-373.
- [20] Vilku K., Mawson R., Simons L., Bates D.: Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry – A review. *Int. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2008, **9**, 161-169.

**ULTRASOUNDS – A TOOL TO INACTIVATE YEAST AND TO EXTRACT
INTRACELLULAR PROTEIN****S u m m a r y**

Sonication technique has been commonly used in food industry, first of all in food preservation and food processing. The objective of this study was to assess the sonication as an alternative method to inactivate yeast cells. Additionally, it was considered whether or not the sonication could be used to obtain intracellular protein solution. Cells of *Saccharomyces cerevisiae* 2200 strain and a raw yeast biomass were sonicated in a 20 kHz horn-type sonicator. It was found that the time, duty cycle, and power of ultrasounds significantly impacted the cell inactivation and the protein extraction degree. The efficiency of extracting proteins from the cultured *S. cerevisiae* 2200 yeast strain amounted to 60 %, and from the raw baker's yeast to 43 %. The disruption of yeast cells by ultrasounds can be a good laboratory technique used to permeabilize cell wall and to extract intracellular proteins. After sonication, the count of live yeast cells decreased by 100 to 1000 times compared to their initial count expressed as cfu/cm³; this effect can be intensified by combing the activity of ultrasounds with a thermal factor.

Key words: cell disruption, baker's yeast, sonication, ultrasounds ☒

ELŻBIETA MAĆKIW, KATARZYNA RZEWUSKA, KATARZYNA TOMCZUK,
DARIUSZ IZAK, KATARZYNA STOŚ

WYSTĘPOWANIE *CRONOBACTER* SP. W WYBRANYCH PRODUKTACH SPOŻYWCZYCH

Streszczenie

Celem badań było określenie częstości występowania bakterii *Cronobacter* sp. w wybranych produktach spożywczych, w szczególności w preparatach dla niemowląt i małych dzieci. Przebadano 160 próbek pochodzących z zakładów mleczarskich: mleka świeżego i mleka w proszku, a także pochodzących z handlu: preparaty dla niemowląt i małych dzieci, przyprawy i herbaty i herbatki (czarne, ziołowe, owocowe). W preparatach dla niemowląt nie stwierdzono obecności bakterii *Cronobacter* sp., natomiast wyizolowano je ze świeżego mleka pochodzącego z zakładu mleczarskiego oraz z przypraw i herbaty.

Słowa kluczowe: *Cronobacter* sp., produkty spożywcze

Wprowadzenie

Bakterie z rodzaju *Cronobacter* zostały opisane przez Farmera i wsp. w 1980 r. jako *Enterobacter sakazakii*. Późniejsza analiza sekwencji genów zarówno 16S rRNA, jak i hsp60 wykazała, że izolaty *E. sakazakii* tworzą co najmniej cztery oddzielne grupy genomowe, które mogą być oddzielnymi gatunkami. Gatunek *E. sakazakii* został więc ponownie sklasyfikowany i obecnie występuje jako rodzaj *Cronobacter*. Podstawą wyodrębnienia tego rodzaju były analizy genotypowe zweryfikowane analizami fenotypowymi. Do nowo powstałego rodzaju *Cronobacter* zaliczono następujące gatunki: *C. sakazakii*, *C. malonaticus*, *C. turicensis*, *C. muytjensii*, *C. dublinensis* oraz szósty bezimienny, nie nazwany jeszcze gatunek [2].

Do niedawna bakterie *Cronobacter* sp. nie budziły większego zainteresowania diagnostycznego, gdyż rzadko były przyczyną chorób u ludzi. Stwierdzono jednak, że schorzenia wywołane przez te drobnoustroje cechuje wysoki wskaźnik śmiertelności, a infekcje dotyczą głównie noworodków. Z tych względów mikroorganizmy te stały

się obiektem wzrastającego zainteresowania zarówno lekarzy, epidemiologów, jak i higienistów żywności [8]. *Cronobacter* sp. największe zagrożenie stanowią dla noworodków, szczególnie dla wcześniaków, noworodków z niską masą urodzeniową i niską odpornością, również dla dzieci matek-nosicielek wirusa HIV, ponieważ dzieci te są najczęściej karmione sztucznie. Zagrożenia, jakie powoduje spożycie żywności zanieczyszczonej *Cronobacter* sp., to m.in. zapalenie opon mózgowych, zapalenie jelit, a także zaburzenia neurologiczne [1]. Pierwszy przypadek zakażenia *Cronobacter* sp. odnotowano w Anglii w 1958 r. W latach 1958 - 2003 udokumentowanych zostało 76 przypadków zakażeń noworodków bakteriami *Cronobacter* sp., między innymi w: Kanadzie, Belgii, Danii, Islandii, Niemczech, Grecji, Izraelu, Holandii, Hiszpanii oraz USA. W Stanach Zjednoczonych przypadki zakażenia wśród noworodków zostały odnotowane w co najmniej 9 stanach [3].

Nie ustalono dotychczas dawki minimalnej do wywołania objawów chorobowych przez *Cronobacter* sp. Przyjmuje się, że dawka infekcyjna jest podobna jak dla *Neisseria meningitidis*, *Escherichia coli* O157 czy *Listeria monocytogenes* i wynosi około 1000 komórek. Uzależniona jest ona od różnorodnych czynników, takich jak m.in. stan zdrowia, wiek dziecka czy rodzaj produktu, w którym te bakterie się znajdują. Istotne znaczenie może mieć również to, czy drobnoustroje były wcześniej poddawane działaniu czynników stresowych podczas procesu produkcji (suszenie, działanie ciepła) w wyniku, czego mogą stać się bardziej odporne na działanie systemu immunologicznego [9].

Bakterie z rodzaju *Cronobacter* powszechnie występują w środowisku naturalnym. Jedną z przypuszczalnych nisz *Cronobacter* sp. jest materiał roślinny. Bakterie te zostały wyizolowane z pszenicy, kukurydzy, soi, ryżu, płatków zbożowych, ziół, przypraw, warzyw i sałatek. Szczury i muchy mogą stanowić dodatkowe źródła zanieczyszczenia tą bakterią. *Cronobacter* sp. wyizolowany został także z artykułów spożywczych, takich jak ser, mięso, sproszkowane mleko – w tym dla niemowląt – i znacznej ilości innych składników oraz półproduktów żywnościowych. Jego izolaty uzyskano także z otoczenia szpitalnego, próbek klinicznych z uwzględnieniem płynu mózgowo-rdzeniowego, krwi, szpiku kostnego, płwociny, moczu, wyrostka robaczkowego objętego zapaleniem, przewodów doprowadzających przy karmieniu dojelitowym niemowląt, sklepieniu spojówki. Stwierdzano również przypadki bezobjawowego nosicielstwa u ludzi [6, 7].

Zgodnie z aktualnie obowiązującymi kryteriami mikrobiologicznymi, zawartymi w rozporządzeniu Komisji (WE) nr 1441/2007 z dnia 5 grudnia 2007 r. [15], bakterie *Cronobacter* sp. (*Enterobacter sakazakii*) nie mogą być obecne w 10 g preparatów w proszku dla niemowląt oraz w żywności dietetycznej w proszku specjalnego przeznaczenia medycznego, wykorzystywanej w żywieniu niemowląt do 6. miesiąca życia.

Celem badań było określenie obecności *Cronobacter* sp. w produktach spożywczych dostępnych na polskim rynku, ze szczególnym uwzględnieniem preparatów do żywienia niemowląt.

