



ŻYWNOŚĆ

Nauka Technologia Jakość

FOOD

Science Technology Quality

Nr 3 (82)

Kraków 2012

Rok 19

Redaktor naczelny: prof. dr hab. Tadeusz Sikora; tel./fax. 12 293-50-54; e-mail: sikorat@uek.krakow.pl

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

Redaktorzy: prof. dr hab. Włodzimierz Grajek (biotechnologia), prof. dr hab. Grażyna Jaworska (żywność pochodzenia roślinnego), prof. dr hab. Danuta Kolożyn-Krajewska (mikrobiologia, bezpieczeństwo i higiena żywności, żywność pochodzenia zwierzęcego), prof. dr hab. Bogusław Król (analiza i ocena żywności), prof. dr hab. Krzysztof Krygier (technologia tłuszczów, żywność funkcjonalna), prof. dr hab. Mieczysław Pałasiński (technologia węglowodanów), prof. dr hab. Stefan Ziajka (technologia mleczarstwa, zarządzanie jakością)

Redaktor statystyczny: dr Antoni Goryl

Stali współpracownicy: dr inż. Anna Florek-Paszowska (Kraków), prof. dr hab. Jacek Kijowski (Poznań), dr Grażyna Morkis (Warszawa), prof. dr hab. Maria Soral-Śmietana (Olsztyn)

Rada Naukowa: 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 Chrzanoska, prof. dr hab. Janusz Czapski, prof. dr hab. Zbigniew Czarnecki, prof. dr Henryk Daun (USA), prof. dr hab. Teresa Fortuna, prof. dr hab. Jan Gawęcki, prof. dr hab. Roman A. Grzybowski, prof. dr hab. Stanisław Gwiazda, prof. dr Jerzy Jankun (USA), prof. dr hab. Edward Kołakowski, dr Józef Korolczuk (Francja), prof. dr hab. Henryk Kostyra, prof. dr hab. Andrzej Lenart, prof. dr hab. Zdzisława Libudzisz, prof. dr Marian Naczka (Kanada), prof. dr hab. Małgorzata Nogala-Kałucka, prof. dr hab. Jan Oszmiański, prof. dr Jan Pokorny (Czechy), prof. dr Roman Przybylski (Kanada), prof. dr hab. Piotr Przybyłowski, dr hab. Bogusław Staniewski, prof. UWM, dr Alina Surmacka-Szcześniak (USA), prof. dr hab. Krzysztof Surówka, prof. dr hab. Zdzisław E. Sikorski, dr Andrzej Sośnicki (USA), prof. dr hab. Zdzisław Targoński, prof. dr hab. Tadeusz Trziszka, prof. dr hab. Stanisław Tyszkiewicz, prof. dr hab. Erwin Wąsowicz, prof. dr hab. Dorota Witrowa-Rajchert, dr John Wojciak (Kanada), prof. dr hab. Maria Wojtatowicz

Konsultanci naukowci: prof. dr hab. Zbigniew Duda, prof. dr hab. Adolf Horubała, prof. dr hab. Jan Kiszka, prof. dr hab. Helena Oberman

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 2012
Printed in Poland

Wydawanie publikacji dofinansowane przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego

ISSN 1425-6959

Czasopismo w postaci wydrukowanej jest wersją główną (pierwotną)

ADRES REDAKCJI:

31-425 KRAKÓW, AL. 29 LISTOPADA 46

Nakład: 600 egz.

SKŁAD I DRUK:



Wydawnictwo Naukowe „Akapit”, Kraków

tel./fax (012) 280-71-51; www.akapit.krakow.pl

e-mail: wn@akapit.krakow.pl

ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość

Organ naukowy PTTŻ – dwumiesięcznik

Nr 3 (82)

Kraków 2012

Rok 19

SPIS TREŚCI

Od Redakcji.....	3
SYLWIA ŻAKOWSKA-BIEMANS: Żywność tradycyjna z perspektywy konsumentów.....	5
GRETA ADAMCZYK, MAREK SIKORA, MAGDALENA KRYSZYJAN: Metody pomiaru właściwości tiksotropowych produktów żywnościowych.....	19
JÓZEF KRZYŻEWSKI, NINA STRZAŁKOWSKA, EMILIA BAGNICKA, ARTUR JÓŻWIK, JAROSŁAW O. HORBAŃCZUK: Wpływ antyoksydantów zawartych w tłuszczu pasz objętościowych na jakość mleka krów.....	35
MAGDALENA WIRKOWSKA, JOANNA BRYŚ, AGATA GÓRSKA, EWA OSTROWSKA-LIGĘZA, KATARZYNA TARNOWSKA: Próba wzbogacania tłuszczu mlecznego kwasami EPA i DHA.....	46
AGNIESZKA WIKIERA, MAGDALENA MIKA: Wpływ metyloksantyn na emulgację i biodostępność lipidów masła szacowaną <i>in vitro</i>	55
DOROTA DEREWIAKA, MIECZYŚLAW OBIEDZIŃSKI: Wpływ obróbki termicznej na zawartość steroli w oleju rzepakowym oraz w mieszaninach na bazie oleju rzepakowego.....	64
GRZEGORZ LEŚNIEWSKI, ROBERT BOROWIAK: Wpływ warunków środowiskowych na zmianę właściwości lizozymu w białku jaj kurzych.....	77
ANETA CEGIEŁKA: Zastosowanie olejów roślinnych i preparatów błonnikowych do produkcji burgerów z mięsa kurcząt.....	88
PIOTR ZAPLETAL, KATARZYNA TOMCZYK, WŁADYSŁAW MIGDAŁ, HENRYK PUSTKOWIAK, ANDRZEJ WĘGLARZ: Wpływ etapów produkcji marynat zimnych ze śledzia atlantyckiego (<i>Clupea harengus</i>) na profil kwasów tłuszczowych tłuszczu rybnego.....	101
KAMILA GODERSKA, TOMASZ RYCHLIK, EWA ANDRZEJEWSKA, ANDRZEJ SZKARADKIEWICZ, ZBIGNIEW CZARNECKI: Antagonistyczny wpływ <i>Lactobacillus acidophilus</i> dsm 20079 i dsm 20242 na bakterie patogenne izolowane od ludzi.....	114
PIOTR PATELSKI, URSZULA DZIEKOŃSKA: Wpływ selenianu(IV) sodu na wzrost i aktywność fermentacyjną drożdży piekarskich.....	132
IZABELA PRZETACZEK-ROŻNOWSKA, TERESA FORTUNA, KAROLINA PYCIA: Wpływ ogrzewania polem mikrofalowym na wybrane właściwości fizykochemiczne skrobi i maltodekstryn kukurydzianych o różnym stopniu depolimeryzacji.....	143
DOROTA PASTUSZKA, HALINA GAMBUSZ, MAREK SIKORA: Wartość odżywcza i dietetyczna pieczywa bezglutenowego z dodatkiem nasion lnu oleistego.....	155
AGNIESZKA NAWIRSKA-OLSZAŃSKA, ANITA BIESIADA, ALICJA Z. KUCHARSKA, ANNA SOKÓŁ-ŁĘTOWSKA: Wpływ sposobu przygotowania i warunków przechowywania przetworów z owoców dyni olbrzymiej z dodatkiem owoców pigwowca i derenia na ich właściwości fizykochemiczne.....	168
LUBOSŁAWA NOWACZYK: Ocena jakości i przydatności technologicznej papryki (<i>Capsicum spp.</i>) linii miękkomiękkiszowej (soft-flesh).....	179
SYLWIA SKĄPSKA, BARBARA SOKOŁOWSKA, MONIKA FONBERG-BROCZEK, JOLANTA NIEZGODA, MARTA CHÓTKIEWICZ, AGNIESZKA DEKOWSKA: Zastosowanie pasteryzacji wysokociśnieniowej do inaktywacji przetrwalników <i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i> w soku jabłkowym.....	187
MARZENA JEŻEWSKA-ZYCHOWICZ, MARIA JEZNACH, MAŁGORZATA KOSICKA-GĘBSKA: Zainteresowanie konsumentów słodzcami funkcjonalnymi a ich preferencje.....	197
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA: Interakcje składników żywności.....	207
GRAŻYNA MORKIS: Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym.....	210
ANNA FLOREK-PASZKOWSKA: Nowe książki.....	212
Twórcy polskiej nauki o żywności. Polscy uczeni w okresie zaborów i Polski odrodzonej.....	216
WACŁAW LESZCZYŃSKI: XXXV lat działalności Wydziału Nauk o Żywności Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu.....	219
Prof. Dr hab. Jan gawęcki – Doktorem <i>Honoris Causa</i> Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu.....	224
Technolog Żywności.....	226

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) – bimonthly

No 3 (82)

Kraków 2012

Vol. 19

CONTENTS

From the Editor.....	3
SYLWIA ŻAKOWSKA-BIEMANS: Traditional food from the consumers' vantage point.....	5
GRETA ADAMCZYK, MAREK SIKORA, MAGDALENA KRYSZYJAN: Methods of measuring thixotropic food products.....	19
JÓZEF KRZYŻEWSKI, NINA STRZAŁKOWSKA, EMILIA BAGNICKA, ARTUR JÓŻWIK, JAROSŁAW O. HORBAŃCZUK: Effects of antioxidants in fat contained in bulky forages on cows' milk quality.....	35
MAGDALENA WIRKOWSKA, JOANNA BRYŚ, AGATA GÓRSKA, EWA OSTROWSKA-LIGĘZA, KATARZYNA TARNOWSKA: Attempt to enhance milk fat with EPA and DHA acids.....	46
AGNIESZKA WIKIERA, MAGDALENA MIKA: Effect of methyloxantines on emulsification and bioavailability of butter lipids as assessed <i>in vitro</i>	55
DOROTA DEREWIAKA, MIECZYŚLAW OBIEDZIŃSKI: Effect of thermal processing on contents of sterols in rapeseed oil and in rapeseed oil-based mixtures.....	64
GRZEGORZ LEŚNIEWSKI, ROBERT BOROWIAK: Effect of environmental conditions on change in properties of lysozyme in hen egg white.....	77
ANETA CEGIEŁKA: Applying plant oils and fibre preparations to produce chicken meat burgers.....	88
PIOTR ZAPLETAL, KATARZYNA TOMCZYK, WŁADYSŁAW MIGDAŁ, HENRYK PUSTKOWIAK, ANDRZEJ WĘGLARZ: Impact of production stages of atlantic herring (<i>Clupea harengus</i>) cold marinades on profile of fatty acids in fish fat.....	101
KAMILA GODERSKA, TOMASZ RYCHLIK, EWA ANDRZEJEWSKA, ANDRZEJ SZKARADKIEWICZ, ZBIGNIEW CZARNECKI: Antagonistic impact of <i>Lactobacillus acidophilus</i> DSM 20079 and DSM 20242 strains on pathogenic bacteria isolated from people.....	114
PIOTR PATELSKI, URSZULA DZIEKOŃSKA: Effect of sodium selenate (IV) on growth and fermentation activity of baker's yeast.....	132
IZABELA PRZETACZEK-ROŻNOWSKA, TERESA FORTUNA, KAROLINA PYCIA: Effect of microwave irradiation on selected physical and chemical properties of corn starch and corn maltodextrins showing different dextrose equivalents.....	143
DOROTA PASTUSZKA, HALINA GAMBUSZ, MAREK SIKORA: Nutritional and dietary value of gluten-free rolls with flaxseeds added.....	155
AGNIESZKA NAWIRSKA-OLSZAŃSKA, ANITA BIESIADA, ALICJA Z. KUCHARSKA, ANNA SOKÓŁ-ŁĘTOWSKA: Effect of production method and storage conditions of pumpkin preserves enriched with Japanese quince and cornelian cherry on their physical-chemical properties.....	168
LUBOSŁAWA NOWACZYK: Assessing quality and processing usefulness of <i>Capsicum spp.</i> soft-flesh lines.....	179
SYLWIA SKĄPSKA, BARBARA SOKOŁOWSKA, MONIKA FONBERG-BROCZEK, JOLANTA NIEZGODA, MARTA CHÓTKIEWICZ, AGNIESZKA DEKOWSKA: Application of high pressure pasteurization to inactivate spores of <i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i> in apple juice.....	187
MARZENA JEŻEWSKA-ZYCHOWICZ, MARIA JEZNACH, MAŁGORZATA KOSICKA-GĘBSKA: Consumers' interest in functional sweets and consumer preferences.....	197
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA: Interactions among food components.....	207
GRAŻYNA MORKIS: Food problems in Polish and EU legislation.....	210
ANNA FLOREK-PASZKOWSKA: Book reviews.....	212
Creators of the Polish food science.....	216
WACŁAW LESZCZYŃSKI: The 35 year period of the activities of the Faculty of Food Science at the Wrocław University of Environmental and Life Sciences.....	219
Prof. Jan Gawęcki, Professor, Ph.D. has been awarded a Doctor Honoris Causa (Dr. h.c.) degree by the Wrocław University of Environmental and Life Sciences.....	224
The Food Technologist.....	226

Only reviewed papers are published

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

OD REDAKCJI

Szanowni Czytelnicy,

przekazujemy Państwu nr **3 (82)** naszego czasopisma, a w nim obok stałych działów, przede wszystkim wiele interesujących i wartościowych artykułów z różnych ośrodków naukowych w kraju. Wyrażamy nadzieję, że materiały opublikowane w tym numerze spotkają się z życzliwym przyjęciem naszych Czytelników.

W związku z nowymi kryteriami oceny czasopism naukowych, przedstawionych przez MNiSzW, dostosowaliśmy również nasze wymagania redakcyjne do tych kryteriów. Uprzejmie prosimy Autorów o dokładne zapoznanie się w tymi wymaganiami na stronie <http://www.pttz.org/zyw/index.html>

Nasz apel jest stale aktualny: **cytujmy polskich autorów publikujących w „Żywności”** w artykułach kierowanych do czasopism zagranicznych! Zwracamy 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, czerwiec 2012 r.

Redaktor Naczelny



Tadeusz Sikora

SYLWIA ŻAKOWSKA-BIEMANS

ŻYWNOŚĆ TRADYCYJNA Z PERSPEKTYWY KONSUMENTÓW

Streszczenie

Zainteresowanie żywnością tradycyjną jest przejawem nowych trendów w zachowaniach konsumentów na rynku żywności implikowanym dążeniem do zachowania i eksponowania wartości wynikających z dziedzictwa kulturowego. Wobec rosnącego popytu na żywność tradycyjną w Europie ważne wydaje się rozpoznanie sposobu postrzegania żywności tradycyjnej przez polskich konsumentów i określenie atrybutów przypisywanych tej kategorii żywności. Z literatury przedmiotu i analizy danych własnych wynika, że zdecydowana większość polskich konsumentów deklaruje nabywanie żywności tradycyjnej, a najważniejszym motywem zakupu tej żywności jest przekonanie o jej wyjątkowych walorach sensorycznych. Konsumentci sytuują tradycyjną żywność zarówno wśród produktów znanych i powszechnie spożywanych, ale jednocześnie dostrzegają w konsumpcji żywności tradycyjnej możliwość zaspokojenia hedonistycznych dążeń związanych z poszukiwaniem nowych doznań smakowych. Wśród konsumentów żywności tradycyjnej dominują osoby starsze, które troszczą się o zdrowie, bardziej angażują się w planowanie i przygotowywanie posiłków. Gotowanie postrzegają jako przejaw troski o bliskich i cenią umiejętności kulinarne. Dalszy rozwój rynku żywności tradycyjnej wymaga kreowania produktów tradycyjnych wpisujących się w coraz bardziej złożone oczekiwania konsumentów w stosunku do żywności, poprawy dostępności żywności tradycyjnej oraz doskonalenia oferty produktowej.

Słowa kluczowe: żywność tradycyjna, konsument, konceptualizacja, preferencje

Wprowadzenie

Zainteresowanie żywnością tradycyjną wpisuje się w nowe trendy postępowania konsumentów na rynku żywności implikowane dążeniem do zachowania i eksponowania wartości wynikających z dziedzictwa kulturowego. Termin „żywność tradycyjna” obejmuje różne kategorie produktów żywnościowych, wyróżniające się atrybutami wynikającymi ze specyficznych cech surowców, metod przetwarzania i miejsca pochodzenia. Istniejące w Unii Europejskiej regulacje prawne dotyczące żywności tradycyjnej precyzują kryteria przyznawania znaków jakościowych i zakres ich ochrony na

wspólnotowym rynku żywności. Jednak określenie „żywność tradycyjna” nie podlega ochronie i bywa różnie interpretowane. Wobec rosnącego popytu na żywność tradycyjną w Europie ważne wydaje się rozpoznanie sposobu postrzegania żywności tradycyjnej przez polskich konsumentów. W pracy podjęto próbę określenia na podstawie wyników badań własnych oraz danych literaturowych sposobu konceptualizacji żywności tradycyjnej przez konsumentów, przypisywanych jej atrybutów, czynników decydujących o wyborze tej kategorii żywności oraz preferencji konsumentów w stosunku do żywności tradycyjnej.

Sposób definiowania żywności tradycyjnej

Tradycja, rozumiana jako przekazywane z pokolenia na pokolenie zachowania, obyczaje, wierzenia i rytuały uznawane przez daną społeczność za ważne dla jej teraźniejszości i przyszłości, odnosi się zarówno do wytwarzania żywności, jak i jej spożywania [4]. Zgodnie z przyjętą przez Komisję Europejską definicją określenie „tradycyjny” odnosi się do żywności, która jest w obrocie na rynku wspólnotowym przynajmniej przez okres wskazujący na przekaz z pokolenia na pokolenie, co określa się jako co najmniej 25 lat [16]. Żywność tego rodzaju charakteryzuje się specyficzną cechą lub cechami, które odróżniają ją od innych podobnych produktów w ramach tej samej kategorii w zakresie „tradycyjnych składników”, z których została wytworzona, „tradycyjnego składu” oraz „tradycyjnej metody produkcji i/lub sposobu przetwarzania” [3]. Zgodnie z przytoczoną definicją, tradycyjne surowce lub półprodukty oznaczają surowce (gatunki i/lub odmiany) lub półprodukty występujące oddzielnie lub jako składnik, związane z określonym obszarem geograficznym, zgodne ze specyfikacją i krajowymi przepisami. Natomiast tradycyjny skład powinien być charakterystyczny dla grupy produktów z której pochodzi. Z kolei za tradycyjne metody produkcji i/lub przetwarzania uważane są metody, które były przekazywane z pokolenia na pokolenie [17]. Przywoływane definicje żywności tradycyjnej zawierają podstawowe kryteria decydujące o uznaniu produktu żywnościowego za tradycyjny, ale nie uwzględniają sposobu postrzegania tej kategorii żywności przez konsumentów. Stąd też w ramach projektu „Żywność tradycyjna w zjednoczonej Europie”¹ podjęto próbę określenia sposobu definiowania żywności tradycyjnej przez konsumentów. Uzyskane wyniki wskazują, że w konceptualizacji żywności tradycyjnej konsumenci odwołują się do produktów najczęściej spożywanych, ale też związanych ze szczególnymi okolicznościami (np. uroczystości rodzinne, święta), przekazywanymi z pokolenia na pokolenie, wyprodukowanymi tradycyjnymi metodami, mniej przetworzonymi oraz wyróżniającymi się cechami sensorycznymi i miejscem pochodzenia [6]. Taki sposób definiowania żywności tradycyjnej przez konsumentów wskazuje, że pojęcie „tradycyjny” utożsamiane jest z produktami, które należą zarówno do powszech-

¹ Projekt Traditional United Europe Food (Truefood); 6FP, contract number 016264

nie spożywanych, niejednokrotnie mniej przetworzonych, jak i potrawami, które przygotowuje się w związku ze świętowaniem uroczystości rodzinnych i religijnych. Należy podkreślić, że sposób postrzegania żywności tradycyjnej przez konsumentów odbiega od ujęcia przyjętego w rozwiązaniach legislacyjnych Unii Europejskiej. Istniejące regulacje prawne z zakresu produktów tradycyjnych i regionalnych służą mają wyróżnianiu produktów o szczególnych atrybutach jakościowych, wynikających zarówno z miejsca pochodzenia, jak i tradycyjnej receptury. Tymczasem konsumenci operują definicją, w której określenie „tradycyjny” w odniesieniu do żywności interpretowane jest w odwołaniu zarówno do konkretnych produktów, jak i szeroko rozumianych tradycji kulinarnych.

Atrybuty przypisywane żywności tradycyjnej

Żywność tradycyjna jest postrzegana przez konsumentów europejskich bardzo pozytywnie. W badaniach porównawczych przeprowadzonych w sześciu krajach Europy, w tym w Polsce, konsumenci dokonywali oceny wybranych atrybutów żywności, takich jak: smak, w tym również powtarzalny smak, wygląd, zdrowotność, bezpieczeństwo, wartość odżywcza, wpływ na środowisko, wpływ na lokalną gospodarkę oraz dostępność, poziom cen i czas poświęcany na przygotowanie posiłków [12]. Uzyskane wyniki wskazują, że istnieją różnice kulturowe w wartościowaniu atrybutów żywności tradycyjnej. Polscy konsumenci eksponują pozytywne cechy żywności tradycyjnej, takie jak smak i jakość, ale zdecydowanie niżej oceniają takie atrybuty, jak czas przygotowania posiłków oraz poziom cen żywności tradycyjnej. Nie oznacza to, że czas poświęcany na przygotowanie posiłków może wpłynąć negatywnie na zainteresowanie tą kategorią żywności wśród polskich konsumentów. Postrzeganie żywności tradycyjnej jako charakteryzującej się wysokim poziomem cen może wynikać z przekonania, że produkcja tradycyjnymi metodami jest czasochłonna i tym samym wiąże się z wyższymi kosztami, co w rezultacie przekłada się na wysoki poziom cen. W mniejszym stopniu polscy konsumenci aniżeli konsumenci z innych krajów Europy, jak wynika z przywoływanych wyników badań porównawczych, zgodzili się ze stwierdzeniem, że żywność tradycyjna charakteryzuje się porównywalną jakością. Powstaje jednak pytanie czy konsumenci oczekują od żywności tradycyjnej porównywalnej jakości czy też są skłonni np. zaakceptować różnice w profilu sensorycznym produktów tradycyjnych. Kwestie te wymagają dalszego pogłębienia, tak aby w pełni rozpoznać czynniki składające się na poziom satysfakcji z konsumpcji żywności tradycyjnej. Natomiast w większym stopniu aniżeli konsumenci z innych krajów Europy, polscy konsumenci przypisują żywności tradycyjnej pozytywny wpływ na środowisko i korzystne oddziaływanie na lokalną gospodarkę [12]. Hiszpanie i Włosi cenią żywność tradycyjną ze względu na wyjątkowy smak i porównywalną jakość, atrakcyjny wygląd oraz wysoką wartość odżywczą. Konsumenci belgijscy uważają, że żywność tradycyjną wyróżnia

dobry smak i wysoka jakość. Natomiast w opinii konsumentów francuskich żywność tradycyjna to produkty wyróżniające się jakością, ale jednocześnie o wysokim poziomie cen. Z kolei konsumenci norwescy zdecydowanie niżej ocenili zdrowotność jako atrybut żywności tradycyjnej, co może wynikać z zaobserwowanego we wcześniejszych badaniach na temat postrzegania żywności tradycyjnej, przekonania, że żywność tradycyjna to produkty o wysokiej zawartości tłuszczu [6]. Stąd też konsumenci norwescy negatywnie postrzegają żywność tradycyjną w kontekście dążenia do zachowania właściwej masy ciała [13]. Analogiczną zależność zaobserwowano w przypadku polskich konsumentów, co również może być związane z postrzeganiem żywności tradycyjnej z perspektywy tradycyjnej kuchni polskiej. W badaniach Jeżewskiej-Zychowicz [9], zrealizowanych wśród polskich konsumentów, najczęściej wskazywano, że kuchnia polska jest smaczna (92,1 %), tradycyjna (90,5 %), ale jednocześnie tłusta (76,2 %). Ponadto 44,2 % respondentów określiło kuchnię polską jako niezdrową. Można stwierdzić, że konsumenci polscy, podobnie jak norwescy, w większym stopniu w konceptualizacji żywności tradycyjnej odwołują się do tradycji kulinarnych aniżeli do konkretnych produktów oferowanych jako tradycyjne. Potwierdzają to wyniki badań wśród polskich konsumentów zrealizowane metodą skojarzeń słownych, w których określenie „tradycyjny” w odniesieniu do żywności było najczęściej łączone z daniem/potrawą, rodzinnym/domowym smakiem oraz pochodzeniem „krajowy”, „narodowy” [15]. Vanhonacker i wsp. [18] podkreślają, że polscy konsumenci łączą żywność tradycyjną z produktami, które w przeszłości były powszechnie spożywane i ewoluowały w kierunku produktów, które spożywa się w związku z wyjątkowymi wydarzeniami czy też uroczystościami. Konsumenci belgijscy natomiast kategoryzują jako żywność tradycyjną produkty znane i powszechnie spożywane [12]. Zdaniem Guerrero i wsp. [7] znaczący wpływ na sposób postrzegania żywności tradycyjnej mają zwyczaje i nawyki żywieniowe, które należy traktować jako element przekazu pokoleniowego. W rezultacie konsumenci opisują wyróżniki żywności tradycyjnej, odwołując się do swoich doświadczeń i zarówno produktów, spożywanych przy specjalnych okazjach oraz w związku ze świętami religijnymi, jak również dostępnych okresowo. Potwierdzają to wyniki badań własnych, w których najczęściej wymienianymi okolicznościami towarzyszącymi konsumpcji żywności tradycyjnej były: „bez okazji”, „na co dzień”, ale również podczas spotkań rodzinnych, w tym uroczystości religijnych [20].

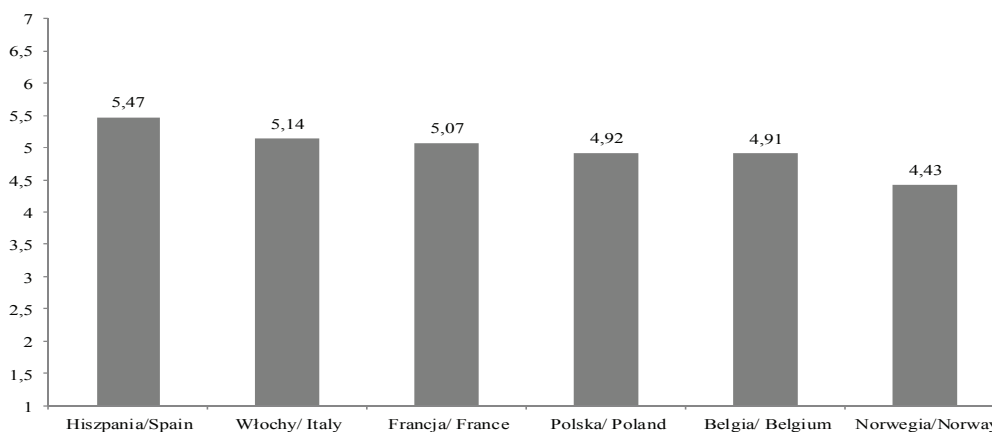
Lengard Almlı i wsp. [12] podjęli próbę określenia zależności pomiędzy wizerunkiem żywności tradycyjnej i przypisywanymi jej atrybutami. Z przeprowadzonych analiz wynika, że atrybuty sensoryczne są pozytywnie skorelowane z atrybutami, takimi jak: „zdrowie”, „pozytywny wpływ na środowisko”, „wsparcie lokalnej gospodarki”, co potwierdza tezę, że żywność tradycyjna wpisuje się w oczekiwania konsumentów związane z walorami sensorycznymi i dążeniem do społecznie odpowiedzialnej konsumpcji. Jednocześnie wizerunek żywności tradycyjnej jest negatywnie skorelowa-

ny z „dostępnością”, „poziomem cen”, „asortymentem” oraz „wygodą zakupu” i „łatwością przygotowania”. Nie oznacza to jednak, że konsumenci postrzegają te atrybuty jako negatywne cechy żywności ekologicznej. Czas poświęcony na dokonanie zakupu i przygotowanie tradycyjnych produktów czy też potraw może być interpretowany jako wyraz troski o najbliższych. Natomiast niedogodności wynikające z ograniczonej dostępności żywności tradycyjnej traktowane przez konsumentów polskich i norweskich jako wyznacznik wyjątkowości tej kategorii żywności.

Przypisywane żywności tradycyjnej atrybuty wskazują, że konsumenci sytuują żywność tradycyjną jako produkty znane i powszechnie spożywane, ale jednocześnie dostrzegają w konsumpcji żywności tradycyjnej możliwość zaspokojenia hedonistycznych dążeń związanych z poszukiwaniem nowych doznań smakowych.

Czynniki decydujące o wyborze żywności tradycyjnej

Atrybuty przypisywane żywności tradycyjnej przez polskich konsumentów wskazują na ich pozytywne nastawienie emocjonalne do tej kategorii żywności, co znajduje odzwierciedlenie w deklaracjach dotyczących zakupu żywności tradycyjnej. W największym stopniu za konsumentów żywności tradycyjnej uważają się Hiszpanie, Włosi oraz Francuzi, co wskazuje na związek pomiędzy położeniem geograficzno-kulturowym, a subiektywną oceną wielkości i częstotliwości konsumpcji żywności tradycyjnej (rys. 1). Konsumenci polscy i belgijscy z kolei częściej przyznają, że są konsumentami żywności tradycyjnej aniżeli konsumenci norwescy.



*w badaniu zastosowano skalę 7-stopniową, gdzie „1” oznaczało, że respondent w ogóle nie uważa się za konsumenta żywności tradycyjnej. Natomiast „7” oznaczało, że respondent zdecydowanie uważa się za konsumenta żywności tradycyjnej / in the survey, a 7 point rating scale was applied; here “1” stood for “I am not at all considering myself as a traditional food consumer” whereas “7” stood for “I very much consider myself a traditional food consumer”.

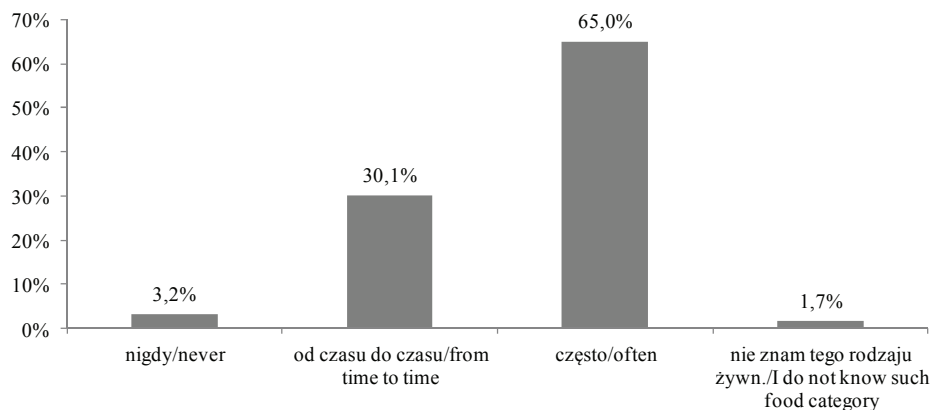
Rys 1. Subiektywne oceny konsumpcji żywności tradycyjnej.

Fig. 1. Subjective ratings of traditional food consumption.

Źródło: opracowanie na podstawie: [12]/Source: Elaborated on the basis of [12]

Z badań własnych zrealizowanych w grudniu 2008 roku na 1005 osobowej reprezentatywnej próbie polskich konsumentów wynika, że 65 % konsumentów często kupuje żywność tradycyjną, a 30,1 % przyznaje, że sięga po ten rodzaj żywności od czasu do czasu [21] (rys. 2).

Tym samym zdecydowana większość polskich konsumentów określa się jako konsumenci żywności tradycyjnej. Wśród respondentów deklarujących, że kupują żywność tradycyjną „bardzo często” przeważają kobiety oraz osoby powyżej 40. roku życia (tab. 1). Zdecydowanie częściej po żywność tradycyjną sięgają osoby na emeryturze oraz zamieszkujące gospodarstwa domowe liczące powyżej 4 osób. Natomiast nie obserwuje się zależności pomiędzy poziomem wykształcenia oraz subiektywną oceną sytuacji dochodowej konsumentów a deklarowaną częstotliwością zakupu żywności tradycyjnej.



Rys. 2. Deklarowana częstotliwość zakupu żywności tradycyjnej przez polskich konsumentów [%].

Fig. 2. Declared frequency of buying traditional food among Polish consumers [%].

Źródło: opracowanie na podstawie [21] / Source: elaborated on the basis of [21]

Tabela 1

Charakterystyka społeczno-demograficzna polskich konsumentów żywności tradycyjnej.
 Socio-demographic profile of Polish consumers of traditional food.

Charakterystyka społeczno-demograficzna Socio-demographic profile	Liczba osób Number of respondents	Deklarowana częstotliwość zakupu żywności tradycyjnej Traditional food purchase frequency rate as declared by the consumer			
		Nigdy [%] Never [%]	Od czasu do czasu [%] From time to time [%]	Bardzo często [%] Very often [%]	Nie znam takiego rodzaju żywn. [%] I do not know such food category [%]
Płeć: / Gender:					
mężczyzna / male	480	4	34*	60*	1
kobieta / female	525	2	26*	69*	2
Wiek: / Age:					
15-19 lat/15-19 years old	83	7	41*	49*	2
20-29 lat/20-29 years old	198	3	39*	57*	0
30-39 lat/30-39 years old	170	4	38*	54*	5
40-49 lat/40-49 years old	158	0*	26	73*	2
50-59 lat/years old	179	1	26	72*	0
60 lat i więcej/60 years and above	217	5	18*	76*	1
Wykształcenie: / Education:					
podstawowe / primary	232	6*	28	65	1
zasadnicze zawodowe / lower vocational	281	2	33	64	1
średnie / secondary	341	3	28	67	3
wyższe / higher	151	2	34	63	1
Grupa społeczno-zawodowa: Socio-professional group:					
specjaliści / specialists	74	1	29	69	1
prywatni przedsiębiorcy / private entrepreneurs	30	4	30	66	0
pracownicy administracji i usług / employer in administration and service sectors	154	3	37	58*	3
robotnicy / labourers	178	0	36	63	2
rolnicy / farmers	38	1	26	73	0
zajmuje się domem / housewives	49	6	31	61	2
emeryci / retired persons	286	4	21*	73*	2
uczniowie i studenci pupils and students	124	8	38*	53*	2
bezrobotni/unemployed	73	3	30	66	2

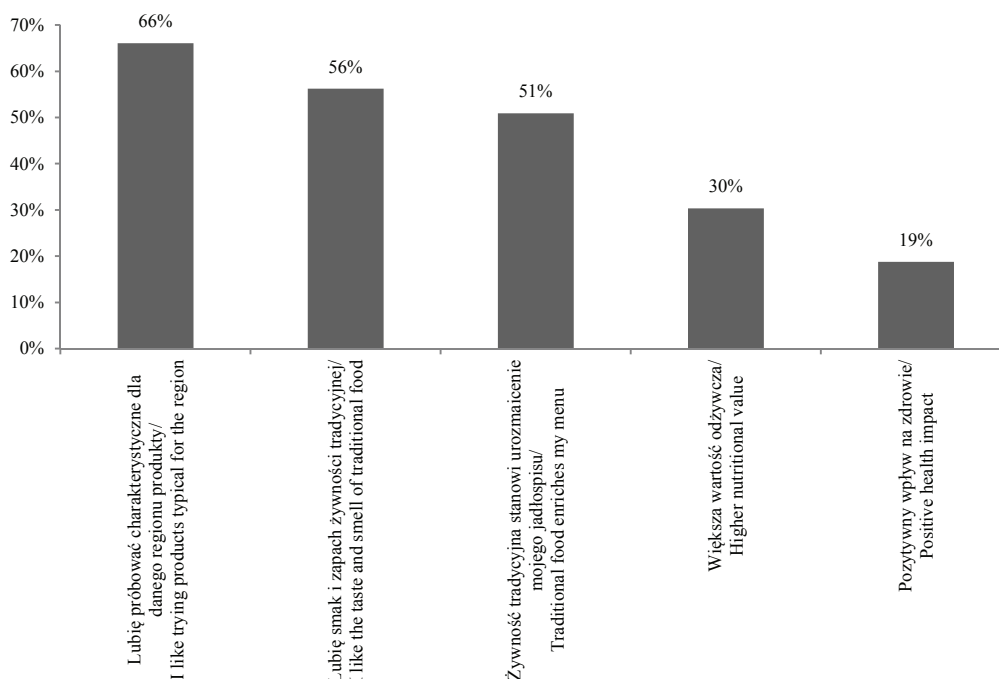
c.d. tab. 1

Ocena sytuacji materialnej: Evaluation of income situation:					
dobra / good	267	4	33	61	2
średnia / average	586	2*	29	67	2
zła / Bad	151	6	28	65	1
Wielkość gosp. domowego: Household size:					
1 osoba / 1 person	121	6	27	65	3
2 osoby / 2 persons	290	2	28	69	2
3 osoby / 3 persons	239	5*	30	63	1
4 osoby / 4 persons	170	1*	28	69	2
5 osób i więcej / 5 persons and more	185	4	38*	58*	1
Miejsce zamieszkania: Place of residence:					
wieś / rural area	380	2	31	65	1
do 20 tys. / up to 20 thousand inhabitants	130	4	28	65	3
od 20 do 100 tys. / from 20 to 100 thousand inhabitants	197	4	25	70	1
od 100 do 500 tys. / from 100 to 500 thousand inhabitants	178	3	34	60	3
500 tys. i powyżej / 500 thousand and above	121	3	31	64	1

Źródło: [21]/Source: [21]

*różnice statystycznie istotne / *statistically significant differences

W badaniach Borowskiej [1] realizowanych na reprezentatywnej próbie polskich konsumentów wysokim udziałem wśród konsumentów deklarujących dokonywanie zakupów żywności tradycyjnej wyróżniały się osoby w wieku od 30 do 39 roku życia, legitymujące się wyższym wykształceniem. Poziom wykształcenia jako czynnik predysponujący do zakupu żywności tradycyjnej wskazywany był również przez Vanhonnackera i wsp. [19]. Należy jednak podkreślić, że wybór żywności tradycyjnej jest egzemplifikacją zarówno przywiązania do tradycji, jak i nowych trendów w rozwoju globalnego rynku żywności. Stąd też wśród czynników wpływających na zainteresowanie żywnością tradycyjną należy uwzględnić zmienne reprezentujące różnorakie determinanty wyboru żywności oraz styl życia konsumentów. Najważniejszym motywem wyboru żywności tradycyjnej przez polskich konsumentów jest przekonanie o jej wysokiej jakości i wyjątkowych walorach smakowych [1, 20]. Konsumenty dokonujący zakupu żywności tradycyjnej najczęściej odwoływali się do aspektów hedonistycznych, a głównym czynnikiem skłaniającym ich do zakupu żywności tradycyjnej było dążenie do zaspokojenia potrzeb związanych z poszukiwaniem nowych doznań kulinarnych – „lubię próbować charakterystyczne dla danego regionu produkty” oraz walory sensoryczne – „odpowiada mi smak i zapach tych produktów” [20] (rys. 3).



Rys. 3. Czynniki wpływające, w opinii polskich konsumentów, na decyzję o zakupie żywności tradycyjnej.

Fig. 3. Factors impacting the decision of buying traditional food in the opinion of Polish consumers.