Material i metody badań

Badania przeprowadzono w 2010 r. w Pracowni Mikrobiologii Instytutu Żywności i Żywnienia. Przebadano łącznie 160 próbek produktów spożywczych w kierunku obecności bakterii *Cronobacter* sp. (*Enterobacter sakazakii*). Do badań pobrano próbki pochodzące z zakładów mleczarskich: 63 próbki świeżego mleka oraz 10 próbek mleka w proszku. Przebadano również próbki pochodzące z handlu detalicznego: 45 preparatów w proszku dla niemowląt (mleka początkowe – 15, mleka następne – 15, mleka powyżej 1 roku – 15) oraz 30 przypraw (ziołowe – 14, korzenne – 9, mieszanki przyprawowe – 7) i 12 herbat (ziołowe – 3, owocowe – 2, czarne – 7).

Bakterie *Cronobacter* sp. (*Enterobacter sakazakii*) izolowano zgodnie z procedurą opisaną w PKN-ISO/TS 22964:2008 [17]. Wyizolowane szczepy z charakterystyczną morfologią, ujemnym testem na oksydazę, niewytwarzające dekarboksylazy L-lizyny, wytwarzające dekarboksylazę L-ornityny i hydrolazę L-argininy, niefermentujące D-sorbitolu, fermentujące L-ramnozę, D-sacharozę i hydrolizujące cytrynian były dalej identyfikowane przy użyciu techniki PCR. Genomowe DNA izolowano z wykorzystaniem zestawu Gemoni Mini. Reakcję amplifikacji genu kodującego 16S rRNA wykonywano metodą opracowaną przez Hassan i wsp. [4]. Kontrolę pozytywną reakcji PCR stanowiło genomowe DNA izolowane ze szczepu referencyjnego *Cronobacter mytjensii* 51329 ATCC. Produkty amplifikacji rozdzielano w żelu agarozowym. Elektroforezę DNA prowadzono w żelach agarozowych o stężeniu 2 % w buforze TAE przy napięciu 120 V, przez 40 min. Po rozdziale elektroforetycznym żele umieszczano (15 min) w wodnym roztworze bromku etydyny. DNA wizualizowano przy użyciu UV transiluminatora przy długości fali 300 nm. Wielkość produktów amplifikacji porównywano ze wzorcem wielkości DNA – Fermentas MassRuler™ DNA, Low Range.

Wyniki i dyskusja

Przeprowadzone badania wykazały obecność *Cronobacter* sp. (*E. sakazakii*) w 9 próbkach, co stanowi 5,6 % wszystkich przebadanych próbek żywności. W 10 g badanych preparatów dla niemowląt i małych dzieci nie wykryto bakterii *Cronobacter* sp. Natomiast stwierdzono obecność tych bakterii w próbce mleka świeżego (1,6 %) i 7 próbkach przypraw (23,3 %) oraz 1 próbce herbaty (8,3 %) (tab. 1 i 2).

Tabela 1

Wstępowanie bakterii *Cronobacter sp.* w mleku i jego przetworach.
Occurrence of *Cronobacter sp.* bacteria in milk and its products.

Próbki / Samples	Mleko świeże Fresh milk	Mleko w proszku Powdered milk	Mleko w proszku dla niemowląt i małych dzieci Powdered milk for infants and babies		
			początkowe for newborns	następne for infants	powyżej 1 roku for babies aged 1 year and more
Liczba / Count	63	10	15	15	15
Obecność <i>Cronobacter sp.</i> (w 10 g lub 10 ml) Occurrence of <i>Cronobacter sp.</i> (in 10 g or 10 ml)	1	0	0	0	0

Tabela 2

Wstępowanie bakterii *Cronobacter sp.* w przyprawach i herbatach.
Occurrence of *Cronobacter sp.* in seasoning products and teas.

Próbki / Samples	Przyprawy / Seasoning products			Herbatki i Herbaty / Teas		
	ziołowe herbs	korzenne spices	mieszanki przyprawowe seasoning mixtures	ziołowe herbal	owocowe fruit	czarne black
Liczba / Count	14	9	7	3	2	7
Obecność <i>Cronobacter sp.</i> (w 10 g). Occurrence of <i>Cronobacter sp.</i> (in 10 g)	2	1	4	1	0	0

Dotychczas bakterie *Cronobacter sp.* stwierdzano w różnych rodzajach żywności zarówno pochodzenia roślinnego, jak i zwierzęcego, m.in. w: tofu, herbacie, serach, wędzonym mięsie, mielonej wołowinie oraz w mięsie mielonym przeznaczonym do produkcji wędlin. Soriano i wsp. [18] oraz Richards i wsp. [14] stwierdzili obecność tych bakterii w 4,2 % próbek mleka w proszku, 3,2 % próbek sera i różnych składników dodawanych do żywności, 20 % suszonych ziół, przypraw i warzyw.

Badania nad występowaniem *Cronobacter sp.* w żywności prowadzili również Shaker i wsp. [16]. Próbki do badań pochodziły z 13 krajów. Autorzy przebadali 59 różnych próbek żywności, w tym 15 gotowych do spożycia obiadów dla niemowląt powyżej 6 miesiąca życia, 8 próbek mleka dla niemowląt od urodzenia do 1 roku, 10

próbek mleka pełnego w proszku, 18 produktów zbożowych, 5 przypraw i 3 próbek cukru. Ponadto autorzy przebadali 47 próbek pobranych ze środowiska produkcji żywności. Wymazy robiono z drzwi, ścian, sprzętu i z rozypanych suchych produktów. *E. sakazakii* (*Cronobacter* sp.) wyizolowano z 2/15 obiadów dla niemowląt, 2/8 prób mleka dla niemowląt, 1/18 produktów zbożowych. W żadnej z próbek mleka w proszku, przypraw, cukru i próbek środowiskowych nie stwierdzono obecności *E. sakazakii* (*Cronobacter* sp.), stwierdzono natomiast obecność *E. agglomerans*. W próbkach mleka dla niemowląt został wyizolowany *E. cloacae*. Nazarowec-White i Farber [12] po przebadaniu 141 odżywek dla niemowląt pochodzących z 35 krajów potwierdzili obecność bakterii należących do rodzaju *Enterobacteriaceae* w 52,2 %, wśród nich *E. sakazakii* (*Cronobacter* sp.) aż w 14 % próbek odżywek dla niemowląt. Badania prowadzone przez Heuvelink i wsp. [5] wykazały obecność *E. sakazakii* (*Cronobacter* sp.) w 2,5 % badanych preparatów dla niemowląt oraz w 4,2 % mleka w proszku. Iversen i Forsythe [11] przebadali 82 próbki mleka w proszku dla niemowląt i 404 próbki innych produktów spożywczych i *E. sakazakii* (*Cronobacter* sp.) wyizolowali z 2/82 próbek mleka w proszku dla niemowląt, 5/49 suszonej żywności dla niemowląt, 3/72 mleka w proszku, 2/62 serów i 40/122 różnych suchych składników żywności, zwłaszcza ziół i przypraw. Oonaka i wsp. [13] przebadali 149 próbek mleka w proszku dla niemowląt (61 próbek produkowanych w Japonii i 88 próbek importowanych). Probki pobrane zostały z obrotu w okresie od listopada 2006 do lutego 2008 r. *E. sakazakii* (*Cronobacter* sp.) wyizolowano z 9 (6,0 %) spośród 149 próbek mleka w proszku dla niemowląt. Wśród próbek pochodzących z kraju *E. sakazakii* (*Cronobacter* sp.) został wyizolowany z 4 próbek, natomiast spośród próbek pochodzących z importu *E. sakazakii* (*Cronobacter* sp.) został wyizolowany z 5. Ponadto autorzy półilościowo zmierzili poziom *E. sakazakii* (*Cronobacter* sp.) w każdym z 9 próbek. Poziom był szacowany na 0,36 jtk/100 g w 4 produkowanych w kraju próbkach oraz 0,36 i 0,91 jtk/100 g w 4 i 1 na 5 próbek importowanych. Natomiast Stasiak-Rożańska i wsp. [20] wykazały w Polsce dobrą jakość produktów przeznaczonych do żywienia niemowląt i dzieci. Autorki nie stwierdziły obecności *E. sakazakii* (*Cronobacter* sp.) w żadnej z 30 badanych próbek. Podobne rezultaty uzyskała Ścieżyńska i wsp. [21] po przebadaniu 80 preparatów do początkowego żywienia niemowląt do 6. miesiąca życia oraz 35 kaszek dla dzieci.

Pomimo że bakterie te występują w różnych rodzajach żywności, potencjalnym źródłem *Cronobacter* sp. są preparaty w proszku [20]. Do tej pory w Polsce nie zarejestrowano jednak przypadków zachorowań ludzi spowodowanych bakteriami *Cronobacter* sp. Natomiast w innych krajach Unii Europejskiej i na świecie zatrucia pokarmowe spowodowane tymi bakteriami stanowią ważny problem epidemiologiczny [1]. W raportach RASFF w 2009 r. zgłoszono 6 meldunków, jeden z nich pochodził z Polski. Dotyczył występowania bakterii *Cronobacter* sp. w produktach dla niemowląt

[21]. Zatem konieczny jest ciągły monitoring obecności bakterii *Cronobacter sp.*, szczególnie w preparatach przeznaczonych dla niemowląt do 6. miesiąca życia.

Wnioski

1. Nie wykazano obecności *Cronobacter sp.* w produktach dla niemowląt i małych dzieci.
2. Obecność bakterii *Cronobacter sp.* stwierdzono w 23 % przypraw oraz w pojedynczych próbkach mleka i herbatki ziołowej.

Literatura


- [1] Drudy D., Mullane N., Quinn T., Fanning S.: *Enterobacter sakazakii*: An emerging pathogen in powdered infant formula. Clin. Infect. Dis., 2006, **42**, 996-1002.
- [2] Forsythe S.: *Cronobacter* species. Culture, 2010, **31** (1), 1-5.
- [3] Gurtler J.W., Kornacki J.L., Beuchat L.R.: *Enterobacter sakazakii*: A coliform of increased concern to infant health. Int. J. Food Microbiol., 2005, **104**, 1-34.
- [4] Hassan A.A., Akineden O., Kress C., Estuningsih S., Schneider E., Usleber E.: Characterization of the gene encoding the 16S r RNA of *Enterobacter sakazakii* and development of a species-specific PCR metod. Int. J. Food Microbiol., 2007, **116**, 214-220.
- [5] Heuvelink A.E., Kodde F.D., Zwartkruis-Nahuis J.T.M., de Boer E.: *Enterobacter sakazakii* in melkpoeder. Keuringsdienst van Waren Oost, Project number OT 011015, 2001.
- [6] Hurrell E., Kucerova E., Loughlin M., Caubilla-Barron J., Hilton A., Armstrong R., Smith C., Grant J., Shoo S., Forsythe S.: Neonatal enteral feeding tubes as loci for colonization by members of the *Enterobacteriaceae*. BMC Infect Dis., 2009, **9**, 146.
- [7] Iversen C., Forsythe S.: Risk profile of *Enterobacter sakazakii*, an emergent pathogen associated with infant milk formula. Trends Food Sci. Technol., 2003, **14** (11), 443-454.
- [8] Kandhai M.C., Heuvelink A.E., Reij M., Beumer R.R., Dijk R., van Tilburg J.J.H.C., van Schothorst M., Gorris L.G.M.: A study into the occurrence of *Cronobacter* spp. in The Netherlands between 2001 and 2005. Food Control, 2010, **21**, 1127-1136.
- [9] Korpysa-Dzirba W., Rola J. G., Osek J.: *Enterobacter sakazakii* – zagrożenie mikrobiologiczne w żywności. Med. Wet., 2007, **63**, 11, 1277-1280.
- [10] Lai K.: *Enterobacter sakazakii* infections among neonates, infants, children and adults. Case reports and a review of the literature. Medicine, 2001, **80**, 113-122.
- [11] Iversen C., Forsythe S.: Isolation of *Enterobacter sakazakii* and other *Enterobacteriaceae* from powdered infant formula milk and related products. Food Microbiol., 2004, **21**, 771-777.
- [12] Nazarowec-White M., Farber J. M.: Incidence, survival and growth of *Enterobacter sakazakii* in infant formula. J. Food Protect, 1997, **60**, 226-230.
- [13] Oonaka K., Furuhashi K., Hara M., Fukuyama M.: Powder infant formula milk contaminated with *Enterobacter sakazakii*. Jpn. J. Infect. Dis., 2010, **63**, 103-107.
- [14] Richards G.M., Gurtler J.B., Beuchat L.R.: Survival and growth of *E. sakazakii* in infant rice cereal reconstituted with water, milk, liquid infant formula or apple juice. J. Appl. Microbiol., 2005, **99**, 844-850.
- [15] Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1441/2007 z dnia 5 grudnia 2007 r zmieniające rozporządzenie (WE) nr 2073/2005 w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych. Dz. U. Urz. UEL Nr 322 z 07.12.2007 r.

- [16] Shaker R., Osaili T., Al-Omary W., Jaradat Z., Al-Zuby M.: Isolation of *Enterobacter sakazakii* and other *Enterobacter* sp. from food and food production environments. *Food Control*, 2007, **18**, 1241-1245.
- [17] PKN-ISO/TS 22964: 2008. Mleko i przetwory mleczne. Wykrywanie *Enterobacter sakazakii*.
- [18] Soriano J.M., Rico H., Mnes J.: Incidence of microbial flora in lettuce, meat and Spanish potato omelette from restaurants. *Food Microbiol.*, 2001, **28**, 159-165.
- [19] Stoll B.J., Hansen N., Fanaroff A.A., Lemons J.A.: *Enterobacter sakazakii* is a rare cause of neonatal septicemia or meningitis in VLBW infants. *J. Pediatr.* 2004, **144**, 821-823.
- [20] Stasiak-Rożańska L., Garbowska M., Berthold A., Molska I., Ciepiewska-Janaszek J.: Jakość mikrobiologiczna preparatów do żywienia niemowląt i małych dzieci ze szczególnym uwzględnieniem *Enterobacteriaceae* i *E. sakazakii*. *Med. Wet.* 2010, **66** (9), 622-625.
- [21] Ścieżyńska H., Gorecka K., Grochowska A., Pawłowska K., Windyga B., Mąka Ł., Karłowski K.: Ocena narażenia na *Cronobacter sakazakii* w preparatach do początkowego żywienia niemowląt w Polsce. *Bromat. Chem. Toksykol.* 2010, **3**, 266-269.

OCURRENCE OF CRONOBACTER SP. IN SELECTED FOOD PRODUCTS

S u m m a r y

The objective of the research study was to determine the occurrence frequency of *Cronobacter* sp bacteria in some selected food products, particularly in the preparations for infants and babies. Analyzed were 160 samples from dairy factories; the samples tested comprised fresh and powdered milk products. The retail product samples comprised the preparations for infants and babies, seasoning products, and teas (black, herbal, and fruit teas). The *Cronobacter* sp bacteria were not found in the preparations for infants, however, these bacteria were isolated from fresh milk obtained in a dairy factory, as well as from some seasoning products and teas.