Źródło: [20] / Source: [20]

W hierarchii czynników decydujących o zakupie żywności tradycyjnej, w badaniu Borowskiej [1], na pierwszym miejscu wymieniano walory smakowe, co potwierdza znaczenie smaku jako kryterium determinującego decyzję o zakupie tej kategorii żywności. Jednocześnie badani konsumenci przyznali, że dużą rolę przy wyborze tego typu żywności odgrywały: „zawartość naturalnych składników”, „wysoka jakość” oraz „znane pochodzenie tych produktów”. Badania Rybowskiej i Chelstowskiej [14] również potwierdzają, że czynnikiem motywującym konsumentów do zakupu żywności tradycyjnej są jej walory sensoryczne. Pieniak i wsp. [13] na podstawie wyników badań porównawczych wśród konsumentów europejskich stwierdzili, że „zdrowotność” i „orientacja na wygodę” nie są skorelowane z wyborem żywności tradycyjnej. Natomiast obserwuje się związek pomiędzy żywnością tradycyjną a takimi czynnikami wyboru żywności, które odwołują się do atrybutu „znane” w rozumieniu poszukiwania żywności, którą znam i lubię oraz „naturalnej zawartości”. Określenie „naturalna zawartość” może być interpretowane przez konsumentów w odniesieniu do pochodzenia

surowców oraz sposobu przetwarzania żywności. W kontekście analizy czynników wyboru żywności tradycyjnej przez polskich konsumentów należy podkreślić, że przekonanie o świeżości i zawartości naturalnych składników jest ważnym motywem wyboru żywności tradycyjnej [1]. Vanhonacker i wsp. [18], w pracy na temat profilu europejskich konsumentów żywności tradycyjnej, dokonali charakterystyki konsumentów żywności tradycyjnej z uwzględnieniem zmiennych odnoszących się do stylu życia. Uzyskane wyniki wskazują, że postawy i zachowania konsumentów żywności tradycyjnej różnią się w aspekcie „orientacji na zdrowie”, „podejścia do gotowania” i „dokonywania zakupów żywności”, od deklarowanych przez respondentów, którzy nie uważali się za konsumentów żywności tradycyjnej. Konsumenty żywności tradycyjnej troszczą się o zdrowie, bardziej angażują się w planowanie i przygotowywanie posiłków. Gotowanie postrzegają jako przejaw troski o bliskich i cenią umiejętności kulinarne. Stwierdzono również związek pomiędzy przejawianiem postawy etnocentrycznej a zainteresowaniem żywnością tradycyjną. Konsumenty wartościujący znaczenie kraju pochodzenia częściej wskazują, że są konsumentami żywności tradycyjnej. Polscy konsumenci przejawiają postawy etnocentryczne w odniesieniu do żywności, co również może być czynnikiem skłaniającym ich do wyboru tradycyjnych produktów.

Preferencje konsumentów w stosunku do żywności tradycyjnej

Polscy konsumenci w kategorii żywności tradycyjnej sytuują najczęściej produkty przetworzone oraz potrawy kuchni polskiej. Do najbardziej znanych produktów tradycyjnych należą sery, w tym między innymi oscypek, bryndza i bundz oraz tradycyjne wędliny [1, 20]. Spośród potraw kategoryzowanych jako żywność tradycyjna najczęściej przywoływane są pierogi oraz bigos. Ponadto konsumenci deklarują znajomość tradycyjnych wyrobów piekarsko-cukierniczych w tym między innymi pieczywa tradycyjnego oraz sękacza. Jako produkty tradycyjne są również klasyfikowane napoje alkoholowe i bezalkoholowe, w tym np. śliwowica łącka. Do najczęściej kupowanych produktów tradycyjnych należą przetwory mięsne, a przede wszystkim wędliny, takie jak np. kabanosy czy kielbasa lisecka.

Najczęściej wskazywanym miejscem zakupu żywności tradycyjnej są pobliskie sklepy spożywcze, supermarkety oraz bazary i targowiska, ale również sklepy specjalistyczne np. z żywnością tradycyjną lub też ekologiczną [1, 20]. Ważną rolę konsumenci żywności tradycyjnej przypisują bezpośrednim zakupom od producentów, co znajduje również potwierdzenie w wynikach europejskich badań porównawczych [18]. Obecne miejsca zakupu żywności tradycyjnej nie odbiegają od tych wskazywanych jako preferowane. Polscy konsumenci cenią sklepy specjalistyczne oraz preferują zakupy bezpośrednio od producentów, a z drugiej strony chcieliby dokonywać zakupu tej

kategorii żywności w super- i hipermarketach, które należą do coraz częściej wybieranych miejsc zakupu żywności.

Interesujących spostrzeżeń dostarcza analiza zależności pomiędzy sposobem postrzegania żywności tradycyjnej przez konsumentów a ich postawami i zachowaniami. Lengard Almlı i wsp. [12] podkreślają, że konsumenci żywności tradycyjnej nie są zorientowani na wygodę w rozumieniu wygody użytkowania i czasu poświęcanego na przygotowanie posiłków, co może mieć implikacje dla ich zachowań rynkowych. Można jednak spodziewać się w kontekście tendencji w rozwoju rynku żywności, że konsumenci żywności tradycyjnej będą poszukiwać produktów łączących atrybuty żywności tradycyjnej i wygodnej, co wymagać będzie różnicowania oferty i poszukiwania produktów o atrybutach innowacyjnych [2, 10]. Z badań Guerrero i wsp. [8] wynika, że innowacyjny i tradycyjny to pojęcia, które w opinii konsumentów wzajemnie się wykluczają. W rezultacie konsumenci mogą traktować innowacje w żywności tradycyjnej jako swoiste naruszenie integralności i autentyczności tej kategorii żywności.

Vanhonacker i wsp. [18] dokonali segmentacji konsumentów europejskich z uwzględnieniem sposobu postrzegania żywności tradycyjnej, deklarowanych zachowań rynkowych oraz znajomości i zainteresowania znakami jakości odnoszącymi się do żywności tradycyjnej. Wyodrębniono cztery segmenty określane jako „wiele koncepcji”, „znane/bliskie”, „autentyczne, charakterystyczne” oraz „dziedziczone”. W segmencie „autentyczne, charakterystyczne” zdecydowanie przeważali konsumenci polscy i włoscy. Konsumenci zgrupowani w tym segmencie wyróżniali się dokonywaniem zakupów w sklepach specjalistycznych i na targowiskach oraz największym zainteresowaniem znakami jakości żywności tradycyjnej. Jednak znajomość znaków wyróżniających produkty tradycyjne jest stosunkowo mała zarówno wśród konsumentów polskich, jak i z innych krajów Europy [19]. Poszukiwanie żywności tradycyjnej w sklepach specjalistycznych oraz zwracanie uwagi na znaki jakości sugeruje, że konsumenci polscy i włoscy oczekują określonych gwarancji autentyczności i wyjątkowego charakteru żywności tradycyjnej. Kwestie te należy uwzględnić w działaniach z zakresu komunikacji marketingowej realizowanych wśród polskich konsumentów. Pomimo że żywność tradycyjna postrzegana jest bardzo pozytywnie konsumenci dostrzegają różne bariery jej zakupu związane przede wszystkim z dostępnością tej kategorii żywności, poziomem cen oraz brakiem informacji na temat miejsc jej sprzedaży [20]. Wśród barier zakupu żywności tradycyjnej wymieniany jest również wysoki poziom cen. Czynniki te mogą wpłynąć na skłonność do zakupu tego rodzaju żywności wobec obserwowanych na rynku globalnym wzrostów cen żywności i zwiększania udziału wydatków na żywność. Jednak działania na rzecz obniżenia poziomu cen żywności tradycyjnej i regionalnej mogłyby spowodować zdeprecjonowanie jej wizerunku. Żywność tradycyjna powinna być pozycjonowana jako produkt wysokiej jakości,

o wyjątkowych walorach smakowych, co wymaga kreowania adekwatnych strategii cenowych.

Podsumowanie

Współczesny konsument staje się wielokulturowy, z jednej strony obserwuje się skłonność do poddawania się trendom globalnym, z drugiej zaś dążenie do zachowania kulturowej tożsamości, czego przejawem jest rosnące zainteresowanie żywnością tradycyjną. Dostępne dane na temat uwarunkowań konsumpcji żywności tradycyjnej pozwalają na stwierdzenie, że żywność tradycyjna postrzegana jest przez konsumentów w sposób bardzo pozytywny, a najważniejszą determinantą jej wyboru jest przekonanie o szczególnych walorach smakowych tej kategorii żywności. Należy jednak podkreślić, odwołując się do sposobu konceptualizacji żywności tradycyjnej, że deklaracje te dotyczą zarówno produktów, które pozycjonowane są jako żywność tradycyjna, w tym opatrzonych znakami informującymi o ich tradycyjnym charakterze, jak również wyrażane opinie odzwierciedlają przywiązanie do tradycyjnej kuchni polskiej i produktów typowych dla różnych regionów geograficzno-kulturowych Polski. Stąd też konsumenci kategoryzują jako żywność tradycyjną zarówno produkty, które zostały spopularyzowane w wyniku działań promocyjnych realizowanych w związku z przystąpieniem Polski do Unii Europejskiej i procesami rejestracji tych produktów, jak np. oscypek, jak i tradycyjne produkty i potrawy kuchni polskiej o zasięgu ponadregionalnym np. pierogi. Warto zwrócić uwagę na to, że spożycie żywności tradycyjnej wiąże się zdaniem polskich konsumentów z wyjątkowymi okolicznościami, takimi jak spotkania rodzinne, co służy kultywowaniu i przekazywaniu tradycji, a to z kolei decyduje o istocie żywności tradycyjnej. Konsumenci żywności tradycyjnej wyróżniają się dobrą sytuacją dochodową i wyższym poziomem wykształcenia. Niejednokrotnie są to osoby w starszym wieku, co wskazuje na to, że konieczne jest różnicowanie oferty i kreowanie produktów adresowanych do młodszych konsumentów. Wymaga to jednak dobrego rozpoznania czynników determinujących wybór żywności tradycyjnej w tej grupie docelowej. Młodszy konsumenci mogą wykazywać skłonność do zaakceptowania produktów łączących atrybuty żywności tradycyjnej i wygodnej. Wyniki badań porównawczych konsumentów europejskich wskazują, że konsumenci żywności tradycyjnej w większym stopniu angażują się w przygotowywanie posiłków i częściej dokonują zakupów w bezpośrednich kanałach sprzedaży żywności. Wskazuje to na wartościowanie tradycyjnych form sprzedaży żywności, ale też wiąże się z poszukiwaniem produktów świeżych i różnorodnych. Pozytywne nastawienie konsumentów do żywności tradycyjnej powinno sprzyjać rozwojowi tego segmentu rynku. Konieczne jest jednak opracowanie strategii komunikowania różnorodnych atrybutów żywności tradycyjnej,

szczególnie tych wynikających z funkcjonowania żywności tradycyjnej w ramach polityki jakości produktów rolnych Unii Europejskiej.

Literatura


- [1] Borowska A.: Charakterystyka konsumentów produktów tradycyjnych/regionalnych w Polsce. Raport z badań grant Fundacji „Fundusz Współpracy”, Warszawa 2007.
- [2] Cayot N.: Sensory quality of traditional foods. *Food Chem.*, 2007, **101** (1), 154-162
- [3] EuroFIR Consortium (FOOD-CT-2005-513944; 6PR UE), [on-line] www.eurofir.net/public.asp?id=4292&cachefixer, 2008.
- [4] Gawęcki J., Swulińska-Katulska A.: Żywność tradycyjna na tle kulturowych uwarunkowań żywienia. *Mat. Międzyn. Konf. Nauk. „Tradycyjne i regionalne technologie w żywieniu człowieka”*. Oddz. Lubelski PTTŻ, Lublin 2008.
- [5] Gutkowska K., Żakowska-Biemans S., Sajdakowska M.: Preferencje konsumentów w zakresie możliwych do zastosowania innowacji w produktach tradycyjnych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, **3** (64), 115-125
- [6] Guerrero L., Claret A., Verbeke W., Enderli G., Zakowska-Biemans S., Vanhonacker F., Issanchou S., Sajdakowska M., Signe Granli B., Scalvedi L., Contel M., Hersleth M.: Perception of traditional food products in six European countries using free word association. *Food Quality and Preference*, 2010, **21**(2), 225-233.
- [7] Guerrero L., Guardia M. D., Xicola J., Verbeke W., Vanhonacker F., Zakowska-Biemans S., Sajdakowska M., Sulmont-Rosse C., Issanchou S., Contel M., Scalvedi L., Signe Granli B., Hersleth M.: Consumer-driven definition of traditional food products and innovation in traditional foods. A qualitative cross-cultural study. *Appetite*, 2009, **52** (2), 345-354.
- [8] Guerrero L., Claret A., Verbeke W., Vanhonacker F., Enderli G., Sulmont-Rosse C., Hersleth M., Guardia M.D.: Cross-cultural conceptualization of the words Traditional and Innovation in a food context by means of sorting task and hedonic evaluation. *Food Quality and Preference*, 2012, **25** (1), 69-78.
- [9] Jeżewska-Zychowicz M.: Wybrane zachowania młodych konsumentów na rynku żywności tradycyjnej i ich uwarunkowania. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, **3** (64), 126-136.
- [10] Jordana J.: Traditional foods: Challenges facing the European food industry. *Food Res. Int.*, 2000, **33** (3-4), 147-152.
- [11] Kuznesof S., Tregear A., Moxey A.: Regional foods: A consumer perspective. *Br. Food J.*, 1997, **99** (6), 199-206.
- [12] Lengard Almlı V., Verbeke W., Vanhonacker F., Næs T., Hersleth M. General image and attribute perception of traditional food. *Food Quality and Preference*, 2011, **22** (1), 129-138.
- [13] Pieniak Z., Verbeke W., Vanhonacker F., Guerrero L., Hersleth M.: Association between traditional food consumption and motives for food choice in six European countries. *Appetite*, 2009, **53** (1), 101-108.
- [14] Rybowska A., Chelstowska K.: Postawy konsumentów w stosunku do żywności regionalnej. *Rocz. Nauk. Stowarzyszenia Ekonomistów*, 2007, **t. VIII** (4), 166-168.
- [15] Sajdakowska M., Żakowska-Biemans S. Postrzeganie żywności tradycyjnej przez polskich konsumentów na podstawie badań jakościowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, **3** (64), 95-104.
- [16] Rozporządzenie Rady (WE) nr 509/2006 z dnia 20 marca 2006 r. w sprawie produktów rolnych 31.3.2006.
- [17] Trichopoulou A., Soukara S., Vasilopoulou E.: Traditional foods: A science and society perspective. *Trends in Food Science & Technology*, 2007, **18** (8), 420-427.

- [18] Vanhonacker F., Lengard V., Hersleth M., Verbeke W.: Profiling European traditional food consumers. *Br. Food J.*, 2010, **112 (8)**, 871-886.
- [19] Vanhonacker F., Verbeke W., Guerrero L., Claret A., Sulmont-Rossé C., Raude J., Signe Granli B., Hersleth M.: How European consumers define the concept of traditional food: Evidence from a survey in six countries. *Agribusiness*, 2010, **26 (4)**, 453-476.
- [20] Żakowska-Biemans S., Kuc K.: Żywność tradycyjna i regionalna w opinii i zachowaniach polskich konsumentów. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, **3 (64)**, 105-114.
- [21] Żakowska-Biemans S.: Raport z badania postaw i zachowań konsumentów w stosunku do żywności. Dane niepublikowane, Wydział Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji SGGW, Warszawa 2009.

TRADITIONAL FOOD FROM THE CONSUMERS' VANTAGE POINT

S u m m a r y

The interest in traditional foods is a sign of new trends in consumer behaviour in the food market implied by a desire to preserve and expose values resulting from cultural heritage. In the light of the growing demand for traditional foods in Europe, it seems important to identify the way the Polish consumers perceive traditional foods and to determine the attributes associated with this food category. The analysis of the reference literature and of the author's own data shows that the vast majority of Polish consumers state that they purchase traditional food; their most important motivation for purchasing traditional food is belief about its exceptional sensory qualities. The consumers locate traditional foods amid the known and commonly consumed products, but, simultaneously, they perceive the consumption of traditional foods as a possibility to fulfil hedonistic desires related with the search for new taste experiences. In the group of consumers of traditional foods, older people prevail, i.e. the people who are concerned about their health and who are more engaged in planning and preparing their meals. They perceive the cooking as a manifestation of their concern for the beloved and they appreciate culinary skills. In order to further develop the traditional food market, it is necessary to create traditional products that are in line with more and more complex consumer expectations towards food products, to improve the availability of traditional foods, and to master the offer of such products.

Key words: traditional food, consumer, conceptualization, preferences 

GRETA ADAMCZYK, MAREK SIKORA, MAGDALENA KRYSZYJAN

METODY POMIARU WŁAŚCIWOŚCI TIKSOTROPOWYCH PRODUKTÓW ŻYWNOŚCIOWYCH

Streszczenie

Produkty żywnościowe są układami złożonymi, których właściwości reologiczne ulegają zmianom w czasie, najczęściej zmianom niekorzystnym. Zmiany te można prześledzić poprzez badanie właściwości tiksotropowych. W pracy przedstawiono metody badania właściwości tiksotropowych artykułów żywnościowych, które są pomocne przy ilościowym i jakościowym określaniu zjawiska tiksotropii. Nie ma procedury pozwalającej jednoznacznie określić właściwości tiksotropowe, jednak dzięki przedstawionym metodom można wyznaczyć parametry reologiczne oraz określić w pewnym zakresie stabilność produktów spożywczych.

Słowa kluczowe: tiksotropia, pętla histerezy, metoda skoku ścinania

Wstęp

Produkty żywnościowe charakteryzują się złożonymi właściwościami reologicznymi, ponieważ ich lepkość nie zależy tylko od temperatury i składu, ale także od naprężenia ścinającego, prędkości ścinania, czasu ścinania, jak i wcześniejszej historii ścinania oraz historii termicznej [11, 41]. Wynika to z faktu, że produkty żywnościowe są zawiesinami koloidalnymi cząsteczek, takich jak ciała stałe i niemieszające się ciecze czy biopolimerami, które w wyniku interakcji pomiędzy sobą wpływają na stabilność reologiczną zawiesiny [46]. Przykładem takiej dyspersji koloidalnej jest majonez, stężona emulsja oleju w środowisku wodnym [1].

Kiedy materiał jest ścinany ze stałą prędkością, lepkość pozorna materiału tiksotropowego będzie się zmniejszać wraz z czasem ścinania, co oznacza, że struktura ulega zniszczeniu. Właściwości takie wykazują produkty spożywcze zawierające biopolimery [1].

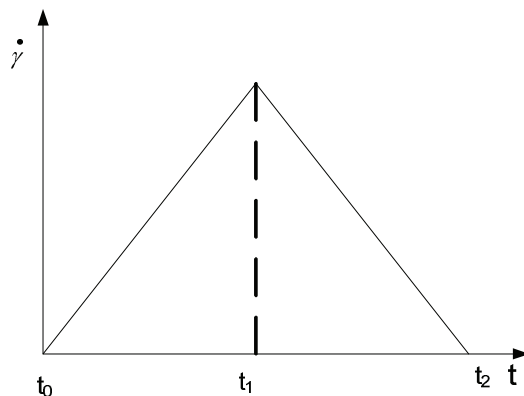
Właściwości płynów tiksotropowych są na tyle złożone, że nie można precyzyjnie i powtarzalnie określić ich ilościowo. Pomimo wielu modeli matematycznych w prak-

tyce nie istnieje procedura pozwalająca na jednoznaczne wyznaczenie parametrów reologicznych. Nie istnieje także jedna przyjęta zasada pomiaru tiksotropii [5, 14, 18].

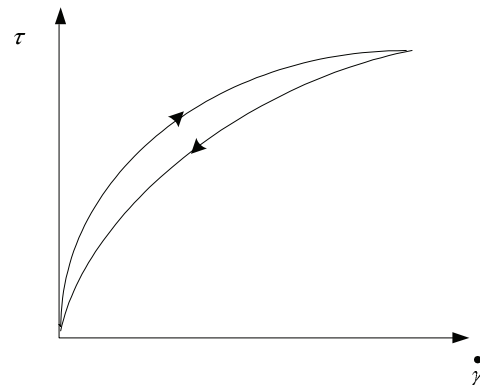
Celem pracy jest poszerzenie wiedzy, zawartej w publikacji Sikory i wsp. [37] w odniesieniu do zjawisk tiksotropowych zachodzących w produktach żywnościowych, w zakresie metod pomiaru tych zjawisk.

Test pętli histerezy

Jedną z najczęściej używanych metod do charakteryzowania tiksotropii, czy antytiksotropii jest test pętli histerezy. Technika pętli histerezy została przedstawiona po raz pierwszy przez Greena i Weltmana [15]. W układzie reometru płyn poddaje się zmianom ścinania przy stopniowo rosnącej, a następnie malejącej prędkości, które przedstawiono na rys. 1. Gdy dane wykreśla się jako naprężenie w funkcji prędkości ścinania, próbkę tiksotropową opisuje pętla histerezy. Miarą cech tiksotropowych płynu jest pole powierzchni, ograniczone krzywymi przedstawionymi na rys. 2.



Rys. 1. Algorytm zmian prędkości ścinania.
Fig. 1. Algorithm of shear rate changes.
Źródło: / Source: [13]



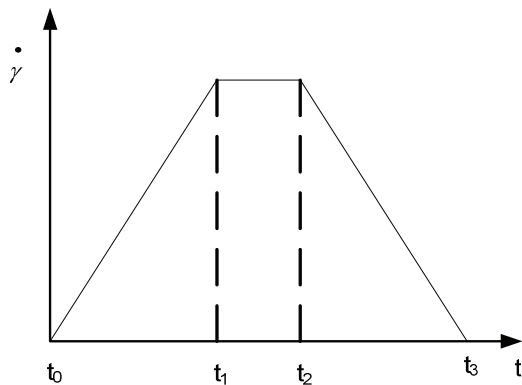
Rys. 2. Pętla histerezy otrzymana w wyniku zmian prędkości ścinania.
Fig. 2. Hysteresis loop resulted from shear rate changes.
Źródło: / Source: [13]

Pętlę histerezy można, także wyznaczyć przy algorytmie zmian prędkości ścinania z zachowaniem jej stałej wartości, w przedziale czasu od t_1 do t_2 (rys. 3).

Pionowa linia na rys. 4. obrazuje niszczenie struktury płynu i zmiany jego lepkości w funkcji czasu [5, 13, 27].

Obszar oraz kształt pętli histerezy zależy od rodzaju materiału, historii próbki przed rozpoczęciem ścinania, maksymalnej prędkości ścinania oraz szybkości prowadzonego pomiaru. Na rys. 5. przedstawiono możliwe kształty pętli histerezy. Klasyczny

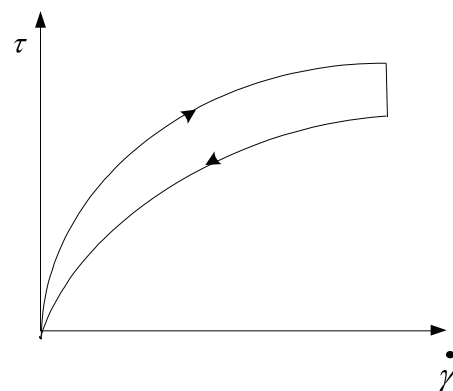
ny kształt pętli przedstawiono na rys. 5a. Na rys. 5b, po rozpoczęciu ścinania następuje gwałtowny wzrost naprężenia, tzw. „stress overshoot”, który ustępuje przy wyższych prędkościach ścinania. Jeśli w ścinanym materiale, przy stosunkowo niskiej prędkości, następuje tworzenie struktury, pętla może mieć kształt taki, jak przedstawiono na rys. 5c [17, 27, 40].



Rys. 3. Algorytm zmian prędkości ścinania z zachowaniem jej stałej wartości w przedziale czasu t_1 do t_2 .

Fig. 3. Algorithm of shear rate changes with constant rate of shear in the range t_1 to t_2 .

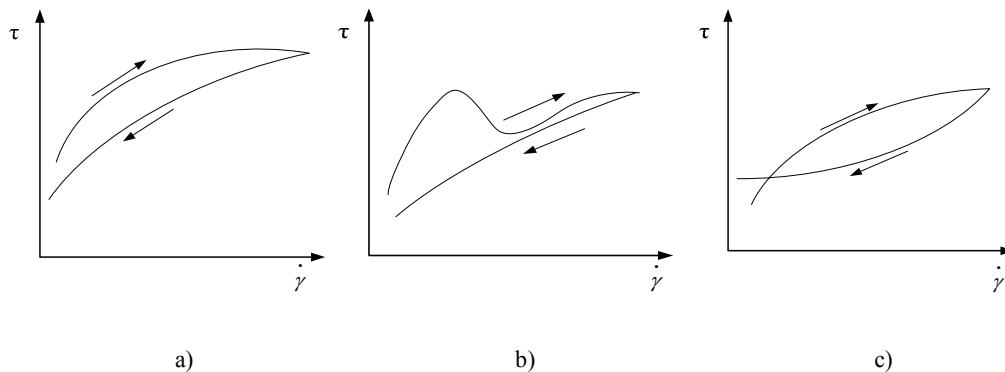
Źródło: / Source: [13]



Rys. 4. Pętla histerezy otrzymana w wyniku zmian prędkości ścinania.

Fig. 4. Hysteresis loop resulted from shear rate changes.

Źródło: / Source: [13]



Rys. 5. Możliwe kształty pętli histerezy.

Fig. 5. Possible shapes of hysteresis loops.

Źródło: / Source: [27]

Krzywe przedstawione za pomocą pętli histerezy nie są rzeczywistymi krzywymi płynięcia, ponieważ pomiary tak wykonywane nie odbywają się w warunkach ustalonych.

Na podstawie tego testu nie określa się szybkości odbudowy struktury medium ani też nie można ocenić stopnia zniszczenia struktury próbki w momencie rozpoczęcia pomiaru [13, 27].

Test ten można zatem traktować jedynie jako test identyfikacyjny, który określa, czy dany płyn wykazuje zjawisko tiksotropii, czy nie [4, 5]. Pętla histerezy nie jest równoznaczna z wystąpieniem zjawiska tiksotropii, ponieważ może się pojawiać także podczas badania materiałów lepkosprężystych [7, 27]. Mimo to test ten jest powszechnie stosowany do określania zjawiska tiksotropii oraz antytiksotropii w produktach spożywczych, ponieważ podczas jego przeprowadzania można otrzymać krzywą płynięcia danej substancji. Obszar histerezy pozwala na oszacowanie wielkości właściwości tiksotropowych produktu [27].

Wang i wsp. [42, 43] oraz Acequarone i Rao [3] za pomocą krzywych płynięcia określili tiksotropowe i antytiksotropowe właściwości zarówno skrobi kukurydzianej woskowej, jak i mieszaniny tej skrobi z gumą ksantanową i roztworem cukru. Właściwości tiksotropowe tych mieszanin zależne były od warunków i czasu przygotowania mieszanin.

Razavi i Karazhiyan [33] badali hydrokoloidy z bulw salepu (*Orchis mascula* L.) i nasion balangu (*Lallemantia royleana*), których lepkość malała wraz ze wzrostem prędkości ścinania, a pętla histerezy wskazywała na zachowanie tiksotropowe. Poza tym wielkość naprężenia ścinającego i lepkość pozorną malały wraz ze wzrostem czasu ścinania. W innej pracy badano właściwości tiksotropowe lodów z dodatkiem salepu [21].

Tiksotropia kleików i żeli jest zjawiskiem niekorzystnym i jest miarą niestabilności takich układów. Dlatego też przeciwdziała się temu poprzez modyfikację fizyczne, chemiczne, biochemiczne lub poprzez dodatek nieskrobiowych hydrokoloidów polisacharydowych [37]. Sikora i wsp. [38] badali redukcję pola powierzchni pętli histerezy, poprzez dodatek gumy ksantanowej do skleikowanych skrobi ziemniaczanej, kukurydzianej i owsianej, aby otrzymać stabilne w czasie sosy truskawkowe. Korzystny wpływ dodatku gumy ksantanowej do skrobi ziemniaczanej, kukurydzianej, tapiokowej i owsianej, powodujący stabilizację reologicznych właściwości i zmniejszenie powierzchni pól histerezy tych mieszanin, potwierdziły również dalsze badania Sikory i wsp. [39].

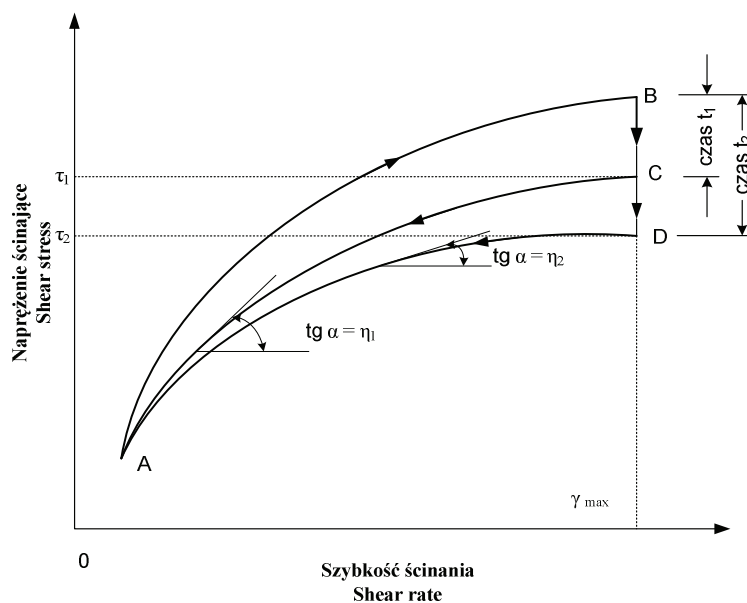
Współczynniki mobilotiksotropii i chronotiksotropii

Rozmiar oraz kształt pętli histerezy posłużyły Greenowi i Weltmanowi [15] do określenia ilościowego zjawiska tiksotropii poprzez wyznaczenie współczynników

chronotiksotropii i mobilotiksotropii. Współczynniki te służą do obrazowania efektu tiksotropii. W literaturze brak jest wielkości liczbowych chrono- i mobilotiksotropii, a zatem przedstawia się je teoretycznie [45].

Współczynnik chronotiksotropii (B) wskazuje szybkość rozpadu struktury w czasie, przy stałej prędkości ścinania, natomiast współczynnik mobilotiksotropii (M) jest miarą rozpadu tiksotropowego, wywołanego wzrastającą prędkością ścinania.

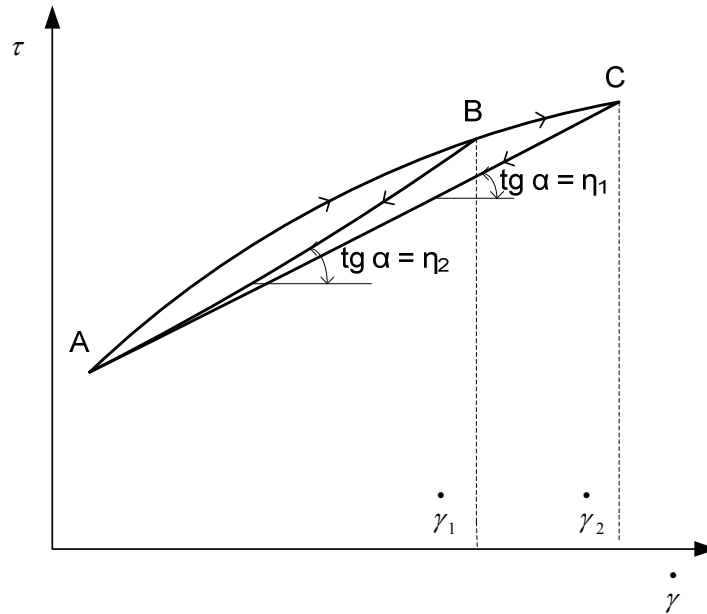
W celu wyznaczenia współczynnika B (rys. 6) wykreśla się najpierw krzywą płynięcia (górną krzywą A-B), a następnie poddaje się próbkę ścinaniu przy maksymalnej prędkości, w czasie t_1 (B-C), po tym czasie wykreśla się dolną krzywą płynięcia (C-A). Po wykreśleniu pierwszej pętli histerezy następuje wykreślenie drugiej pętli histerezy. Podobnie, jak w pierwszym przypadku, zostaje wykreślona krzywa A-B, ale ścinanie z maksymalną prędkością przedłuża się do czasu t_2 (B-D). Następuje większe obniżenie naprężenia ścinającego τ_2 , niż po oddziaływaniu pierwszej maksymalnej prędkości ścinania (gdzie naprężenie wynosi τ_1). Zakłada się, że tangensy kątów nachylenia linii C-A i D-A, czyli krzywych opadających względem osi prędkości ścinania, pozwalają na określenie lepkości pozornych η_1 , η_2 . Lepkość ta zmniejsza się wraz z upływem czasu (rys. 6).



Rys. 6. Przykład obrazujący wyznaczenie współczynnika chronotiksotropii.

Fig. 6. Example showing determination of chronorheology coefficient.

Źródło: / Source: [45]



Rys. 7. Wykres obrazujący wyznaczenie współczynnika mobilotiksotropii.

Fig. 7. Example showing determination of mobilothixotropy coefficient.

Źródło: / Source: [45]

Współczynnik B (rys. 6) definiuje się następująco:

$$B = \frac{\eta_1 - \eta_2}{\ln \frac{t_2}{t_1}},$$

gdzie:

η_1 – lepkość pozorna [mPa·s], wyznaczona po czasie t_1 ,

η_2 – lepkość pozorna [mPa·s], wyznaczona po czasie t_2 ,

t_1 – czas ścinania przy pierwszej maksymalnej prędkości [min],

t_2 – czas ścinania przy drugiej maksymalnej prędkości [min].

Współczynnik mobilotiksotropii (rys. 7) oblicza się z wykreślonych dwóch pętli histerezy, z których każdą wyznacza się przy innej maksymalnej prędkości ścinania

($\dot{\gamma}_{\max 1}$ oraz $\dot{\gamma}_{\max 2}$).

Współczynnik M definiuje się następująco:

$$M = \frac{\eta_1 - \eta_2}{\ln \frac{\dot{\gamma}_{\max 1}}{\dot{\gamma}_{\max 2}}},$$

gdzie:

η_1 – lepkość pozorna [mPa·s], wyznaczona przy maksymalnej prędkości ścinania $\dot{\gamma}_{\max 1}$,

η_2 – lepkość pozorna [mPa·s], wyznaczona przy maksymalnej szybkości ścinania $\dot{\gamma}_{\max 2}$,

$\dot{\gamma}_{\max 1}$ – pierwsza maksymalna prędkość ścinania [1/s],

$\dot{\gamma}_{\max 2}$ – druga maksymalna prędkość ścinania [1/s] [45].

Pomiar lepkości przy stałej prędkości ścinania

Kiedy materiał jest poddawany ścinaniu przy stałej prędkości, lepkość materiału tiksotropowego zmniejsza się wraz z czasem ścinania, co oznacza, że jego struktura ulega zniszczeniu. Właściwości takie wykazują produkty spożywcze, zawierające biopolimery [1, 40].

Jest to metoda istotna w analizie tiksotropii produktów spożywczych. Polega na obserwacji zmniejszania lepkości pozornej, przy stałej prędkości ścinania, którą opisuje równanie empiryczne (model Weltmana) oraz dwa równania teoretyczne (model Figoni–Shoemakera i Tiu–Bogera), które obrazują kinetyczny rozpad struktury pierwszego i drugiego rzędu [36, 41, 44].

Model Weltmana można przedstawić następująco:

$$\tau = A + B \ln(t),$$

gdzie:

A, B – stałe które charakteryzują materiały wykazujące zachowanie zależne od czasu,

τ – naprężenie ścinające [Pa],

t – czas.

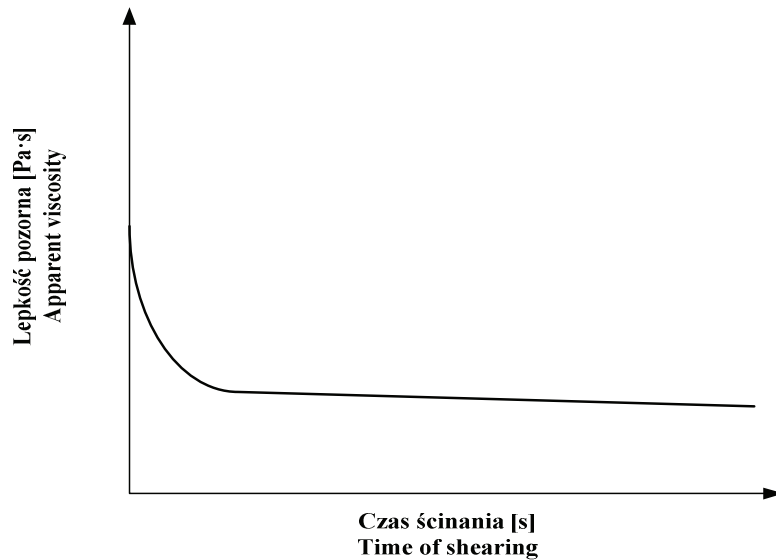
Równanie Figoni–Shoemakera:

$$\sigma = \sigma_e + (\sigma_i - \sigma_e) \cdot \exp(-K_I \cdot t),$$

gdzie:

σ_e, σ_i – początkowe i równowagowe naprężenie ścinające przy stałej szybkości ścinania,

K_I – stała kinetyczna 1. rzędu.



Rys. 8. Lepkość pozorna wykreślana przy stałej prędkości ścinania.

Fig. 8. Apparent viscosity drawn at constant rate of shear.

Równanie Tiu-Bogera:

$$\sigma = \sigma_e + \frac{\sigma_i - \sigma_e}{1 + K_{II} \cdot t},$$

gdzie:

σ_e, σ_i – początkowe i równowagowe naprężenie ścinające przy stałej szybkości ścinania,

K_{II} – stała kinetyczna 2. rzędu,

t – czas.

Juszczak i wsp. [16] za pomocą ww. metody opisywali tiksotropowe właściwości musztardy. Abu-Jdayil i wsp. [2] opisywali właściwości półstałej pasty, otrzymanej ze zmielonego sezamu (tzw. tehneh). Do krzywych lepkości dopasowano model Weltmana oraz model kinetyczny. Ptaszek i Grzesik [31] wykreślali krzywe równowagowe lepkości roztworu skrobi ziemniaczanej oraz jej mieszaniny z gumą ksantanową, a także dopasowali do nich modele matematyczne, które miały dobrą zgodność z wynikami doświadczalnymi.

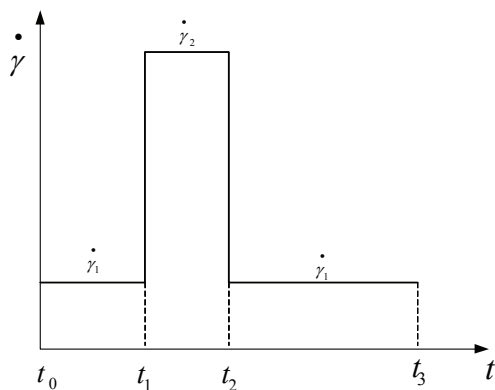
Metoda skoku ścinania

Media tiksotropowe charakteryzuje się najczęściej metodą skoku ścinania oraz rozwiniętą wersją tej metody, która polega na wielokrotnym stosowaniu skokowo

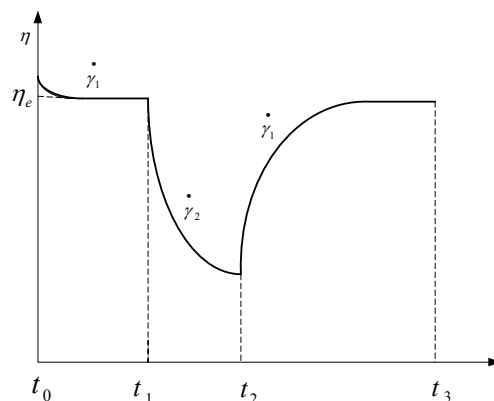
zmiennych wielkości prędkości ścinania. Pozwala to na określenie parametrów reologicznych modelu, który opisuje właściwości tixotropowe medium [13].