Key words: *Cronobacter* sp, food products 

HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA

INTERAKCJE SKŁADNIKÓW ŻYWNOSCI

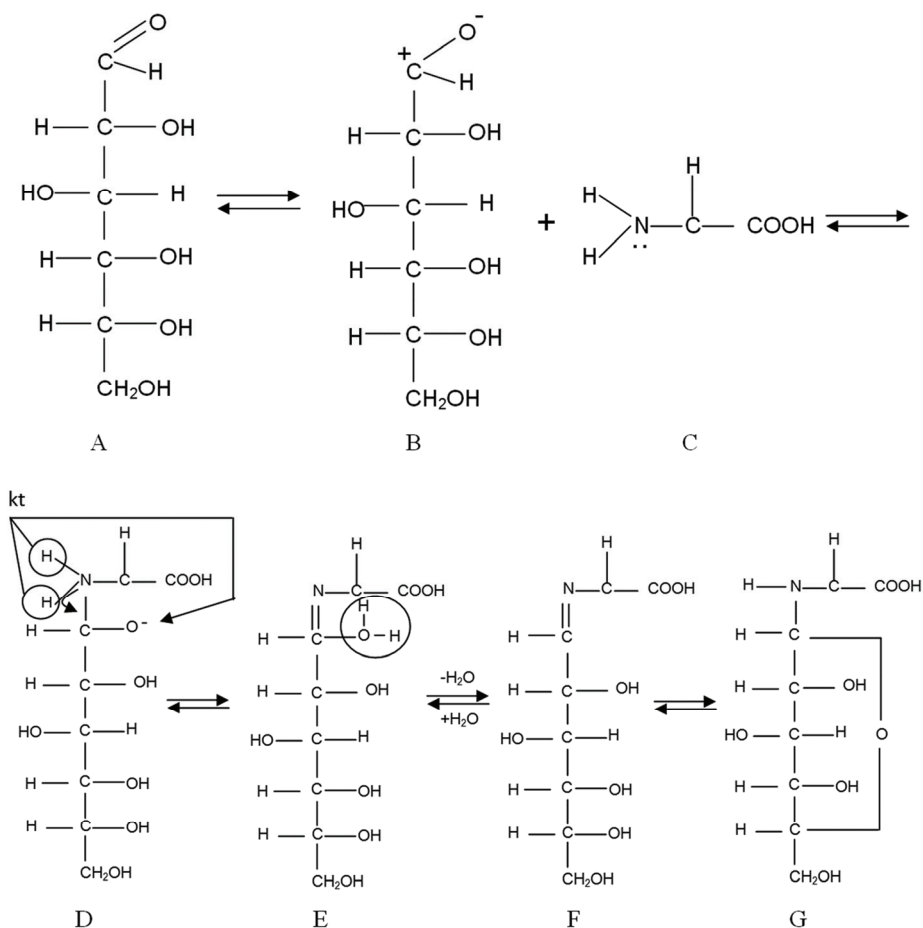
Prezentujemy 4. część cyklu nt.: „Interakcje składników żywności”. Druk materiałów z tego cyklu rozpoczęliśmy w *Żywności* nr 1 (74), 2011.

Pytanie: dlaczego reakcje początkowe Maillarda są odwracalne?

Odpowiedź na to pytanie wymaga przypomnienia dwóch zagadnień. Pierwsze dotyczy odwracalności reakcji chemicznych. Podczas reakcji chemicznej ubywa substratów i przybywa produktów. Nagromadzenie produktów powoduje coraz częstsze zderzenia pomiędzy cząsteczkami obecnymi w mieszaninie reakcyjnej. Podczas takich zderzeń może nastąpić rekombinacja atomów w sensie wprost przeciwnych temu, wskutek którego te cząsteczki powstały, innymi słowy, reakcja może się odbywać w kierunku przeciwnym kierunkowi poprzedniemu. Reakcje mogące przebiegać w dwóch przeciwnych kierunkach nazywane są reakcjami odwracalnymi. Szybkość reakcji odwrotnej jest proporcjonalna do każdorazowego stężenia produktów. Z chwilą gdy nie są dostrzegalne zmiany w mieszaninie reagującej, ustala się stan równowagi chemicznej. Nosi ona charakter równowagi dynamicznej, tzn. polega na tym, że w układzie przebiegają dwa procesy w kierunkach przeciwnych z jednakową szybkością. Zależności te charakteryzuje prawo działania mas, z którego wynika, że w stanie równowagi w mieszaninie reagującej obecne muszą być wszystkie substancje biorące udział w reakcji, czy to w charakterze substratów, czy też produktów, choćby w znikomym małych ilościach. W zasadzie należy uważać wszystkie reakcje za odwracalne. Jeżeli jednak w rzeczywistości wiele z nich przebiega praktycznie do całkowitego wyczerpania substratów, wynika to stąd, że stała równowagi takich reakcji ma wartość bardzo dużą. Przypomnienie odwracalności reakcji chemicznych pozwala na wyjaśnienie mechanizmu nieenzymatycznej glikozylacji aminokwasów, peptydów, białek, kwasów nukleinowych i fosfolipidów, czyli związków zawierających wolną grupę amino-

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

wą. Prezentację tej reakcji ograniczono do jednego przykładu, a mianowicie reakcji kondensacji pomiędzy cukrem redukującym – glukozą i aminokwasem – glicyną. Reakcja kondensacji polega na połączeniu dwóch lub kilku cząsteczek z wydzieleniem prostej cząsteczki np. wody, alkoholu.



A - forma łańcuchowa glukozy, B - forma glukozy ze spolaryzowaną grupą aldehydową, C - glicyna, D - addukt glukozowo-glicynowy, E - addukt glukozowo-glicynowy po przegrupowaniu atomów wodoru, F - forma łańcuchowa glukozyl-glicyny powstała po wydzieleniu cząsteczki wody z adduktu glukozowo-glicynowego (zasada Schiffa), G - forma pierścieniowa glukozyl-glicyny.

Rys. 1. Reakcja kondensacji glukozy z glicyną do glukozoglicyny.

Głównym wymogiem reakcji kondensacji glukozy z glicyną jest obecność aldehydowej formy glukozy. Oznacza to, że kinetyka tej reakcji zależy w znacznym stopniu od pH i temperatury środowiska. W miarę wzrostu pH środowiska następuje uwal-

nianie wolnej grupy aldehydowej z formy pierścieniowej glukozy i wzrost szybkości tworzenia się adduktu glukozy z glicyną. Reakcje te przedstawiono na rys. 1. Wydzielanie cząsteczki wody podczas kondensacji glukozy z glicyną dowodzi, że reakcja ta zachodzi lepiej w środowisku o małej zawartości wody. Ponieważ w naturalnych warunkach reakcji, czyli w żywności i/lub organizmie żywym, będzie zawsze środowisko wodne, reakcja ta będzie odwracalna. Na zakończenie należy przytoczyć fakt, że szybkość tej reakcji będzie również zależała od rodzaju cukru. Pentozy reagują szybciej niż heksozy, a monosacharydy są aktywniejsze niż redukujące disacharydy. Fakt ten jest spowodowany stereochemicznymi uwarunkowaniami tworzenia się adduktu i wewnątrzcząsteczkowymi przegrupowaniami. ☒

* Opracowanie graficzne: mgr Mirosław Obrębski

**POLSKIE TOWARZYSTWO TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI
ODDZIAŁ MAŁOPOLSKI**

**WYDZIAŁ TECHNOLOGII 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

GRAŻYNA MORKIS

PROBLEMATYKA ŻYWNOŚCIOWA W USTAWODAWSTWIE POLSKIM I UNIJNYM

Publikujemy kolejny przegląd aktów prawnych, które ukazały się w Dzienniku Ustaw RP i Dzienniku Urzędowym UE. Poniższe zestawienie zawiera akty prawne dotyczące szeroko omawianej problematyki żywnościowej wg stanu na dzień 30 czerwca 2011 r.

Polskie akty prawne

1. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dn. 22 kwietnia 2011 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych (Dz. U. 2011. Nr 91, poz. 525).

W załącznikach do rozporządzenia Ministra Zdrowia z dn. 22 listopada 2010 r. w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych (Dz. U. Nr 232, poz. 1525) zostały wprowadzone zmiany dotyczące m.in.:

- środków spożywczych, do których wolno stosować ograniczoną liczbę dozwolonych substancji dodatkowych,
- środków spożywczych, do których mogą być stosowane sorbiniany, benzoesany i parahydroksybenzoesany,
- środków spożywczych, do których mogą być stosowane dwutlenek siarki i siarczyny.

2. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dn. 22 kwietnia 2011 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie specyfikacji i kryteriów czystości substancji dodatkowych (Dz. U. 2011. Nr 91, poz. 526).

W załączniku do rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 23 grudnia 2010 r. w sprawie specyfikacji i kryteriów czystości substancji dodatkowych (Dz. U.

z 2011 r. Nr 2, poz. 3) wprowadzono zmiany dotyczące szczegółowych kryteriów czystości barwników.

3. Ustawa z dn. 12 maja 2011 r. o wyrobie i rozlewie wyrobów winiarskich, obrocie tymi wyrobami i organizacji rynku wina (Dz. U. 2011. Nr 120, poz. 690).

Ustawa reguluje zasady:

- wyrobu fermentowanych napojów winiarskich oraz obrotu wyrobami winiarskimi,
- wykonywania działalności gospodarczej w zakresie wyrobu i rozlewu wyrobów winiarskich
- organizację rynku wina, zasady i tryb rejestracji nazw pochodzenia oraz oznaczeń geograficznych wyrobów winiarskich pozyskanych z winogron pochodzących z upraw winorośli położonych na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej.

Przepisy tej ustawy nie dotyczą wyrobów winiarskich wyrobionych domowym sposobem na użytek własny i nieprzeznaczonych do wprowadzenia do obrotu.

4. Rozporządzenie Rady Ministrów z dn. 7 czerwca 2011 r. w sprawie nadania Morskiemu Instytutowi Rybackiemu w Gdyni statusu państwowego instytutu badawczego (Dz. U. 2011. Nr 124, poz. 699).

Morskiemu Instytutowi Rybackiemu w Gdyni nadano status państwowego instytutu badawczego. Przedmiotem działania Instytutu jest prowadzenie badań naukowych i prac rozwojowych obejmujących w szczególności dziedziny stwarzające naukowe podstawy zarządzania rybołówstwem morskim: oceanografię, rybactwo, biologię, ekologię, technologię przetwórstwa, chemię żywności i środowiska, bezpieczeństwo żywności, techniki połowów i ekonomikę.

Unijne akty prawne

1. Rozporządzenie Wykonawcze Komisji (UE) NR 382/2011 z dn. 18 kwietnia 2011 r. rejestrujące w rejestrze gwarantowanych tradycyjnych specjalności nazwę [„Kiełbasa myśliwska”(GTS)] (Dz. Urz. UE 2011 r. Nr 106, s. 6). ☒

NOWE KSIĄŻKI

Bioactive Foods in Promoting Health. Fruits and Vegetables

[Bioaktywna żywność w promocji zdrowia. Owoce i warzywa]

Watson R.R. & Preedy V.R.

Wydawnictwo: Elsevier, USA, 2010, ISBN: 978-0-12-374628-3, cena \$ 99,95

Zamówienia: www.elsevierdirect.com

Prawidłowe żywienie wpływa korzystnie na organizm człowieka i przeciwdziałającym powstawaniu wielu chronicznych chorób. Już niewielkie ilości substancji biologicznie czynnych zawartych w owocach i warzywach regulują procesy biologiczne organizmu. Celem książki jest dostarczenie aktualnych, zwięzłych informacji na temat żywności pochodzenia roślinnego. Zapoznaje ona czytelnika z różnymi aspektami suplementacji, wpływem żywności i ekstraktów roślinnych na zdrowie i prewencję chorób. Podręcznik został podzielony na cztery części: w pierwszej omówiono znaczenie owoców i warzyw w promocji zdrowia. W drugiej przedstawiono wpływ owoców i warzyw na specyficzne stany zdrowotne. Przedmiotem trzeciej części są warzywa, a czwartej owoce i ich prozdrowotna charakterystyka.

Książka skierowana jest do technologów żywności i żywienia, towaroznawców, chemików i producentów żywności pracujących w zakładach produkujących i przetwarzających żywność pochodzenia roślinnego. Książka może okazać się również przydatna dla osób zajmujących się zdrowiem publicznym.

Hyperspectral Imaging for Food Quality Analysis and Control

[Obrazowanie wielospektralne w analizie i kontroli jakości żywności]

Da-Wen Sun

Wydawnictwo: Elsevier, USA, 2010, stron 496, ISBN: 978-0-12-374753-2, cena \$ 149,95

Zamówienia: www.elsevierdirect.com

Obrazowanie wielospektralne jest to nowa technologia stosowana w zakresie uzyskania przestrzennej i spektralnej informacji o produkcie. Obrazowanie wielospektralne (wielowidmowe, multispektralne, superspektralne i hiperspektralne) są to techniki rejestracji obrazu będące uogólnieniem fotografii barwnej na pełną przestrzeń barw

w zakresie światła widzialnego, a także mikrofal, dalekiej i bliskiej podczerwieni oraz ultrafioletu. Metoda ta stosowana jest od prawie 20 lat w przedsiębiorstwach zajmujących się przestrzenią powietrzną (m.in. produkujących samoloty, rakiety i in.). Obrazowanie wielospektralne zostało od niedawna uznane za skuteczną i szybko rozwijającą się metodę niewywierającą negatywnego wpływu na analizę i kontrolę jakości żywności. Książka dostarcza cennych informacji na temat praktycznego zastosowania wielospektralnego obrazowania w ocenie jakości żywności na przykładzie odpowiednich przedsiębiorstw. Książka składa się z dwóch części. W pierwszej zostały omówione podstawowe zasady obrazowania wielospektralnego oraz stosowane w tym zakresie techniki i instrumenty pomiaru. Natomiast w drugiej przedstawiono jej zastosowanie m.in. w: rzeźniach, ubojni drobiu, ocenie jakości filetów rybnych, wykrywaniu obić w jabłkach, truskawkach, pomiarze stopnia dojrzałości pomidorów i in. Książka skierowana jest do studentów technologii żywności, towaroznawstwa żywności i nauk pokrewnych, pracowników naukowych oraz inżynierów i technologów zajmujących się rozwojem produktu i procesu produkcji żywności.

Jakość i bezpieczeństwo żywności – kształtowanie jakości żywieniowej w procesach technologicznych

Nowak D. (red.)

Wydawnictwo: SGGW, Warszawa 2011, ISBN 978-83-7583-279-2, stron 197

Zamówienia: www.wydawnictwosggw.pl

Monografia jest pokłosiem VII Konferencji Naukowej z cyklu „Jakość i bezpieczeństwo żywności” zorganizowanej przez Oddział Warszawski PTTŻ w grudniu 2009 r. pt.: „Kształtowanie jakości żywieniowej w procesach technologicznych”. Monografia jest dziełem wielu autorów, którzy przedstawili ocenę wpływu technologii na jakość żywieniową, w tym zmian wartości żywieniowej, którym podlegają surowce w procesie przetwarzania, zmian wprowadzonych do technologii, a mających na celu zwiększenie wartości odżywczej produkowanej żywności. Omówiono także działania organizacyjne i prawne odnoszące się do wybranych aspektów żywności.

Przeciwutleniające i proutleniające właściwości wybranych składników żywności jako wyróżnik jej jakości

Gliszczyńska-Świgło A.

Wydawnictwo: UE w Poznaniu, 2010, stron 244, ISBN: 978-83-7417-505-0, cena 31,90 zł.

Zamówienia: www.abc.biz.pl

Celem pracy była ocena przeciwutleniających i proutleniających właściwości składników żywności i suplementów diety. Te mało znane zagadnienia są bardzo istotne zarówno w aspekcie teoretycznym, jak i praktycznym. Nieznany jest zwłaszcza wpływ wzajemnego oddziaływania przeciwutleniającego i proutleniającego składników żywności w różnych warunkach pH środowiska. Autorka wyjaśnia w książce zagadnienia oddziaływań flawonoidów, witamin i innych substancji zawartych w żywności.