Metoda skoku ścinania składa się z trzech etapów. W czasie pierwszego etapu próbka ścinana jest ze stałą prędkością (okres czasu od t_0 do t_1) (rys. 9). Etap ten trwa tak długo aż lepkość płynu w chwili t_1 osiągnie lepkość równowagową η_e (rys. 10). Lepkość ta jest wartością odniesienia w czasie drugiego etapu pomiaru, na podstawie której można określić stopień zniszczenia struktury płynu. Metoda ta określa także, czy próbki tego samego medium są w takim samym stanie reologicznym, niezależnym od procedury napełniania reometru.

W drugim etapie próbka jest ścinana z większą prędkością niż w etapie pierwszym i w przedziale czasu od t_1 do t_2 ponownie może osiągnąć lepkość równowagową przy danej prędkości ścinania (rys. 9). Prędkość ścinania w etapie trzecim (czas od t_2 do t_3) powinna być taka, jak w etapie pierwszym, co pozwala na odbudowę struktury cieczy i wzrost jej lepkości (rys. 10) [13, 28].



Rys. 9. Algorytm zmian prędkości ścinania.
Fig. 9. Algorithm of shear rate changes.
Źródło: / Source: [13]



Rys. 10. Zmiany lepkości płynu tixotropowego w wyniku zmian prędkości ścinania.
Fig. 10. Changes of viscosity of thixotropic fluid resulted from shear rate changes.
Źródło: / Source: [13]

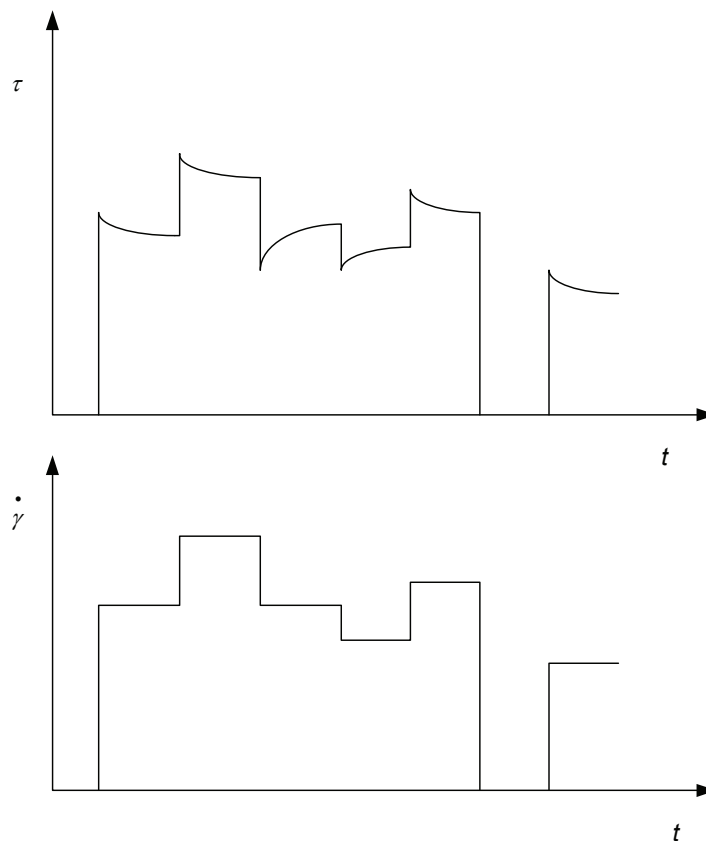
Opisany powyżej eksperyment pozwala na wyznaczenie kilku wielkości, które można uznać za miarę właściwości tixotropowych badanego cieczy. Są to: (i) różnica lepkości między lepkością początkową w czasie t_1 a lepkością równowagową w czasie t_2 ; (ii) czas całkowitej odbudowy struktury w czasie od t_2 do t_3 ; (iii) czas częściowej odbudowy struktury, który może wynosić kilka godzin, a nawet kilka dni oraz (iv)

stopień odbudowy struktury w danym przedziale czasu, co jest istotne ze względów praktycznych [13].

Wang i wsp. [42, 43] badali odbudowę struktury tiksotropowej (oraz antytiksotropowej) mieszanin skrobi kukurydzianej woskowej i skrobi kukurydzianej naturalnej oraz mieszanin tych skrobi z gumą ksantanową, w zależności od warunków przygotowywania kleików. Na właściwości reologiczne wpływał zarówno czas mieszania, jak i temperatura mieszania.

Metoda wielokrotnych, skokowych zmian prędkości ścinania (ang.: step shear-rate test)

Metoda wielokrotnych, skokowych zmian prędkości ścinania polega na poddaniu płynu ścinaniu przy kilku kolejnych, rosnących wartościach prędkości ścinania. Dąży się tu także do osiągnięcia lepkości równowagowej η_e (rys. 10) [9, 13, 24, 27, 28, 43].



Rys. 11. Odpowiedź materiału tiksotropowego na złożoną historię ścinania.

Fig. 11. Response of thixotropic material to complex history of shearing.

Źródło: / Source: [27]

Li i Fang [24] zastosowali tę metodę w badaniu właściwości tiksotropowych gumy arabskiej. Na podstawie tego testu zaobserwowali, że przy nagłym zwiększaniu prędkości ścinania guma ta wykazuje wyraźną sztywność struktury tiksotropowej, (ang. overshoot stress) oraz miękkość tej struktury (ang. undershoot stress) przy nagłym zmniejszeniu prędkości ścinania. Obecność asocjacji cząsteczek w roztworze gumy arabskiej wykazuje tiksotropię przy niskiej prędkości ścinania.

Metoda start-up

Inną metodą używaną do badania tiksotropii jest poddanie próbki ścinaniu o dużej prędkości, przez określony czas. Próbka znajdująca się w spoczynku poddawana jest ścinaniu o stałej, dużej wielkości lub dużemu naprężeniu ścinającemu. Rezultatem zastosowania stałej prędkości ścinania jest efekt „overshoot” [27]. Zjawisko to jest czasami powiązane z widoczną granicą płynięcia [25].

Zwykle zastosowanie wysokiej prędkości ścinania stosuje się do eliminacji wcześniejszej historii ścinania, która może być efektem załadunku próbki do układu reometru, ale także długości czasu spoczynku. Wykreślenie zależności naprężenia „overshoot” w funkcji wcześniejszego czasu spoczynku stanowi odzwierciedlenie powrotu tiksotropowego. Ujemną stroną tej metody jest jej destrukcyjny charakter [27].

Wiele materiałów tiksotropowych, które były przez pewien czas w spoczynku, wykazuje zachowanie lepkosprężyste, więc natychmiastowa odpowiedź w takim teście jest elastyczna. Zatem, w zależności od warunków odpowiedź będzie widoczna albo jako overshoot w teście naprężenia przy kontrolowanym odkształceniu, albo będzie wzrastać nachylenie krzywej odkształcenie – czas w teście pełzania [5, 30].

Matematyczny opis płynów tiksotropowych

Właściwości tiksotropowe płynu można także opisać za pomocą modelu matematycznego. W literaturze omówiono szereg modeli opisujących płyny tiksotropowe [6, 8, 10, 12, 18, 19, 20, 22, 23, 26, 34]. Niektóre opisują właściwości tych płynów w sposób całościowy i precyzyjny, co powoduje ich rozbudowaną strukturę, a zatem i ilość parametrów reologicznych. Równania stosowane w modelach matematycznych występują także w postaci funkcji uwikłanej, dlatego też posługiwanie się modelami matematycznymi jest trudne i niezrozumiałe dla praktyków z branży spożywczej.

Równania empiryczne, takie jak: model Weltmana [44], model zaniku naprężeń pierwszego rzędu [40] oraz kinetyczny model strukturalny [29] odniesiono do modelowania tiksotropowego zachowania produktów spożywczych. Na podstawie tych modeli Razavi i Karazhiyn [33] badali właściwości tiksotropowe i krzywe płynięcia hydrokolidów. Autorzy stwierdzili, że wynikiem tych badań najlepiej odpowiadał model zaniku naprężeń pierwszego rzędu. Abu-Jdayil [1] scharakteryzował zachowanie tiksotropowe produktów spożywczych za pomocą kinetycznego modelu strukturalnego. Do

analizy wybrał produkty spożywcze płynne i półpłynne (stężony jogurt i majonez oraz zmielony sezam). W swoim modelu założył kinetykę rozpadu struktury ze stałą szybkością. Ptaszek i Grzesik [31], na podstawie teorii strukturalnej Chenga i Evansa [47], sformułowali układ dwóch równań konstytutywnych w modelowym układzie wodnego roztworu skrobi ziemniaczanej z dodatkiem gumy ksantanowej. W innej pracy [32] opracowano zmodyfikowane równanie stanu do opisu właściwości reologicznych układów zagęszczanych ścinaniem, które stanowiły skrobie różnego pochodzenia botanicznego z dodatkiem hydrokoloidów.

Uwagi praktyczne dotyczące pomiarów tiksotropii

Obecnie do pomiaru zjawiska tiksotropii stosuje się reometry rotacyjne. Pozwalają one na regulowanie naprężeń wejściowych i wyznaczenie powstających prędkości ścinania. Są to tzw. reometry typu CS (ang.: controlled stress). Można także regulować wejściowe prędkości ścinania i wyznaczyć naprężenia ścinające. Są to reometry typu CR (ang. controlled rate). Niektóre nowoczesne reometry mogą pracować w obu trybach pomiarowych.

Ilościowo tiksotropię płynów można wyznaczyć za pomocą reometru typu CR. W metodzie tej prędkość jest liniowo przemieszczana w górę i w dół, w czasie t_1 i t_2 , przy czym jednocześnie wyznacza się krzywe płynięcia, które odgraniczają obszar pętli histerezy. Powierzchnia obszaru pętli histerezy jest proporcjonalna do energii potrzebnej do zniszczenia struktury tiksotropowej. Aby osiągnąć stan zolu przemieszczanie w górę i w dół musi zachodzić kilkakrotnie, ponieważ pojedynczy cykl może nie zapewnić zniszczenia tej struktury. Komputerowe oprogramowanie oblicza pole powierzchni wyznaczonej pętli histerezy metodą całkową oraz energię tiksotropową w W/m^3 lub Pa/s .

Opisany powyżej pomiar ma zasadniczą wadę, jest trudny do zreprodukcji w identycznych próbkach. Ważny jest też sposób wprowadzania próbki do układu pomiarowego. Wiele zawiesin jest tak delikatnych, że w czasie tego procesu struktura tiksotropowa zostaje zakłócona, zmieniona lub zniszczona. Strukturę taką można odtworzyć po odpowiednim czasie relaksacji.

Przy badaniu całkowitej energii tiksotropowej zaleca się używanie układów pomiarowych stożek-płytki albo płytki-płytki.

Bardzo przydatne jest ustawienie reometru w ten sposób, by sposoby regulacji pomiaru w trybach CR i CS zostały połączone. Dzięki temu uzyskuje się precyzyjny pomiar proggu płynięcia i dobre porównanie energii tiksotropowej próbek. Przy pomocy trybu CS nastawia się liniowy wzrost naprężenia ścinającego do wartości przekraczającej próg płynięcia, a po przekroczeniu tego proggu reometr zostaje przeprogramowany na tryb CR i szybkość ścinania zaczyna rosnąć liniowo do swej górnej granicy, a mierzone jest naprężenie ścinające.

Samo wyliczenie energii tiksotropowej próbek nie jest tak istotne, jak pomiar szybkości powrotu ścinanego płynu tiksotropowego do struktury żelu. Istotne jest określenie wielkości początkowej tego powrotu, ponieważ to on jest istotnym czynnikiem procesów krzepnięcia, poziomowania czy ściekania. Aby to zmierzyć stosuje się reometr typu CS, używając trybu CR. Zadaje się małe prędkości ścinania tak, by struktura mogła się odbudować.

Jeśli natomiast reometr typu CS w fazie niszczenia struktury jest ustawiony w trybie CR, ale w fazie powrotu pracuje w trybie CS, to w fazie tej mierzy się odbudowę struktury za pomocą pomiaru dynamicznego, poprzez poddanie próbki małym oscylującym deformacjom. W wyniku powrotu struktury tiksotropowej mierzy się odpowiadający temu wzrost modułu zachowawczego G' oraz modułu stratności G'' [35].

Podsumowanie

Znajomość właściwości reologicznych produktów żywnościowych jest niezwykle ważna w projektowaniu, kontroli oraz ocenie procesów technologicznych, ale także w akceptacji produktu przez konsumenta. Ponadto charakterystyka właściwości reologicznych zależnych od czasu ma znaczenie przy ustalaniu relacji pomiędzy strukturą i przepływem oraz korelacją parametrów fizycznych z oceną sensoryczną.

W pracy przedstawiono metody badania zjawiska tiksotropii (czyli zachowania cieczy, zależnego od czasu), zarówno w sensie ilościowym, jak i jakościowym. Jedną z najbardziej popularnych metod jest wykreślanie pętli histerezy i określanie wielkości pola pomiędzy krzywymi. Test ten jest wykorzystywany jedynie do identyfikacji tiksotropii oraz antytiksotropii. W celu określenia ilościowego tego zjawiska mogą być pomocne współczynniki mobilo- oraz chronotiksotropii.

Metoda skoku ścinania pozwala na określenie kilku parametrów, które charakteryzują tiksotropowe zachowanie produktów spożywczych. Dzięki tej metodzie można określić ilościowo odbudowę struktury próbki zniszczonej podczas ścinania. Natomiast metoda z zastosowaniem ścinania o stałej, dużej prędkości pozwala na eliminację wcześniejszej historii ścinania próbki. Wykreślenie zależności naprężenia „overshoot” w funkcji wcześniejszego czasu spoczynku, stanowi odzwierciedlenie powrotu tiksotropowego.

Metodą najpełniej opisującą zjawisko tiksotropii jest model matematyczny, wyznaczony w odniesieniu do danego produktu żywnościowego. Metoda ta jest jednak skomplikowana i dlatego trudna do zastosowania w technologii żywności.

Praca finansowana z grantu MNiSW, nr NN 312 207436.


Literatura

- [1] Abu-Jdayil B.: Modelling the time-dependent rheological behavior of semisolid foodstuffs. *J. Food Eng.*, 2003, **57**, 97-102.
- [2] Abu-Jdayil B., Al-Malah K., Asoud H.: Rheological characterization of milled sesame (tehineh). *Food Hydrocoll.*, 2002, **16**, 55-61.
- [3] Acequarone V.M., Rao M.A.: Influence of sucrose on the rheology and granule size of cross-linked waxy maize starch dispersions heated at two temperatures. *Carboh. Polym.*, 2003, **51**, 451-458.
- [4] Bakier S.: Metodyka badawcza określania podstawowych właściwości reologicznych płynów tiksotropowych. *Inż. Roln.*, 2000, **5**, 15-22.
- [5] Barnes A.H.: Thixotropy - a review. *J. Non-Newton. Fluid Mech.*, 1997, **70**, 1-33.
- [6] Bautista F., de Santos M.J., Puig J.E., Manero O.: Understanding thixotropic and antithixotropic behaviour of viscoelastic micellar solutions and liquid crystalline dispersions. I. The model. *J. Non-Newton. Fluid Mech.*, 1999, **80**, 93-113.
- [7] Bird R.B., Marsh B.D.: Viscoelastic Hysteresis. Part I. Model Predictions. *J. Rheol.* 1968, **12**, 479.
- [8] Buitenhuis J., Ponitsch M.: Negative thixotropy of polymer solutions. I. A model explaining time - dependent viscosity. *Colloid Polym. Sci.*, 2003, **281**, 253-259.
- [9] Burgos G.R., Alexandrou A.N., Entov V.: Thixotropic rheology of semisolid metal suspension. *J. Mater. Process. Tech.*, 2001, **110**, 164-176.
- [10] Cheng D.C.-H.: Characterisation of thixotropy revisited. *Rheol. Acta*, 2003, **42**, 372-382.
- [11] Citerne G.P., Carreau P.J., Moan M.: Rheological properties of peanut butter. *Rheol. Acta*, 2001, **40**, 86-96.
- [12] Dulleart K., Mewis J.: A structural kinetics model for thixotropy. *J. Non-Newton. Fluid Mech.*, 2006, **139**, 21-30.
- [13] Dziubiński M., Kiljański T., Sęk J.: Podstawy reologii i reometrii płynów. Wyd. Politechniki Łódzkiej, Łódź 2009, ss. 200-207.
- [14] Figoni, P.I., Shoemaker, C.F.: Characterization of time dependent flow properties of mayonnaise under steady shear. *J. Texture Stud.*, 1983, **14**, 431-442.
- [15] Green H., Weltman R.N.: Equations of thixotropic breakdown for rotational viscometer. *Ind. & Eng. Chem. Analytical Ed.*, 1946, **43**, 167-172 .
- [16] Juszczak L., Witeczak M., Fortuna T., Banyś A.: Rheological properties of commercial mustards. *J. Food Eng.*, 2004, **63**, 209-217.
- [17] Kanai H., Amari T.: Negative thixotropy in ferric-oxide suspensions. *Rheol. Acta*, 1995, **34**, 303-310.
- [18] Kembłowski Z., Petera J.: Rheological characterization of thixotropic fluids. *Rheol. Acta* 1979, **18**, 702-710.
- [19] Kembłowski Z., Petera J.: A generalized rheological model of thixotropic materials. *Rheol. Acta*, 1980, **19**, 529-538.
- [20] Kembłowski Z., Petera J.: Memory effects during the flow of thixotropic fluids in pipes. *Rheol. Acta*, 1981, **20**, 311-323.
- [21] Kus S., Altan A., Kaya A.: Rheological behaviour and time-dependt characterization of ice cream mix with different salep content. *J. Texture Stud.*, 2005, **36**, 273-288.
- [22] Labanda L., Llorens J.: A structural model for thixotropy of colloidal dispersions. *Rheol. Acta*, 2006, **45**, 305-314.
- [23] Labanda L., Marco P., Llorens J.: Rheological model to predict the thixotropic behaviour of colloidal dispersions. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 2004, **249**, 123-126.
- [24] Li X., Fang Y., Zhang H., Nishinari K., Al-Assaf S.: Rheological properties of gum arabic solution: from Newtonianism to thixotropy. *Food Hydrocoll.*, 2010, 1-6.

- [25] Liddel P.V., Boger D.V.: Yield stress measurements with the vane. *J. Non-Newton. Fluid Mech.*, 1996, **63**, 235-261.
- [26] Maingonnat J.F., Muller L., Leuliet J.C.: Modelling the build-up of a thixotropic fluid under viscosimetric and mixing conditions. *J. Food Eng.*, 2005, **(71)**, 265-272.
- [27] Mewis J., Wagner N.J.: Thixotropy. *Adv. Colloid Interface Sci.*, 2009, **147-148**, 214-227.
- [28] Mezger T.G.: *The Rheology Handbook*. Hannover: Vincentz Verlag 2002, pp. 60-68.
- [29] Nguyen Q.D., Jensen C.T.B., Kristensen P.G.: Experimental and modelling studies of the flow properties of maize and waxy maize starch pastes. *Chem. Eng. J.*, 1998, **70**, 165-171.
- [30] Quemada D.: Rheological modeling of complex fluids: IV: Thixotropic and "thixoelastic" behaviour. Start-up and stress relaxation, creep tests and hysteresis cycles. *The Europ. Phys. J. Appl. Physics*, 1999, **5**, 191-207.
- [31] Ptaszek A., Grzesik M.: Matematyczne modelowanie zjawisk tiksotropowych w modelowym układzie wodnego roztworu skrobi ziemniaczanej. *Acta Agrophys.*, 2003, **2 (3)**, 619-626.
- [32] Ptaszek A.: Rheological equation of state for shear-thickening food system. *J. Food Eng.*, 2010, **100**, 322-328.
- [33] Razavi S.M.A., Karazhiyan H.: Flow properties of selected hydrocolloids: experimental and modeling studies. *Food Hydrocoll.*, 2009, **23**, 908-912.
- [34] Roussel N.: A thixotropy model for fresh fluid concretes: Theory, validation and applications. *Cement Concrete Res.*, 2006, **36**, 1797-1806.
- [35] Schramm G.: *Reologia. Podstawy i zastosowania*. Ośrodek Wyd. Nauk. Poznań 1998, 35, 175-180.
- [36] Shoemaker, F., Fighi, P.: Time dependent rheological behaviour of foods. *Food Technol.*, 1984, **38**, 110-112.
- [37] Sikora M., Adamczyk G., Krystyan M.: Tiksotropia – miara niestabilności ciekłych produktów żywnościowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, **1 (74)**, 5-14.
- [38] Sikora M., Kowalski S., Tomasik P., Sady M.: Rheological and sensory properties of dessert sauces thickened by starch-xanthan gum combinations. *J. Food Eng.*, 2007, **(79)**, 1144- 1151.
- [39] Sikora M., Kowalski S., Tomasik P.: Binary hydrocolloids from starches and xanthan gum. *Food Hydrocoll.*, 2008, **22**, 943-952.
- [40] Steffe J.F. *Rheological Methods in Food Process Engineering*. Freeman Press, East Lansing, MI, 1996.
- [41] Tiu, C., Boger, D.V.: Complete rheological characterization of time-dependent food products. *J. Texture Stud.*, 1974, **5**, 329-338.
- [42] Wang B., Wang Li-J., Li D., Ozkan N., Li S-J., Mao Z-H.: Rheological properties of waxy maize starch and xanthan gum mixtures in the presence of sucrose. *Carboh. Polym.*, 2009, **77**, 472-481.
- [43] Wang B., Wang Li-J., Li D., Ozkan N.: Anti-thixotropic properties of waxy maize starch dispersions with different pasting conditions. *Carboh. Polym.*, 2010, **79**, 1130-1139.
- [44] Weltman R. N.: Breakdown of thixotropic structure as a function of time. *J. Appl. Phys.* 1943, **14**, 343-350.
- [45] Wilkinson W. L.: *Ciecze nienewtonowskie*. WNT, Warszawa 1963, ss. 52-56.
- [46] Young L.S., Shoemaker C.F.: Time-dependent flow measurements of Na-caseinate coated polystyrene latices. *J. Rheol.*, 1990, **34**, 1149-1159.
- [47] Cheng D.C.-H., Evans F.: Phenomenological characterization of the rheological behaviour of inelastic reversible thixotropic and antithixotropic fluids. *Brit. J. Appl. Phys.*, 1965, **16**, 1599-1617.

METHODS OF MEASURING THIXOTROPIC FOOD PRODUCTS**S u m m a r y**

Food products are complex systems and their rheological properties undergo changes over time, which are disadvantageous. Those changes can be searched into while measuring thixotropic properties of food. This paper presents methods of measuring thixotropic properties of food products, which appear effective when qualitatively and quantitatively determining the phenomenon of thixotropy. No procedure exists that could make it possible to unmistakably determine thixotropic properties; however, owing to the methods presented herein, the rheological parameters can be determined as can be, to a certain extent, the stability of food products.

Key words: thixotropy, hysteresis loops, stepped shear flow test 

JÓZEF KRZYŻEWSKI, NINA STRZAŁKOWSKA, EMILIA BAGNICKA,
ARTUR JÓŻWIK, JAROSŁAW O. HORBAŃCZUK

WPLYW ANTYOKSYDANTÓW ZAWARTYCH W TŁUSZCZU PASZ OBJĘTOŚCIOWYCH NA JAKOŚĆ MLEKA KRÓW

Streszczenie

Antyoksydanty zawarte w paszach objętościowych, tj. tokoferole i karotenoidy, odgrywają istotną rolę w pokryciu zapotrzebowania krów mlecznych na karoten oraz witaminy A i E. W pracy dokonano przeglądu wyników badań naukowych, wykonanych w okresie ostatniej dekady, nad wpływem naturalnych antyoksydantów zawartych w tłuszczu pasz objętościowych na potencjał oksydacyjny mleka i zawartość w nim składników funkcjonalnych. Z badań tych wynika, że istnieje możliwość produkcji mleka o zwiększonej zawartości nienasyconych kwasów tłuszczowych oraz substancji o charakterze antyoksydacyjnym (witamin A, E i β -karotenu) pod warunkiem żywienia krów paszami o dużej zawartości karotenoidów i tokoferoli. Wymienione antyoksydanty chronią zawarte w mleku nienasycone kwasy tłuszczowe przed niekorzystnymi procesami utleniania, zachowując jednocześnie ich wysoką aktywność biologiczną oraz odpowiedni smak i zapach mleka. Zawartość karotenoidów i tokoferoli w paszach objętościowych oraz wysokość wskaźnika ich transferu do mleka w decydującym stopniu zależą od: gatunku i odmiany roślin, stadium wegetacji, zabiegów agrotechnicznych, warunków atmosferycznych w okresie wegetacji oraz sposobu konserwacji (suszenie, kiszenie).

Zielonki i kiszonki z porostu łąkowego, roślin motylkowatych oraz mieszanek roślin motylkowatych z trawami powinny być w maksymalnym stopniu wykorzystywane w żywieniu krów mlecznych jako cenne źródło witaminy A, E i β -karotenu, które obok nienasyconych kwasów tłuszczowych wpływają korzystnie na jakość produkowanego mleka i zdrowie konsumentów.

Słowa kluczowe: antyoksydanty, pasze objętościowe, mleko, tokoferole, karotenoidy, witaminy

Wprowadzenie

W żywieniu krów mlecznych na szczególną uwagę zasługują antyoksydanty zawarte w tłuszczu pasz objętościowych, skarmianych w postaci zielonek lub po ich zakonserwowaniu w formie kiszonek i siana. Są to przede wszystkim karotenoidy i tokoferole, które są jednocześnie prowitaminami witamin A i E oraz β -karotenu. Jako anty-

Prof. dr hab. J. Krzyżewski, dr hab. N. Strzałkowska, dr hab. E. Bagnicka, dr hab. A. Józwik, prof. dr hab. J. O. Horbańczuk, Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN w Jastrzębcu, ul. Postępu 1, 05-552 Wólka Kosowska

oksydanty chronią zawarte w mleku nienasycone kwasy tłuszczowe przed niekorzystnymi procesami utleniania, zachowując jednocześnie ich wysoką aktywność biologiczną oraz odpowiedni smak i zapach. Dowiedziono, że istnieje możliwość produkcji mleka z dużą zawartością nienasyconych kwasów tłuszczowych, które charakteryzują się udokumentowanym korzystnym wpływem na stan zdrowia konsumentów [2, 3, 19, 38]. Zarówno jedno- jak i wielonienasycone kwasy tłuszczowe są szczególnie podatne na procesy utleniania, w wyniku których mleko i produkty z niego otrzymywane charakteryzują się zmniejszoną zawartością składników biologicznie czynnych, niewłaściwym zapachem i smakiem oraz skróconym okresem przydatności do spożycia [7, 17, 39, 40]. Aby temu zapobiec powinna być utrzymywana równowaga pomiędzy zawartością nienasyconych kwasów tłuszczowych a stężeniem rozpuszczalnych w tłuszczu mleka antyoksydantów [13, 24]. Ich źródłem mogą być naturalne składniki diety, przede wszystkim pasze objętościowe [16] lub suplementy dodawane do diet [27]. Przystawalność naturalnego β -karotenu, występującego w roślinach, jest znacznie lepsza w porównaniu z jego formą syntetyczną [28]. Różnice aktywności naturalnego i syntetycznego β -karotenu są uwarunkowane przestrzenną konfiguracją cząsteczek. Syntetyczny β -karoten składa się wyłącznie z formy „all-trans”, natomiast β -karoten naturalny jest mieszaniną formy „9-cis” i „all-trans”. Z tego względu syntetyczny β -karoten jest nie tylko słabiej wykorzystywany, ale może nawet wywierać szkodliwy wpływ na zdrowie zwierząt.

Aktywność biologiczna i zawartość karotenoidów w paszach objętościowych

Związki chemiczne należące do tej grupy charakteryzują się bardzo silnymi właściwościami antyoksydacyjnymi [16]. Spośród około 600 rodzajów karotenoidów tylko niektóre aktywnie oddziałują na organizm zwierząt i człowieka [30]. Są to α -, β - i γ -karoten oraz kryptoksantina. Największą efektywnością konwersji na witaminę A (retinol i retinal) charakteryzuje się β -karoten. Istnieje ścisła zależność między ilością β -karotenu pobranego z diety a wielkością rezerw w organizmie krowy i jego stężeniem w mleku [37]. Na zawartość β -karotenu ma wpływ wiele czynników, przede wszystkim gatunek rośliny, faza wegetacji oraz zabiegi agrotechniczne. Zawartość β -karotenu w paszy, którą zwierzę otrzymuje, zależy od jego stężenia w roślinie oraz współczynnika degradacji w trakcie zbioru i konserwacji [31]. Najwięcej β -karotenu gromadzi się w plastydach znajdujących się w liściach, w których zawartość karotenoidów jest 5 - 10 razy większa niż w łodygach. W roślinach najczęściej używanych na paszę, tj. w kupkówce pospolitej (*Dactylis glomerata*), rajgrasie trwałym (*Lolium perenne*) i koniczynie czerwonej (*Trifolium pratense*) przeciętna zawartość luteiny, zeaksantyny, epiluteiny i β -karotenu wynosi odpowiednio [g/kg s.m.]: 630, 120, 80 i 170. Jak podają Chauveau-Duriot i wsp. [6], stokłosa bezostna (*Bromus inermis* Leyss), mozga trzcinowata (*PHALARIS ARUNDINACEA* L.) oraz koniczyna czerwona (*Trifo-*

lium pratense L.) zawierają od 25 do 50 % więcej karotenoidów niż życica trwała (*Lolium perenne*). Jeszcze bardziej jest zróżnicowana zawartość karotenoidów w zielonce z kupkówki pospolitej (*Dactylis glomerata L.*), życicy trwałej (*Lolium perenne*), konicyzny czerwonej (*Trifolium pratense L.*), lucerny siewnej (*Medicago sativa*) i porostu łąkowego, waha się bowiem od 40 mg/kg (cis- β -karoten) do 630 mg/kg (luteina). W miarę upływu wegetacji zmniejsza się zawartość karotenoidów w roślinach. Wyniki badań Prache i wsp. [33] wykazały, że w poroście pastwiskowym stężenie karotenoidów ulegało stosunkowo niewielkim zmianom od maja do czerwca (620 - 700 mg/kg suchej masy), zaś na początku sierpnia zmniejszyło się do poziomu 430 mg/kg suchej masy. Zawartość karotenoidów w roślinach w dużym stopniu zależy od stosunku masy liści do masy łodyg. Wyniki badań Reynoso i wsp. [34] wykazały, że zawartość luteiny i β -karotenu w roślinach zielonych należących do tego samego gatunku była 2 - 3-krotnie większa w warunkach wilgotnego, w porównaniu z suchym, klimatu tropikalnego. Noziere i wsp. [31] podają, że całkowita zawartość karotenoidów w kukurydzy wynosi 70 - 80 mg/kg s.m., czyli 5 - 10 razy mniej niż w innych roślinach używanych na paszę dla krów. Wynikają stąd trudności związane z pokryciem zapotrzebowania krów na karotenoidy przy żywieniu dietami z udziałem kukurydzy jako jedynej paszy objętościowej.

W procesach konserwacji pasz zielonych zachodzą znaczne straty karotenoidów. Przy produkcji siana aż 83 % karotenoidów ulega rozkładowi pod wpływem promieniowania UV w porównaniu z kiszonką sporządzoną z tych samych roślin bezpośrednio po skoszeniu [6]. Znaczne straty karotenoidów mają miejsce również w procesie produkcji kiszonek z materiału podsuszonego. W trakcie podsuszania w części niezniszczonej β -karotenu pod wpływem promieni słonecznych (UV) następuje zamiana aktywnej formy „trans” na mniej aktywny izomer „cis”. Oprócz formy geometrycznej β -karotenu decydującymi czynnikami o jego biologicznej aktywności są: rodzaj rośliny, wewnątrzkomórkowa lokalizacja karotenoidów, obecność lipidów oraz technologia sporządzania kiszonki [35]. W procesie podsuszania do zawartości 40 % suchej masy w zielonce straty β -karotenu mogą dochodzić nawet do 50 %. Niezależnie od strat zachodzących w procesie podsuszania roślin przed zakiszaniem, zachodzą również straty w procesie fermentacji, uzależnione od pH i dostępu tlenu [30]; straty te są większe przy kiszeniu roślin motylkowatych w porównaniu z trawami i wzrastają w miarę upływu czasu przetrzymywania kiszonki w silosie. W skrajnych przypadkach straty β -karotenu podczas produkcji kiszonek mogą dochodzić do 80 %, lecz w kiszonkach sporządzonych w sposób prawidłowy nie przekraczają z reguły 20 %. Zmiany zawartości β -karotenu w obrębie jednej rośliny w największym stopniu zależą od stadium wegetacji, warunków atmosferycznych i metody konserwacji, a jego dostępność dla organizmu zwierząt zależy od stopnia strawności, sposobu konserwacji oraz zawartości lipidów, węglowodanów strukturalnych, interakcji między poszczególnymi karotenoi-

dami i cech osobniczych zwierząt [30]. Przy sprzyjającej pogodzie w okresie wegetacji roślin wraz ze wzrostem plonu zielonej masy zwiększa się również zawartość karotenoidów [34]. Karotenoidy znajdujące się w komórkach roślinnych są dość stabilne, jednak przy konserwowaniu zielonek na paszę występują straty spowodowane m.in. „enzymatycznym brązowieniem” karotenoidów, zapoczątkowanym przez enzymatyczną oksydację składników fenolowych, katalizowaną przez oksydazę polifenolową [8]. Przeciętna zawartość β -karotenu w zielonce, suszu mechanicznym, kiszonce i sianie wynosi odpowiednio: 196, 159, 81 i 36 mg/kg s.m. [42]. Zawartość karotenoidów w paszy jest dodatnio skorelowana z zawartością ekstraktu eterowego; współczynnik korelacji między zawartością karotenoidów i ekstraktu w kiszonce z traw wynosi $r = 0,60$, zaś w przypadku kiszonki z koniczyny czerwonej $r = 0,82$ [6]. Istnieje również wysoka dodatnia korelacja między zawartością karotenoidów a zawartością białka ($r = 0,71$) i ujemna z zawartością włókna surowego ($r = -0,73$).

Aktywność biologiczna i zawartość tokoferoli w paszach objętościowych

W skład tej grupy związków charakteryzujących się wysoką aktywnością biologiczną wchodzi: α -, β -, γ - i δ -tokoferol oraz tokotrienole [14]; α -tokoferol jest utożsamiany z witaminą E. Inne formy tokoferoli charakteryzują się znacznie mniejszą aktywnością w porównaniu z izomerem α [36]. Warto podkreślić, że naturalny izomer α -tokoferolu charakteryzuje się wyższą aktywnością ($1,49 \text{ IU mg}^{-1}$ witaminy E) w porównaniu z syntetyczną witaminą E ($1,0 \text{ IU mg}^{-1}$), w składzie której znajduje się 8 różnych izomerów α -tokoferolu [36]. Wprawdzie syntetyczny α -tokoferol jest absorbowany z taką samą efektywnością jak naturalny izomer RRR α -tokoferolu, ale ilość pobierana przez tkanki (np. mózg) jest znacznie mniejsza [36]. Zależność tę potwierdzają wyniki badań [27]. W wyniku suplementacji diet dla krów izomerem RRR α -tokoferolu uzyskano wyższe stężenie witaminy E we krwi i w mleku tych zwierząt w porównaniu z podawaniem syntetycznej formy α -tokoferolu. Wyniki badań przeprowadzonych w USA z udziałem pacjentów wykazały, że przyjmowanie tabletek z syntetyczną witaminą E może mieć związek z podwyższonym ryzykiem zawału serca i innych schorzeń układu krążenia. Wniosek ten został potwierdzony w wyniku przeprowadzonej metaanalizy, obejmującej 19 niezależnie przeprowadzonych badań w latach 1993-2004 na łącznej grupie 136 tysięcy pacjentów, dotyczących bezpieczeństwa związanego z regularnym przyjmowaniem syntetycznej witaminy E [29]. Okazało się, że codzienne pobieranie witaminy E w ilości 400 IU przyczynia się do zwiększenia śmiertelności pacjentów o około 10 %. Toksyczność syntetycznej formy witaminy E może wiązać się z wypieraniem przez nią naturalnych antyoksydantów dostarczanych przez organizm wraz z pożywieniem lub z jej właściwościami antykoagulacyjnymi [20].

Ballet i wsp. [1] wskazują na znaczne zróżnicowanie stężenia zarówno α -tokoferolu, jak i β -karotenu w paszach, podkreślając jednocześnie, że poziom ten jest znacznie niższy w sianie sporządzonym z tej samej rośliny niż w kiszonce. Największą zawartość α -tokoferolu (34 mg/kg s.m.) stwierdzono w kiszonkach. Lynch i wsp. [24] podają, że w zielonce pastwiskowej przeciętna zawartość α -tokoferolu wynosi 14 – 15 mg/kg s.m., zaś w sianie łąkowym 7,6 - 8 mg/kg s.m. Jeszcze mniejszą zawartość α -tokoferolu stwierdzono w zielonce z koniczyny białej (0,44 - 2,3 mg/kg s.m.) i czerwonej (0,6 - 1,8 mg/kg s.m.). Tak duże różnice zawartości α -tokoferolu w roślinach znajdują odzwierciedlenie w jego koncentracji w kiszonkach. Potwierdzają to wyniki badań Lyncha [24]. Zawartość α -tokoferolu w kiszonce z traw z pierwszego pokosu wahała się w granicach od 0,8 do 49,9 mg/kg s.m., natomiast kiszonki sporządzone z traw zebranych z drugiego i trzeciego pokosu zawierały znacznie mniej α -tokoferolu, odpowiednio: 0,8 - 20,6 i 0,33 - 5,19 mg/kg s.m. Również wyniki badań Lee i wsp. [22] wskazują na większą zawartość witaminy E w kiszonkach z traw w porównaniu z kiszoną z koniczyny czerwonej (12,6 mg/kg s.m. vs. 6,13 mg/kg s.m.). W badaniach Havemose i wsp. [12] ponad dwukrotnie większa zawartość witaminy E w kiszonce z traw w porównaniu z kiszoną z kukurydzy znalazła odzwierciedlenie w zawartości tej witaminy w mleku krów (854 mg/l vs. 375 mg/l).

Wyniki badań van Ransta i wsp. [41] wskazują, że w procesie kiszenia częściowa lipoliza tłuszczu zawartego w kiszonkach, a następnie uwodorowanie powstających wolnych kwasów tłuszczowych w żwaczu, może przyczynić się do zmniejszenia zawartości wielonienasyconych kwasów w mleku krów. Należy dodać, że proces lipolizy w kiszonkach z koniczyn lub z mieszanek koniczyn z trawami jest stosunkowo niewielki, co jest spowodowane wysoką aktywnością oksydazy polifenolowej zawartej w koniczynie i jej hamującym wpływem na proces lipolizy. Tezę tę potwierdzają wyniki badań van Ransta i wsp. [41] nad żywieniem krów kiszoną z koniczyny czerwonej, w której zawarte kwasy z rodziny omega-3 ulegają w niewielkim stopniu procesowi biouwodowania w żwaczu. Zatem kiszonki z porostu łąkowego, roślin motylkowatych lub mieszanek motylkowato-trawiastych mogą być cennym źródłem zarówno witaminy E, jak i β -karotenu. Jednakże w kiszonkach, które są źle przygotowane, zarówno α -tokoferol, jak i β -karoten ulegają w znacznym stopniu rozkładowi [18]. W przypadku zastosowania w żywieniu krów kiszonek bardzo dobrej jakości można produkować dużą ilość mleka z pożądaną zawartością składników funkcjonalnych, korzystnie wpływających na stan zdrowia konsumentów.