Książka skierowana jest zwłaszcza do studentów takich kierunków, jak: technologia żywności, towaroznawstwo żywności, bromatologia.

Packaging Research in Food Product Design and Development

[Badania naukowe z zakresu pakowania w projektowaniu i rozwoju produktów żywnościowych]

Moskowitz H.R., Reisner M., Lawlor J.B., Deliza R.

Wydawnictwo: Wiley-Blackwell, USA, 2009, stron 280, ISBN: 978-0-8138-1222-9, cena £124.99 / €150.00

Zamówienia: www.eu.wiley.com

Książka jest pierwszą publikacją, w której wszechstronnie omówiono zagadnienia od projektowania graficznego i wizualnej koncepcji do aplikacji biznesowej. Autorzy odnoszą się w szczególności do żywności i napojów. W książce uwzględniono preferencje konsumentckie, segmentację oraz metodologię biznesu "how to" ze szczególnym ujęciem różnych aspektów koncepcji badań.

Z książki skorzystać mogą studenci technologii żywności i towaroznawstwa żywności, pracownicy naukowcy oraz inżynierowie i technolodzy zajmujący się rozwojem produktu, projektowaniem opakowań i marketingiem.

Management of Food Allergens

[Zarządzanie alergenami żywności]

Coutts J., Reisner M., Fielder R.

Wydawnictwo: Wiley-Blackwell, USA, 2009, stron 272, ISBN: 978-1-4051-6758-1, cena £129.99 / €156.00

Zamówienia: www.eu.wiley.com

Jednym z wyzwań przemysłu żywnościowego jest produkcja bezpiecznej żywności dla wzrastającej liczby konsumentów z alergiami. Alergia pokarmowa dotyka ok. 2 - 4 % dorosłych Europejczyków i ok. 10 % dzieci. Jednak rzeczywiste występowanie alergii pokarmowej wśród całej populacji może być znacznie wyższe. Rynek żywności „wolnej od ...” wzrósł znacząco w ostatnich latach i nic nie wskazuje na spadek popytu na produkty bezglutenowe, pozbawione laktozy i in. W książce zawarto przegląd zasad

zarządzania bezpieczeństwem żywności alergicznej, mających na celu pomoc wszystkim zainteresowanym w zrozumieniu w jaki sposób ochronić zdrowie konsumenta poprzez stosowanie zasad Dobrej Praktyki Produkcyjnej (GMP) oraz czytelne i zrozumiałe oznakowanie produktów. W książce poddano analizie systemy zarządzania ryzykiem i omówiono praktyczne ich zastosowanie przez przedsiębiorstwa branży spożywczej. Zagadnienia przedstawiono z perspektywy naukowca, producenta żywności, lekarza i konsumenta.

Książka skierowana jest do technologów i towaroznawców żywności, producentów żywności, pracowników zajmujących się w przedsiębiorstwach kwestiami zarządzania jakością, lekarzy oraz osób zainteresowanych zdrowiem publicznym.

Opracowała: *Anna Gręda*

WYDZIAŁ NAUK O ŻYWNOŚCI SZKOŁY GŁÓWNEJ GOSPODARSTWA WIEJSKIEGO W WARSZAWIE MA 50 LAT!

W 2011 roku mija 50 lat od powstania Wydziału Nauk o Żywności (poprzednie nazwy: Wydział Technologii Rolno-Spożywczej i Wydział Technologii Żywności) w Szkole Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. Jednak studia z zakresu przemysłu rolno-spożywczego mają w SGGW dużo dłuższą tradycję. Od momentu powstania uczelni przedmioty z tego zakresu były realizowane na Wydziale Rolnym i Ogrodniczym. Na Wydziale Rolnym był to przedmiot „przemysł rolny” w Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii i Przemysłu Rolnego. W okresie międzywojennym w tym kierunku kształciło się około 120 studentów, którzy stali się pionierami polskiego przemysłu spożywczego. Z kierowanego przez prof. dra Wacława Dąbrowskiego Zakładu Mikrobiologii i Przemysłu Rolnego wywodziła się kadra przyszłych pracowników naukowych w zakresie technologii, chemii i mikrobiologii żywności, do których zaliczają się profesorowie: Eugeniusz Pijanowski, twórca nauki o żywności w Polsce i pierwszy dziekan powołanego w roku akademickim 1961/62 Wydziału Technologii Rolno-Spożywczej oraz Stanisław Bujak, Jadwiga Jakubowska, Halina Karnicka, Roman Majchrzak, Tadeusz Matuszewski.

Po zakończeniu II wojny światowej, w 1945 roku, wznowiła działalność Katedra i Zakład Mikrobiologii i Przemysłu Rolnego kierowana przez prof. dra Wacława Dąbrowskiego oraz powołano Katedrę i Zakład Technologii Przemysłu Mięsnego i Artykułów Pochodzenia Zwierzęcego i powierzono jej kierowanie prof. dr hab. Stefanowi Koeppel. W rok później utworzono na Wydziale Ogrodniczym Katedrę i Zakład Technologii Żywności. Kierownictwo jej objął prof. dr hab. Eugeniusz Pijanowski. Na tym Wydziale powołano także Studium Gospodarstwa Domowego przekształcone w późniejszym okresie w Studium Wyżywienia Społecznego.

Od roku akademickiego 1949/1950 do powołania struktury Wydziału uruchamiano kolejne specjalizacje: przetwórstwo rolne (Wydział Rolny) oraz przetwórstwo owocowo-warzywne (Wydział Ogrodniczy), które później zostały scalone i przekształcone w Sekcję Technologii Rolnej przy Wydziale Rolnym. Wprowadzenie nowych progra-

mów nauczania wiązało się z reorganizacją i powstaniem nowych katedr i zakładów oraz utworzeniem kolejnych specjalizacji: przemysł ziemniaczano-fermentacyjny, przemysł owocowo-warzywny, przemysł mięsny i przemysł mleczarski. W 1954 roku Sekcja Technologii Rolnej została przekształcona w Oddział Technologii Rolno-Spożywczej z jednolitym programem nauczania na studiach inżyniersko-magisterskich. W 1956 roku została uruchomiona kolejna specjalizacja – przetwórstwo zbóż. W 1958 roku została utworzona Katedra Technologii i Higieny Żywności Człowieka, której kierownictwo powierzono prof. dr hab. Stanisławowi Bergerowi.

W roku akademickim 1961/1962 został utworzony samodzielny **Wydział Technologii Rolno-Spożywczej** z 5 katedrami wydzielonymi z Wydziału Rolniczego. Były to następujące Katedry:

1. Chemii Ogólnej – kierowana przez prof. dra Antoniego Kleszczyckiego.
2. Przemysłu Rolno-Fermentacyjnego – kierowana przez prof. Romana Majchrzaka.
3. Przemysłu Rolno-Spożywczego – kierowana przez prof. dr hab. Eugeniusza Pijanowskiego.
4. Technologii Mięsa – kierowana przez prof. dr hab. Stefana Koeppe.
5. Technologii i Higieny Żywności Człowieka – kierowana przez prof. dr hab. Stanisława Bergera.

Kadrę naukowo-dydaktyczną ówczesnego Wydziału Technologii Rolno-Spożywczej stanowiło: 5 profesorów, 4 docentów, 2 wykładowców, 10 doktorów, 20 starszych asystentów oraz 5 asystentów.

Wynikiem reorganizacji uczelni w 1970 roku było scalenie 3 katedr Wydziału Technologii Rolno-Spożywczej w Instytut Technologii Żywności. Katedrę Chemii Ogólnej przemianowano na Instytut Podstaw Chemii oraz utworzono nową jednostkę – Katedrę Inżynierii i Organizacji Przemysłu Spożywczego, której kierownictwo powierzono prof. dr hab. Mieczysławowi Dłużewskiemu. Pierwszym dyrektorem Instytutu Technologii Żywności został prof. dr hab. Tadeusz Jakubczyk (1970 - 1978), a kolejnym prof. dr Antoni Rutkowski (1978 - 1982).

W 1973 roku Wydział Technologii Rolno-Spożywczej zmienił nazwę na **Wydział Technologii Żywności**.

W 1974 roku Katedra Technologii i Higieny Żywności Człowieka została przemianowana na Instytut Żywności Człowieka, który został włączony w strukturę powołanego 5 października 1977 roku Wydziału Żywności Człowieka oraz Wiejskiego Gospodarstwa Domowego. W latach 1982 - 2002 przeprowadzono kilka reorganizacji, doprowadzając do obecnej struktury Wydziału.

Rok akademicki 2001/2002 na Wydziale Technologii Żywności został zainaugurowany w auli nowego budynku naukowo-dydaktycznego, noszącego imię współtwórcy Wydziału – Profesora Eugeniusza Pijanowskiego.

Od 1 stycznia 2008 roku Rektor SGGW w Warszawie zmienił zarządzeniem nr 44/2007 dotychczasową nazwę – Wydział Technologii Żywności na obecną **Wydział Nauk o Żywności**.

Od 1961 do 2011 r. pieczę nad działalnością Wydziału sprawowało jedenastu dziekanów: prof. dr hab. Eugeniusz Pijanowski (1961 - 1963), prof. dr hab. Stefan Koeppel (1963 - 1966), prof. dr hab. Adolf Horubała (1966 - 1971, 1979 - 1981), prof. dr hab. Tadeusz Jakubczyk (1971 - 1972, 1975 - 1977), prof. dr hab. Mieczysław Dłużewski (1972 - 1975), prof. dr hab. Andrzej Pisula (1977 - 1979), prof. dr hab. Piotr P. Lewicki (1981 - 1984), prof. dr hab. Tadeusz Haber (1984 - 1990, 1996 - 2002), prof. dr hab. Bohdan Drzazga (1990 - 1996), prof. dr hab. Andrzej Lenart (2002 - 2008) i prof. dr hab. Dorota Witrowa-Rajchert (2008 - obecnie).

Rada Wydziału w ciągu pięćdziesięciu lat nadała 262 stopnie doktora nauk technicznych lub nauk rolniczych w zakresie technologii żywności i żywienia, 84 stopnie doktora habilitowanego (w tym 48 - pracownicy SGGW, 36 - pracownicy innych uczelni krajowych lub instytutów naukowych), 31 tytułów naukowych profesora nadzwyczajnego i tytułów profesora (w tym 15 to tytuły profesora zwyczajnego i 7 stanowisko profesora zwyczajnego). Na wniosek Rady Wydziału Senat SGGW w Warszawie nadał pięciu osobom zaszczytny tytuł *doktora honoris causa*. Byli to prof. dr Aleksander I. Oparin, prof. dr Antoni Rutkowski, prof. dr hab. Stanisław Berger, prof. dr hab. Adolf Horubała i prof. dr hab. Włodzimierz Kamiński.

W latach 1961 - 2011 z Wydziałem związało swoje losy zawodowe 226 pracowników naukowo-dydaktycznych i 64 pracowników dziekanatu oraz inżynierijno-technicznych. Oddział Technologii Rolno-Spożywczej i Wydział (1955 - 2010) ukończyło łącznie 6784 absolwentów.

W strukturę Wydziału od 2002 roku wchodziły cztery katedry: Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności, Katedra Chemii, Katedra Inżynierii Żywności i Organizacji Produkcji oraz Katedra Technologii Żywności.

Obecnie na Wydziale zatrudnionych jest łącznie 130 pracowników, w tym 104 nauczycieli akademickich (10 profesorów tytularnych, 8 profesorów nadzw. SGGW, 7 doktorów habilitowanych, 78 doktorów i 1 magister) oraz 26 pracowników inżynierijno-technicznych i administracyjnych. Liczba studentów Wydziału to prawie 1600 osób, które kształcą się w ramach trzech specjalności: biotechnologia, mikrobiologia i ocena żywności, inżynieria żywności i organizacja produkcji oraz technologia żywności. Prace doktorskie w ramach studiów doktoranckich wykonuje obecnie 44 doktorantów. Realizowane są także studia podyplomowe, których zakres obejmuje bezpieczeństwo i jakość w łańcuchu żywnościowym, nowoczesne instrumentalne metody analityczne w badaniach bezpieczeństwa zdrowotnego żywności i pasz oraz zarządzanie i organizację produkcji.

Na dorobek naukowy Wydziału w ostatnich latach składa się około 200 publikacji w czasopismach punktowanych oraz ponad 200 abstraktów i opracowań popularno-naukowych w jednym roku. W latach 2006 - 2010 pracownicy Wydziału wykonali 90 ekspertyz i instrukcji wdrożeniowych, 85 różnych prac zleconych oraz uzyskali 9 patentów.


Uroczysty Jubileusz obchodziliśmy wraz z naszymi Gośćmi 29 czerwca 2011 r., w przeddzień organizowanej przez Wydział XL sesji Komitetu Nauk o Żywności Polskiej Akademii Nauk nt. „Tradycja i nowoczesność w żywności i żywieniu”. Zaszczyciło nas bardzo wielu naszych znakomitych Przyjaciół, za co serdecznie dziękujemy.

Osiągnięcia naukowe i sukcesy dydaktyczne Wydziału to efekt zdolności, pracy, poświęceń i zaangażowania wielu Pracowników, o dokonaniach których pamiętamy, wspominając Ich z szacunkiem i wdzięcznością, jako naszych nauczycieli, mentorów i przyjaciół. Składam serdeczne podziękowania Wszystkim, którzy przyczynili się do rozwoju działalności naukowo-dydaktycznej, zapewnienia wysokiego poziomu kształcenia i badań naukowych.

Każdy jubileusz skłania do refleksji i przywołuje wspomnienia. Niektóre czas porządkuje, inne zaciera, a wybranym dodaje blasku. Jednak jubileusz obchodzony przez jednostkę uniwersytecką ma charakter szczególny, ponieważ naszym przywilejem i atutem jest, niezależnie od wieku, niekończąca się młodość. Młodość tych, którzy powierzają nam swoją zawodową przyszłość i dzięki którym czujemy się potrzebni, utwierdzając się w przekonaniu, że mimo upływu lat nie starzejemy się. Wierzę, że nasi absolwenci są tak samo dumni ze swojego Wydziału jak my jesteśmy dumni z nich.

Bardzo dziękuję za gratulacje, życzenia i ciepłe słowa skierowane pod adresem naszego Wydziału. Myślę, że takie słowa dodadzą nam skrzydeł i zmobilizują do dalszego działania w imię dobrego imienia Wydziału Nauk o Żywności, naszej Alma Mater, naszych absolwentów i studentów. Bo przecież, zgodnie ze słowami mojej ulubionej poetki, Wisławy Szymborskiej, „Każdy początek to tylko ciąg dalszy, a księga zdarzeń zawsze otwarta w połowie”.

*Dorota Witrowa-Rajchert
Dziekan Wydziału Nauk o Żywności
SGGW w Warszawie*

Serdecznie zapraszam Absolwentów na jubileuszowy zjazd w dniach 20 - 21 października 2011 r. Informacje na stronie www.50latwtz.pl 

TECHNOLOG ŻYWNOSCI

INFORMATOR POLSKIEGO TOWARZYSTWA TECHNOLOGÓW ŻYWNOSCI

Rok 21 Nr 4

sierpień 2011

DZIAŁALNOŚĆ TOWARZYSTWA

Oddział Łódzki

W dniach 20 - 21 maja br. Oddział Łódzki i Sekcja Technologii Produktów Pochodzenia Roślinnego wraz z Instytutem Chemicznej Technologii Żywności i Wydziałem Biotechnologii i Nauk o Żywności PŁ zorganizowały IV Ogólnopolską Konferencję Naukową Technologów Przetwórstwa Owoców i Warzyw. W konferencji zatytułowanej „Postępy w technologii i ocenie produktów z owoców i warzyw” uczestniczyło ponad 70 przedstawicieli z 15 ośrodków z całego kraju oraz kilku przedstawicieli branżowych przedsiębiorstw. Podczas dwudniowych obrad zaprezentowano 5 referatów, 17 komunikatów i 31 krótkich, 5-minutowych wystąpień (e-posterów).