Wpływ żywienia krów na zawartość tokoferolu, retinolu i β -karotenu w mleku

Dobre mleko powinno utrzymywać przyjemny smak i zapach od udoju aż do 14 dni przechowywania go w temperaturze 4 °C. Jeżeli mleko zawiera znaczną ilość kwasów tłuszczowych wielonienasyconych, wówczas w wyniku zachodzących procesów

utleniania pojawia się posmak metaliczny lub zjełczały. W niektórych przypadkach taki posmak występuje w mleku tuż po udoju. W mleku, w którym znajduje się odpowiednie stężenie naturalnych antyoksydantów niekorzystne procesy nie zachodzą. Pobranie przez krowę w paszy przynajmniej 3000 IU witaminy E/dobę skutecznie zapobiega występowaniu niekorzystnego zapachu mleka [16]. Do chwili obecnej nie można jeszcze definitywnie ustalić wielkości wskaźnika transferu lipofilnych witamin z paszy do mleka. Jensen i wsp. [16] wykazali, że tylko niewielka ilość tokoferoli i retinolu w formie estrowej jest transferowana z paszy do mleka. Zatem, aby krowa mogła pobrać niezbędną ilość witamin, gwarantującą utrzymanie statusu oksydacyjnego na pożądanym poziomie i jednocześnie korzystne oddziaływanie na organizm konsumentów, ich zawartość w paszy powinna być bardzo duża. Potwierdzają to wyniki doświadczenia, w którym wykazano, że w mleku krów żywionych według systemu PMR zawartość witaminy E w mleku w listopadzie była stosunkowo mała i wynosiła 10,34 $\mu\text{g/g}$ tłuszczu, podczas gdy w czerwcu, przy korzystaniu z pastwiska, była ponad trzykrotnie większa i wynosiła 36,17 $\mu\text{g/g}$ tłuszczu [16]. W badaniach Strusińskiej i wsp. [37] zawartość witaminy E, β -karotenu i witaminy A w mleku krów wypasanych na pastwisku była odpowiednio: czterokrotnie, dwukrotnie i o $\frac{1}{4}$ większa w porównaniu z mlekiem analogicznych zwierząt żywionym według systemu TMR z udziałem kiszonki z kukurydzy. Noziere i wsp. [31] wykazali, że obok rodzaju skarmianych pasz, istotnym czynnikiem wpływającym na zawartość witaminy A, E i β -karotenu w mleku jest poziom żywienia energetycznego krów, jak również zawartość wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w dawce pokarmowej [26]. W skład karotenoidów w mleku wchodzi przede wszystkim β -karoten oraz niewielka ilość luteiny, zeaksantyny i β -hydroksyksantyny [12, 15]. Stwierdzono także obecność śladowych ilości 13-cis- β -karotenu, którego źródła pochodzenia dotychczas nie ustalono. Zawartość sumaryczna karotenoidów w mleku najczęściej mieści się w przedziale 750 - 850 mg/kg. Retinol występuje przeważnie w formie estrowej. Izomer „cis” retinolu występuje w bardzo małej ilości w mleku krów [32], natomiast jego udział w mleku kozim w całkowitej ilości retinolu stanowi 1,5 - 3,5 % [10]. Zawartość karotenoidów i retinolu w mleku podawana w piśmiennictwie waha się w bardzo szerokich granicach i wynosi odpowiednio: 1 - 17 $\mu\text{g/g}$ tłuszczu i 1 - 12 $\mu\text{g/g}$ tłuszczu [30]. Mniejsze wahania występują w zakresie koncentracji retinolu w plazmie krwi (1 - 6 $\mu\text{g/ml}$). Stężenie retinolu w mleku w porównaniu z β -karotenem ulega w mniejszym zakresie wahanom w zależności od rodzaju paszy [25, 30]. Według Noziere i wsp. [30] część podanych rozbieżności wynika ze stosowania różnych metod analitycznych. Spośród czynników wpływających na zawartość karotenoidów, witaminy A i E w mleku krów ma żywienie. Wyniki nad porównaniem 7 diet różniących się poziomem karotenoidów wskazują, że zarówno koncentracja w mleku β -karotenu, jak i jego ilość w dobowej partii mleka wykazują ścisły związek z poziomem β -karotenu we krwi, a ta z kolei

zależy od ilości β -karotenu strawionego w przewodzie pokarmowym [25]. Podobne rezultaty uzyskano przy porównywaniu diet z udziałem porostu pastwiskowego, siana, kiszonki z traw i kiszonki z kukurydzy [12, 30].

Procesy utleniania kwasów tłuszczowych w mleku i produktach mlecznych

Zwiększaniu zawartości nienasyconych kwasów tłuszczowych zarówno w roślinach, jak i w mleku krów żywionych tymi roślinami, towarzyszy z reguły przyrost zawartości witamin lipofilnych i β -karotenu [23]. La Terra i wsp. [21] również wykazali, że w miarę wzrostu udziału porostu pastwiskowego w dietach krów (z 30 do 70 %) zarówno w mleku, jak i w surowicy krów zwiększała się zawartość kwasu wakcenenowego, eikozapentaenowego, dokozaheksaenowego, sprzężonego kwasu linolowego oraz witamin rozpuszczalnych w tłuszczu, tj. α -tokoferolu, witaminy A i β -karotenu. Butler i wsp. [5] stwierdzili, że mleko krów produkowane w gospodarstwach niskonakładowych, w których zielonki i kiszonki stanowiły podstawowy komponent diety, charakteryzowało się większą o 50 % zawartością α -tokoferolu i o 80 % β -karotenu w stosunku do mleka pochodzącego z gospodarstw tradycyjnych. Podobne wyniki uzyskali Bergamo i wsp. [4], którzy stwierdzili ponadto, że w mleku krów z gospodarstw organicznych był ponad dwukrotnie wyższy stosunek CLA : LA w porównaniu z mlekiem z gospodarstw tradycyjnych (0,46 vs. 0,20). Należy podkreślić, że posługiwanie się przy porównywaniu jakości i składu chemicznego mleka terminami „gospodarstwa organiczne”, „konwencjonalne” lub „tradycyjne” jest mało precyzyjne, a w niektórych przypadkach nawet mylące. Najnowsze wyniki badań przeprowadzonych w Szwecji przez Falla i Emanuelsona [9] nad porównywaniem składu chemicznego mleka, produkowanego w okresie żywienia zimowego w 18 gospodarstwach organicznych i 19 konwencjonalnych wykazały wprawdzie istotne różnice pod względem zawartości kwasów tłuszczowych z rodziny n-3 i n-6 na korzyść mleka pochodzącego z gospodarstw organicznych, jednakże zdaniem autorów różnice te były stosunkowo niewielkie i tym samym w znikomym stopniu mogłyby wpływać na stan zdrowia konsumentów. Pod względem zawartości witamin A, E i β -karotenu oraz Se różnice były nieistotne. Zdaniem autorów zasadniczym powodem braku bardzo wyraźnych różnic były podobne systemy żywienia krów w okresie zimowym, w których podstawową paszą objętościową była kiszonka z mieszanki koniczyny czerwonej z trawami. Autorzy ci podkreślili, że zwiększenie koncentracji β -karotenu wpływa korzystnie na wartość odżywczą mleka oraz stabilność biologicznie czynnych kwasów tłuszczowych zawartych w mleku i w produktach mlecznych. Tak więc ryzyko związane ze zwiększoną oksydacją kwasów tłuszczowych w przypadku zwiększenia ich koncentracji w mleku jest zmniejszane przez obecność naturalnych antyoksydantów, przede wszystkim β -karotenu i witaminy E [5]. Pobranie przez krowę 9954 IU/dobę witaminy E może skutecznie zahamować procesy oksydacyjne w mleku [11]; taka ilość witami-

ny E powodowała jednocześnie wzrost zawartości α -tokoferolu w mleku w porównaniu z mlekiem krów żywionych według systemu TMR o ok. 45 %, mimo że współczynnik transferu tej witaminy z paszy do mleka jest bardzo mały, wynosi bowiem 0,27 %.

Tokoferol jest bardziej efektywnym antyoksydantem chroniącym przed szkodliwym działaniem wolnych rodników w organizmie krów na poziomie komórkowym, podczas gdy β -karoten jest bardziej skuteczny w ochronie nienasyconych kwasów tłuszczowych w mleku. Dostarczenie karotenu w paszy ma tę zaletę, że jest on jednocześnie źródłem witaminy A, podawanie bowiem witaminy A w gotowej postaci stwarza niebezpieczeństwo szkodliwego działania w przypadku jej nadmiaru, podczas gdy organizm przekształca tylko tyle β -karotenu na witaminę A, ile wynosi aktualne zapotrzebowanie zwierzęcia.

Podsumowanie

Z dokonanego przeglądu piśmiennictwa wynika, że na zawartość karotenoidów i tokoferoli w tłuszczu pasz objętościowych oraz na ich transfer do mleka decydujący wpływ ma rodzaj paszy objętościowej (gatunek rośliny, a nawet odmiana), stadium wegetacji, zabiegi agrotechniczne, przebieg pogody w okresie wegetacji oraz sposób konserwacji (suszenie, kiszenie). W związku z tym należy w możliwie maksymalnym stopniu wykorzystać naturalne antyoksydanty zawarte głównie w paszach zielonych. Szczególną uwagę należy więc zwracać na jakość tzw. pasz objętościowych, tj. wszelkiego rodzaju zielonek skarmianych zarówno w formie świeżej, jak i po odpowiednim ich zakonserwowaniu. Zwiększeniu zawartości nienasyconych kwasów tłuszczowych zarówno w roślinach, jak i w mleku krów żywionych tymi roślinami, towarzyszy z reguły również zwiększenie zawartości witamin lipofilnych (A i E) oraz β -karotenu. Wynika stąd najważniejszy wniosek, że kiszonki z porostu łąkowego, roślin motylkowatych lub mieszanek motylkowato-trawiastych powinny być w maksymalnym stopniu wykorzystywane w żywieniu krów mlecznych jako cenne źródło zarówno witaminy A, E, jak i β -karotenu, a więc składników funkcjonalnych, korzystnie wpływających na jakość produkowanego mleka i stan zdrowia konsumentów.

Badania zrealizowano w ramach projektu "BIOŻYWNOŚĆ – innowacyjne, funkcjonalne produkty pochodzenia zwierzęcego" nr POIG.01.01.02-014-090/09 współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka 2007 – 2013.

Literatura

- [1] Ballet N., Robert J.C., Williams P.F.: Vitamins in forages. Ch. 19. In: Forage evaluation in ruminant nutrition. (Eds). Givens D.I., Owen E., Axford R.F.E., Omed H.M. CABI Publishing, Oxon, 2000, UK.
- [2] Barłowska J., Litwińczuk Z.: Właściwości odżywcze i prozdrowotne tłuszczu mleka. *Med. Wet.*, 2009, **65**, 171-174.
- [3] Barłowska J., Litwińczuk Z.: Genetyczne i środowiskowe uwarunkowania profilu kwasów tłuszczowych mleka. *Med. Wet.*, 2009, **65**, 310-314.
- [4] Bergamo P: Fat soluble vitamin contents and fatty acid composition in organic and conventional Italian dairy products. *Food Chem.*, 2003, **82 (4)**, 625-631.
- [5] Butler G., Nielsen J.H., Tina S., Chris S., Mick D.E., Roy S., Leifert C.: Fatty acid and fat – soluble antioxidant concentrations in milk from high- and low- input conventional and organic systems: seasonal variation. *J. Sci. Food Agric.*, 2008, **88 (8)** 1431- 1441.
- [6] Chauveau-Duriot B., Thomas D., Portelli J., Doreau M. 2005 – Carotenoids content in forages: variation during conservation. *Renc. Rech. Ruminants*, 2005, **12**, 117.
- [7] Chen S., Bobe G., Zimmerman S., Hammond E.G., Luhman C.M., Boylston T.D.: Physical and sensory properties of dairy products from cows with various milk fatty acid compositions. *J. Agric. Food Chem.*, 2004, **52**, 3422-3452.
- [8] De Rigal D., Gaillard F., Richard-Forget F.: Changes in the carotenoid content of apricot (*Prunus armenica*, var. *Bergeron*) during enzymatic browning: β -carotene inhibition of chlorogenic acid degradation. *J. Sci. Food Agric.*, 2000, **80 (14)**, 763-768.
- [9] Fall N., Emanuelson U.: Fatty acid content, vitamins and selenium in bulk tank milk from organic and conventional Swedish dairy herds during the indoor season. *J. Dairy Res.*, 2011, **78 (2)**, 1-6.
- [10] Fedele V., Rubino R., Claps S., Manzi P., Marconi S., Pizzoferrato L. : Seasonal retinol variation in goat milk associated with grazing compared to indoor feeding. *S. Afr. J. Anim. Sci.*, 2004, **34**, 165-167.
- [11] Focant M., Mignolet E., Marique M.F.: The effect of vitamin E supplementation of cows diets containing rapeseed and linseed on the prevention of milk fat oxidation. *J. Dairy Sci.*, 1998, **81(4)**, 1095-1101.
- [12] Havemose M.S., Weisberg M.R., Bredie L.P., Nielsen J.H. : Influence of feeding different types of roughage on the oxidative stability of milk. *Int. Dairy J.*, 2004, **14 (7)**, 563-570.
- [13] Havemose M.S., Weisbjerg M.R., Bredie W.L.P., Poulsen H.D., Nielsen J.H.: Oxidative stability of milk influenced by fatty acids, antioxidants, and copper derived from feed. *J. Dairy Sci.*, 2006, **89(6)**, 1970-1980.
- [14] Horvarth G., Wessjohann L., Bigirimana J., Jansen M., Guisez Y., Caubergs R., Horemans N.: Differential distribution of tocopherols and tocotrienols in photosynthetic and non-photosynthetic tissues. *Phytochemistry*, 2006, **67**, 1185-1195.
- [15] Hulshof P.J.M., van Roeckel-Jansen T., van de Bovenkamp P., West C.E.: Variation in retinol and carotenoid content of milk and milk products in The Netherlands. *J. Food Comp. Anal.*, 2006, **19**, 67-75.
- [16] Jensen S.K., Johannsen A.K.B., Hermansen J.E. : Quantitative secretion and maximal secretion capacity of retinol, β -carotene and α -tocopherol into cows' milk. *J. Dairy Sci.* 1999, **66**, 511-522.
- [17] Józwick A., Strzałkowska N., Bagnicka E., Łagodziński Z., Pyzel B., Chyliński W., Czajkowska A., Grzybek W., Słoniewska D., Krzyżewski J., Horbańczuk J.O. : The effect of feeding linseed cake on milk field and milk fatty acid profile in goats. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 2010, **28**, 245-251.
- [18] Kalač P.: The effects of silage feeding on some sensory and health attributes of cow's milk. A review. *Food Chem.*, 2011, **125**, 307-317.

- [19] Krzyżewski J., Strzałkowska N., Józwik A., Bagnicka E., Horbańczuk J.O.: Wpływ rodzaju skarmianych pasz objętościowych na profil kwasów tłuszczowych w mleku krów. *Życie Wet.*, 2011, **86**, 522-525.
- [20] Koton-Czarnecka M.: Krytyka syntetycznych antyoksydantów. *Puls Med.*, 2006, **14**, 137.
- [21] La Terra S., Marino V.M., Menti M., Licitra G., Caprino S.: Increasing pasture intakes enhances polyunsaturated fatty acids and lipophilic antioxidants in plasma and milk of dairy cows fed total mixed ration. *Dairy Sci. Technol.*, 2010, **90**, 687-698.
- [22] Lee M.R.F., Tweed J.K.S., Minchin F.R., Winters A.L.: Red clover polyphenol oxidase: Activation activity and efficacy under grazing. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2009, **149**, 250-264.
- [23] Lucas A., Agabriel C., Martin B., Ferlay A., Verdier-Metz I., Coulon J.B., Rock E.: Relationship between the conditions of cow's milk production and the contents of component of nutritional interest in raw milk farmhouse cheese. *Lait*, 2006, **86**, 177-202.
- [24] Lynch A., Kerry J.P., Buckley D.J., Morrissey P.A., Lopez-Bote C.: Use of high pressure liquid chromatography (HPLC) for the determination of CDA-tokopherol levels in forage (silage/grass) samples collected from different regions in Ireland. *Food Chem.*, 2001, **72**, 521-524.
- [25] Martin B., Fedele V., Ferlay A., Grolier P., Rock E., Gruffat D., Chilliard Y.: Effects of grass-based diets on the content of micronutrients and fatty acids in bovine and caprine dairy products. In: Lüscher A., Jeangros B., Kessler W., Huguenin O., Lobsiger M., Millar N., Suter D. (Eds.). *Land Use Systems in Grassland Dominated Regions*, vol. 9, Vdf, Zürich, 2004, **9**, 876-886.
- [26] Mc Dowell L. R.: *Vitamins in animal and human nutrition*. Second Edn. Ames IW, USA, Iowa State University Press, 2000.
- [27] Meglia G.E., Jensen S.K., Lauridsen C., Waller K.P.: α -tocopherol concentration and stereoisomer composition in plasma and milk from dairy cows fed natural and synthetic vitamin E around calving. *J. Dairy Res.*, 2006, **7**, 227-234.
- [28] Melton L.: The antioxidant myth: a medical fairy tale. *New Scientist*, 2006 (**2563**), 40-43.
- [29] Miller E.R., Pastor-Bariuso R., Dalal D., Riemersma R.A., Appel L.J., Guallar E.: Meta-analysis: high-dosage vitamin E supplementation may increase all-cause mortality. *Ann. Intern. Med.*, 2005, **142**, 37-46.
- [30] Noziere P., Graulet B., Lucas A., Martin B., Grolier P., Doreau M.: Carotenoids for ruminants: from forages to dairy products. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2006a, **131**, 418-450.
- [31] Noziere P., Grolier P., Durand D., Ferlay A., Pradel P., Martin B.: Variations in carotenoids, fat-soluble micronutrients and color in cows' plasma and milk following changes in forage and feeding level. *J. Dairy Sci.*, 2006b, **89**, 2634-2648.
- [32] Panfili G., Manzi P., Pizzoferrato L.: Influence of thermal and Rother manufacturing stresses on retinol isomerization in milk and dairy products. *J. Dairy Res.*, 1998, **65**, 253-260.
- [33] Prache S., Priolo A., Grolier P.: Persistence of carotenoid pigments in the blood of concentrate-finished grazing sheep: its significance for traceability of grass-feeding. *J. Anim. Sci.*, 2003, **81**, 360-367.
- [34] Reynoso C.R., Mora O., Nieves V., Shimada A., De Mejia E.G.: Beta-carotene and lutein in forage and bovine adipose tissue in two tropical regions of Mexico. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2004, **113**, 183-190.
- [35] Schieber A., Carle R.: Occurrence of cis-isomers in food. Technological, analytical, and nutritional implications. *Trends Food Sci. Technol.*, 2005, **16**, 416-422.
- [36] Schneider C.: Review: Chemistry and biology of vitamin E. *Mol. Nutr. Food Res.*, 2005, **49**, 7-30.
- [37] Strusińska D., Antoszkiewicz Z., Kaliniewicz J.: The concentrations of β -carotene, vitamin A and vitamin E in bovine milk in regard to the feeding season and the share of concentrate in the feed ration. *Rocz. Nauk. Pol. Tow. Zoot.*, 2010, **6**, 213-220.

- [38] Strzałkowska N., Jóźwik A., Bagnicka E., Krzyżewski J., Horbańczuk K., Pyzel B., Horbańczuk J.O.: Chemical composition, physical traits and fatty acid profile of goat milk as related to the stage of lactation. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 2009, **27**, 263-272.
- [39] Strzałkowska N., Jóźwik A., Bagnicka E., Krzyżewski J., Horbańczuk K., Pyzel B., Siwiec D., Horbańczuk J.O.: The concentration of free fatty acids in goat milk as related to the stage of lactation, age and somatic Cell count. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 2010, **28**, 389-395.
- [40] Strzałkowska N., Jóźwik A., Bagnicka E., Krzyżewski J., Horbańczuk J.O.: Studies upon genetic and environmental factors affecting the cholesterol content in cow milk. II. The effect of silage type offered. *Anim. Sci. Pap. Rep.*, 2009, 199-206.
- [41] Van Ranst G., Fievez V., Vandewalle M., De Riek J., Van Bockstaele E.: Influence of herbage species, cultivar and cutting date on fatty acid composition of herbage and lipid metabolism during ensiling. *Grass Forage Sci.*, 2009, **64**, 196-207.
- [42] Williams P.E.V., Ballet N., Robert J.C.: A review of the provision of vitamins for ruminants. In: *Proc. of the Preconference Symp. of the Cornell Nutrition Conference 1998. Provision of Vitamins and Amino Acids for Ruminants*, Rhone Poulenc Animal Nutrition, Anthony, France, 1998, pp. 7- 37.

EFFECTS OF ANTIOXIDANTS IN FAT CONTAINED IN BULKY FORAGES ON COWS' MILK QUALITY

S u m m a r y

Antioxidants contained in bulky forages, i.e. Tocopherols and carotenoids, play a significant role in meeting the demand for carotene, and vitamins a and e in dairy cows. This paper is a review of the results of some scientific research carried out during the last decade in order to study the impact of natural antioxidants in fat contained in bulky forages on the oxidative status of milk as well as on the content of functional components in milk. Based on the research results analyzed, it is possible to manufacture milk with an increased content of unsaturated fatty acids and antioxidative substances (vitamins a, e, and β -carotene), provided, however, that the cows are fed forages with a high content of carotenoids and tocopherols. The antioxidants as named above protect the unsaturated fatty acids contained in the milk fat from adverse oxidation processes, and, at the same, they retain their high biological activity and a proper taste and odour of milk. The content of carotenoids and tocopherols in bulk forages, as well as the rate of their transfer into milk depend crucially on the following: species and variety of plants, stage of vegetation, agrotechnical measures applied, weather conditions during the vegetation period, and forage conservation methods (such as drying or silage).

Green fodders and silages from vegetative meadow covers, papilionaceous plants, and mixtures of grasses and papilionaceous plants should be maximally utilized in feeding dairy cows as a valuable source of vitamins a, e, and β -carotene, since they, together with the unsaturated fatty acids, beneficially impact the quality of milk and consumers' health.

Key words: antioxidants, bulk forages, milk, tocopherols, carotenoids, vitamins ☒

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

PRÓBA WZBOGACANIA TŁUSZCZU MLECZNEGO KWASAMI EPA I DHA

Streszczenie

Przeestryfikowanie to jedna z metod modyfikacji tłuszczów. Pozwala ona uzyskać produkty o z góry założonej strukturze lipidów.

Celem pracy było wzbogacanie tłuszczu mlecznego kwasami EPA i DHA. Przedmiotem badań był tłuszcz mleczny (MF) oraz koncentrat kwasów n-3 (ROPUFA). Mieszaninę tych tłuszczów o składzie masowym 2 : 1 (MF : ROPUFA) poddano przeestryfikowaniu w obecności preparatu Lipozyme RM IM w temp. 50 i 80 °C, przez 2 i 8 h. W przeestryfikowanych mieszaninach stwierdzono obecność kwasów pochodzących zarówno z tłuszczu mlecznego, jak i koncentratów n-3, w tym kwasów EPA i DHA. Uzyskane mieszaniny tłuszczowe mogą być surowcem do produkcji odżywek dla niemowląt i małych dzieci.

Słowa kluczowe: tłuszcz mleczny, kwasy EPA i DHA, przeestryfikowanie

Wprowadzenie

Cechą charakteryzującą tłuszcz mleczny jest duża zawartość krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych, które w odróżnieniu od kwasów długołańcuchowych, cechują się łatwą absorpcją i przyspieszonym metabolizmem [20]. Tłuszcz mleka krowiego jest dobrze przyswajalny również w organizmie dziecka i stanowi dobre źródło potrzebnej energii. Do prawidłowego rozwoju człowieka, a zwłaszcza niemowlęcia, niezbędna jest obecność w diecie długołańcuchowych nienasyconych kwasów tłuszczowych: α -linolenowego, dokozaheksaenowego, eikozapentaenowego, linolowego i arachidonowego. Kwasy te są integralnym składnikiem błon biologicznych, wszystkich komórek i źródłem energii dla większości tkanek rozwijającego się organizmu [7]. Długołańcuchowe wielonienasycone kwasy tłuszczowe, szczególnie kwasy EPA-eikozapentaenowy i DHA-dokozaheksaenowy są niezbędne we wczesnym okresie

Dr inż. M. Wirkowska, dr inż. J. Bryś, dr A. Górską, dr inż. E. Ostrowska-Ligęza, dr inż. K. Tarnowska, Katedra Chemii, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-787 Warszawa

rozwoju organizmu, szczególnie w rozwoju tkanek bogatych w błony komórkowe, takich jak mózg i siatkówka oka. Są również prekursorami prostaglandyn i innych eikozanoidów tzw. hormonów tkankowych pełniących funkcje regulacyjne, m.in. są one mediatorami odpowiedzi immunologicznej, przepływu naczyniowego krwi i agregacji płytek. Wykazano, że niskie poziomy tkankowe kwasu dokozaheksaenowego związane są z zaburzeniami widzenia i rozwoju neurologicznego [14].

Jedną z metod wzbogacania tłuszczu mlecznego w długołańcuchowe nienasycone kwasy tłuszczowe jest przeestryfikowanie enzymatyczne. Uzyskany produkt może być następnie wykorzystany do produkcji odżywek dla niemowląt, w których zawartość kwasów długołańcuchowych n-3 jest szczególnie ważna. Przeestryfikowanie enzymatyczne to jeden ze sposobów modyfikacji tłuszczów, w którym jako katalizatory wykorzystywane są enzymy lipolityczne. Wykorzystanie lipaz w procesie przeestryfikowania, zwłaszcza tych, które wykazują różną specyficzność w stosunku do struktury kwasów tłuszczowych czy też położenia wiązania estrowego w cząsteczkach triacylogliceroli, pozwala na uzyskanie produktów o z góry założonej strukturze [5]. Proces ten polega na wymianie grup acylowych zarówno wewnątrzcząsteczek triacylogliceroli, jak i pomiędzy różnymi cząsteczkami [8, 13, 18]. Przeestryfikowanie powoduje zmianę w strukturze triacylogliceroli, a cenne biologicznie aktywne kwasy tłuszczowe pozostają nienaruszone [6, 18].

Celem pracy było wzbogacenie tłuszczu mlecznego kwasami eikozapentaenowym i dokozaheksaenowym na drodze przeestryfikowania enzymatycznego.

Material i metody badań

Przedmiotem badań był tłuszcz mleczny (MF) oraz tłuszcz zawierający koncentrat kwasów n-3 (ROPUFA). Mieszaninę wyżej wymienionych tłuszczów o składzie masowym 2 : 1 (MF : ROPUFA) poddano przeestryfikowaniu w obecności preparatu Lipozyme RM IM, zawierającego immobilizowaną lipazę, specyficzną w stosunku do wiązań estrowych w pozycji *sn*-1,3 triacylogliceroli. Przeestryfikowanie było prowadzone w temp. 50 i 80 °C, przez 2 i 8 h. Ilość katalizatora w stosunku do masy mieszaniny wynosiła 8 %. W surowcach wyjściowych oraz mieszaninach po przeestryfikowaniu oznaczano liczbę kwasową metodą miareczkową [16] oraz zawartość frakcji polarnej metodą chromatografii kolumnowej [15]. W triacyloglicerolach wyizolowanych z produktów przeestryfikowania oznaczano skład kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej, wykorzystując kolumnę kapilarną BPX-70 o dł. 30 m, Ø wewnętrznej 0,22 mm i grubości filmu 0,25 µm, oraz rozmieszczenie kwasów tłuszczowych pomiędzy pozycje triacylogliceroli. W tym celu wykorzystano zdolność enzymu lipazy trzustkowej do selektywnej hydrolizy wiązań estrowych w pozycjach *sn*-1,3 triacylogliceroli, przy założeniu ich równocенności. Zastosowanie enzymu regiospecyficznego pozwoliło na oznaczenie składu kwasów tłuszczowych w pozycji wewnętrz-

nej *sn-2* cząsteczek triacylogliceroli. Uwzględniając doniesienia literaturowe [2], ustalono warunki wykonywania reakcji hydrolizy.

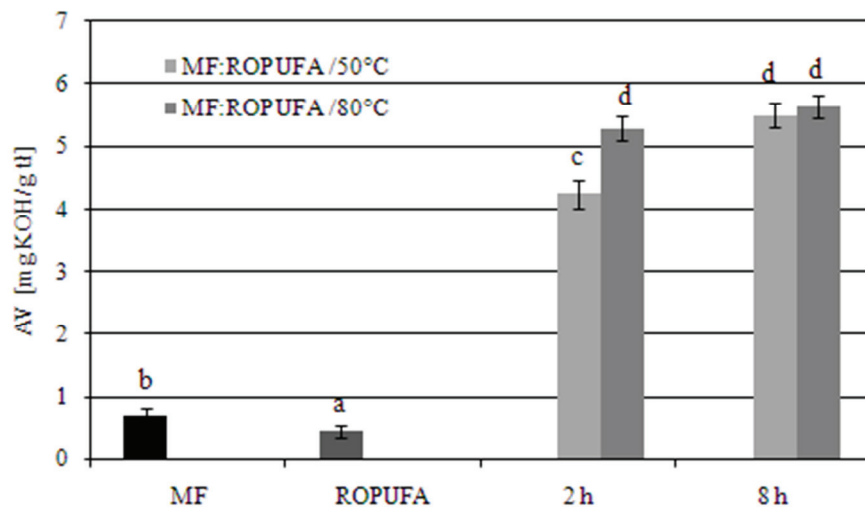
Uzyskane wyniki opracowano statystycznie testem Tukey'a na poziomie istotności $p < 0,05$, przy użyciu programu Statgraphics Plus, wersja 4.1.

Wyniki i dyskusja

Pożądanym produktem przeestryfikowania są triacyloglicerole o zmienionych właściwościach fizycznych i chemicznych. W produktach przeestryfikowania obok triacylogliceroli pojawiają się pewne ilości wolnych kwasów tłuszczowych, diacylogliceroli i monoacylogliceroli. Porównując zawartość wolnych kwasów tłuszczowych, których miarą jest wielkość liczby kwasowej (AV) oraz zawartość frakcji polarnej [PF] w surowcach wyjściowych i produktach ich przeestryfikowania można stwierdzić, że przeestryfikowanie spowodowało zwiększenie liczby kwasowej oraz ilości składników polarnych (rys. 1 i 2). Istnieje związek pomiędzy wartością liczby kwasowej i zawartością frakcji polarnej (PF) w surowcach i przeestryfikowanych mieszaninach. Związane jest to z obecnością wolnych kwasów tłuszczowych w składzie oznaczonych frakcji polarnych. W skład frakcji polarnej wchodzi bowiem mono- i diacyloglicerole, a także wolne kwasy tłuszczowe.

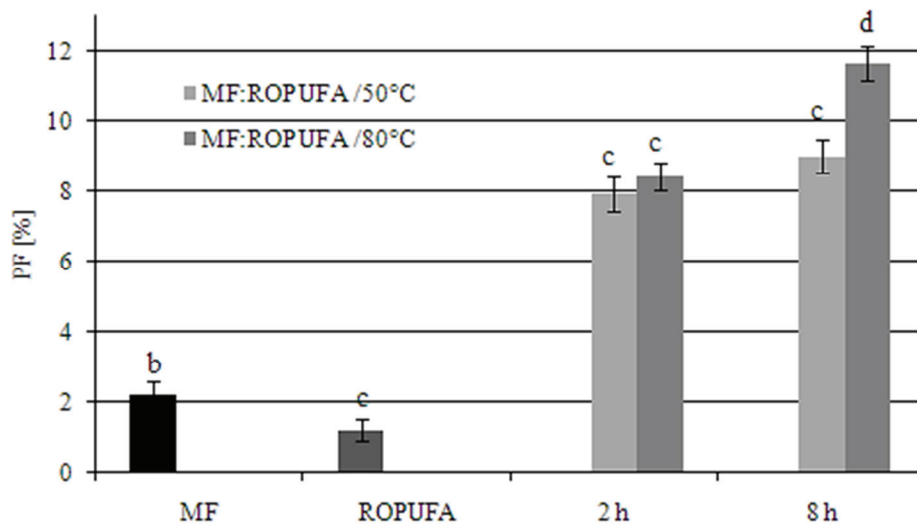
W procesie enzymatycznego przeestryfikowania tłuszczów zachodzą jednocześnie dwie reakcje: częściowa hydroliza triacylogliceroli i ponowna estryfikacja niepełnych acylogliceroli. Decydujące znaczenie ma zawartość wody. Ograniczenie jej w układzie powoduje dominację reakcji przeestryfikowania nad reakcją hydrolizy. Pewna jednak, minimalna ilość wody jest niezbędna do prawidłowej pracy enzymu, ponieważ działa on na granicy faz olej-woda. Fabryczna zawartość wody w używanym preparacie enzymatycznym wynosiła 4 %. Nadmierna ilość wody w układzie reakcyjnym może spowodować dominację hydrolizy nad estryfikacją, czego skutkiem jest zwiększona zawartość wolnych kwasów tłuszczowych, diacylogliceroli i monoacylogliceroli [9, 17]. Zwiększona zawartość frakcji nie triacyloglicerolowej może obniżać odporność tłuszczu na utlenianie, a także jest przyczyną strat substancji tłuszczowej [19].

Wydłużenie czasu przebiegu procesu przeestryfikowania z 2 do 8 h (w temp. 50 °C) spowodowało wzrost liczby kwasowej w produktach finalnych. Znajduje to potwierdzenie w badaniach Bryś i wsp. [3]. Na ilość niepełnych acylogliceroli i wolnych kwasów tłuszczowych w końcowych produktach przeestryfikowania ma wpływ również temperatura prowadzenia procesu. Mieszaniny przeestryfikowane w temp. 80 °C charakteryzowały się dużo większą zawartością frakcji polarnej niż mieszaniny przeestryfikowane w temp. 50 °C (szczególnie po 8 h trwania procesu).



Te same litery oznaczają brak różnic statystycznie istotnych na poziomie $p < 0,05$ / The same letters mean that there are no statistically significant differences, at $p < 0.051$

Rys. 1. Liczba kwasowa (AV) w surowcach wyjściowych oraz przeestryfikowanych mieszaniach.
Fig. 1. Acid value (AV) in starting materials and interesterified blends.



Objaśnienie jak pod rys. 1 / Explanatory note as in Fig. 1.

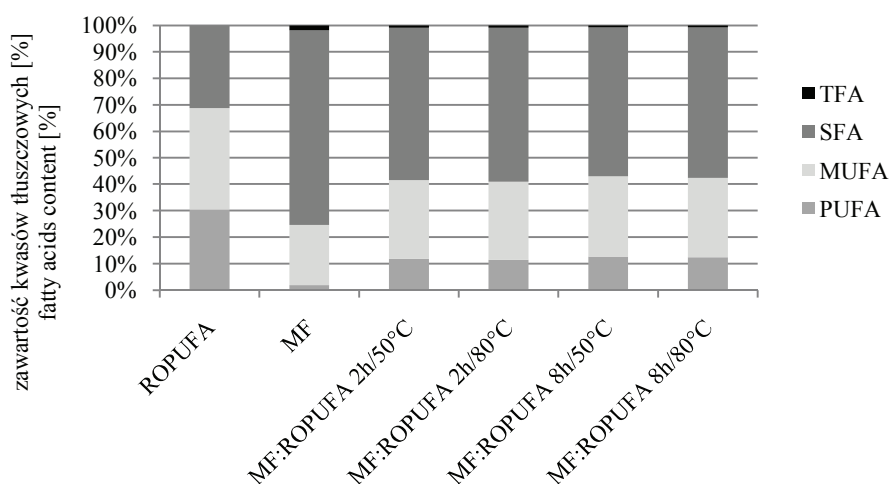
Rys. 2. Zawartość frakcji polarnej (PF) w surowcach wyjściowych oraz przeestryfikowanych mieszaniach.
Fig. 2. Content of polar fraction (PF) in starting materials and in interesterified blends.

Tłuszcz mleczny charakteryzuje się szczególnie dużą różnorodnością kwasów tłuszczowych. Z ponad 400 różnych kwasów mogących występować w tłuszczu mlecznym nienasycone kwasy tłuszczowe stanowiły 24,6 %, natomiast nasycone 73,6 % (rys. 3). Głównymi składnikami analizowanego tłuszczu mlecznego były kwasy: palmitynowy (40,9 %) oraz oleinowy (20,1 %). W drugim analizowanym surowcu wyjściowym – tłuszczu zawierającym koncentrat kwasów n-3 zawartość dwóch najważniejszych kwasów tłuszczowych EPA i DHA wynosiła odpowiednio 9,3 % oraz 16,9 % (tab. 1). Kwasy te odgrywają ważną rolę we wzroście młodego organizmu oraz w prawidłowym funkcjonowaniu narządu wzroku i rozwoju układu nerwowego, dlatego powinny się znajdować w pokarmie spożywanym przez niemowlęta. Kwas DHA stanowi ważny składnik fosfolipidów znajdujących się w błonach komórkowych mózgu i siatkówce oka [14]. Dawne standardowe odżywki, wytwarzane przy użyciu olejów roślinnych nie zawierały kwasu DHA, jednak na drodze desaturacji i elongacji organizm człowieka ma możliwość wytworzenia długołańcuchowych kwasów tłuszczowych z ich prekursorów: kwasu linolowego (C18:2, n-6) i kwasu α -linolenowego (C18:3, n-3), które występują powszechnie w mleku modyfikowanym. Jak się okazuje możliwość syntezy LC-PUFA z ich prekursorów jest możliwa w teorii, jednak w praktyce wydajność tego procesu szczególnie u niemowląt jest bardzo ograniczona [1, 14]. Dlatego też wskazane okazało się suplementowanie mleka modyfikowanego tymi kwasami, co staje się coraz bardziej powszechne w mleku początkowym [12, 14].

W uzyskanych finalnych produktach przeestryfikowania stwierdzono obecność kwasów pochodzących zarówno z tłuszczu mlecznego, jak i koncentratu n-3 (ROPUFA), w tym obecność kwasów EPA i DHA. Zawartość długołańcuchowych kwasów tłuszczowych (EPA, DHA) w przeestryfikowanych mieszaninach wynosiła od 8,8 do 10,0 %, natomiast kwasów nasyconych od 56,2 do 58,0 % (rys. 3). Nie zmieniła się ilość izomerów trans kwasów tłuszczowych (TFA). Obecność izomerów trans na poziomie 0,7 - 0,9 % w uzyskanych mieszaninach wynika z naturalnej obecności tych kwasów w tłuszczu mlecznym.

Właściwości różnych tłuszczów zależą nie tylko od składu kwasów tłuszczowych, lecz także od składu i struktury triacylogliceroli. Położenie kwasów tłuszczowych w cząsteczkach triacylogliceroli ma szczególne znaczenie przy programowaniu nowych tłuszczów modyfikowanych technologicznie, jak i podczas ich trawienia i wchłaniania w organizmie człowieka. W tab. 1. przedstawiono rozmieszczenie głównych kwasów tłuszczowych w pozycji wewnętrznej triacylogliceroli surowców wyjściowych oraz produktów przeestryfikowania. W tłuszczu mlecznym kwas mirystynowy i palmitynowy umiejscowione są głównie w pozycjach *sn*-2 triacylogliceroli, co powoduje, że tłuszcz ten jest dobrze przyswajalny przez organizm dziecka. We wszystkich otrzymanych przeestryfikowanych mieszaninach kwas palmitynowy również był zestryfikowany głównie w pozycjach *sn*-2 (tab. 1). Kwasy nienasycone długo-

łańcuchowe EPA i DHA zajmowały natomiast przede wszystkim pozycje zewnętrzne triacylogliceroli *sn*-1,3. Wydłużenie czasu przeestryfikowania nie wpłynęło na ilość kwasów nienasyconych EPA i DHA znajdujących się w finalnych produktach, spowodowało natomiast zwiększenie udziału tych kwasów w pozycjach *sn*-1,3 triacylogliceroli (tab. 1).



Rys. 3. Skład kwasów tłuszczowych surowców wyjściowych oraz produktów przeestryfikowania.

Fig. 3. Composition of fatty acids in starting materials and in products of interesterification.

Uzyskanie takiej dystrybucji kwasów tłuszczowych w przeestryfikowanych mieszaninach powoduje, że tłuszcze te mogą być wykorzystywane w produkcji odżywek dla niemowląt. Otrzymane mieszaniny tłuszczowe zawierają kwasy krótkołańcuchowe, które są źródłem energii, oraz niezbędne do rozwoju niemowlęcia i dziecka, kwasy eikozapentaenowy oraz dokozaheksaenowy. Specyficzne rozmieszczenie kwasów w otrzymanych tłuszczach będzie przyczyniało się również do powstawania odpowiednich produktów podczas trawienia w organizmie dziecka. W wyniku hydrolizy triacylogliceroli prowadzonej przez lipazę trzustkową będzie powstawał *sn*-2 mono-palmitynian glicerolu, który jest w ponad 98 % wchłaniany przez organizm dziecka. Również uwalniane w wyniku hydrolizy kwasy tłuszczowe nienasycone oraz ich sole wapniowe są dobrze wchłaniane w organizmie dziecka [4]. Wytwarzane przemysłowo produkty przeznaczone dla niemowląt i małych dzieci zawierają w składzie oleje roślinne, co nie zapewnia odpowiedniej przyswajalności tych produktów. W przypadku hydrolizy triacylogliceroli olejów roślinnych, dodawanych do mleka modyfikowanego,

Tabela 1

Skład ważniejszych kwasów tłuszczowych w pozycjach zewnętrznych i wewnętrznej cząsteczek triacylogliceroli (TAG) oraz udział poszczególnych kwasów w pozycji wewnętrznej (*sn*-2).

Composition of major fatty acids in internal and external positions of triacylglycerols (TAG) and content of individual fatty acids in internal position (*sn*-2).

Rodzaj tłuszczu Type of fat	Rodzaj kwasu tłuszczowego Type of fatty acid n:m*	Skład kwasów tłuszczowych w TAG Fatty acid composition in TAGs [%]	Skład kwasów tłuszczowych [%] w pozycjach Fatty acid composition [%] in positions		Udział danego kwasu tłuszczowego w pozycji <i>sn</i> -2 Content of given fatty acid in <i>sn</i> -2 position [%]
			<i>sn</i> -2	<i>sn</i> -1,3	
MF	14:0	13,2	19,1	10,3	48,2
	16:0	40,9	52,4	35,2	42,7
	18:0	9,5	7,6	10,5	26,7
	18:1 (9-cis)	20,1	17,3	21,5	28,7
ROPUFA	14:0	5,2	10,3	2,6	66,1
	16:0	17,1	22,1	14,7	43,0
	18:0	4,2	3,4	4,6	26,9
	18:1 (9-cis)	21,7	22,1	21,5	33,9
	20:5 (all-cis)	9,3	11,0	8,4	39,6
	22:6 (all-cis)	16,9	19,6	15,6	38,8
MF:ROPUFA 2h/50°C	14:0	10,2	14,2	8,3	46,2
	16:0	30,0	37,2	26,4	41,3
	18:0	8,2	5,8	9,3	23,7
	18:1 (9-cis)	22,8	23,4	22,6	34,1
	20:5 (all-cis)	3,5	3,0	3,8	28,6
	22:6 (all-cis)	5,6	4,9	6,0	29,2
MF:ROPUFA 2h/80°C	14:0	10,2	14,8	8,0	48,2
	16:0	30,2	37,3	26,6	41,2
	18:0	8,2	5,3	9,7	21,5
	18:1 (9-cis)	22,7	21,9	23,1	32,1
	20:5 (all-cis)	3,4	2,9	3,7	28,4
	22:6 (all-cis)	5,4	4,5	5,9	27,8
MF:ROPUFA 8h/50°C	14:0	9,6	14,6	7,2	50,5
	16:0	29,2	35,9	25,9	40,9
	18:0	8,4	5,6	9,8	22,3
	18:1 (9-cis)	23,3	20,4	24,8	29,2
	20:5 (all-cis)	3,7	2,0	4,6	18,0
	22:6 (all-cis)	6,3	4,0	7,5	21,2
MF:ROPUFA 8h/80°C	14:0	9,7	14,1	7,5	48,5
	16:0	29,7	36,3	26,4	40,7
	18:0	8,6	6,2	9,8	24,0
	18:1 (9-cis)	23,1	20,0	24,6	28,9
	20:5 (all-cis)	3,6	1,9	4,5	17,6
	22:6 (all-cis)	6,1	3,9	7,2	21,3

odszczepione ze skrajnych pozycji wolne kwasy tłuszczowe, w większości nasycone (C16:0; C18:0), są gorzej wchłaniane i jako takie reagują z wolnymi jonami Ca^{2+} , tworząc nierozpuszczalne sole wapniowe, które następnie są wraz z kałem usuwane z organizmu. Oleje roślinne dodawane do produktów spożywczych dla niemowląt na skutek innej niż w mleku kobiecym struktury stereospecyficznej triacylogliceroli mogą zmienić warunki wchłaniania tłuszczu oraz powodować zmniejszenie dostępności wapnia dla organizmu dziecka [4, 10, 11].

Wnioski

1. Przeestryfikowanie spowodowało wzrost zawartości wolnych kwasów tłuszczowych oraz frakcji polarnej w badanych mieszaninach.
2. W przeestryfikowanych mieszaninach stwierdzono obecność kwasów pochodzących zarówno z tłuszczu mlecznego, jak i koncentratów n-3, w tym kwasów EPA i DHA.
3. W produktach przeestryfikowania kwas palmitynowy zestryfikowany jest głównie w pozycji *sn-2*, natomiast kwasy nienasycone w pozycjach zewnętrznych triacylogliceroli.
4. Uzyskane mieszaniny tłuszczowe mogą być surowcem do produkcji odżywek dla niemowląt i małych dzieci.

Badania były finansowane ze środków budżetowych na naukę w latach 2010-2012 jako projekt badawczy nr N N312 068439.

Literatura

- [1] Alles M.S., Scholtens P.A.M.J., Bindels J.G.: Current trends in the composition of infant milk formulas. *Current Pediatrics*, 2004, **14**, 51-63.
- [2] Brockerhoff H.: A stereospecific analysis of triglycerides. *J. Lipid Res.*, 1965, **6**, 10-15.
- [3] Bryś J., Gruczyńska E., Kowalski B.: The properties of mixtures of milkfat with vegetable oils after chemical interesterification. *La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*, 2004, **81 (6)**, 359-363.
- [4] Cichon R., Stołyhwo A.: Charakterystyka tłuszczów spożywczych dla dzieci. *Pediatrics Współczesna. Gastroenterologia, Hepatologia i Żywnienie Dziecka*, 1999, **1, 2/3**, 151-154.
- [5] Gruczyńska E., Kowalski B., Tarnowska K., Dziuros J., Kowalska M., Bekas W.: Modification of beef tallow and its mixtures with rapeseed oil by chemical interesterification. *La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*, 2002, **79**, 391-394.
- [6] Gruczyńska E., Maciaszek K.: Przeestryfikowanie jako metoda modyfikacji właściwości lipidów. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2000, **24 (3)**, 31-38.
- [7] Karwowska W., Duda G., Obiedziński M., Kroc M.: Skład kwasów tłuszczowych mleka kobiecego. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 2005, Supl., 105-109.
- [8] Kowalski B., Tarnowska K., Gruczyńska E., Bekas W.: Chemical and enzymatic interesterification of beef tallow and rapeseed oil blend with low content of tallow. *J. Oleo Sci.* 2004, **53 (10)**, 479-488.

- [9] Ledóchowska E.: Enzymatyczne przeestryfikowanie jako metoda modyfikacji tłuszczów. Rozprawa habilitacyjna. Politechnika Gdańska, Gdańsk, ss. 3-87.
- [10] Lopez-Lopez A., Castellote-Bargalló A.I., Campoy-Folgoso C., Rivero-Urgel M., Lopez-Sabater M.C.: Fatty acid and sn-2 fatty acid composition in human milk from Granada (Spain) and infant formulas. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 2002, **56**, 1242-1254.
- [11] Lopez-Lopez A., Castellote-Bargalló A.I., Campoy-Folgoso C., Rivero-Urgel M., Tormo-Carnice R., Infante-Pina D., Lopez-Sabater M.C.: The influence of dietary palmitic acid triacylglyceride position on the fatty acid, calcium and magnesium contents of at term newborn faeces. *Early Human Development*, 2001, **65 (suppl)**, 83-94.
- [12] Makrides M., Gibson R.A., Udell T., Ried K., The International LC-PUFA Investigators: Supplementation of infant formula with long-chain polyunsaturated fatty acids does not influence the growth of term infants. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2005, **81**, 1094-1101.
- [13] Marangoni A. G., Rousseau D.: Engineering triacylglycerols: The role of interesterification. *Trends Food Sci. Technol.*, 1995, **6 (10)**, 329-335.
- [14] Mojska H., Socha J.: Czynniki wpływające na zawartość tłuszczu całkowitego i skład kwasów tłuszczowych w mleku kobiecym. *Żyw. Człow. Metab.*, 2002, **39 (1/2)**, 62-77.
- [15] PN-EN ISO 8420:1999. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie zawartości związków polarnych.
- [16] PN-ISO 660:2000. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby kwasowej i kwasowości.
- [17] Rozenaal A.: Interesterification of oils and fats. *International News on Fats, Oils and Related Materials*, 1992, **3 (11)**, 1232-1237.
- [18] Tynek M., Ledóchowska E.: Zmiana właściwości fizycznych tłuszczu mlecznego oraz jego wysokotopliwej frakcji w wyniku przeestryfikowania olejem słonecznikowym. *Tłuszcze Jadalne*, 2003, **38 (3 - 4)**, 104-117.
- [19] Wirkowska M., Bryś J., Kowalski B.: Stabilność przeciwutleniająca przeestryfikowanych miesznin tłuszczu mlekowego z olejem rzepakowym. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **2 (43) Supl.**, 265-274.
- [20] Ziemiański Ś., Budzyńska-Topolowska J.: *Tłuszcze pożywienia i lipidy ustrojowe*. PWN, Warszawa 1991.

ATTEMPT TO ENHANCE MILK FAT WITH EPA AND DHA ACIDS

S u m m a r y

Interesterification is one of the fat modification methods. This method makes it possible to produce products having a predetermined structure of lipids.

The objective of the papers was to enrich milk fat with EPA and DHA acids. The research comprised a milk fat and a concentrate of n-3 fatty acids (ROPUFA). A blend of those fats, MF to ROPUFA rate being 2:1, was interesterified for 2 and 8 hours, at a temperature of 50 and 70°C, in the presence of an enzymatic preparation Lipozyme RM IM. It was found that fatty acids were present in the interesterified blends derived from both the milk fat and the concentrates of n-3 fatty acids, including EPA and DHA acids. The blends of fats obtained can be used to produce baby foods for infants and small children.

Key words: milk fat, EPA and DHA acids, interesterification 

AGNIESZKA WIKIERA, MAGDALENA MIKA

WPLYW METYLOKSANTYN NA EMULGACJĘ I BIODOSTĘPNOŚĆ LIPIDÓW MASŁA SZACOWANĄ *IN VITRO*

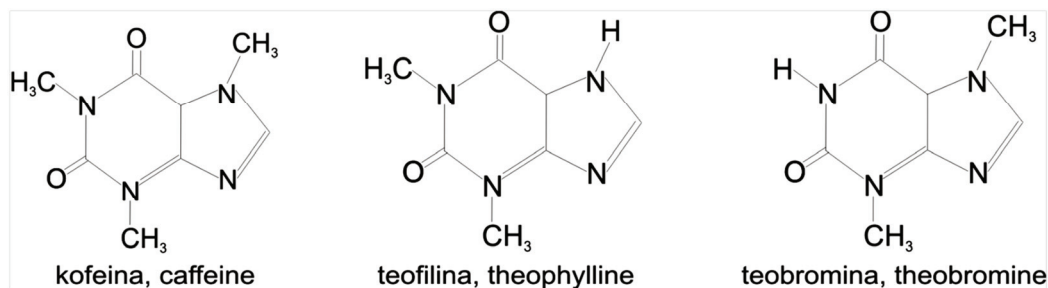
Streszczenie

Badano wpływ powszechnie spożywanych wraz z dietą N-metyloksantyn: kofeiny, teofiliny i teobrominy na emulgację lipidów masła i ich biodostępność w warunkach żołądka i jelit człowieka symulowanych *in vitro*. Materiał badawczy stanowiło masło wiejskie, do którego dodawano testowane związki w ilości 40 $\mu\text{mol/g}$. Na podstawie wyników stwierdzono, że w badanej dawce każdy z alkaloidów intensyfikował tworzenie emulsji poprzez zwiększanie stopnia jej dyspersji. Siła proemulgującego działania alkaloidów zależała od rozmieszczenia grup metylowych w cząsteczce i wzrastała zgodnie z szeregiem 1,3-dimetyloksantyna (teofilina) \rightarrow 1,3,7-trimetyloksantyna (kofeina) \rightarrow 3,7-dimetyloksantyna (teobromina). Jednocześnie każdy z testowanych alkaloidów ograniczał w sposób istotny biodostępność lipidów. W przypadku teofiliny ilość kwasów tłuszczowych i glicerolu uwalnianych z lipidów masła zmniejszała się względem próby kontrolnej średnio o 9 %, w przypadku kofeiny o około 16 %, a w przypadku teobrominy aż o 27 %. Wyniki takie sugerują, że w warunkach symulowanego trawienia lipidów w przewodzie pokarmowym alkaloidy musiały oddziaływać nie tylko na hydrofobowy substrat, wspomagając jego emulgację, ale także na lipazę trzustkową, wypierając ją z powierzchni miceli, a tym samym ograniczając jej kontakt z substratem i skutecznie ją inhibując.

Słowa kluczowe: metyloksantyny, emulgacja lipidów, biodostępność lipidów, *in vitro*

Wprowadzenie

Metyloksantyny to związki należące do grupy alkaloidów purynowych, powstające w wyniku kilkukrotnej metylacji ksantyny. Ich najważniejszymi przedstawicielami są: kofeina (1,3,7-trimetyloksantyna), teofilina (1,3-dimetyloksantyna) i teobromina (3,7-dimetyloksantyna) (rys. 1).



Rys. 1. Struktura przestrzenna cząsteczek kofeiny, teofiliny i teobrominy.

Fig. 1. The chemical structures of caffeine, theophylline and theobromine.

Alkaloidy te są powszechnie spożywane przez ludzi, jako składniki żywności, używek i leków. Średnie dzienne spożycie kofeiny ocenia się na 80 - 400 mg/osobę [21]. Alkaloid ten jest składnikiem kawy (0,43 - 0,85 mg/ml) [4], herbaty (0,1 - 0,2 mg/ml) [13], czekolady i wyrobów czekoladowych (0,7 - 10,8 mg/100 g) [5]. Jest także obecny w niektórych lekach, szczególnie przeciwkaszlowych i przeciwprzeziębieniowych [9] oraz w środkach odchudzających [10]. Teobromina i teofilina mogą powstawać w organizmie człowieka na skutek przemian kofeiny [11], ale mogą być także dostarczane jako składnik kakao, kawy czy herbaty [5, 6]. W ekstrakcie herbaty zawartość teofiliny szacuje się na poziomie około 1,5 mg/l [5, 15], a teobrominy na poziomie 7,5 - 21 mg/l [7, 13]. Zawartość tych alkaloidów w 100 g czekolady zwykle nie przekracza 3 mg w przypadku teofiliny i 1 g w przypadku teobrominy [7]. Ogólnie średnie dzienne spożycie teofiliny, wynikające tylko i wyłącznie z picia czarnej herbaty i używania kakao szacuje się na około 0,51 mg, natomiast średnie dzienne spożycie teobrominy wynosi około 39 mg [28]. Ponadto oba alkaloidy są wykorzystywane dość powszechnie w medycynie, teofilina jako główny składnik leków moczopędnych, a teobromina jako środek nasercowy i przeciwkaszlowy [24].

Spożyte wraz z dietą alkaloidy purynowe nie są kumulowane w organizmie człowieka, lecz dość szybko (okres połowicznego rozpadu wynosi od 4 do 10 h) metabolizowane w wątrobie do kwasu moczowego, który jest wydalany wraz z moczem [23]. Wszystkie wykazują szerokie działanie farmakologiczne, do którego należy stymulacja centralnego układu nerwowego i ośrodków wegetatywnych, głównie naczynioruchowego i oddechowego [17] oraz zmniejszanie napięcia mięśni gładkich naczyń krwionośnych [16]. Znanych jest szereg dowodów świadczących, że przyjmowane wraz z dietą kofeina, teofilina i teobromina przyspieszają lipolizę komórkową [12, 27] i stymulują termogenezę [10, 3], a w konsekwencji prowadzą do zmniejszenia masy ciała [27, 3]. Istnieją także przesłanki pozwalające sądzić, że związki te dzięki właściwościom inhibitującym wobec niektórych enzymów [22, 27] oraz chelatowaniu jonów

metali [20, 14] mogą ograniczać biodostępność przynajmniej niektórych składników diety.

Zasadniczym celem przeprowadzonych badań było określenie wpływu fizjologicznych dawek, powszechnie obecnych w diecie N-metyloksantyn: kofeiny, teofiliny i teobrominy, na proces trawienia i przyswajania lipidów. W związku z faktem, że biodostępność lipidów zależy bezpośrednio od przebiegu ich hydrolizy, a ta z kolei od stopnia zemulgowania, kolejno analizowano wpływ metyloksantyn na oba te procesy.

Material i metody badań

Do badań użyto czystych preparatów kofeiny, teofiliny i teobrominy, zakupionych w firmie Sigma Chemicals Inc., oraz masło wiejskie, produkowane według tradycyjnej domowej receptury, zakupione na placu handlowym Nowy Kleparz w Krakowie. Zawartość suchej masy w analizowanym maśle wynosiła 86,14 %, a zawartość tłuszczu 81,17 %.

Do symulowania trawienia w przewodzie pokarmowym człowieka wykorzystano pochodzące z firmy Sigma Chemicals Inc.: pepsynę o deklarowanej aktywności 4750 U/mg, preparat wieloskładnikowy – Pancreatinum zawierający enzymy trzustkowe o deklarowanej aktywności równej 8*United States Pharmacopoeia, oraz ekstrakt soli żółciowych.

Do oznaczenia ilości glicerolu i kwasów tłuszczowych uwolnionych podczas hydrolizy lipidów zastosowano odpowiednio test enzymatyczny firmy Cormay oraz czerwień krezolową firmy Sigma Chemicals Inc.

W celu zbadania wpływu metyloksantyn na proces emulgacji i biodostępność lipidów zawartych w maśle zastosowano metodę trawienia *in vitro* opisaną przez Mikę i wsp. [18]. Badane próbki masła poddawano kolejno dwóm inkubacjom symulującym środowisko żołądka (pH 2,0) i jelita cienkiego (pH 7,5). Naważki masła ($0,5 \pm 0,001$ g wg s.m.) z dodatkiem badanych alkaloidów (roztwory wodne) w ilości 40 μmol na 1 g masła lub z dodatkiem wody redestylowanej (próba kontrolna), zakwaszono 0,5 M HCl (w ilości ustalonej na podstawie miareczkowań) do pH 2,0. Następnie dodawano 0,75 ml roztworu pepsyny i wodę redestylowaną w takiej ilości, aby łączna objętość wprowadzanych płynów wynosiła 2,0 ml. Dokładnie mieszano, szczelnie zamykano i inkubowano w temp. 37 °C w pozycji horyzontalnej z wytrząsaniem przez 120 min. Po tym czasie część probówek przeznaczoną do oznaczenia stopnia emulgacji żółdkowej ustawiano w pozycji wertykalnej na 10 min w celu rozdzielenia frakcji zemulgowanej (krople tłuszczu < 100 μm). Do pozostałych probówek dodawano wyliczoną na podstawie miareczkowań ilość 1 M NaHCO₃, 0,375 ml roztworu pankreatyny z żółcią i zbuforowaną do pH 7,5 wodę redestylowaną (w takiej ilości, aby łączna objętość wprowadzanych płynów wynosiła 1,15 ml). Całość dokładnie mieszano, a następnie probówki z próbkami przeznaczonymi do oznaczenia stopnia emulgacji jelitowej

szczelnie zamykano. Pozostałe próbki przeznaczone do oznaczenia biodostępności lipidów przeniesiono ilościowo do worków dializacyjnych, które umieszczano w kolbach stożkowych zawierających po 50 ml wody redestylowanej alkalizowanej do pH 7,5. W obu przypadkach drugą inkubację, odpowiadającą emulgacji i trawieniu w jelicie cienkim, prowadzono w łaźni wodnej z wytrząsaniem (200 wychyleń/min), w temp. 37 °C przez 240 min. Po tym czasie próbki do oznaczenia stopnia emulgacji lipidów ustawiano w pozycji wertykalnej na 10 min, a z kolb stożkowych pobierano próbki dializatu i oznaczano ilość uwolnionego z masła glicerolu, stosując kolorymetryczną metodę enzymatyczną opisaną przez Fossati'ego i Prencipe [8]. Ilość wolnych kwasów tłuszczowych pozostałych po trawieniu w workach dializacyjnych oznaczano metodą miareczkową wobec czerwieni krezolowej.

Wpływ metyloksantyn na biodostępność lipidów szacowano z równania: biodostępność [%] = $D \cdot 100 / A$, gdzie D jest ilością glicerolu lub ilością wolnych kwasów tłuszczowych uwalnianych z lipidów masła w obecności metyloksantyn, natomiast A jest ilością glicerolu lub ilością wolnych kwasów tłuszczowych uwalnianych z lipidów masła w próbie kontrolnej.

Stopień zemulgowania lipidów masła po symulowanym trawieniu w żołądku i jelicie cienkim oznaczano stosując procedurę opisaną przez Wikierę i wsp. [30]. Jako wielkość graniczną kropeł tłuszczu zemulgowanego przyjęto 100 µm za pracą Armanda i wsp. [1].

Wszystkie eksperymenty wykonano w czterech powtórzeniach. Otrzymane wyniki analizowano przy użyciu programu statystycznego StatGraphics Plus wersja 5.1, stosując jednoczynnikową analizę wariancji. Istotność różnic pomiędzy wartościami średnimi weryfikowano testem LSD Fishera przy poziomie istotności $p < 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Lipoliza tłuszczów odbywa się na granicy faz olej/woda, a do jej sprawnego przebiegu konieczna jest uprzednia emulgacja substratu. Wiadomo, że katalizowana przez lipazy trzustkowe hydroliza tłuszczów przebiega najintensywniej, jeżeli wielkość kropeł tłuszczu powstałej emulsji nie przekracza 10 µm [25]. W niniejszej pracy dodatek metyloksantyn do trawionego *in vitro* masła w dawce 40 µmol na 1 g nie przeszkadzał w osiągnięciu takiego stopnia emulgacji. Co więcej, wszystkie testowane N-metyloksantyny tj. kofeina, teofilina i teobromina wykazywały nawet właściwości proemulgujące (tab. 1).

Tabela 1

Wyniki emulgacji lipidów masła w obecności metyloksantyn (40 $\mu\text{mol/g}$ masła) w środowisku symulowanego przewodu pokarmowego.

Emulsification results of butter lipids in the presence of methylxanthines (40 $\mu\text{mol/g}$ butter) in the medium of *in vitro* simulated gastrointestinal tract.

Rodzaj próbki Type of sample	Lipidy zemulgowane Emulsified lipids [%]		Średnia wielkość kropeł emulsji Mean size of emulsion droplet [μm]	
	żołądek gastric medium	dwunastnica duodenal medium	żołądek gastric medium	dwunastnica duodenal medium
Próba kontrolna / Control	19,5 ^a	69,5 ^a	12,11 ^a	11,37 ^a
Kofeina / Caffeine	19,5 ^a	70,0 ^a	10,64 ^b	8,78 ^c
Teofilina / Theophylline	19,0 ^a	70,0 ^a	11,45 ^{ab}	9,80 ^b
Teobromina / Theobromine	20,0 ^a	79,5 ^b	10,14 ^b	8,22 ^c

* Emulsja zawierająca krople o średnicy nie przekraczającej 100 μm / Emulsion containing droplets of a diameter not exceeding 100 μm .

Różne litery indeksu górnego w kolumnie oznaczają różnice statystycznie istotne pomiędzy wartościami średnimi ($p < 0,05$; test LSD) / Different superscript letters in column denote statistically significant differences between mean values ($p < 0.05$; LSD test).

Właściwości te przejawiały się głównie w zdolności do zmniejszania wielkości kropeł powstałej emulsji bez istotnego wpływu na ilość zemulgowanego tłuszczu. Jedynie w przypadku teobrominy działającej w środowisku dwunastnicy zaobserwowano dodatkowo statystycznie istotny wzrost objętości warstwy zemulgowanego tłuszczu z 69,5 do 79,5 %. Każda z metyloksantyn, niezależnie od warunków działania, zwiększała natomiast udział w emulsji miceli małych (o średnicy do 10 μm), co przekładało się na istotne zmniejszenie średniej wielkości kropeł tworzących emulsję. Działanie takie występowało częściej w worku dializacyjnym, a więc w środowisku zasadowym, kiedy dochodziło do dysocjacji alkaloidów. Średnia wielkość miceli zmniejszała się w tych warunkach nawet o 3,17 μm , podczas gdy w środowisku kwaśnym (żołądek) zmniejszenie średnicy miceli nie przekraczało 1,97 μm . Większość znanych współczesnej nauce emulgatorów, jak: białka, fosfolipidy czy surfaktanty swoje działanie zawdzięcza amfipatycznemu charakterowi cząsteczek tj. jednoczesnej obecności w strukturze molekularnej zarówno stref polarnych, jak i niepolarnych [19, 2]. Taki dipolarny charakter mają również metyloksantyny. Każda z nich zawiera w cząsteczce ugrupowania hydrofobowe w postaci grup metylowych i ugrupowania hydrofilowe w postaci atomów tlenu i grup aminowych. Jak wynika z wykonanych badań, siła proemulgującego działania metyloksantyn maleje zgodnie z szeregiem: teobromina > kofeina > teofilina. Najprawdopodobniej więc jest ona w większym stopniu zależna od rozmieszczeniem grup metylowych w cząsteczce alkaloidów niż od ich liczby. Kofeina

jest trimetyloksantyną, a teobromina podobnie jak teofilina to dimetyloksantyny. Jednak tylko teofilina nie ma grupy metylowej w pozycji N7 pierścienia purynowego, co wskazywałoby na kluczową rolę tej właśnie grupy w procesie emulgacji.

Przedstawione w tab. 1. wyniki, wskazujące jednoznacznie na proemulgujące działanie metyloksantyn w procesie symulowanego trawienia tłuszczu w przewodzie pokarmowym, nie przełożyły się na poprawę biodostępności tłuszczu. Wręcz przeciwnie, zauważono, że każdy z dodawanych do trawionego *in vitro* masła alkaloidów powodował statystycznie istotne ograniczenie uwalniania glicerolu i kwasów tłuszczowych (tab. 2).

Tabela 2

Biodostępność lipidów masła w obecności metyloksantyn (40 $\mu\text{mol/g}$ masła) szacowana *in vitro*.
In vitro assessed bioavailability of butter lipids in the presence of methylxanthines (40 $\mu\text{mol/g}$ butter).

Rodzaj próbki Type of sample	Biodostępność / Bioavailability [%]*	
	kwasy tłuszczowe / fatty acids	glicerol / glycerol
Próba kontrolna / Control sample	100,0 ^a	100,0 ^a
Kofeina / Caffeine	84,4 ^c	83,5 ^c
Teofilina / Theophylline	92,5 ^b	90,1 ^b
Teobromina / Theobromine	69,9 ^d	76,8 ^d

* Biodostępność względem próby niezawierającej metyloksantyn (próby kontrolnej) / Bioavailability compared to sample containing no methylxanthines (control sample).

Różne litery indeksu górnego w kolumnie oznaczają różnice statystycznie istotne pomiędzy wartościami średnimi ($p < 0,05$; test LSD) / Different superscript letters in column denote statistically significant differences between mean values ($p < 0.05$; LSD test).

Możliwość negatywnego wpływu metyloksantyn, a ściślej kofeiny na absorpcję lipidów z przewodu pokarmowego sugerowali wcześniej Wang i wsp. [26]. Według tych autorów takie działanie kofeiny jest konsekwencją modulowania przez nią metabolizmu tłuszczów w enterocytach, a dokładniej reorganizacji procesów wbudowywania i sekrecji lipidów przez chylomikrony. W cytowanej pracy nie analizowano jednak ani aktywności lipazy trzustkowej, ani stopnia emulgacji lipidów, a jak dowodzą wyniki niniejszej pracy, może to być kolejna, po sugerowanej przez Wanga reorganizacji chylomikronów, przyczyna ograniczania przez metyloksantyny dostępności lipidów diety. W niniejszych badaniach ilość oznaczanych produktów lipolizy była tym mniejsza, im większą siłą emulgującą wykazywała obecna podczas trawienia metyloksantyna. Oznacza to, że biodostępność lipidów masła była najmocniej hamowana przez teobrominę (zmniejszenie ilości uwalnianych kwasów tłuszczowych i glicerolu względem próby kontrolnej średnio o 27 %), w mniejszym stopniu przez kofeinę (zmniejszenie średnio o około 16 %), a w najmniejszym stopniu przez teofilinę (zmniejszenie ilości

uwalnianych kwasów tłuszczowych i glicerolu względem próby kontrolnej średnio o około 9 %). Wynik taki sugeruje, że alkaloidy poprawiając emulgację lipidów trawionego masła musiały jednocześnie wypierać lipazę z powierzchni emulsji, ograniczając tym samym jej kontakt z hydrofobowym substratem. Takie działanie metyloksantyn nie byłoby ewenementem. Na podstawie licznie publikowanych prac wiadomo, że niektóre substancje powierzchniowo czynne np. sole żółciowe, fosfolipidy, białka czy surfaktanty mogą w istotny sposób ograniczać dostęp lipaz do zemulgowanych substratów [19, 29]. Mun i wsp. [19] podają nawet, że zdolność wymienionych emulgatorów do wypierania lipazy z emulsji maleje zgodnie z szeregiem: niejonowe surfaktanty > fosfolipidy > białka [19]. Istnieje również możliwość, że metyloksantyny nie tylko wypierały enzym z powierzchni miceli, ale łączyły się także bezpośrednio z jego białkiem, inhibując go. Ta hipoteza wymaga jednak dalszej weryfikacji.

Wnioski

1. Kofeina, teobromina i teofilina wspomagają w sposób istotny symulowaną *in vitro* emulgację lipidów w żołądku i dwunastnicy.
2. Siła proemulgującego działania metyloksantyn zmniejsza się zgodnie z szeregiem: teobromina > kofeina > teofilina.
3. N-metyloksantyny istotnie ograniczają biodostępność lipidów masła, wypierając hydrolizującą je lipazę trzustkową z powierzchni miceli lub bezpośrednio ją inhibując.
4. Zdolność metyloksantyn do zmniejszania biodostępności lipidów maleje zgodnie z szeregiem: teobromina > kofeina > teofilina.

Literatura

- [1] Armand M., Borel P., Dubois C., Senft M., Peyrot J., Salducci J., Lafont H., Lairon D.: Characterization of emulsions and lipolysis of dietary lipids in the human stomach. *Am. J. Physiol.*, 1994, **266**, 372-381.
- [2] Bauer E., Jakob S., Mosenthin R.: Principles of physiology of lipid digestion. *Asian-Australian J. Anim. Sci.*, 2005, **18**, 282-295.
- [3] Berube-Parent S., Pelletier C., Dore J., Tremblay A.: Effects of encapsulated green tea and guarana extracts containing a mixture of epigallocatechin-3-gallate and caffeine on 24 h energy expenditure and fat oxidation in men. *Br. J. Nutr.*, 2005, **94**, 432-436.
- [4] Carnago M.C.R., Toledo M.C.F.: Caffeine content of commercial Brazilian coffee. *Cienc. Technol. Aliment.*, 1998, **18**, 421-424.
- [5] Caudle A.G., Bell L.N.: Caffeine and theobromine contents of ready-to-eat chocolate cereals. *Research and Professional Briefs*, 2000, **100 (6)**, 690-692.
- [6] Eteng M.U., Ettarh R.R.: Comparative effects of theobromine and cocoa extract on lipid profile in rats. *Nutr. Res.*, 2000, **20 (10)**, 1513-1517.
- [7] Food Standards Agency: 1998. Food surveillance information sheet 144.

- [8] Fossati P., Prencipe L.: Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clin. Chem.*, 1982, **28** (10), 2077-2080.
- [9] Gokulakrishnan S., Chandraraj K., Sathyanarayana N.G.: Microbial and enzymatic methods for the removal of caffeine. *Enzyme Microb. Technol.*, 2005, **37**, 225-232.
- [10] Greenway F.K., de Jonge L., Blanchard D., Frisard M., Smith S.R.: Effect of dietary herbal supplement containing caffeine and ephedra on weight, metabolic rate, and body composition. *Obesity Res.*, 2004, **12** (7), 1152-1157.
- [11] Grosso L.M., Bracken M.B.: Caffeine metabolism, genetics, and perinatal outcomes: a review of exposure assessment considerations during pregnancy. *Ann. Epidemiol.*, 2005, **15**, 460-466.
- [12] Haller C.A., Jacob P. III, Benowitz N.L.: Enhanced stimulant and metabolic effects of combined ephedrine and caffeine. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 2004, **75**, 259-273.
- [13] Hicks M.B., Hsieh Y., Bell L.N.: Tea preparation and its influence on methylxanthine concentration. *Food Res. Int.*, 1996, **29**, 325-330.
- [14] Kalayli S., Ocak M., Küçük M., Abbasoğlu R.: Does caffeine bind to metal ions? *Food Chem.*, 2004, **84**, 383-388.
- [15] Lima W.P., Carnevali Jr L.C., Eder R., Costa Rosa L.F., Bacchi E.M., Seelaender M.C.: Lipid metabolism in trained rats: effect of guarana (*Paullinia cupana* Mart.) supplementation. *Clin. Nutr.*, 2005, **24**, 1019-1028.
- [16] Lorist M.M., Tops M.: Caffeine and effects on cognition with special attention to adenosine-dopamine interaction. *Brain Cogn.*, 2003, **53**, 82-94.
- [17] Mandel H.G.: Update on caffeine consumption, disposition and action. *Food Chem. Tox.*, 2002, **40**, 1231-1234.
- [18] Mika M., Wikiera A., Żyła K.: Effects of non fermented tea extracts on *in vitro* digestive hydrolysis of lipids and on cholesterol precipitation. *Eur. Food Res. Technol.*, 2008, **226** (4), 731-736.
- [19] Mun S., Decker E.A., McClements D.J.: Influence of emulsifier type on *in vitro* digestibility of lipid droplets by pancreatic lipase. *Food Res. Int.*, 2007, **40**, 770-781.
- [20] Nafisi S., Shamloo D.S., Mohajerani N., Omidi A.: A comparative study of caffeine and theophylline binding to Mg(II) and Ca(II) ions: studied by FTIR and UV spectroscopic methods. *J. Mol. Struct.*, 2002, **608**, 1-7.
- [21] Papaioannou T.G., Karatzi K., Karatzis E., Papamichael Ch., Lekakis J.P.: Acute effects of caffeine on arterial stiffness, wave reflections, and central aortic pressures. *A.J.H.*, 2005, **18**, 129-136.
- [22] Sugawara M., Mochizuki T., Takekuma Y., Miyazaki K.: Structure-affinity relationship in the interactions of human organic anion transporter 1 with caffeine, theophylline, theobromine and their metabolites. *Biochim. Biophys. Acta.*, 2005, **1714**, 85-92.
- [23] Tarka S.M., Shilvey C.A.: Methylxanthines. Toxicological aspects of food. Elsevier Applied Science Publishers, London 1987.
- [24] Usmani O., Belvisi M., Patel H., Crispino N., Birrell M., Korbonits M., Korbonits D., Barnes P.: Theobromine inhibits sensory nerve activation and cough. *FASEB J.*, 2005, **19** (2), 231-233.
- [25] Van Aken G.A.: Relating food emulsion structure and composition to the way it is processed in the gastrointestinal tract and physiological responses: what are the opportunities? *Food Biophys.*, 2010, **5**, 258-283.
- [26] Wang S., Noh S.K., Koo S.I.: Epigallocatechin gallate and caffeine differentially inhibit the intestinal absorption of cholesterol and fat in ovariectomized rats. *J. Nutr.*, 2006, **136**, 2791-2796.
- [27] Westerterp-Plantenga M., Diepvens K., Joosen A., Berube-Parent S., Tremblay A.: Metabolic effects of spices, teas, and caffeine. *Physiol. Behav.*, 2006, **89**, 85-91.
- [28] WHO: Evaluation of certain food additives and contaminants. 44th Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Expert Committee on Biological Standardization. 1995, **859**, 5-8.

- [29] Wickham M., Garrod M., Leney J., Wilson P.D.G., Fillery-Travis A.: Modification of a phospholipidstabilized emulsion interface by bile salt: effect on pancreatic lipase activity. *J. Lipid Res.*, 1998, **39**, 623-632.
- [30] Wikiera A., Mika M., Żyła K.: Wpływ katechin i wybranych stabilizatorów żywności na emulgację lipidów masła w warunkach symulowanego *in vitro* przewodu pokarmowego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, **3 (64)**, 137-144.

EFFECT OF METHYLOXANTINES ON EMULSIFICATION AND BIOAVAILABILITY OF BUTTER LIPIDS AS ASSESSED *IN VITRO*

S u m m a r y

The effect was assessed of the N-methylxanthines: caffeine, theophylline, and theobromine, commonly consumed with the diet, on the emulsification of butter lipids and bioavailability thereof under the *in vitro* simulated conditions of human stomach and intestines. The research material was farmhouse butter containing a 40 $\mu\text{mol}/1\text{g}$ addition of the tested compounds. Based on the results obtained, it was found that, in the dose analyzed, each of the alkaloids intensified the process of forming the emulsion by increasing the dispersion degree thereof. The power of the pro-emulsifying activity of alkaloids depended on the arrangement of methyl groups in a molecule and increased according to the order: 1,3-dimethylxanthine (theophylline) \rightarrow 1,3,7-trimethylxanthine (caffeine) \rightarrow 3,7-dimethylxanthine (theobromine). At the same time, each of the alkaloids significantly reduced the bioavailability of lipids. In the case of theophylline, the amount of fatty acids and glycerol, released from the lipids, decreased by 9% on the average compared to the control sample; in the case of caffeine: by 16%, and as for the theobromine by as much as 27%. The results as indicated above suggest that under the conditions of simulated digestion of lipids in the alimentary canal, the alkaloids must have impacted not only the hydrophobic substrate that stimulated emulsification thereof, but, also, the pancreatic lipase. In the latter case, they partially displaced the pancreatic lipase from the micelle's surface, and, thereby, reduced its direct contact with the substrate, and effectively inhibited it.

Key words: methylxanthines, emulsification of lipids, bioavailability of lipids, *in vitro* ☒

DOROTA DEREWIAKA, MIECZYŚLAW OBIEDZIŃSKI

WPŁYW OBRÓBKII TERMICZNEJ NA ZAWARTOŚĆ STEROLI W OLEJU RZEPAKOWYM ORAZ W MIESZANINACH NA BAZIE OLEJU RZEPAKOWEGO

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu obróbki termicznej na skład steroli zawartych w oleju rzepakowym oraz mieszaninach na jego bazie. Przedmiotem badań był olej rzepakowy oraz olej rzepakowy z dodatkiem: 5 % preparatu fitosteroli, 5 % cholesterolu, 1 % BHT, 1 % skwalenu oraz 16 % oleju z amarantusa. Próby poddano obróbce termicznej: mikrofalowej oraz ogrzewaniu w temp. 150 °C.

Analizę zawartości steroli przeprowadzono za pomocą chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrem mas, uprzednio próbki poddając zmydłaniu oraz derywatywacji.

Wykazano, że większe ubytki zawartości steroli wystąpiły podczas ogrzewania mikrofalowego w porównaniu z ogrzewaniem w temp. 150 °C. Mieszaniny oleju rzepakowego z dodatkiem BHT charakteryzowały się najmniejszym ubytkiem zawartości steroli spośród wszystkich mieszanin oleju rzepakowego.