Rada Programowa czasopisma ŻYWNOSĆ

W dniu 30.06.2011 r. w Warszawie odbyło się posiedzenie Rady Programowej naszego czasopisma, któremu przewodniczył prof. dr Antoni Rutkowski. Rada przyjęła sprawozdanie merytoryczne i finansowe Redakcji za rok 2010 i I półrocze 2011 r. Przedyskutowano m.in. potrzebę dalszego podnoszenia poziomu merytorycznego czasopisma.

ZG PTTŻ i Oddział Warszawski

W dniach 30.06. - 1. 07. 2011 r. odbyła się w Warszawie XL Sesja Naukowa KNoŻ PAN zorganizowana wspólnie z Wydziałem Nauk o Żywności SGGW i Oddziałem Warszawskim PTTŻ. Tematem Sesji była: „Tradycja i nowoczesność w żywności i żywieniu”. W Sesji wzięło udział 250 uczestników.

Sesja była połączona z obchodami Jubileuszu 50-lecia Wydziału Nauk o Żywności SGGW w Warszawie. Podczas uroczystości Polskie Towarzystwo Technologów Żywności, na ręce Pani Prezes Prof. Danuty Kołożyn-Krajewskiej, otrzymało medal honorowy wraz z podziękowaniem „za wkład i zaangażowanie wniesione w rozwój Wydziału Nauk o Żywności Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego”. Prezes PTTŻ złożyła z okazji Jubileuszu 50-lecia WNoŻ SGGW, w imieniu własnym i Zarządu Głównego PTTŻ, najserdeczniejsze gratulacje

z życzeniami dalszych sukcesów naukowych i dydaktycznych oraz pomyślności w życiu osobistym Pracownikom Wydziału oraz wręczyła list gratulacyjny od ZG PTTŻ.

Sekcja Młodej Kadry Naukowej

Podczas XVI Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ pt.: „Ewolucja żywności” przyznano, jak co roku, wyróżnienia za najlepsze referaty i postery. W trakcie sesji zostały powołane trzyosobowe komisje, które wraz z Komitetem Doradczym oraz Organizacyjnym postanowiły przyznać wyróżnienia następującym osobom:

REFERATY:

1. Małgorzata Białek (SGGW) za prezentację pt.: „Sezonowe zmiany zawartości CLA tłuszczu mlecznego oraz aktywności Δ^9 -desaturazy u krów rasy czarno-białej pochodzących z regionu górskiego”.
2. Aleksandra Grześkiewicz (UWM) za prezentację pt.: „Możliwości zastosowania technologii wysokich ciśnień w produkcji mlecznych napojów fermentowanych”.
3. Mariusz Pacyński (UP Poznań) za prezentację pt.: „Ocena aromatu wybranych chlebów bezglutenowych dostępnych na rynku polskim”.
4. Ewa Fiedorowicz (UWM) za prezentację pt.: „Ekspresja genu receptora μ -opiodowego w komórkach układu immunologicznego i pokarmowego człowieka”.

POSTERY:

1. Marek Aljewicz (UWM) za poster pt.: „Ocena stopnia dojrzałości i aktywności wody serów dojrzewających”.
2. Dagmara Głód (UWM) za poster pt.: „Modyfikacja lipazy z *Rhizopus microsporus* metodą błędnej reakcji łańcuchowej polimerazy (epPCR)”.
3. Tomasz Rychlik (UP Poznań) za poster pt.: „Ser smażony – pochodzenie a cechy sensoryczne”.
4. Mirosława Teleszko (UP Wrocław) za poster pt.: „Potencjał prozdrowotny owoców róży”.

W roku bieżącym zostało również przyznane wyróżnienie „Za najbardziej aktywny udział w konferencji” otrzymał je Wojciech Dąbrowski (UWM).

Nagrodę Marszałka Województwa Warmińsko-Mazurskiego za najlepszą pracę badawczą zaprezentowaną na XVI Sesji Naukowej SMKN PTTŻ otrzymała Ewa Fiedorowicz z Katedry Biochemii, Wydziału Biologii, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie.

WAŻNIEJSZE MIĘDZYKRAJOWE I KRAJOWE
KONFERENCJE NAUKOWE W 2011 r.

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
- 22 -23 KRAKÓW = X Konferencja Naukowa z cyklu „Żywność XXI wieku” – „Żywność projektowana”.**
Organizatorzy: Oddział Małopolski PTTŻ, Wydział Technologii Żywności UR w Krakowie i Komitet Nauk o Żywności PAN.
Kontakt: dr inż. Maria Walczycka; e-mail: malczycka@ur.krakow.pl

Listopad

- 18 – 20 WARSZAWA = I Ogólnopolskie Spotkanie Młodych Technologów Żywności nt.: „Rola technologa we współczesnym przemyśle”.**
Organizatorzy: Koło Naukowe Technologów Żywności SGGW, Samorząd Studentów Wydziału Nauk o Żywności, Oddział Warszawski PTTŻ i Wydział Nauk o Żywności SGGW.
Kontakt: <http://kntz.sggw.pl/spotkanie.htm>
e-mail: spotkanie.sggw@o2.pl
- 23 – 24 WARSZAWA = VIII Konferencja Naukowa z cyklu „Jakość i bezpieczeństwo żywności” nt. „Żywność przyszłości – czyli jaka?”**
Organizatorzy: Oddział Warszawski PTTŻ, Wydział Nauk o Żywności i Katedra Inżynierii Żywności i Organizacji Produkcji SGGW
Kontakt: <http://kizop.sggw.pl/konferencjapttz/>
e-mail: konferencja_pttz@sggw.pl

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 ŻYWNOŚCI

Przy Zarządzie Głównym: **TCHIBO – WARSZAWA Sp. z o.o. Marki, RAISIO POLSKA FOODS Sp. z o.o. Karczew, FRITO – LAY POLAND Sp. z o.o. Grodzisk Mazowiecki, HORTIMEX Sp. z o.o. Konin, 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 4 (77)/2011 Biuletynu podano według stanu informacji do 1 sierpnia 2011 r. Materiały do Nr 5 (78)/2011 prosimy nadsyłać do 1 października 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 WROCLAW Tel.: 071 320 50 38; e-mail: agnieszka.kita@wnoz.up.wroc.pl
SEKCJE	
Doc. dr hab. Renata Jędrzejczak Analizy i Oceny Żywności	IBPRS, ul. Rakowiecka 36, 02-532 WARSZAWA Tel. 022 849 02 24; 0606 38 76; Fax: 022 849 04 26
Dr Karol Krajewski Ekonomiczna	WSliZ, ul. Rakowiecka 32, 02-532 WARSZAWA Tel.: 022 646 20 60; e-mail: krajewski@wsiiz.pl
Prof. dr hab. Edward Pospiech Technologii Mięsa	UP, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ Tel.: 061 848 72 60; e-mail: pospiech@up.poznan.pl
Prof. dr hab. Krzysztof Krygier Chemii i Technologii Tłuszczów	SGGW, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 WARSZAWA Tel.: 022 847 58 17; E-mail: krzysztof_krygier@sggw.pl
Prof. dr hab. Waław Leszczyński Technologii Węglowodanów	UP, ul. Norwida 25/27, 50-375 WROCLAW 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