Słowa kluczowe: olej rzepakowy, sterole, obróbka termiczna, GC-MS

Wprowadzenie

Sterole to acykliczne alkohole sterydowe, zawierające II-rzędową grupę alkoholową. Grupa tych związków charakteryzuje się budową 4-pierścieniową, zawiera rdzeń steranu z grupą wodorotlenową w pozycji 3 oraz łańcuch boczny w pozycji 17. Sterole obecne w produktach żywnościowych występują w postaci steroli wolnych i zestryfikowanych, estrów kwasów tłuszczowych, glukozy, glikolipidów oraz pochodnych kwasów ferulowego i hydroksycynamonowego [3]. W olejach roślinnych fitosterole występują w formie zestryfikowanej (do 50 % całkowitej zawartości fitosteroli). Stopień zestryfikowania fitosteroli jest różny, np. w oleju rzepakowym β -sitosterol i kampesterol występują w formie estrów w 50 %,

brassikasterol i stigmasterol odpowiednio w 40 i 25 %. Dominującymi kwasami tłuszczowymi zestryfikowanymi ze sterolami są kwasy nasycone [16].

Głównym źródłem fitosteroli w diecie człowieka są oleje roślinne, ziarna zbóż, orzechy, owoce i warzywa. Fitosterole występują również w tkankach zwierzęcych, aczkolwiek w nieznacznych ilościach w porównaniu z cholesterolem, a ich obecność jest konsekwencją spożywania roślin lub fitoplanktonu.

Fitosterole zarówno w formie wolnej, jak i zestryfikowanej są uważane za czynnik przeciwdziałający hipercholesterolemii. W raporcie ekspertów Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) z 2008 r. stwierdzono, że zalecana dawka estrów fitosteroli i/lub fitostanoli, która wywiera efekt obniżający poziomu cholesterolu w surowicy krwi (10 - 15 %) to 1 - 3 g/dobę [10]. Stwierdzono, że efekt obniżenia koncentracji cholesterolu w surowicy krwi nie jest zależny od nośnika pokarmowego, rodzaju żywności, częstotliwości spożycia, ale skumulowanego dziennego pobrania, zatem świadomego zróżnicowania całodobowej diety [2, 7, 8, 17]. W innych badaniach dowiedziono, że fitosterole mogą przeciwdziałać nowotworom, miażdżycy oraz stanom zapalnym [14]. Niepożądanym działaniem fitosteroli w ustroju człowieka jest zakłócanie absorpcji karotenoidów, likopenu i witaminy E, jednak zastosowanie dawki 1,6 g fitosteroli na dobę nie wpływa znacząco na obniżenie poziomu karotenoidów i witaminy E w osoczu [16].

Obróbka termiczna prowadzona w wysokiej temperaturze np. podczas rafinacji chemicznej lub fizycznej prowadzi do zmniejszenia zawartości fitosteroli w oleju jadalnym [20]. Zastosowanie temp. 180 °C przez 10 min podczas smażenia prowadziło do około 5 % strat zawartości sitosterolu w oleju rzepakowym z dodatkiem estrów sitosterolu [15]. Ubytek zawartości fitosteroli podczas obróbki termicznej olejów uzależniony jest od wielu czynników, takich jak: warunki prowadzenia procesu, obecność przeciwutleniaczy oraz substancji o charakterze utleniającym [5]. Podczas produkcji olejów jadalnych stwierdza się zmniejszenie zawartości fitosteroli, np. w tłoczonym oleju rzepakowym zawartość fitosteroli wynosiła średnio 8,5 mg/g, natomiast olej ekstrakcyjny zawierał o 25 % fitosteroli więcej. Proces rafinacji olejów prowadzi do zmniejszenia zawartości fitosteroli, szczególnie neutralizacja, która może skutkować ubytkiem nawet do 20 % fitosteroli [13].

Celem pracy była ocena stabilności steroli zawartych w oleju rzepakowym oraz w mieszankach otrzymanych na jego bazie podczas ogrzewania konwekcyjnego w temp. 150 °C oraz ogrzewania mikrofalowego. Analizowano wpływ dodatku: 5 % preparatu fitosteroli, 5 % cholesterolu, 1 % BHT, 1 % skwalenu oraz 16 % dodatku oleju z amarantusa na przemiany zachodzące w składzie steroli występujących w oleju rzepakowym.

Material i metody badań

Badaniom poddano olej rzepakowy (termin przydatności do spożycia: grudzień 2014 r.) zakupiony w handlu oraz mieszaniny oleju rzepakowego z dodatkiem: 5 % preparatu fitosteroli, 5 % cholesterolu, 1 % BHT, 1 % skwalenu oraz 16 % oleju z amarantusa. Preparat fitosteroli zawierał: sitosterol (47 %), stigmasterol (10 %), kampesterol (26,5 %), brassikasterol (15 %), cholesterol (0,5 %) i pochodził z firmy Neptune Biotechnologies and Bioresources (czystość 55 %). Preparat cholesterolu i butylohydroksytoluenu (BHT) zakupiono w firmie Sigma-Aldrich (czystości >99 %), skwaleń w firmie Fluka (czystości >97 %), olej z amarantusa w PPHU "Szarłat" s.c. (o zawartości kampesterolu $23,3 \pm 1,8$ mg/100 g oleju; stigmasterolu $11,0 \pm 0,9$ mg/100 g oleju, sitosterolu $486,7 \pm 37,9$ mg/100 g oleju). Zawartość skwalenu w 16 % dodatku oleju z amarantusa odpowiadała 1 % dodatkowi preparatu skwalenu.

Próbki ogrzewano w temp. 150 ± 5 °C w suszarce laboratoryjnej, stosując warstwę tłuszczu $10 \pm 0,5$ mm. Po ustabilizowaniu temperatury ogrzewania próbki kolejno wyjmowano po: 10, 30, 60 min.

Ogrzewanie mikrofalowe polegało na przeniesieniu oleju rzepakowego oraz mieszanin na bazie oleju rzepakowego do szklanych butelek o objętości 250 ml i umieszczeniu w kuchence mikrofalowej (moc 400 W). Próbki były ogrzewane przez: 10, 30, 60 min.

Każdy z procesów obróbki termicznej prowadzono w trzech powtórzeniach.

Oznaczenie steroli wykonywano za pomocą chromatografii gazowej, adaptowaną metodą przedstawioną przez Ubhayasekera i wsp. [19]. Do oleju (100 - 200 mg) dodawano 2 ml heksanu oraz 100 µl roztworu standardu wewnętrznego 5 α -cholestanu, a następnie mieszano przez 1 min. Zmydlanie prowadzono w temp. 20 - 24 °C, dodając 0,5 ml 2M roztworu KOH w metanolu przez 1 - 2 h, wytrząsając okresowo próbkę. Następnie 200 µl roztworu frakcji niezmydlonej przenoszono do szklanej próbki. Po odparowaniu rozpuszczalników w strumieniu azotu, dodawano 100 µl odczynnika BSTFA z 1 % TCMS oraz 100 µl pirydyny, próbkę wytrząsano i prowadzono reakcję derywatywacji w temp. 20 - 24 °C przez 24 h, a następnie dodawano 1 ml heksanu. Analizę prowadzono, stosując chromatograf gazowy sprzężony ze spektrometrem masowym firmy Shimadzu, model GCMS-QP2010S, przy użyciu kolumny kapilarnej ze złożem fazy fenylosilikonowej, typ DB5ms (30 m \times 0,25 mm \times 0,25 µm) firmy Zebron. Temperatura pracy kolumny kapilarnej: początkowa 50 °C przez 2 min, wzrost temperatury w tempie 15 °C/min do 230 °C, następnie programowany wzrost temperatury w tempie 3 °C/min do 310 °C i izoterma końcowa przez 10 min. Temperatura komory nastrzykowej i źródła jonów wynosiła odpowiednio 230 i 220 °C. Gazem nośnym był hel, a jego przepływ wynosił 36 ml z szybkością liniową stałą. Temperatura łącznika GC-MS – 240 °C. Analizę zawartości steroli prowadzono w trybie przemiatań w zakresie 40 - 600 m/z, stosując standardową energię jonizacji

– 70 eV. Identyfikacji steroli dokonywano na podstawie porównania czasu retencji z czasem dostępnych standardów oraz posiadanych i utworzonych bibliotek widm masowych, jak również danych literaturowych. Do obliczeń ilościowych zastosowano technikę dodatku standardów wewnętrznych [1].

Analizę statystyczną otrzymanych wyników przeprowadzono za pomocą programu Microsoft Office 2009 oraz Statistica 8.0 firmy Statsoft. Ocenę istotności różnic pomiędzy wartościami średnimi wykonano stosując test tzw. porównań wielokrotnych przy poziomie istotności $p = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Olej rzepakowy zawierał ponad 700 mg fitosteroli w 100 g, w tym 370 mg sitosterolu, 270 mg kampesterolu, 70 mg brassikasterolu oraz 2 mg stigmasterolu. W trakcie ogrzewania w temp. 150 °C stwierdzono ubytek sumarycznej zawartości steroli w badanych olejach modelowych (rys. 1). Największe straty steroli podczas 60-minutowej obróbki termicznej wykazano w oleju rzepakowym z 5 % dodatkiem fitosteroli (15 %) oraz w oleju rzepakowym z 16 % dodatkiem oleju z amarantusa i 1 % dodatkiem skwalenu, odpowiednio 10 i 9 %. W oleju rzepakowym i oleju rzepakowym z 5 % dodatkiem cholesterolu ubytek steroli wynosił 11 %. Najmniejszy ubytek sumarycznej zawartości fitosteroli stwierdzono podczas 60-minutowej obróbki termicznej oleju rzepakowego z 1 % dodatkiem BHT – 5 %. Należy podkreślić, że w największym stopniu degradacji ulegały fitosterole zawierające kilka wiązań podwójnych, tj. stigmasterol oraz brassikasterol, w drugiej kolejności ubytki dotyczyły kampesterolu, sitosterolu oraz cholesterolu. Szczegółowe zawartości steroli w badanych olejach podczas obróbki termicznej przedstawiono w tab. 1 i 2.

W ciągu 60-minutowej obróbki mikrofalowej największe straty sumarycznej zawartości steroli stwierdzono w oleju rzepakowym z 5 % dodatkiem preparatu fitosteroli i cholesterolu, które wynosiły odpowiednio 34 i 23 % (rys. 2). Ubytki sumarycznej zawartości steroli w samym oleju wynosiły 12 % i były zbliżone do ubytków steroli zaobserwowanych w oleju rzepakowym z 16 % dodatkiem oleju z amarantusa, natomiast w oleju z 1 % dodatkiem skwalenu były one wyraźnie mniejsze i osiągnęły 7 % początkowej zawartości fitosteroli. W oleju rzepakowym z 1 % dodatkiem BHT stwierdzono najmniejsze straty sumarycznej zawartości steroli podczas obróbki mikrofalowej, które wynosiły 6 %. Szczegółowa zawartość steroli w badanych olejach podczas ogrzewania mikrofalowego przedstawiono w tab. 3 i 4.

T a b e l a 1

Zawartość steroli w oleju rzepakowym oraz w oleju rzepakowym z dodatkiem 5 % preparatu fitosteroli lub 5 % cholesterolu, podczas obróbki termicznej w temp. 150 °C.

Content of sterols in rapeseed oil and in rapeseed oil with additions of 5 % of phytosterol preparation or 5% of cholesterol during thermal processing at temp. of 150° C.

Próba Sample	Czas procesu Time of heating [min]	Zawartość steroli / Content of sterols [mg/100 g]							Suma Sum
		Cholesterol Cholesterol	Brassikasterol Brassicasterol	Kampesterol Campesterol	Stigmasterol Stigmasterol	Sitosterol Sitosterol			
Olej rzepakowy Rapeseed oil	Próba kontrolna Control sample n = 5	no	70,3±6,9 ^a	271,1±27,1 ^a	2,0±0,1 ^a	367,7±14,0 ^a			711,2±48,1 ^a
	10, n = 5	no	69,5±2,6 ^a	263,0±4,0 ^{ab}	1,9±0,1 ^{ab}	374,8±9,4 ^{ab}			709,2±16,0 ^a
	30, n = 5	no	67,7±1,9 ^a	253,6±12,2 ^{ab}	1,7±0,1 ^{bc}	363,3±10,1 ^{ab}			686,3±24,3 ^a
	60, n = 5	no	59,6±1,6 ^b	237,5±16,8 ^b	1,7±0,1 ^c	350,6±8,6 ^b			649,3±27,1 ^b
Olej rzepakowy + 5 % preparat fitos- teroli Rapeseed oil + 5 % of phytosterol preparation	Próba kontrolna Control sample n = 5	60,9±3,2 ^a	244,6±14,0 ^a	517,5±26,2 ^a	571,3±53,7 ^a	1320,4±74,2 ^a			2714,7±171,4 ^a
	10, n = 5	61,0±1,8 ^a	236,3±12,2 ^{ab}	513,1±27,2 ^{ab}	550,9±10,6 ^{ab}	1244,4±50,8 ^{ab}			2605,7±99,9 ^b
	30, n = 5	56,1±2,7 ^a	230,4±18,5 ^{ab}	492,9±23,7 ^{ab}	495,6±10,8 ^{bc}	1156,3±52,5 ^b			2431,3±52,5 ^b
	60, n = 5	57,1±2,4 ^a	213,2±9,6 ^b	470,7±12,6 ^b	463,8±20,2 ^c	1107,5±106,8 ^b			2312,3±97,4 ^b
Olej rzepakowy + 5 % cholesterolu Rapeseed oil + 5 % of cholesterol	Próba kontrolna Control sample n = 5	4787,3±89,6 ^a	86,7±3,7 ^a	241,1±12,0 ^a	2,5±0,3 ^a	344,7±12,9 ^a			5462,2±118,5 ^a
	10, n = 5	4461,0±59,4 ^b	88,0±1,3 ^a	233,0±11,1 ^a	2,4±0,1 ^{ab}	338,7±3,5 ^a			5123,1±75,5 ^a
	30, n = 5	4337,4±63,3 ^b	79,6±2,9 ^b	232,2±4,2 ^a	2,1±0,2 ^b	324,1±4,0 ^b			4975,4±74,5 ^a
	60, n = 5	4206,4±120,7 ^c	76,8±2,8 ^b	232,1±4,1 ^a	2,1±0,1 ^b	314,5±6,7 ^b			4831,8±134,2 ^a

Objasnienia: / Explanatory notes:

^{a,b} ...- jednakowe litery w kolumnach – brak statystycznie istotnych różnic na poziomie p≤0,05 w próbkach oleju w trakcie ogrzewania / the same letters in the columns: no statistically significant differences at p ≤ 0.05 in the oil samples during heating; no – nie oznaczono / not determined; n – liczba próbek / number of samples.

Tabela 2

Zawartość steroli w oleju rzepakowym z dodatkiem 1 % BHT, 1 % skwalenu oraz 16 % oleju z amarantusa, podczas obróbki termicznej w temp. 150 °C.
 Content of sterols in rapeseed oil with addition of 1 % of BHT, 1 % of squalene, and 16 % of amaranth oil during thermal processing at temp. of 150°C.

Próba Sample	Czas procesu Time of heating [min]	Zawartość steroli / Content of sterols [mg/100 g]					Suma Total
		Brassicasterol Brassicasterol	Kampesterol Cam- pesterol	Stigmasterol Stigmasterol	Sitosterol Sitosterol	Sitosterol Sitosterol	
Olej rzepakowy + 1 % BHT Rapeseed oil + 1 % of BHT	Próba kontrolna Control sample, n = 5	70,3±6,9 ^a	271,1±29,4 ^a	2,0±0,1 ^a	367,7±14,0 ^a	711,2±50,4 ^a	
	10, n = 5	69,4±2,2 ^a	264,7±5,5 ^a	1,9±0,1 ^a	356,1±7,1 ^a	692,1±14,9 ^a	
	30, n = 5	67,4±7,9 ^a	251,6±11,9 ^a	1,9±0,1 ^b	356,2±31,8 ^a	677,1±51,7 ^a	
	60, n = 5	65,1±2,3 ^a	254,1±6,7 ^a	1,8±0,1 ^b	353,9±12,7 ^a	674,9±21,7 ^a	
Olej rzepakowy + 1 % skwalenu Rapeseed oil + 1 % of squa- lence	Próba kontrolna Control sample, n = 5	72,6±2,1 ^a	269,7±1,6 ^a	2,2±0,1 ^a	370,0±7,2 ^a	714,5±10,8 ^a	
	10, n = 5	71,4±3,0 ^a	266,5±13,4 ^a	2,1±0,05 ^a	357,4±11,6 ^{ab}	697,4±28,0 ^a	
	30, n = 5	67,7±2,1 ^{ab}	250,3±6,9 ^b	2,1±0,1 ^a	352,9±3,4 ^{bc}	673,0±12,5 ^b	
	60, n = 5	62,1±4,9 ^b	243,9±6,0 ^b	1,9±0,1 ^b	338,3±9,2 ^c	646,2±20,2 ^c	
Olej rzepakowy + 16 % oleju z amarantusa Rapeseed oil + 16 % of amaranth oil added	Próba kontrolna Control sample, n = 5	68,4±2,9 ^a	265,2±6,8 ^a	2,3±0,5 ^a	376,4±11,6 ^a	712,4±21,7 ^a	
	10, n = 5	66,8±2,5 ^{ab}	258,7±9,1 ^a	2,2±0,2 ^a	358,0±9,1 ^{ab}	685,7±20,7 ^b	
	30, n = 5	63,6±1,3 ^{bc}	237,6±8,5 ^b	2,1±0,1 ^a	353,5±14,7 ^{ab}	656,8±24,5 ^c	
	60, n = 5	62,8±1,2 ^c	231,6±6,1 ^b	2,0±0,1 ^a	349,4±17,5 ^b	645,8±24,8 ^c	

Oznaczenia jak pod tab. 1. / Explanatory notes as in Tab. 1.

Tabela 3

Zawartość steroli w oleju rzepakowym oraz w oleju rzepakowym z dodatkiem 5 % preparatu fitosteroli lub 5 % cholesterolu, podczas obróbki mikrofalowej. Sterol content in rapeseed oil, rapeseed oil with addition 5 % of phytosterol preparation, cholesterol during microwave processing.

Próba Sample	Czas procesu Time of heating [min]	Zawartość steroli / Sterol content [mg/100 g]								Suma Total
		Cholesterol	Brassicasterol	Kampesterol	Stigmasterol	Sitosterol	Sitosterol	Stigmasterol	Sitosterol	
Olej rzepakowy Rapeseed oil	Próba kontrolna Control sample, n = 5	no	70,3±6,9 ^a	271,1±27,1 ^a	2,0±0,1 ^a	367,7±14,0 ^a				711,2±19,9 ^a
	10, n = 5	no	67,8±2,4 ^{ab}	269,7±21,0 ^a	2,0±0,1 ^a	350,9±14,8 ^a				690,4±9,8 ^{ab}
	30, n = 5	no	64,3±2,6 ^{ab}	246,4±23,5 ^{ab}	1,9±0,1 ^{ab}	342,9±21,6 ^a				655,4±32,9 ^{bc}
	60, n = 5	no	62,8±1,5 ^b	220,7±13,1 ^b	1,8±0,1 ^b	338,4±17,1 ^a				623,7±30,7 ^c
Olej rzepakowy + 5 % prep. fitosteroli Rapeseed oil + 5 % of phy- tosterol prepara- tion	Próba kontrolna Control sample, n = 5	50,4±6,3 ^a	263,9±17,4 ^a	527,1±18,0 ^a	550,9±20,1 ^a	1383,6±15,9 ^a				2776,0±60,9 ^a
	10, n = 5	46,9±2,6 ^{ab}	231,5±15,4 ^b	469,3±22,8 ^b	505,9±20,4 ^b	1225,2±49,6 ^b				2478,6±61,9 ^b
	30, n = 5	40,8±1,5 ^{bc}	217,5±9,8 ^{bc}	429,3±18,2 ^c	426,3±9,4 ^c	1040,9±94,4 ^c				2154,9±94,0 ^c
	60, n = 5	36,3±2,8 ^c	194,7±14,3 ^c	380,9±23,3 ^d	352,4±17,0 ^d	945,2±40,3 ^c				1909,6±85,2 ^d
Olej rzepakowy + 5 % cholesterolu Rapeseed oil + 5 % of chole- sterol	Próba kontrolna Control sample, n = 5	4787,3±89,6 ^a	86,7±3,7 ^a	241,1±12,0 ^a	3,5±0,3 ^a	344,7±12,9 ^a				5463,2±90,9 ^a
	10, n = 5	4471,8±180,6 ^b	84,1±3,7 ^a	234,8±8,6 ^a	3,3±0,1 ^a	329,7±15,6 ^a				5123,7±186,2 ^b
	30, n = 5	4043,1±144,0 ^c	67,1±2,3 ^b	187,5±10,3 ^b	2,8±0,2 ^{bc}	273,3±16,3 ^b				4573,8±126,3 ^c
	60, n=5	3757,8±100,8 ^d	62,1±1,4 ^b	111,4±8,9 ^c	2,7±0,4 ^c	243,8±22,9 ^b				4177,8±132,0 ^d

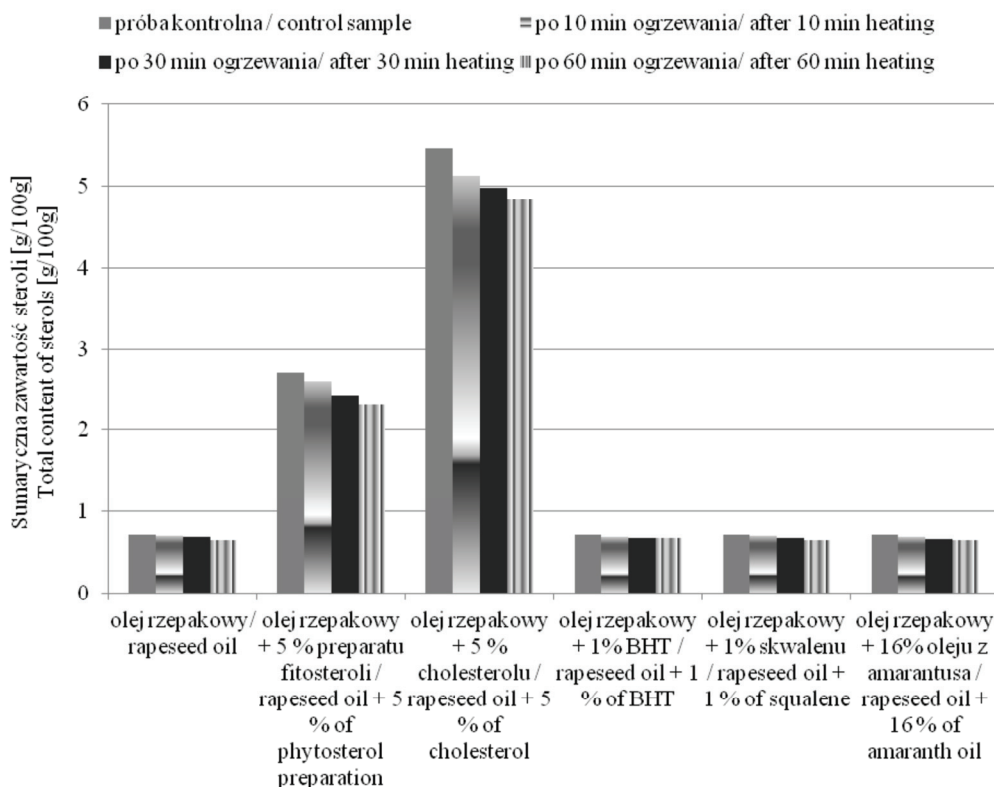
Oznaczenia jak pod tab. 1. / Explanatory notes as in Tab. 1.

Tabela 4

Zawartość steroli w oleju rzepakowym z dodatkami: 1 % BHT, 1 % skwalenu oraz 16 % oleju z amarantusa, podczas obróbki mikrofalowej. Sterol content in rapeseed oil with 1 % of BHT, 1 % addition of squalene and 16 % addition of amaranth oil during microwave processing.

Próba Sample	Czas procesu Time of heating [min]	Zawartość steroli / Sterol content [mg/100 g]					Suma Sum
		Brassikasterol Brassicasterol	Kampesterol Campesterol	Stigmasterol Stigmasterol	Sitosterol Sitosterol		
Olej rzepakowy + 1 % BHT Rapeseed oil + 1 % BHT	Próba kontrolna Control sample, n = 5	70,4±6,7 ^a	251,1±12,1 ^a	2,1±0,1 ^a	367,2±15,9 ^a	690,8±30,3 ^a	
	10, n = 5	70,9±1,6 ^a	246,3±13,7 ^a	2,1±0,1 ^a	359,5±14,1 ^a	678,8±23,8 ^a	
	30, n = 5	69,1±1,8 ^a	249,3±22,1 ^a	2,1±0,1 ^a	351,4±17,2 ^a	671,9±15,2 ^a	
Olej rzepakowy + 1 % skwalenu Rapeseed oil + 1 % squalene	60, n = 5	66,0±2,5 ^a	238,5±18,0 ^a	2,0±0,1 ^b	340,6±11,8 ^a	647,0±31,6 ^a	
	Próba kontrolna Control sample, n = 5	72,6±2,5 ^a	253,0±11,5 ^a	2,2±0,1 ^a	343,3±12,1 ^a	671,1±21,0 ^a	
	10, n = 5	71,6±1,2 ^a	246,8±9,6 ^a	2,1±0,1 ^a	343,2±17,5 ^a	663,8±24,7 ^a	
Olej rzepakowy + 16 % oleju z amarantusa Rapeseed oil + 16 % addi- tion of amaranth oil	30, n = 5	70,7±2,3 ^a	235,4±10,2 ^a	2,0±0,1 ^a	334,3±11,7 ^a	642,4±13,0 ^{ab}	
	60, n = 5	63,0±2,3 ^b	231,2±20,0 ^a	1,8±0,1 ^b	324,2±15,1 ^a	620,2±14,2 ^b	
	Próba kontrolna Control sample, n = 5	67,9±2,8 ^a	273,5±11,3 ^a	2,1±0,1 ^a	375,5±6,2 ^a	718,9±14,1 ^b	
Olej rzepakowy + 16 % oleju z amarantusa Rapeseed oil + 16 % addi- tion of amaranth oil	10, n = 5	65,3±2,5 ^{ab}	249,3±19,0 ^{ab}	2,1±0,1 ^a	362,0±11,4 ^{ab}	678,7±27,8 ^{ab}	
	30, n = 5	64,8±0,9 ^{ab}	245,1±21,6 ^{ab}	2,0±0,1 ^{ab}	355,0±12,8 ^{bc}	666,8±24,4 ^b	
	60, n = 5	63,9±1,5 ^b	229,5±17,5 ^b	1,9±0,1 ^b	335,5±10,9 ^c	630,7±25,2 ^b	

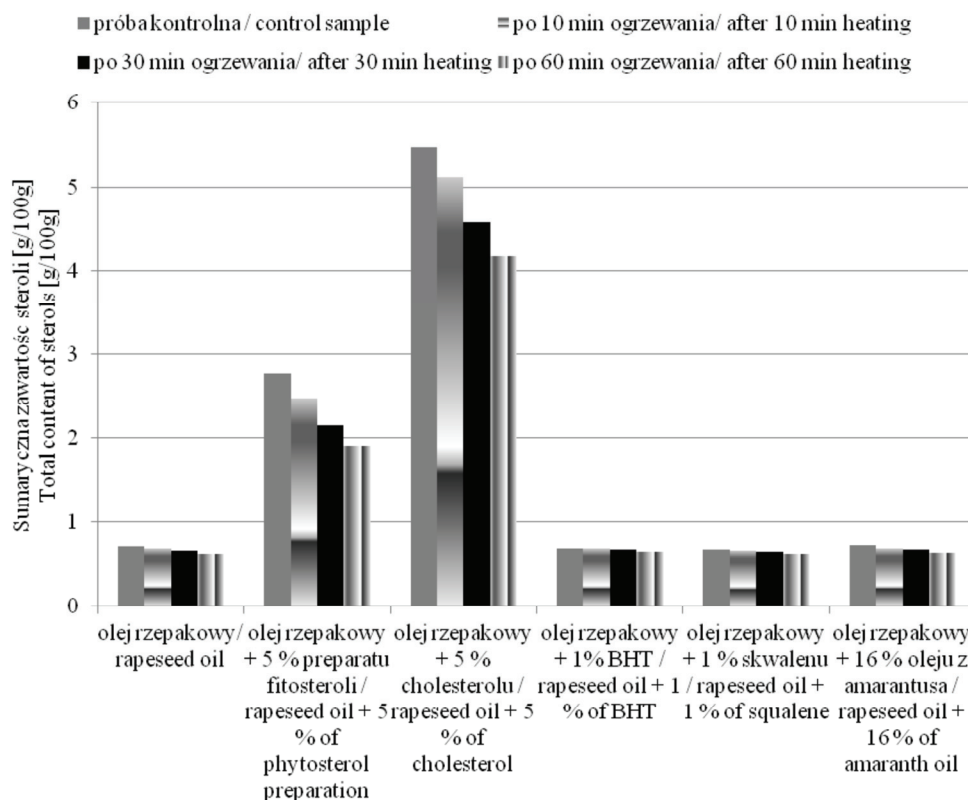
Oznaczenia jak pod tab. 1. / Explanatory notes as in Tab. 1.



Rys. 1. Sumaryczna zawartość steroli [g/100 g] w oleju rzepakowym oraz w oleju rzepakowym z 5 % dodatkiem preparatu fitosteroli, cholesterolu, 1 % dodatkiem BHT, skwalenu oraz 16 % oleju z amarantusa podczas ogrzewania w temp. 150 °C.

Fig. 1. Total content of sterols [g/100 g] in rapeseed oil and rapeseed oil with additions of 5 % of phytosterols preparation, 5% of cholesterol, 1 % of BHT, 1% of squalene, and 16 % of amaranth oil during heating at 150 °C.

Olej rzepakowy oraz olej rzepakowy z 5 % dodatkiem preparatu fitosteroli, 5 % cholesterolu, 1 % BHT, 1 % skwalenu i 16 % dodatkiem oleju z amarantusa został poddany różnym obróbkom termicznym: ogrzewaniu w temp. 150 °C i ogrzewaniu mikrofalowemu. Analizując sumaryczną zawartość steroli w olejach przed oraz po przeprowadzeniu obróbki termicznej stwierdzono, że największe ubytki steroli wystąpiły w trakcie obróbki mikrofalowej (6 - 34 %), a najmniejsze podczas ogrzewania w temp. 150 °C (5 - 15 %). Najmniejsze straty zawartości steroli w olejach wystąpiły w próbkach z 1 % dodatkiem BHT, natomiast największe podczas ogrzewania oleju rzepakowego z 5 % dodatkiem preparatu fitosteroli i cholesterolu.



Rys. 2. Sumaryczna zawartość steroli [g/100 g] w oleju rzepakowym oraz w oleju rzepakowym z 5 % dodatkiem preparatu fitosteroli, cholesterolu, 1 % dodatkiem BHT, 1 % dodatkiem skwalenu oraz 16 % oleju z amarantusa podczas obróbki mikrofalowej.

Fig. 2. Total content of sterols [g/100 g] in rapeseed oil and rapeseed oil with addition of: 5 % of phytosterol preparation, 5% of cholesterol, 1 % of BHT, 1% of squalene, and 16 % of amaranth oil during microwave heating.

Źródła literaturowe podają, że straty zawartości steroli podczas obróbki termicznej tłuszczów są wynikiem wielu czynników. Najbardziej udokumentowany został wpływ wysokiej temperatury na koncentrację steroli podczas ogrzewania. Badania przeprowadzone przez Oehrl i wsp. [6] dowodzą, że obróbka termiczna oleju rzepakowego w temp. [°C]: 100, 150 i 180 przez 20 h prowadziła do ubytku zawartości steroli odpowiednio o 33, 95 i 96 %. Natomiast badania przeprowadzone przez Thanh i wsp. [18] wykazały, że obróbka olejów roślinnych w temp. 100°C przez 1 h nie powodowała żadnych strat zawartości steroli, w przeciwieństwie do ogrzewania w temp. 200 °C, które skutkowało nawet 60 % ich ubytkiem. W innym doświadczeniu, oprócz zastosowania temp. procesu obróbki 120 i 180 °C przez 4 h, podjęto próbę określenia stopnia degradacji fitosteroli podczas ogrzewania w atmosferze tlenu lub

powietrza. Największy ubytek steroli (15 % początkowej zawartości) stwierdzono podczas ogrzewania w 180 °C oraz przy dostępie tlenu [12]. Ponadto porównano ubytki zawartości fitosteroli podczas ogrzewania oleju w temp. 120 °C przez 4 h przy dostępie tlenu oraz powietrza. Wynosiły one odpowiednio 12 i 8 %.

Eksperymenty wykonane przez Soupas [15] miały na celu określenie zmian zawartości sitosterolu podczas obróbki termicznej w temp.: 160, 180 i 200 °C przez 10 min w oleju rzepakowym zawierającym dodatki: 8 % wolnego sitosterolu, 8 % zestryfikowanego sitosterolu oraz 8 % estrów sitostanolu. Znaczne ubytki sitosterolu stwierdzono podczas ogrzewania oleju w temp. 160 °C, a wynosiły one w samym oleju 4 % w stosunku do początkowej jego zawartości. W oleju z dodatkiem wolnych fitosteroli straty zawartości sitosterolu wynosiły 2,7 %, z dodatkiem zestryfikowanych fitosteroli – 3,3 %, a w oleju z 8 % dodatkiem estrów fitostanolu nie zaobserwowano strat koncentracji fitosteroli [15]. Sterole występujące w żywności w formie zestryfikowanej, np. z kwasami tłuszczowymi, ulegają degradacji w wyższym stopniu podczas obróbki termicznej niż ich formy wolne, co może wynikać z ich niższej temperatury topnienia [11]. Znaczący efekt na proces degradacji steroli ma rodzaj środowiska, w którym występują sterole. Najprostszym przykładem jest porównanie ubytków steroli podczas ogrzewania oleju rzepakowego oraz standardu fitosteroli. Straty zawartości fitosteroli obserwowane podczas obróbki w temp. 180 °C przez 48 h wynosiły od 31 do 36 % [4], natomiast ogrzewanie standardu fitosteroli przez 5 h prowadziło do całkowitego rozkładu steroli [9]. Obecność w oleju roślinnym związków o charakterze przeciwutleniającym, jak również efekt ochronny samego medium prowadził do zahamowania niekorzystnych przemian steroli. Zastosowanie dodatku syntetycznych tokoferoli, ekstraktu z zielonej herbaty, kwasu synapowego, naturalnych tokoferoli z oleju rzepakowego oraz BHT podczas ogrzewania w temp. 180 °C przez 4 h skutkowało obniżeniem strat zawartości β -sitosterolu na poziomie [%]: 2,9; 4,3; 4,6; 6,28; i 9,5. W oleju rzepakowym poddanym obróbce termicznej w tych samych warunkach zanotowano 15,6 % ubytek zawartości β -sitosterolu [5].

Wnioski

1. Podczas obróbki termicznej oleju rzepakowego oraz jego mieszanin z dodatkiem: 5 % preparatu fitosteroli, 5 % cholesterolu, 1 % BHT, 1 % skwalenu oraz 16 % oleju z amarantusa stwierdzono, że stabilność steroli w przypadku obróbki mikrofalowej była mniejsza (ubytek zawartości 6 - 34 %), natomiast w przypadku ogrzewania w temp. 150 °C sterole charakteryzowały się większą stabilnością (ubytek zawartości od 5 do 15 %).
2. Spośród wszystkich analizowanych mieszanin oleju rzepakowego ogrzewanych za pomocą mikrofal lub termostatowo największą stabilnością steroli wyróżniała się mieszanina oleju rzepakowego z 1 % dodatkiem BHT, natomiast najmniejszą

mieszaniny oleju rzepakowego z 5 % dodatkiem preparatu fitosteroli i cholesterolu.

Literatura

- [1] Derewiaka D., Obiedziński M.: Modelowe badania nad utlenianiem steroli. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **5** (54), 335-343.
- [2] Jesch E.D., Carr T.P.: Sitosterol reduces micellar cholesterol solubility in model bile. *Nutr. Res.*, 2006, **26**, 579-584.
- [3] Kaloustian J., Alhanout K., Amiot-Carlin A.J., Lairon D., Portugal H., Nicolay A.: Effect of water cooking on free phytosterol levels in beans and vegetable. *Food Chem.*, 2008, **107**, 1379-1386.
- [4] Kmiecik D.: Wpływ procesów termicznych na przemiany steroli w oleju rzepakowym. Praca doktorska, Akademia Rolnicza im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu, 2007.
- [5] Kmiecik D., Korczak J., Rudzińska M., Kobus-Cisowska J., Gramza-Michałowska A., Heś M.: β -Sitosterol and campesterol stabilisation by natural and synthetic antioxidants during heating. *Food Chem.*, 2011, **128**, 937-942.
- [6] Oehrl L.L., Hansen P.A., Rohrer C.A., Fenner G.P., Boyd L.C.: Oxidation of phytosterol in a test food system. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2001, **78**, 1073-1078.
- [7] Ose L.: Phytosterol intake and dietary recommendation. XVI Int. Symp. on Atherosclerosis, Roma, Italy, 2006, 18-22 VI 2006, We-S12:3
- [8] Plat J., van Onselen E.N.M., van Heugten M.M.A., Mensink R.P.: Effects on serum lipids, lipoproteins and fat soluble antioxidant concentrations of consumption frequency of margarines and shortenings enriched with plant stanol esters. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 2000, **54**, 671-677.
- [9] Przybylski R., Zambiasi R., Li W.: Kinetics of sterols changes during storage and frying of canola oils. [on-line] 10th International Rapeseed Congress, Canberra Australia 1999. Dostępny w internecie: http://www.regional.org.au/au/gcirc/1/349.htm#P0_0.
- [10] Raport EFSA: Consumption of food and beverages with added plant sterols in the European Union. *The Efsa J.*, 2008, **133**, 1-21.
- [11] Rosenstein F.K.U., Kircher H.W.: Analysis of mixtures of stigmasterol, stigmastanol and sitosterol. *Lipids*, 1973, **80**, 107-110.
- [12] Rudzińska M.: Studia nad tworzeniem się produktów utleniania fitosteroli podczas przechowywania i przetwarzania żywności. Praca doktorska, Akademia Rolnicza im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu, 2003.
- [13] Rudzińska M., Uchman W., Wąsowicz E.: Plant sterols in food technology. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* 2005, **4**, 147-156.
- [14] Ryan E., Chopra J., McCarthy F., Maguire A.R., O'Brien N.M.: Qualitative and quantitative comparison of the cytotoxic and apoptotic potential of phytosterol oxidation products with their corresponding cholesterol oxidation products. *Br. J. Nutr.*, 2005, **94**, 443-451.
- [15] Soupas L., Huikko L., Lampi A.M., Piironen V.: Pan-frying may induce phytosterol oxidation. *Food Chem.*, 2007, **101**, 286-297.
- [16] Szymańska R., Kruk J.: Fitosterole – występowanie znaczenie dla człowieka. *Kosmos. Problemy Nauk Biologicznych*, 2007, **56**, 107-114.
- [17] Trautwein E.A.: Phytosterols and cholesterol – lowering efficiency in different food formats. XVI Int. Symp. on Atherosclerosis, Roma, Italy, 18 – 22 VI 2006, We-S12:2.
- [18] Thanh T.T., Verges M.V., Kaloustian J., El-Moselhy T.F., Amiot-Carlin M.J., Portugal H.: Effect of storage and heating on phytosterol concentrations in vegetable oils determined by GC/MS. *J. Sci. Food Agric.*, 2006, **86**, 220-225.

- [19] Ubhayasekera S.J.K.A.: Cholesterol oxidation products – analytical methods and levels in sweets containing heated butter oil. [on-line] Praca magisterska, Uniwersytet Saint Luis, 2004. Dostępna w internecie: http://ex-epsilon.slu.se/archive/00000527/01/Kumari_thesis.pdf.
- [20] Verleyen T., Sosinska U., Ioannidou S., Verhe R., Dewettinck K., Huyghebaert A., De Greyt W.: Influence of the oil refining process on free and esterified sterols. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2002, **79**, 947-953.


EFFECT OF THERMAL PROCESSING ON CONTENTS OF STEROLS IN RAPESEED OIL AND IN RAPESEED OIL-BASED MIXTURES

Summary

The objective of the study was to determine the effect of thermal processing on the composition of sterols contained in rapeseed oil and in mixtures on its basis. The subject of the research comprised rapeseed oil and rapeseed oil with the addition of: 5 % of phytosterols, 5 % of cholesterol, 1 % of BHT, 1 % of squalene, and 16 % of amaranth oil. The samples analyzed were thermally treated using microwave heating and conventional heating processes at 150 °C.

The analysis of the contents of sterols was performed using a gas chromatograph coupled with a mass spectrometer; prior to the analysis, the samples were saponified and derivatized.

It was confirmed that the higher sterol losses occurred during the microwave heating than during the conventional heating at 150 °C. Among all the rapeseed oil mixtures analyzed, the mixtures of rapeseed oil and the BHT added were characterized by the lowest sterol content loss.

Key words: rapeseed oil, sterols, thermal processing, GC-MS 

GRZEGORZ LEŚNIEROWSKI, ROBERT BOROWIAK

WPLYW WARUNKÓW ŚRODOWISKOWYCH NA ZMIANĘ WŁAŚCIWOŚCI LIZOZYMU W BIAŁKU JAJ KURZYCH

Streszczenie

Lizozym jest enzymem hydrolitycznym wykazującym zdolność rozkładu ściany komórkowej bakterii. Stanowi on mechanizm naturalnej pierwotnej ochrony dla rozwijającego się w jaju zarodka. Bogatym źródłem lizozymu jest białko jaja kurzego, z którego enzym otrzymywany jest na skalę przemysłową.

Celem pracy było określenie zmian występujących w lizozymie białka jaja kurzego w wyniku przetrzymywania całych jaj surowych lub wyizolowanego białka jaja w warunkach zbliżonych do inkubacji jaj podczas wylęgu piskląt, tj. w temperaturze ok. 40 °C przez 20 dób.

Wykazano, że przetrzymywanie jaj kurzych w takich warunkach powoduje zmiany jakościowe i ilościowe lizozymu w białku jaja. Efektem inkubacji enzymu była częściowa jego oligomeryzacja, w wyniku której tworzyła się forma dimeryczna. Zjawisku temu towarzyszyło obniżenie aktywności hydrolitycznej enzymu.

Słowa kluczowe: lizozym, oligomeryzacja, dimer, aktywność hydrolityczna

Wprowadzenie

Lizozym (N-acetylo-muramylohydrolaza, E.C.3.2.1.17), zwany również muramidazą, jest niskocząsteczkowym enzymem ($14,3 \cdot 10^3$ Da), którego łańcuch polipeptydowy tworzy 129 aminokwasów. Występuje prawie we wszystkich wydzielinach, płynach ustrojowych oraz tkankach organizmu człowieka i zwierząt. Został także wyizolowany z niektórych roślin, a nawet bakterii i bakteriofagów [14, 15]. Lizozym stanowi około 3,5 % udziału masowego wszystkich protein występujących w białku jaja kurzego, będąc jednocześnie jego bogatym i podstawowym źródłem [7, 19]. Jako składnik białka jaja ptaków stanowi naturalną barierę ochronną treści jaja przed drobnoustrojami. Jego antybakteryjne działanie polega na hydrolizie wiązań $\beta(1-4)$ glikozydowych pomiędzy kwasem N-acetylmuraminowym a N-acetyloglukozaminą polisacharydu budującego ścianę komórkową bakterii [10].

Antybakteryjna aktywność lizozymu dotyczy głównie bakterii Gram-dodatnich, gdyż w tym przypadku łatwo dostępny dla lizozymu peptydoglikan – substrat enzymu – jest bezpośrednio narażony na jego działanie. Bakterie Gram-ujemne są zabezpieczone przed działaniem lizozymu dzięki obecności w ich ścianie komórkowej dodatkowych składników, takich jak: polipeptydy, lipoproteidy i lipopolisacharydy, które tworzą warstwę ochronną trudną do pokonania przez enzym [11, 14]. Wśród innych ważnych właściwości lizozymu wymienić można jego zdolność do inaktywacji wirusów przez wiązanie się z ich DNA i tworzenie nierozpuszczalnych kompleksów czy możliwość unieczynniania toksyn, a także inicjowanie formowania przeciwciał dzięki trawieniu pozostałości ścian komórkowych uszkodzonych bakterii [19].

Właściwości związane z antybakteryjnym działaniem lizozymu spowodowały znaczne zainteresowanie praktycznym jego wykorzystaniem. Obecnie enzym ten jest użytkowany w wielu branżach przemysłu żywnościowego m.in. jako środek utrwalający podczas przechowywania surowców i produktów spożywczych [12]. Wykorzystywany jest również w diagnostyce medycznej, farmakologii i weterynarii. Znalazł zastosowanie w terapiach zakażeń wirusowych i bakteryjnych, w leczeniu takich schorzeń, jak: choroby skórne, oczu, jamy ustnej, leukemia i choroby nowotworowe. Ponadto jest środkiem wspomagającym działanie antybiotyków [6, 11, 13]. Wiele badań wskazuje, że w określonych warunkach lizozym może wykazywać znacznie więcej cennych właściwości, które zwiększają zakres jego antybakteryjnego działania. Nowe właściwości lizozymu ujawniają się w wyniku jego modyfikacji, które prowadzą do zmiany formy występowania enzymu z monomeru w dimer i wyższe oligomery [11, 12]. W specyficznych warunkach, np. podczas wylęgu piskląt, takie zmiany prawdopodobnie zachodzą także w natywnym białku w jego naturalnym środowisku, tj. w jajach w skorupkach [5, 17].

Wykazano, że zmieniony lizozym w swej nowej postaci traci część hydrolitycznej aktywności, a mimo to wykazuje jeszcze wyższą aktywność antybakteryjną wobec bakterii Gram-dodatnich, a dodatkowo rozszerza swoje działanie na bakterie Gram-ujemne, w tym liczne chorobotwórcze bakterie patogenne. Wykazano, że w wyniku dimeryzacji pojawia się nowa aktywność kompensująca utratę aktywności hydrolitycznej i rozszerzająca spektrum przeciwdrobnoustrojowego działania enzymu [4, 8, 12]. Ta nowa aktywność lizozymu jest efektem jego dimeryzacji i związana jest z odsłonięciem obszaru hydrofobowego przez wyeksponowanie reszt tryptofanowych z wnętrza cząsteczki na zewnątrz, co skutkuje m.in. większą zdolnością przenikania enzymu przez membranę, a w konsekwencji wyższą jego skutecznością działania wobec bakterii Gram-ujemnych.

Celem uzyskania nowej – „specyficznej” aktywności lizozymu obecnie prowadzi się prace badawcze dotyczące sposobów jego modyfikacji [1, 3, 12]. Wynika z nich, że niezależnie od zastosowanego sposobu modyfikacji lizozymu, otrzymane po modyfi-

kacji preparaty charakteryzują się zwiększoną biologiczną aktywnością przeciwdrobnoustrojową oraz zwiększonym spektrum antybakteryjnego działania. Stwarza to możliwości zdecydowanie lepszego wykorzystania enzymu w przemyśle spożywczym, szczególnie jako konserwanta żywności.

Wszystkie dotychczasowe badania nad modyfikacją lizozymu dotyczyły wyizolowanego z białka jaja enzymu. Interesujące wydaje się zbadanie, czy enzym można zmodyfikować także w jego naturalnym środowisku, tj. w białku jaja.

Celem niniejszej pracy była próba modyfikacji lizozymu i ocena podstawowych właściwości otrzymanego preparatu białkowego.

Material i metody badań

Surowcem do badań były świeże jaja kurze zakupione w sieci handlowej. Przygotowano dwa warianty surowca badawczego. Pierwszy wariant (A) stanowiły jaja w skorupach, a drugi (B) – białko jaja po rozdzieleniu treści jaja. Zarówno jaja w skorupach, jak i oddzielone białko jaja umieszczano w pojemnikach i szczelnie zamykano. Następnie pojemniki umieszczano w cieplarni i prowadzono inkubację w ściśle kontrolowanej temperaturze $40 \pm 0,5$ °C przez 20 dni. Próby do badań pobierano co 48 h, w których białko suszono liofilizacyjnie z wykorzystaniem liofilizatora GT3 firmy LEYBOLD HERAEUS. W odstępach 48-godzinnych prowadzono ocenę zmian formy występowania lizozymu w badanych próbach, jego aktywności hydrolitycznej oraz pH podczas 20-dobowej inkubacji jaj w skorupach (wariant A doświadczenia) oraz białka jaja (wariant B) w temp. 40 °C. Jako próbę kontrolną zastosowano monomer lizozymu belgijskiej firmy Belovo.

Analiza elektroforetyczna. Elektroforezę wykonywano za pomocą aparatu SE-600 firmy Hoefer Scientific Instruments (USA) według metody Laemmli [9] i Leśnierowskiego [11].

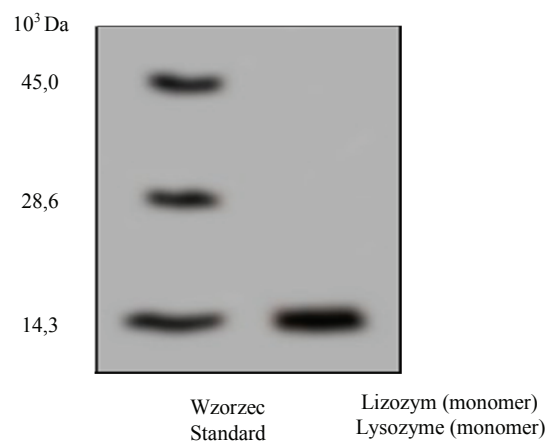
Analiza densytometryczna. Określenie ilościowego udziału poszczególnych form polimerycznych lizozymu w badanych preparatach prowadzono densytometrycznie z wykorzystaniem programu komputerowego TotalLab TL 100 firmy Nonlinear Dynamics Ltd, USA.

Aktywność hydrolityczną lizozymu oznaczano metodą spektrofotometryczną [11] na podstawie pomiaru zmniejszania zmętnienia zawiesiny bakteryjnej *Micrococcus lysodeikticus* pod wpływem dodanego enzymu. Oznaczenie prowadzono przy użyciu spektrofotometru Stv VSU-28 firmy Carl Zeiss Jena.

Analiza statystyczna. Wszystkie oznaczenia wykonano w pięciu powtórzeniach. Wyniki badań poddano analizie statystycznej, wykorzystując pakiet Statistica Pl v.8.0. Wykonano podstawowe obliczenia statystyczne, wyznaczając m.in. wartość średnią, minimum i maksimum, odchylenie standardowe, błąd standardowy i przedział ufności.

Wyniki badań i dyskusja

Analiza otrzymanych w wyniku elektroforezy frakcji wykazała, że w badanym zakresie mas cząsteczkowych, tj. $(14 - 28) \cdot 10^3$ Da, w białku jaja (próba kontrolna) występowały dwa pasma: pierwsze odpowiadające monomerowi lizozymu ($14,3 \cdot 10^3$ Da) oraz drugie odpowiadające owomukoidowi, którego masa cząsteczkowa jest zbliżona do m.cz. dimeru lizozymu ($28 \cdot 10^3$ Da) (rys. 1).



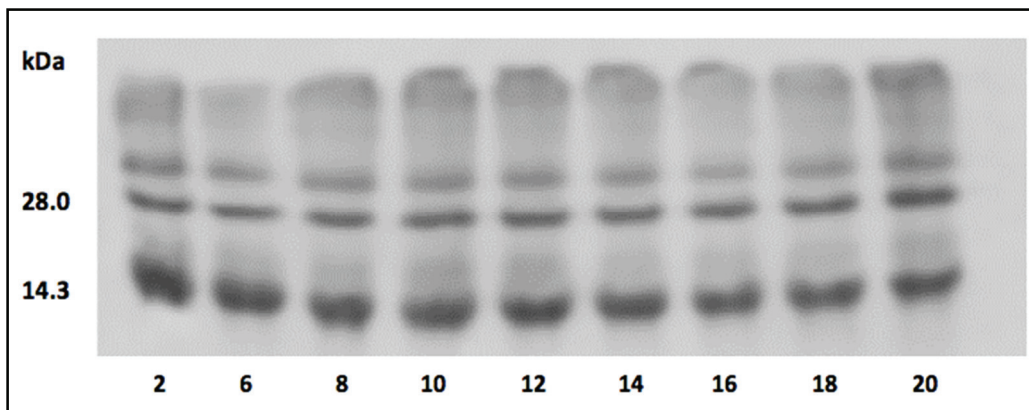
Rys. 1. Rozdział elektroforetyczny frakcji białka jaja (próba kontrolna).

Fig. 1. Electrophoretic separation of protein fractions in egg (control sample).

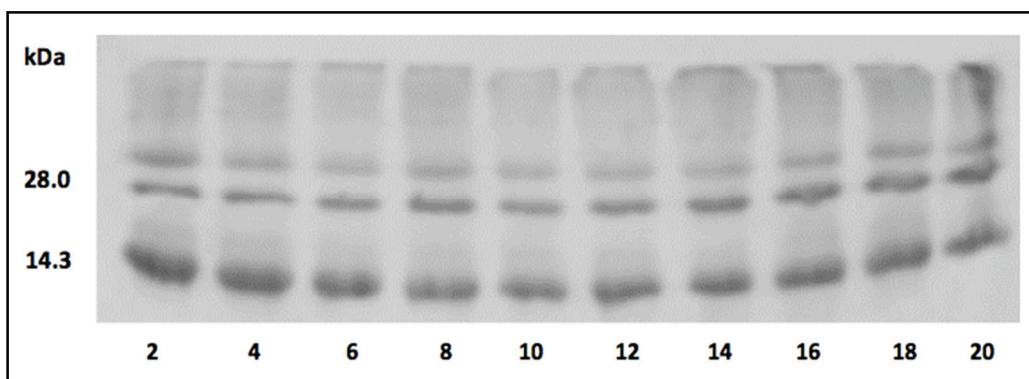
Zakładając stałą zawartość owomukoidu w białku, wykazywane podczas dalszych badań zwiększanie się udziału frakcji o masie cząsteczkowej $28 \cdot 10^3$ Da uznawano za przyrost ilości tworzącego się dimeru lizozymu, a zmniejszanie się frakcji o masie cząsteczkowej $14 \cdot 10^3$ Da jako ubytek monomeru.

Zmiany zachodzące podczas 20-dobowej inkubacji przedstawiono na rys. 2. i 3. Przedstawiono na nich rozdziały elektroforetyczne frakcji białkowych kolejnych prób pobieranych co 48 h.

Na podstawie analizy densytometrycznej rozdziałów elektroforetycznych stwierdzono, że w obu wariantach doświadczenia następował stały przyrost frakcji dimerycznej z jednoczesnym zmniejszaniem się udziału monomeru po każdej 48-godzinnej inkubacji (tab. 1). Zmiany udziału dimeru w badanych próbach przedstawiono na rys. 4. i 5.



Rys. 2. Rozdział elektroforetyczny frakcji białkowych w białku inkubowanym w jajach w skorupach (wariant Fig. 2. Electrophoretic separation of protein fractions in egg white incubated in egg shells (variant A).



Rys. 3. Rozdział elektroforetyczny frakcji białkowych w białku jaja inkubowanym po wybiciu i rozdzielaniu treści jaja (wariant B)

Fig. 3. Electrophoretic separation of protein fractions in egg whites incubated after breaking egg and separating yolk (variant B)

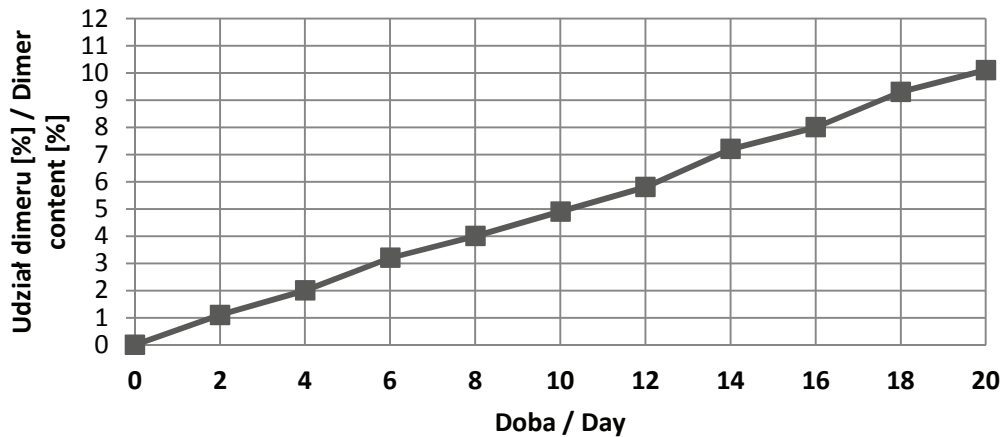
Analiza wyników wykazała, że zwiększenie udziału formy dimerycznej lizozymu było wprost proporcjonalne do ubytku monomeru w białku. Postęp tych zmian zależał od czasu inkubowania próby i wariantu doświadczenia. Największe przyrosty dimeru zaobserwowano w początkowym okresie inkubacji białka bez skorupy (2,5 %/48 h) (rys. 6). Po 20 dobach w białku inkubowanym w jajach w skorupach oznaczono udział formy dimerycznej na poziomie 10 %, natomiast w białku inkubowanym bez skorup – 12 %. Końcowa zawartość dimeru lizozymu oraz szybkość jego tworzenia była większa w białku inkubowanym bez skorup niż w białku w całym jajku ze skorupą. Taki

Tabela 1

Średnie wartości udziału monomeru, dimeru oraz aktywności hydrolitycznej i pH w próbach inkubowanego białka jaja; w układzie doświadczenia: wariant A i B; n = 5.

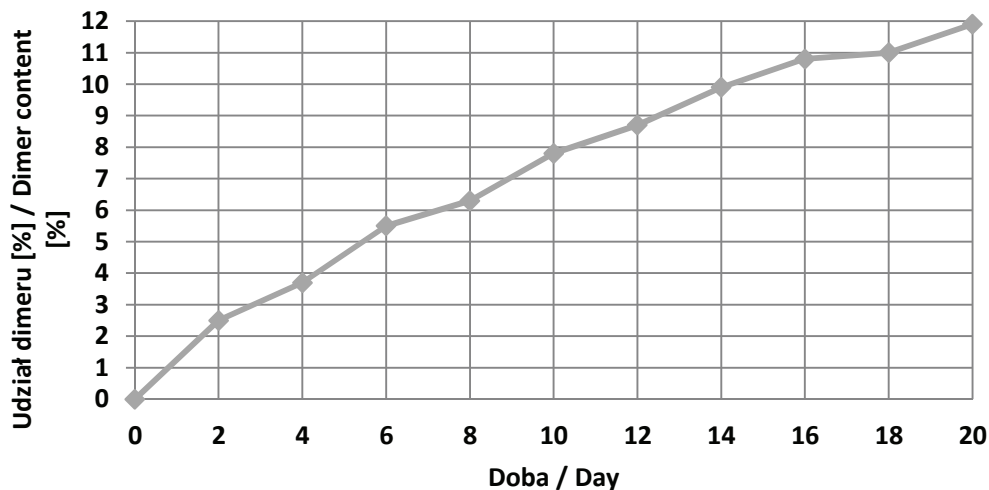
Mean values of contents of lysozyme monomer and dimer in, hydrolytic activity and pH of samples of incubated egg white; experiment plan: variants A and B; n = 5.

Doba Day	Udział monomeru lizozymu [%] Content of lysozyme monomer [%]		Szacowany udział dimeru lizozymu [%] Estimated content of lysozyme dimer [%]		pH białka pH of egg white		Aktywność hydrolityczna lizozymu [U/mg] Hydrolytic activity of lysozyme [U/mg]	
	wariant A	wariant B	wariant A	wariant B	w. A	w. B	wariant A	wariant B
0	100,0 ± 0,1	100,0 ± 0,1	0,0 ± 0,1	0,0 ± 0,1	9,3	9,3	733 ± 6	733 ± 6
2	98,9 ± 0,2	97,5 ± 0,1	1,1 ± 0,2	2,5 ± 0,1	9,2	9,3	710 ± 4	689 ± 4
4	97,9 ± 0,2	96,3 ± 0,2	2,1 ± 0,2	3,7 ± 0,2	9,2	9,3	690 ± 5	677 ± 4
6	96,8 ± 0,2	94,5 ± 0,2	3,2 ± 0,2	5,5 ± 0,2	9,1	9,3	662 ± 5	642 ± 6
8	96,0 ± 0,2	93,7 ± 0,1	4,0 ± 0,2	6,3 ± 0,2	8,9	9,2	634 ± 5	613 ± 4
10	95,1 ± 0,2	92,2 ± 0,1	4,9 ± 0,2	7,8 ± 0,1	8,8	9,2	605 ± 5	579 ± 4
12	94,2 ± 0,2	91,3 ± 0,2	5,8 ± 0,2	8,7 ± 0,2	8,7	9,2	557 ± 6	537 ± 5
14	92,8 ± 0,2	90,1 ± 0,1	7,2 ± 0,2	9,9 ± 0,1	8,6	9,0	524 ± 4	489 ± 6
16	92,0 ± 0,2	89,2 ± 0,1	8,0 ± 0,2	10,8 ± 0,1	8,5	9,0	502 ± 5	445 ± 4
18	90,7 ± 0,2	89,0 ± 0,1	9,3 ± 0,2	11,0 ± 0,1	8,5	8,9	482 ± 4	405 ± 5
20	89,9 ± 0,2	88,1 ± 0,1	10,1 ± 0,2	11,9 ± 0,1	8,4	8,8	467 ± 5	383 ± 5



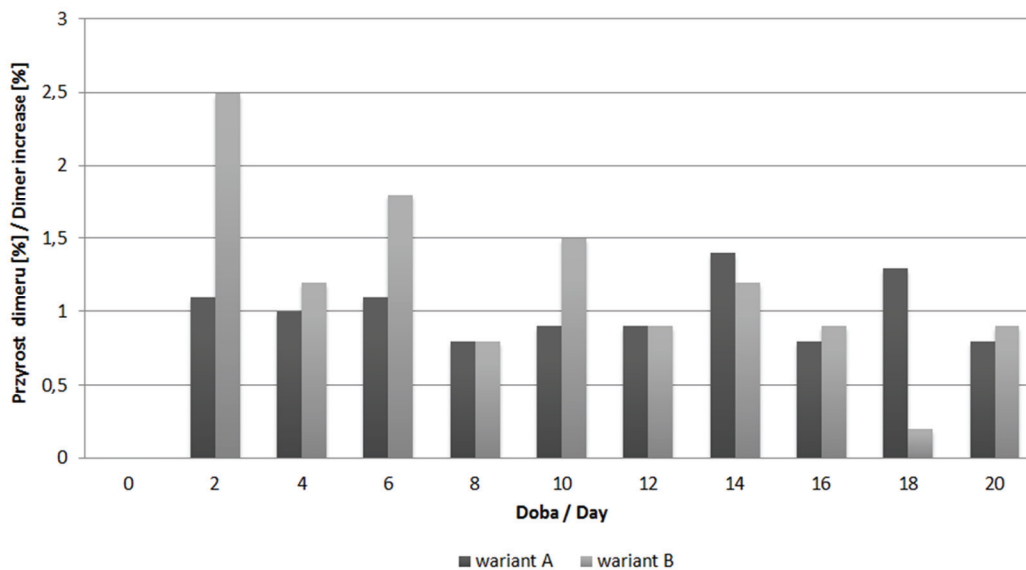
Rys. 4. Zmiany zawartości dimeru lizozymu w białku inkubowanym w jajach w skorupkach (wariant A).

Fig. 4. Changes in content of lysozyme dimer in egg white incubated in egg shells (variant A).



Rys. 5. Zmiany zawartości dimeru lizozymu w białku inkubowanym bez skorup (wariant B).

Fig. 5. Changes in content of lysozyme dimer in egg white incubated without egg shells (variant B).



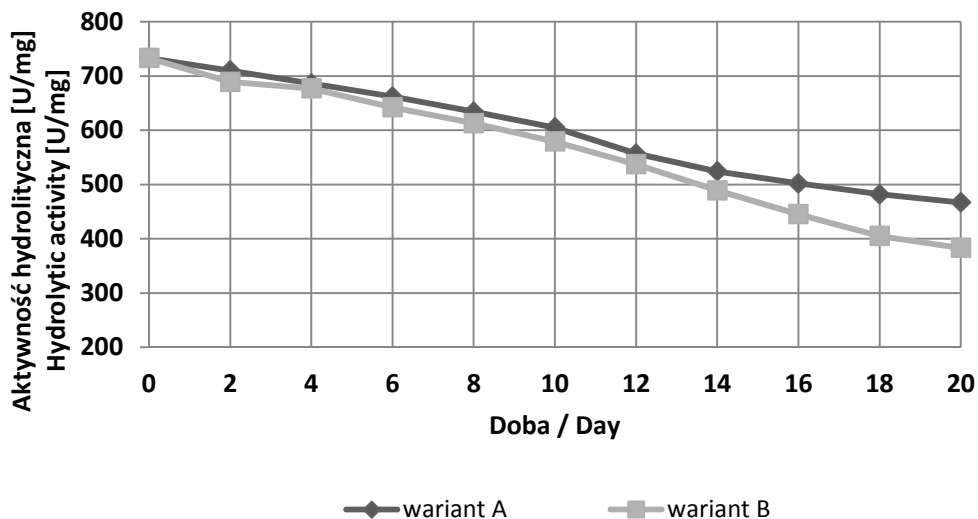
Rys. 6. Przyrosty dimeru lizozymu w czasie inkubacji białka.

Fig. 6. Increase in lysozyme dimer during incubation of egg white.

sposób tworzenia się dimeru związany był zapewne ze zmianami pH w przechowywanym białku. Dotychczasowe prace dotyczące modyfikacji lizozymu wykazały bowiem, że intensywność powstawania dimeru wzrastała wraz ze wzrostem pH środowiska

i największa była w pobliżu punktu izoelektrycznego enzymu [11, 12]. Najwyższe pH białka (9,3) zmierzono w surowcu przed inkubacją (tab. 1). Takie środowisko najbardziej sprzyjało tworzeniu się dimeru lizozymu. W miarę przechowywania surowca pH białka jaja obniżało się i proces ten był szybszy w jajach w skorupkach. Obniżanie się pH białka spowalniało oligomeryzację enzymu. W jajach w skorupkach ilość powstającego dimeru była mniejsza niż w białku oddzielnym od reszty jaja, gdyż w tym ostatnim pH środowiska osiągnęło wyższą wartość. Obserwowane podczas doświadczenia występowanie zjawiska obniżania się pH białka podczas jego przechowywania, odwrotnie niż jest to podczas naturalnego starzenia się jaj, związane było ze sposobem przetrzymywania surowca podczas jego inkubacji. Zgodnie z metodyką badań, w celu uniemożliwienia odparowania wody jaja w skorupkach i białko jaja umieszczano w szczelnie zamkniętych pojemnikach. W pojemnikach tych wraz z wydłużaniem czasu trwania inkubacji tworzyła się specyficzna atmosfera wzbogacona w uwalniany się z jaj dwutlenek węgla (CO_2), która nie tylko zahamowała wzrost pH białka, a wręcz przeciwnie – spowodowała jego obniżenie. Jak podaje Płotka [16], zjawisko takie zachodzi wtedy, gdy jaja o zaawansowanych zmianach przechowalniczych umieści się w atmosferze wzbogaconej w CO_2 . Wówczas pH białka może obniżyć się nawet do poziomu ok. 8,0. Taka właśnie sytuacja zaistniała w przypadku badanych próbek, przy czym w całych jajach w skorupkach ilość wydzielonego dwutlenku węgla była większa, stąd pH białka obniżało się szybciej i do niższej wartości.

Wraz ze zmianami formy występowania lizozymu w badanych próbach obserwowano także zmiany aktywności hydrolitycznej enzymu (rys. 7).



Rys. 7. Zmiany aktywności hydrolitycznej lizozymu w czasie inkubacji próbek.

Fig. 7. Changes in hydrolytic activity of lysozyme during incubation of analysed samples.

W czasie inkubacji białka jaja następowało obniżenie aktywności hydrolitycznej lizozymu. Poszczególne powtórzenia nie różniły się przy tym istotnie między sobą. W obu wariantach doświadczenia obniżenie to było znaczne. W chwili zakończenia inkubacji, tj. po 20 dobach, aktywność hydrolityczna lizozymu stanowiła ok. 64 % jej wartości początkowej (467 U/mg) w przypadku białka inkubowanego w skorupkach i tylko 52 % (383 U/mg) w przypadku białka inkubowanego bez skorupki. Obniżenie aktywności hydrolitycznej było niewątpliwie następstwem zachodzących procesów starzenia się jaja oraz tworzenia się formy dimerycznej enzymu. Liczne badania wykazały, że lizozym, mimo wysokiej stabilności w swoim naturalnym środowisku, stosunkowo łatwo traci aktywność podczas przechowywania jaj [12, 18, 19]. Natomiast badania dotyczące modyfikacji lizozymu jednoznacznie dowodzą, że po modyfikacji enzym traci część swej aktywności hydrolitycznej, ale jednocześnie w wyniku oligomeryzacji wykazuje nową aktywność rozszerzającą znacznie spektrum antybakteryjnego działania [2]. Z innych badań dotyczących modyfikacji lizozymu [3, 11, 15] wynika, że enzym w postaci dimerycznej wykazuje znacznie szerszy zakres antybakteryjnego działania, obejmujący także bakterie Gram-ujemne i szczepy dotychczas odporne na działanie monomeru.

Podsumowanie

W pracy wykazano, że w określonych warunkach lizozym znajdujący się w natywnym białku jaja kurzego wykazuje zdolność do asocjacji i tworzenia dimeru. Otrzymane wyniki są zbieżne z rezultatami badań Jolles i Jolles [5], którzy wykazali możliwość tworzenia się w specyficznych warunkach nieodwracalnego dimeru lizozymu w białku jaja kurzego. W pracy udowodniono, że inkubując jaja w skorupkach bądź samo białko jaja w temperaturze podwyższonej do 40 °C można doprowadzić do oligomeryzacji lizozymu. Wykazano, że w taki sposób można otrzymać preparat białka jaja wzbogacony o 10 - 12 % niezwykle cennego dimeru lizozymu. Przedstawiona w niniejszej pracy prosta metoda modyfikacji składu białkowego białka jaja wskazuje nowe kierunki modyfikacji lizozymu umożliwiające uzyskanie wartościowego preparatu białkowego, który może znaleźć zastosowanie jako dodatek do żywności, nie tylko zwiększający jej wartość odżywczą, ale także naturalnie ją konserwujący.

Literatura

- [1] Cegielska-Radziejewska R., Leśniewski G., Kijowski J.: Antibacterial activity of lysozyme modified by membrane technique. *EJPAU, Food Sci. Technol.*, 2003, **6** (2), 1-6.
- [2] Cegielska-Radziejewska R., Leśniewski G., Kijowski J.: Properties and application of egg white lysozyme and its modified preparations - a review. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2008, **58** (1), 5-10.
- [3] Cegielska-Radziejewska R., Leśniewski G., Kijowski J.: Antibacterial activity of hen egg white lysozyme modified by thermochemical technique. *Eur. Food Res. Technol.*, 2009, **228**, 841-845.

- [4] Ibrahim H.R., Higashiguchi S., Juneja L.R., Kim M., Yamamoto T., Sugimoto Y., Aoki T.: Partially unfolded lysozyme at neutral pH agglutinates and kills Gram-negative and Gram-positive bacteria through membrane damage mechanism. *J. Agric. Food Chem.*, 1996, **44**, 3799-3806.
- [5] Jolles P., Jolles J.: What is new in lysozyme research? *Moll. Cell. Biochem.* 1984, **63**, 165-188.
- [6] Kijowski J., Leśnierowski G.: Wykorzystanie lizozymu do utrwalania żywności w diagnostyce medycznej i farmakologii. *Biotechnologia*, 1995, **2 (29)** 130-140.
- [7] Kijowski J., Leśnierowski G.: Lizozym z białka jaja naturalnym konserwantem żywności. *Mat. XXXI Sesji Nauk. KTiChŻ PAN. Poznań 2000*, ss. 47-56.
- [8] Kijowski J., Leśnierowski G., Fabisz-Kijowska A.: Lysozyme polymer formation and functionality of residuals after lysozyme extraction. In: *Egg nutrition and biotechnology*. Eds. CAB International, 2000, pp. 269-285.
- [9] Laemmli U.K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 1970, **227 (5259)**, 680-685.
- [10] Lehninger A.: *Principles of biochemistry*. Worth Publisher Inc., New York 1993, pp. 312-320.
- [11] Leśnierowski G.: *Fizykochemiczne metody modyfikacji i pomiaru aktywności lizozymu*. Wyd. AR, Poznań 2007, ss. 5-15.
- [12] Leśnierowski G.: Nowe sposoby fizykochemicznej modyfikacji lizozymu. *Nauka Przym. Technol.* 2009, **3**, 4, #130.
- [13] Leśnierowski G., Kijowski J.: Metody badania aktywności enzymatycznej oraz oznaczanie ilościowe lizozymu z białka jaja kurzego. *Przem. Spoż.*, 1995, **12**, 476-479.
- [14] Leśnierowski G., Kijowski J.: Lysozyme. In: *Bioactive egg compounds*. Eds. R. Huopalahti, R. Lopez-Fernando, M. Amton, R. Schade. Springer, Berlin 2007, pp. 33-42.
- [15] Leśnierowski G., Kijowski J., Cegielska-Radziejewska R.: Ultrafiltration-modified chicken egg white lysozyme and its antibacterial action. *Int J. Food Sci. Technol.*, 2009, **44**, 305-311.
- [16] Płotka A.: *Przechowalnictwo jaj*. W: *Technologia jaj*. Red. A.Płotka. WNT, Warszawa 1970, ss. 129-152.
- [17] Sophianopoulos A.J.: Association sites of lysozyme in solution. *J. Biol. Chem.*, 1969, **244**, 3188-3193.
- [18] Świerczewska, E., Niemiec, J., Stepińska M., Riedel J., Grzybowska, A. Kakowska, R.: Lysozyme activity in egg white as influenced by storage time and temperature and by management system of laying hens. *Proc. VII Europ. Symp. Quality of Eggs and Egg Products, WPSA, 21-26 IX, Poznań 1997*, pp. 158-161
- [19] Trziszka T.: Budowa i skład chemiczny jaja. W: *Jajczarstwo – nauka, technologia, praktyka*. Red. T. Trziszka. Wyd. AR we Wrocławiu, Wrocław 2000, ss. 147-183.


EFFECT OF ENVIRONMENTAL CONDITIONS ON CHANGE IN PROPERTIES OF LYSOZYME IN HEN EGG WHITE

S u m m a r y

Lysozyme is a hydrolytic enzyme having the capacity to decompose bacterial cell walls. It constitutes a mechanism of natural, primary protection for the embryo developing in the egg. The egg white is a rich source of lysozyme used to produce the enzyme on an industrial scale.

The objective of this study was to determine the changes in the lysozyme of a native egg white resulting from storing either the raw whole eggs or the separated egg whites under the conditions similar to those of the egg incubation during hatching i.e. approximately at 40 °C for 20 days.

It was proved that when chicken eggs were kept under the above conditions, qualitative and quantitative changes in the lysozyme present in the egg white occurred. The incubation of enzyme caused its partial oligomerisation, which resulted in the formation of a dimeric form. This phenomenon was accompanied by a decrease in the hydrolytic activity of the enzyme.

Key words: lysozyme, oligomerization, dimer, hydrolytic activity 

ANETA CEGIELKA

ZASTOSOWANIE OLEJÓW ROŚLINNYCH I PREPARATÓW BŁONNIKOWYCH DO PRODUKCJI BURGERÓW Z MIĘSA KURCZĄT

Streszczenie

Celem badań była ocena wpływu zastąpienia w składzie recepturowym burgerów drobiowych podgardla wieprzowego mieszaniną olejów roślinnych (stopień wymiany: 20 lub 40 %) oraz dodatku inuliny (1 %) lub błonnika pszennego (2 lub 3 %) na jakość gotowego wyrobu. Stwierdzono, że zastosowane modyfikacje składu recepturowego różnicowały istotnie wydajność po obróbce cieplnej oraz skutkowały zmniejszeniem zawartości tłuszczu w burgerach. Wszystkie warianty wyrobu oceniono wysoko pod względem cech sensorycznych, a istotne różnice stwierdzono jedynie w ocenie soczystości. Mimo istotnych różnic w sile cięcia produktów mierzonej metodą instrumentalną, różnice w ocenie sensorycznej twardości pomiędzy poszczególnymi wariantami burgerów były statystycznie nieistotne. Na podstawie analizy składu kwasów tłuszczowych wykazano, że dodatek olejów roślinnych sprzyjał poprawie wartości żywieniowej tłuszczu zawartego w produkcie. Uzyskane wyniki wskazują, że w recepturze burgerów drobiowych możliwa jest wymiana 20 % podgardla olejami roślinnymi z jednoczesnym dodatkiem wybranego preparatu błonnika spożywczego: inuliny lub błonnika pszennego.

Słowa kluczowe: burgery z mięsa kurcząt, oleje roślinne, inulina, błonnik pszenny, jakość

Wprowadzenie

Konsumenci przetworów mięsnych, świadomi zależności między sposobem odżywiania a stanem zdrowia, coraz częściej poszukują produktów mięsnych o podwyższonej wartości żywieniowej w porównaniu z ich „tradycyjnymi” odpowiednikami [7, 16]. Analiza rynkowych produktów typu hamburger wykazała, że ich jakość jest bardzo zróżnicowana, a zastrzeżenia żywieniowe dotyczyły m.in. stosunkowo dużej zawartości tłuszczu ogólnego i cholesterolu oraz małej zawartości białka [17]. Sposobem na sprostanie oczekiwaniom konsumentów jest zastosowanie dobrych jakościowo surowców oraz dodatek substancji funkcjonalnych, które oprócz pozytywnego oddziały-

wania technologicznego pozwolą wzbogacić produkt w wybrane składniki o działaniu prozdrowotnym, m.in. błonnik [4, 5], likopen [12] czy kwas foliowy [11]. Wśród przedsięwzięć służących poprawie wartości żywieniowej produktów mięsnych w literaturze wymienia się ponadto zmniejszenie udziału tłuszczu zwierzęcego z jednoczesnym zastąpieniem jego części olejem roślinnym lub rybim, co pozwala wzbogacić produkt w wielonienasycone kwasy tłuszczowe [14, 16, 22]. O przydatności tych olejów do polepszenia walorów zdrowotnych tłuszczu w wyrobach mięsnych innych grup asortymentowych świadczą wyniki badań dotyczące m.in. kielbas parzonych [1, 3, 18] i dojrzewających [23]. Działania takie nie powinny jednak skutkować obniżeniem jakości i trwałości przetworów mięsnych [18]. Jedną z metod poprawy stabilności oksydacyjnej lipidów i jakości mikrobiologicznej produktów wzbogaconych w oleje jest zastosowanie przeciwutleniaczy pochodzenia roślinnego [16, 18, 29].

Ze względu na pożądane właściwości funkcjonalne w technologii przetwórstwa mięsnego stosuje się roślinne preparaty błonnikowe. Błonnik nierozpuszczalny, m.in. pszeniczny, reguluje procesy trawienne związane z przeniesieniem treści pokarmowej. Przypisuje mu się także działanie profilaktyczne wobec niektórych nowotworów [6, 16, 29]. Producenci wyrobów mięsnych wzbogaconych we włókno pszenne, wśród najważniejszych korzyści wymieniają: stabilizację struktury gotowego wyrobu, ograniczenie ubytków produkcyjnych i/lub zmniejszenie zawartości tłuszczu [16, 28]. Pozytywny wpływ inuliny, zaliczanej do błonnika rozpuszczalnego, na funkcjonowanie układu trawiennego polega m.in. na stymulowaniu wzrostu dobroczynnej mikroflory jelita grubego oraz obniżaniu poziomu cholesterolu we krwi [8, 19]. Jej specyficzną cechą technologiczną jest doskonałe imitowanie cech sensorycznych i technologicznych tłuszczu zwierzęcego [9, 10]. Błonnik pszeniczny i inulina mogą być stosowane w produkcji żywności wygodnej z mięsa [4, 5, 6, 8].

Rosnący popyt na produkty mięsne typu żywności wygodnej sprawia, że w najbliższych latach można oczekiwać większego zainteresowania producentów wytwarzaniem produktów o polepszonej wartości żywieniowej.

Celem niniejszych badań była ocena wpływu zastąpienia w składzie recepturowym burgerów z mięsa kurcząt podgardla wieprzowego mieszaniną olejów roślinnych (stopień wymiany: 20 lub 40 %) oraz dodatku inuliny (1 %) lub błonnika pszenicznego (2 lub 3 %) na jakość gotowego wyrobu.

Materiał i metody badań

Materiał doświadczalny stanowiły burgery wytwarzane w Zakładzie Technologii Mięsa SGGW w Warszawie z mięsa ud kurcząt i podgardla wieprzowego. Zakupu mięsa drobiowego dokonywano każdorazowo (6 kg) przed realizacją kolejnej serii doświadczalnej. Podgardle zakupiono jednorazowo (5 kg), rozdrobniono w wilku laboratoryjnym z życiem przednoża, wymieszano, podzielono na 4 porcje, zamknięto

próżniowo i zamrożono (temp. -28 ± 2 °C). Zakupu surowców dokonywano w zakładzie „SuperDrob” S.A. (Karczew).

W każdej z 4 serii doświadczalnych wytwarzano 9 wariantów burgerów (WK, W1 - W8) różniących się stopniem wymiany podgardla olejami roślinnymi i/lub dodatkiem preparatu błonnikowego (tab. 1). Stopień substytucji podgardla olejami oraz wielkość dodatku preparatów błonnikowych przyjęto na podstawie badań własnych. Zastosowano mieszaninę olejów: rzepakowego i lnianego (7 : 3) o korzystnych żywieniowo (tj. ustalonych na podstawie obliczeń) proporcjach kwasów tłuszczowych nienasyconych i nasyconych.

Tabela 1

Skład recepturowy burgerów z mięsa kurcząt [%].
Composition of chicken meat burgers recipe [%].

Składnik Ingredient	Wariant produktu Product type								
	WK	W1	W2	W3	W4	W5	W6	W7	W8
Mięso z ud kurcząt / Chicken thigh meat	85,0								
Podgardle wieprzowe / Pork jowl	15,0	12,0	15,0	12,0	9,0	15,0	12,0	12,0	9,0
Mieszanka olejów roślinnych Mixture of plant oils	-	3,0	-	3,0	6,0	-	3,0	3,0	6,0
Razem: surowce mięsno-tłuszczowe Meat and fat raw materials combined	100,0								
Woda / Water *	15,0								
Sól kuchenna / Salt **	1,8								
Izolat białka sojowego Soy protein isolate **	1,5								
Pieprz / Black pepper **	0,3								
Ekstrakt rozmarynu / Rosemary extract**	0,03								
Inulina / Inulin **	-	-	1,0	1,0	1,0	-	-	-	-
Błonnik pszenny / Wheat fibre**	-	-	-	-	-	2,0	2,0	3,0	2,0

* – w stosunku do masy surowców mięsnych i tłuszczowych / in relation to the mass of meat and fat raw materials;

** – w stosunku do masy surowców mięsnych, tłuszczowych i wody / in relation to the mass of meat and fat raw materials and water.

Jako błonnik rozpuszczalny zastosowano inulinę „Orafti® HPX” (Beneo-Orafti, Belgia), a jako nierozpuszczalny włókno pszenne „Vitacel WF400®” (JRS, Niemcy). Inulinę wprowadzano do farszu w postaci żelu, tj. po uwodnieniu (1 : 3), zaś preparat

błonniku pszennego w postaci nieuwodnionej. Oleje dodawano w postaci emulsji z uwodnionym (1 : 4) białkiem sojowym „SPI 733” (Solae Comp., USA). Do uwodnienia wymienionych preparatów używano wody przewidzianej w recepturze. Przed przystąpieniem do produkcji burgerów podgardle rozmrażano (temp. 4 ± 2 °C, 24 h). Mięso drobiowe i podgardle oddzielnie rozdrabniano w wilku laboratoryjnym (siatka o \varnothing otworów 3 mm). Farsze wytwarzano w mieszalnikach laboratoryjnych umieszczonych w chłodni (temp. 4 ± 2 °C). Po wymieszaniu mięsa chudego z solą kuchenną dodawano surowiec tłuszczowy (podgardle lub podgardle i emulsję olejów z uwodnionym białkiem sojowym) oraz pozostałe składniki farszu. Całkowity czas mieszania wynosił 15 min. Z farszu formowano burgery, nadając im kształt płaskich krążków (masa ok. 100 g), posługując się formierką ręczną. Uformowane burgery podmrażano (temp. -20 ± 2 °C, 30 min) w celu utrzymania kształtu krążka. Obróbkę termiczną prowadzono na grillu elektrycznym Spidocook® (Unox Sp.A., Włochy) wyposażonym w dwie ceramiczne płyty grzejne: górną i dolną. Burgery ogrzewano (temp. płyt 200 ± 5 °C) do uzyskania w centrum produktu temp. 72 °C. Pomiaru temperatury produktu dokonywano przy użyciu termometru bagnetowego HI 98804 (Hanna Instruments, USA). Burgery studzono w temperaturze 18 - 22 °C, po czym umieszczano w chłodni (temp. 4 ± 2 °C, ok. 24 h).

W celu oceny jakości burgerów wykonano następujące badania:

- fizyczne – oznaczano wydajność po obróbce cieplnej metodą wagową oraz dokonywano pomiaru siły cięcia w próbkach ogrzanego produktu ($90 \times 40 \times 8$ mm) przy użyciu maszyny wytrzymałościowej Zwicky 1120 (Zwick, Niemcy), wyposażonej w przystawkę Warnera-Bratzlera i nóż płaskościęty (na każdym produkcie każdorazowo wykonywano 5 pomiarów);
- chemiczne – oznaczano podstawowy skład chemiczny produktu poddanego obróbce cieplnej, tj. zawartość wody przez suszenie próbki w temp. 105 °C do ustalenia stałej masy, białka metodą Kjeldahla przy użyciu aparatu Kjeltex System 1025 (Foss Tecator, Szwecja) wg PN [24], tłuszczu metodą Soxhleta przy użyciu ekstraktora Büchi Extraction System B-811 (Büchi Labortechnik AG, Szwajcaria) wg PN ISO [26] i soli kuchennej przy użyciu potencjometru Titroline (Metrom, Szwajcaria). W burgerach ostatniej serii doświadczalnej oznaczano (ilościowo i jakościowo) skład kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej (chromatograf Agilent 7890 z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym) wg PN-EN ISO [25]. Do rozdziału estrów metylowych kwasów tłuszczowych stosowano wysokosprawną kolumnę kapilarną ID-Restek-2330 (warunki analizy: temp. kolumny programowana w zakresie 100-230 °C, temp. dozownika: 250 °C, temp. detektora: 300 °C, gaz nośny: hel);
- sensoryczne – oceny jakości sensorycznej burgerów „na ciepło” (ogrzanych do temp. 55 - 60 °C) dokonywał 8-osobowy zespół posługujący się graficzną skalą

10-centymetrową (gdzie 0 pkt. oznaczało najmniejszą, a 10 pkt. największą pożądalność danej cechy). Ocenie poddano: barwę zewnętrzną, zapach, smak, twardość, soczystość i ogólną pożądalność produktów [2].

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej, używając programu Statgraphics 4.1 Plus. Zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji. Istotność różnic szacowano testem Tukey'a ($p < 0,05$).

Wyniki i dyskusja

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że wydajność burgerów po obróbce cieplnej była zbliżona do 90 %. (tab. 2). Stwierdzono, że, modyfikacja składu recepturowego burgerów miała istotny wpływ na zmniejszenie wydajności burgerów, szczególnie w próbach, w których zastąpiono podgardle olejami w ilości 20 % (W1) lub 40 % z łącznym dodatkiem błonnika pszennego (W8).

Dotychczas niewiele badań dotyczyło możliwości zastąpienia zwierzęcego surowca tłuszczowego olejem w produktach mięsnych zaliczanych do tzw. żywności wygodnej – bez lub z jednoczesnym użyciem preparatu błonnikowego. Znacznie częściej podejmowano próby służące polepszeniu wartości żywieniowej wyrobów mięsnych należących do innych grup asortymentowych. Wyniki badań dotyczących kiełbas parzonych drobno rozdrobnionych wskazują, że zastąpienie części zwierzęcego surowca tłuszczowego olejem roślinnym lub rybim powodowało wzrost ubytków produkcyjnych [1, 27]. Ich wielkość można jednak ograniczyć przez zastosowanie oleju w postaci emulsji [31] lub wprowadzenie do receptury preparatu błonnikowego [30].

Wyniki innych badań sugerują, że wpływ inuliny na wydajność produkcyjną przetworów mięsnych nie jest jednoznaczny. Użycie uwodnionej inuliny w roli częściowego zamiennika tłuszczu zwierzęcego w konserwach modelowych [19] i pasztetach [10] prowadziło do zwiększenia wycieku termicznego, natomiast zastosowanie preparatu nieuwodnionego w produkcji kulek mięsnych nie powodowało istotnego wzrostu ubytków cieplnych [8]. O pozytywnym wpływie preparatów włókna pszennego na wydajność obróbki termicznej wyrobów mięsnych typu żywność wygodna świadczą wyniki badań dotyczących paluszków drobiowych [6] oraz hamburgerów [4, 5].

Na podstawie pomiaru siły cięcia stwierdzono, że w odniesieniu do produktu kontrolnego (WK) zastosowane modyfikacje recepturowe nie zmieniły istotnie tego wyróżnika tekstury burgerów (tab. 2). Natomiast produkty tylko z dodatkiem 2% błonnika pszennego (W5) lub z 2 % błonnika pszennego i 3% olejów (W7) były istotnie bardziej twarde niż burgery zawierające 1 % inuliny i 6 % olejów w składzie recepturowym (W4). Nie stwierdzono statystycznie istotnej zależności pomiędzy siłą cięcia a zawartością wody ($r = 0,138$) ani pomiędzy siłą cięcia a zawartością tłuszczu w burgerach ($r = -0,160$). Stwierdzone różnice były zatem prawdopodobnie spowodowane specyficznym oddziaływaniem włókna pszennego wzmacniającego teksturę burgerów.

Substytucja tłuszczu zwierzęcego olejem może istotnie modyfikować teksturę produktów mięsnych. Zmniejszenie mierzonej instrumentalnie twardości stwierdzono m.in. w parówkach [1, 27] i mortadeli [3]. Natomiast w przypadku konserw modelowych wykazano, że wprowadzenie 10 % dodatku uwodnionej inuliny lub błonnika pszennego w miejsce surowca tłuszczowego nie miało istotnego wpływu na mierzone instrumentalnie wyróżniki tekstury: związanie bloku i wytrzymałość plastra na zrywanie [19]. Specyficzne właściwości włókna pszennego sprawiają natomiast, że celem jego dodatku do wyrobów mięsnych typu żywność wygodna jest możliwość wzmocnienia tekstury, co potwierdzono w innych badaniach nad jakością paluszków drobiowych [6] i hamburgerów [5], w których wykonano instrumentalne pomiary siły cięcia gotowych wyrobów. Dodatek preparatu błonnikowego pochodzenia roślinnego może ponadto przeciwdziałać zmniejszeniu twardości instrumentalnej produktów mięsnych, w których część tłuszczu zwierzęcego wymieniono olejem roślinnym [13, 30].

Zastosowanie olejów roślinnych i/lub wybranego preparatu błonnikowego nie różnicowało istotnie zawartości wody i białka w burgerach drobiowych, natomiast próby W1 – W8 cechowały się istotnie mniejszą zawartością tłuszczu w porównaniu z próbą kontrolną (tab. 2).

Zwiększenie zawartości wody i zmniejszenie zawartości białka w wyniku częściowej substytucji zwierzęcego surowca tłuszczowego oliwą z oliwek stwierdzono w parówkach wieprzowych [18]. Podobny zabieg nie spowodował istotnego zróżnicowania podstawowego składu chemicznego regionalnych produktów hiszpańskich: mortadeli z dodatkiem oleju rybiego [3] i Chorizo de Pamplona z olejem sojowym [21] oraz kiełbas dojrzewających zawierających oliwę z oliwek [15], olej lniany lub rzepakowy [23].

Inni autorzy stwierdzili, że zastosowanie uwodnionej inuliny w roli zamiennika tłuszczu powodowało istotne zmniejszenie zawartości tłuszczu, przy jednoczesnym zwiększeniu zawartości wody, w szerokiej gamie przetworów mięsnych, m.in. kulkach mięsnych [9], kiełbasach parzonych i wątrobiankach [22], pasztetach [10] i konserwach blokowych [19]. Natomiast użycie inuliny w postaci nieuwodnionej (tj. w funkcji składnika probiotycznego, a nie zamiennika tłuszczowego) nie różnicowało istotnie składu chemicznego kulek z mięsa indyczego [8]. Dodatek włókna pszennego do hamburgerów skutkowało zwiększeniem zawartości wody oraz zmniejszeniem zawartości białka i tłuszczu w gotowym wyrobie [4, 5].

Wszystkie warianty burgerów drobiowych zyskały akceptację zespołu oceniającego (tab. 3), a noty przyznane w ocenie poszczególnych wyróżników nie odbiegały istotnie od not przyznanych produktowi kontrolnemu (WK). Jedynie w ocenie soczystości wyrobów stwierdzono istotne statystycznie różnice. Mimo że zastosowane modyfikacje recepturowe nie powodowały istotnych zmian soczystości burgerów w porównaniu z produktem kontrolnym (WK), to wyroby z 2 % dodatkiem błonnika pszen-

nego i 3 lub 6 % udziałem olejów (warianty: W6 i W8) cechowały się mniejszą soczystością niż burgery z inuliną (W2 - W4). Na zmniejszenie soczystości burgerów z błonnikiem pszennym mogło mieć zatem wpływ silniejsze związanie wody i tłuszczu w strukturze produktu. Pod względem ogólnej pożądalności sensorycznej nieznacznie wyżej oceniono produkty: z 20 % wymianą podgardla na oleje roślinne i 3 % dodatkiem błonnika pszennego (W7), z 1% dodatkiem inuliny (W2) oraz kontrolny (WK).

Wyniki badań dotyczące możliwości zastąpienia zwierzęcego surowca tłuszczowego olejem roślinnym lub rybim i wpływu tego zabiegu na pożądalność sensoryczną produktów mięsnych nie zawsze są jednoznaczne. Wykazano, że użycie oleju roślinnego, a zwłaszcza rybiego może powodować pogorszenie smaku, zapachu, konsystencji i barwy produktu, lecz zakres tych zmian jest zawsze uzależniony od stopnia wymiany tłuszczu oraz zależny od specyficznych walorów sensorycznych wyrobu należącego do określonej grupy asortymentowej [1, 3, 15, 27]. Istotnie niekorzystne zmiany niektórych wyróżników sensorycznych stwierdzono m.in. w parówkach z dodatkiem oleju z kałamarnicy [1] oraz kielbasie dojrzewającej z olejem lnianym lub rzepakowym [23]. W przypadku parówek z olejem rzepakowym lub słonecznikowym [27] i mortadeli z olejem rybim [3] wykazano natomiast, że odchylenia jakości sensorycznej były jedynie nieznaczne, a zawierającą dodatek oliwy z oliwek kielbasę turecką *sucuk* oceniono nawet wyższej pod względem kilku wyróżników sensorycznych niż jej tradycyjny odpowiednik [15].

W literaturze brak jest informacji o zastosowaniu inuliny do burgerów mięsnych. Zastosowanie inuliny – podobnie jak w niniejszej pracy – w roli składnika wzbogacającego (tj. nie jako zamiennika tłuszczu) nie wpłynęło na obniżenie ogólnej jakości sensorycznej kulek mięsnych [9] ani kielbas dojrzewających [20]. Natomiast niepożądanym skutkiem użycia żelu inulinowego w roli zamiennika surowca tłuszczowego może być pojaśnienie barwy, osłabienie intensywności zapachu, smaku i ogólnej pożądalności sensorycznej produktu mięsnego w przypadku konserw modelowych [19]. Wykazano jednak pozytywny wpływ uwodnionej inuliny na soczystość pasztetów [10] i konsystencję wątrobianki [22]. Wcześniejsze badania wskazują na przydatność różnych preparatów włókna pszennego w kształtowaniu pożądanej jakości sensorycznej wyrobów mięsnych typu żywność wygodna: hamburgerów [4, 5] oraz paluszków mięsnych [6]. W przypadku pulpetów i kotletów [28] oraz hamburgerów [5] stwierdzono jednak zmniejszenie ich soczystości wraz ze wzrostem wielkości dodatku błonnika pszennego do farszu.

Tabela 2

Wyniki badań fizykochemicznych burgerów z mięsa kurecząt, determinowane składem recepturowym wyrobów.
Results of physical and chemical analyses of chicken meat burgers as determined by recipe composition of products.

Wyróżnik Characteristic	Wariant produktu Product type								
	WK	W1	W2	W3	W4	W5	W6	W7	W8
Wydajność obróbki cieplej [%] Thermal processing yield [%]	90,1 ^{bc} ± 0,53	86,9 ^a ± 1,02	91,3 ^c ± 0,40	89,5 ^{bc} ± 0,76	87,9 ^{ab} ± 0,74	90,6 ^c ± 0,34	90,2 ^{bc} ± 0,67	91,3 ^c ± 1,87	86,4 ^a ± 1,57
Siła cięcia [N] Shear force [N]	26,70 ^{ab} ± 4,47	27,83 ^{ab} ± 7,69	27,70 ^{ab} ± 11,92	26,72 ^{ab} ± 11,71	23,84 ^a ± 10,78	34,72 ^b ± 2,86	30,59 ^{ab} ± 3,29	34,24 ^b ± 3,29	29,54 ^{ab} ± 1,76
Woda [%] / Water [%]	63,1 ± 0,22	64,2 ± 0,24	65,8 ± 1,10	65,1 ± 0,84	65,6 ± 0,55	65,1 ± 1,75	65,3 ± 2,00	65,0 ± 1,51	64,9 ± 1,79
Białko [%] / Protein [%]	17,5 ± 0,13	18,3 ± 0,55	17,7 ± 0,49	17,7 ± 0,36	17,6 ± 0,35	16,7 ± 0,93	17,8 ± 1,10	16,8 ± 1,15	16,8 ± 1,27
Tłuszcz [%] / Fat [%]	15,8 ^b ± 0,18	12,6 ^a ± 0,79	11,5 ^a ± 0,60	11,9 ^a ± 0,82	11,7 ^a ± 0,80	12,1 ^a ± 1,40	11,9 ^a ± 1,00	12,4 ^a ± 1,76	12,0 ^a ± 0,62
NaCl [%]	2,2 ^{ab} ± 0,05	2,3 ^{ab} ± 0,05	2,2 ^{ab} ± 0,10	2,3 ^{ab} ± 0,05	2,3 ^{ab} ± 0,08	2,1 ^{ab} ± 0,13	2,1 ^a ± 0,13	2,2 ^{ab} ± 0,17	2,3 ^b ± 0,10

^{a,b} – wartości średnie w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$); $n = 4$ / mean values in the rows denoted using different letters differ statistically significantly ($p < 0,05$); $n = 4$.

Tabela 3

Wyniki oceny sensorycznej burgerów z mięsa kurcząt [pkt], determinowane składem recepturowym wyrobów.
Results of sensory assessment of chicken meat burgers as determined by recipe composition of products.

Wyróżnik Characteristic	Wariant produktu Product type								
	WK	W1	W2	W3	W4	W5	W6	W7	W8
Barwa / Colour	7,7 ± 0,53	7,3 ± 0,22	7,4 ± 0,57	7,6 ± 0,40	7,4 ± 0,67	7,3 ± 0,60	7,5 ± 0,63	7,6 ± 0,81	7,5 ± 0,63
Zapach / Aroma	7,8 ± 0,42	7,6 ± 0,91	7,7 ± 0,81	7,9 ± 0,67	7,6 ± 0,46	7,4 ± 1,07	7,0 ± 0,92	6,9 ± 0,89	6,5 ± 0,64
Smak / Taste	7,9 ± 0,79	8,4 ± 0,33	8,3 ± 0,56	7,5 ± 0,40	7,5 ± 0,40	7,6 ± 0,53	8,2 ± 0,36	8,4 ± 0,22	7,9 ± 0,68
Twardość / Hardness	8,2 ± 0,41	8,4 ± 0,49	8,4 ± 0,71	8,3 ± 0,83	8,0 ± 0,77	7,8 ± 0,13	7,9 ± 0,51	8,3 ± 0,47	8,0 ± 0,48
Soczystość / Juiciness	7,9 ^{abc} ± 0,13	8,1 ^{bc} ± 0,59	8,2 ^c ± 0,70	8,1 ^{bc} ± 0,44	8,2 ^c ± 0,46	6,8 ^{ab} ± 0,65	6,8 ^a ± 0,49	7,1 ^{abc} ± 0,56	6,7 ^a ± 0,50
Ogólna pożądalność Overall desirability	8,0 ± 0,13	7,6 ± 0,65	8,1 ± 0,44	7,9 ± 0,73	7,4 ± 0,61	7,6 ± 0,26	7,5 ± 0,53	8,5 ± 0,39	7,3 ± 0,29

Objaśnienia, jak pod tab. 2 / Explanatory notes as in Tab. 2.

Skład kwasów tłuszczowych oznaczony w burgerach poddanych obróbce cieplnej (tab. 4) pozwala wnioskować, że częściowa wymiana podgardla olejami roślinnymi spowodowała korzystne żywieniowo zmiany w proporcjach poszczególnych grup kwasów tłuszczowych, w szczególności zwiększenie udziału wielonienasyconych kwasów tłuszczowych z rodziny *n-3* (WNKT *n-3*) i zmniejszenie proporcji WNKT *n-6*/WNKT *n-3*. Uzyskane wyniki stanowią potwierdzenie założeń wstępnych wynikających z obliczeń z użyciem danych tablicowych. Olej lniany stanowi bowiem bardzo dobre źródło kwasu α -linolenowego, a olej rzepakowy – kwasów: oleinowego i α -linolenowego. Burgery zawierające dodatek olejów cechowały się odpowiednimi w stosunku do zalecanych proporcjami WNKT/NKT oraz WNKT *n-6*/WNKT *n-3* (odpowiednio: powyżej 0,4 oraz poniżej 4,0), które są często używane w celu scharakteryzowania wartości żywieniowej lipidów w żywności [14].

Tabela 4

Skład kwasów tłuszczowych (KT) w burgerach z mięsa kurcząt [g/100 g KT].
Composition of fatty acids (FA) in chicken meat burgers [g/100 g of the total FA].

Grupa kwasów tłuszczowych Group of fatty acids	Wariant produktu Product type								
	WK	W1	W2	W3	W4	W5	W6	W7	W8
Nasycone KT (NKT) Saturated FA (SFA)	32,68	27,28	31,26	26,06	22,01	32,04	28,80	27,36	24,02
Nienasycone KT (NNKT) Unsaturated FA (UFA)	64,58	70,21	65,97	71,58	76,05	65,09	68,96	70,33	74,08
Jednonienasycone KT (JNKT) Monounsaturated FA (MUFA)	49,84	48,57	48,34	47,17	48,21	48,15	50,91	47,53	48,75
Wielonienasycone KT (WNKT) Polyunsaturated FA (PUFA)	14,74	21,64	17,63	24,41	27,84	16,94	18,05	22,80	25,33
WNKT/NKT PUFA/SFA	0,45	0,79	0,56	0,94	1,26	0,53	0,63	0,83	1,05
WNKT <i>n-6</i> / PUFA <i>n-6</i>	13,04	17,05	15,51	17,57	17,88	15,29	14,74	16,78	17,17
WNKT <i>n-3</i> / PUFA <i>n-3</i>	1,70	4,59	2,13	6,36	9,96	1,65	3,31	6,02	8,16
WNKT <i>n-6</i> /WNKT <i>n-3</i> PUFA <i>n-6</i> / PUFA <i>n-3</i>	7,67	3,71	7,28	2,76	1,80	9,27	4,45	2,79	2,10

Podobnie jak w niniejszej pracy, pozytywny rezultat w aspekcie wzbogacenia produktu mięsnego w WNKT uzyskano również po łącznym użyciu oleju bawełnianego i preparatu błonnika buraczanego, co wykazano w parówkach wołowych [29] i kielbasie dojrzewającej [13].

Uzyskane wyniki stanowią podstawę do dalszych badań nad trwałością przechowywania burgerów drobiowych o polepszonej wartości żywieniowej.

Wnioski

1. Stwierdzono, że w produkcji burgerów drobiowych, zawierających w składzie recepturowym 85 % mięsa z ud kurcząt i 15 % podgardla, możliwa jest wymiana 20 % podgardla mieszaniną olejów roślinnych oraz dodatkiem inuliny (1 % suchego preparatu Orafti® HPX w odniesieniu do masy surowców mięsno-tłuszczowych i wody) lub błonnika pszennego (3 % Vitacel WF400®), gdyż nie powodowała ona zmniejszenia wydajności po obróbce cieplnej ani obniżenia ogólnej jakości sensorycznej produktów.
2. Zastosowane modyfikacje recepturowe skutkowały polepszeniem wartości żywieniowej burgerów, o czym świadczą: zmniejszona zawartość tłuszczu, korzystniejsze żywieniowo proporcje kwasów tłuszczowych oraz wzbogacenie produktu we włókno pokarmowe.

Badania sfinansowane przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego w 2010 r. (grant N N312 210936).

Literatura

- [1] Andrés S.C., Zaritzky N.E., Califano A.N.: Innovations in the development of healthier chicken sausages formulated with different lipid sources. *Poultry Sci.*, 2009, **88**, 1755-1764.
- [2] Baryłko-Pikielna N., Matuszewska I.: Sensoryczne badania żywności. Podstawy – metody – zastosowania. Wyd. Naukowe PTTŻ, Kraków, 2009, ss. 102-108, 163-179.
- [3] Cáceres E., García M.L., Selgas M.D.: Effect of pre-emulsified fish oil – as source of PUFA n-3 – on microstructure and sensory properties of mortadella, a Spanish bologna-type sausage. *Meat Sci.*, 2008, **80**, 183-193.
- [4] Cegiełka A., Bonderski M.: Wpływ dodatku preparatów błonnika pszennego na jakość hamburgerów wołowych. *Zesz. Prob. Post. Nauk Roln.*, 2010, **552**, 29-37.
- [5] Cegiełka A., Młynarczyk K.: The effect of addition of the wheat fibre Vitacel WF 400 on the quality of chicken hamburgers. *Nauka. Przyroda. Technologie*, 2010, **5 (4)**, 9 stron [http://www.npt.up-poznan.net/pub/art_4_55.pdf].
- [6] Dasiewicz K., Słowiński M., Gałęziewski R.: Próba zastosowania błonnika pszennego Vitacel® do produkcji drobno rozdrobnionych wyrobów garmazeryjnych z mięsa drobiowego. *Mięso i Wędliny*, 2005, **2**, 30-34.
- [7] Decker E.A., Park Y.: Healthier meat products as functional foods. *Meat Sci.*, 2010, **86**, 49-55.
- [8] Ergönül B., Günç P., Ergönül P.G., Obuz E.: Funktionelle Eigenschaften prebiotischer Zutaten in Fleischprodukten. Chemische, physikalische und sensorische Eigenschaften mit Inulin und Oligofruktose hergestellten Hackfleischbällchen. *Fleischwirtschaft*, 2009, **2 (89)**, 140-143.
- [9] Flaczyk E., Górecka D., Kobus J., Szymander-Buszka K.: The influence of inulin addition as fat substitute on reducing energy value and consumer acceptance of model pork meatballs. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, **4 (65)**, 41-46.
- [10] Florowski T., Adamczak L., Fuertez Hernández I., Belen Moreno Franco M., Tyburcy A.: Ocena wpływu stopnia substytucji tłuszczu inuliną na jakość pasztetów drobiowych. *Rocz. Inst. Przem. Mięś. i Tłuszcz.*, 2008, **46 (2)**, 119-129.

- [11] Galán I., García M.L., Selgas M.D.: Effect of irradiation on hamburger enriched with folic acid. *Meat Sci.*, 2010, **84**, 437-443.
- [12] García M.L., Calvo M.M., Selgas M.D.: Beef hamburgers enriched in lycopene using dry tomato peel as ingredient. *Meat Sci.*, 2009, **83**, 45-49.
- [13] Javidipour I., Vural H., Özbaş O.O., Tekin A.: Effects of interesterified vegetable oils and sugar beet fibre on the quality of Turkish-type salami. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2004, **1 (40)**, 177-185.
- [14] Jiménez-Colmenero F.: Healthier lipid formulation approaches meat-based functional foods – technological options for replacement of meat fats by non-meat fats. *Trends Food Sci. Technol.*, 2007, **18**, 567-578.
- [15] Kayaardi S., Gök V.: Effect of replacing beef fat with olive oil on quality characteristics of Turkish soudjouk (sucuk). *Meat Sci.*, 2003, **66**, 249-257.
- [16] Kowalski R., Pyrcz J.: Innowacyjne dodatki technologiczne w przemyśle mięsnym. *Przem. Spoż.*, 2009, **3 (63)**, 28-32.
- [17] Krygier K., Maksimowicz K.: Jakość hamburgerów dostępnych na polskim rynku. *Przem. Spoż.*, 2008, **1(62)**, 27-29.
- [18] Lopéz-Lopéz I., Cofrades S., Jimenez-Colmenero F.: Low-fat frankfurters enriched with n-3 PUFA and edible seaweed: Effect of olive oil and chilled storage on physicochemical, sensory and microbial characteristics. *Meat Sci.*, 2009, **83**, 148-154.
- [19] Makala H.: Wpływ preparatów błonnika ziemniaczanego i pszennego oraz inuliny na wybrane wyróżniki fizykochemiczne i reologiczne modelowej konserwy mięsnej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2003, **3 (36)**, 21-31.
- [20] Mendoza E., García M.L., Casas C., Selgas M.D.: Inulin as fat substitute in low fat, dry fermented sausages. *Meat Sci.*, 2001, **57**, 387-393.
- [21] Muguerza E., Ansorena D., Astiasarán I.: Improvement of nutritional properties of Chorizo de Pamplona by replacement of pork backfat with soy oil. *Meat Sci.*, 2002, **65**, 1361-1367.
- [22] Nitsch P.: Auf die Mischung kommt es an. Omega-3-Fettsäuren als funktioneller Zusatz in Fleischerzeugnissen. *Fleischwirtschaft*, 2007, **2 (87)**, 46-51.
- [23] Pelsler W.M., Linssen J.P.H., Legger A., Houben J.H.: Lipid oxidation in n-3 fatty acid enriched Dutch style fermented sausages. *Meat Sci.*, 2007, **75**, 1-11.
- [24] PN-A-04018:1975. Oznaczanie azotu metodą Kjeldahla i przeliczenie na białko.
- [25] PN-EN ISO 5508:1996. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Analiza estrów metylowych kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej.
- [26] PN-ISO 1444:2000. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości tłuszczu wolnego.
- [27] Pyrcz J., Kowalski R., Danyluk B.: Jakość kutowanych kielbas parzonych produkowanych z udziałem tłuszczów roślinnych. *Med. Wet.*, 2007, **1 (63)**, 118-122.
- [28] Waszkowiak K., Górecka D., Janitz W.: Wpływ preparatu błonnika pszennego na jakość sensoryczną potraw mięsnych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2001, **3 (28)**, 53-61.
- [29] Viuda-Martos M., López-Marcos M., Fernández- López J., Sendra E., López-Vargas J.H., Pérez-Alvarez J.A.: Role of fiber in cardiovascular diseases. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2010, **9**, 240-258.
- [30] Vural H., Javidipour I., Ozbas O.O.: Effects of interesterified vegetable oils and sugarbeet fiber on the quality of frankfurters. *Meat Sci.*, 2004, **67**, 65-72.
- [31] Youssef M.K., Barbut S.: Fat reduction in comminuted meat products – effects of beef fat, regular and pre-emulsified canola oil. *Meat Sci.*, 2011, **87**, 356-360.

APPLYING PLANT OILS AND FIBRE PREPARATIONS TO PRODUCE CHICKEN MEAT BURGERS

S u m m a r y

The objective of the study was to assess the effect of partial substitution of pork jowl with a mixture of plant oils (replacement rate: 20 % or 40 %) in the composition of chicken burgers recipe, as well as of the addition of inulin (1%) or wheat fibre preparation (2 % or 3 %) on the quality of final product. It was found that the applied modifications in the recipe composition caused the thermal processing yield to significantly differ and the fat content in the burgers to decrease. All types of the burgers produced were highly positively assessed as regards their sensory properties, and significant differences were found only in the juiciness assessment scores. Despite significant differences in the shear force of products, measured using an instrumental method, the differences between sensory assessment results of the hardness of individual burger types were statistically insignificant. Based on the analysis results of fatty acid composition, it was confirmed that the addition of plant oils favoured the improvement of the nutritional value of fat contained in the product. The results obtained indicate that as regards the recipe of chicken burger, it is possible to replace 20 % of pork jowl with plant oils, and, at the same time, to add a selected dietary food preparation such as inulin or wheat fibre.

Key words: chicken meat burgers, plant oils, inulin, wheat fibre, quality ☒

PIOTR ZAPLETAL, KATARZYNA TOMCZYK, WŁADYSŁAW MIGDAŁ,
HENRYK PUSTKOWIAK, ANDRZEJ WĘGLARZ

WPLYW ETAPÓW PRODUKCJI MARYNAT ZIMNYCH ZE ŚLEDZIA ATLANTYCKIEGO (*CLUPEA HARENGUS*) NA PROFIL KWASÓW TŁUSZCZOWYCH TŁUSZCZU RYBNEGO

Streszczenie

Celem pracy było określenie składu kwasów tłuszczowych w tłuszczu śledzia atlantyckiego (*Clupea harengus*) po kolejnych etapach produkcji marynat zimnych oraz w okresie składowania. Badania przeprowadzono na mrożonych filetach ze śledzi atlantyckich ($n = 320$) złowionych w strefie połowów FAO 27 na Morzu Północnym, które do zakładu produkcyjnego przywieziono w postaci głęboko zamrożonych ($-18\text{ }^{\circ}\text{C}$) 15 - 20 kg bloków. Płaty wg Polskich Norm należały do sortymentu H, tj. na 1 kg surowca przypadało 10 - 16 sztuk plątów. Przeprowadzono dwa eksperymenty, a każdy z nich podzielono na 4 etapy. Dwa pierwsze etapy dotyczyły produkcji i wykonano je w zakładzie przetwórczym. Pozostałe dwa wprowadzono w celu określenia zmian zachodzących w tłuszczu badanych ryb w okresie ich składowania. W etapie 1., w którym następowało wstępne mieszanie filetów z zalewą marynującą, sprawdzono dwie metody stosowane w zakładzie produkcyjnym: I – tradycyjną, w której dyfuzja składników zalewy do surowca następowała w kąpeli marynującej w basenie; II – z użyciem obrotowego bębna, w którym zalewę doprowadzano do surowca rurociągami. Marynowanie nie spowodowało istotnych zmian w udziale poszczególnych grup kwasów tłuszczowych. Dominującą grupą były kwasy monoenowe, następnie kwasy nasycone i polienowe (MUFA>SFA>PUFA). Istotne ($p < 0,05$) zmiany dotyczyły tylko zmniejszenia poziomu PUFA oraz stosunku n-3/n-6 ($p < 0,01$) w II etapie w obu eksperymentach. Na tej podstawie można wnioskować, że zastosowanie bębna obrotowego, w celu lepszego wymieszania surowca z zalewą marynującą, nie przyczyniło się do zmniejszenia poziomu PUFA w filetach marynowanych. Filety marynowane w sposób tradycyjny charakteryzowały się większą zawartością kwasów EPA i DHA aniżeli filety marynowane w bębnie obrotowym. Poziom długołańcuchowych kwasów tłuszczowych n-3 PUFA w filetach marynowanych podczas 30 i 60 dni przechowywania był nadal wysoki i nie różnił się istotnie od ich poziomu w filetach surowych.

Słowa kluczowe: marynowanie, śledź atlantycki, kwasy tłuszczowe

Dr hab. inż. P. Zapletal, dr inż. K. Tomczyk, mgr inż. H. Pustkowiak, dr hab. inż. A. Węglarz, Katedra Hodowli Bydła, al. Mickiewicza 24/28, prof. dr hab. inż. W. Migdał, Katedra Przetwórstwa Produktów Zwierzęcych, Uniwersytet Rolniczy im. H. Kollątaja w Krakowie, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków

Wprowadzenie

Śledź atlantycki (*Clupea harengus*) to ryba pelagiczna, występująca na całym obszarze północnego Atlantyku, osiągająca długość 20 - 30 cm. Zaliczany jest do tłustych ryb morskich, pomimo że zawartość tłuszczu w jego mięsie podlega dużym wahaniom w zależności od sezonu i rejonu połowu oraz stanu fizjologicznego, dojrzałości, gatunku, a także dostępności pożywienia [31]. Według Kołakowskiej i wsp. [14] zawartość tłuszczu w mięsie śledzia może wynosić od 2 do 25 %. Zawartość lipidów wzrasta w kierunku od głowy do ogona, gdzie zlokalizowane są mięśnie odpowiedzialne za pływanie [15]. Ciemna tkanka mięśniowa śledzia atlantyckiego charakteryzuje się większą zawartością kwasów tłuszczowych PUFA, a zwłaszcza EPA i DHA, i korzystną proporcją kwasów n-3/n-6 w stosunku do tkanki jasnej [18]. Na poziom DHA i EPA ma wpływ dieta śledzia, której podstawę stanowi fitoplankton bogaty w te kwasy. Badania wykazały, że w organizmach ryb występują enzymy (elongazy), których aktywność prowadzić może do syntezy tych długołańcuchowych kwasów tłuszczowych [27]. Omawiane kwasy polienowe związane są głównie z fosfolipidami [9].

Do produkcji marynat najodpowiedniejsze są śledzie, których mięso zawiera od 5-15 % tłuszczu. Po złowieniu ryby muszą być poddane obróbce wstępnej i niezwłocznie zamrożone [11]. Jest to niezwykle ważne ze względu na nienasycony charakter tłuszczu śledzia i dużą zawartość wielonienasyconych kwasów tłuszczowych oraz prooksydantów [8, 33]. Ren i wsp. [25] wykazali, że obecne w mięśniach amura białego białka miofibrylarne miały wyraźnie hamujący wpływ na peroksydację lipidów i utlenianie lipoprotein o niskiej gęstości. Wymienione powyżej czynniki stanowią poważne ograniczenie w przechowywaniu i przetwarzaniu ryb i są przyczyną szybko zachodzących zmian hydrolytycznych oraz oksydacyjnych w mięśniach, które wiążą się z obniżeniem jakości surowca [33, 34]. Podczas przechowywania w stanie schłodzonym proteoliza miofibryli i białek tkanki łącznej poprzedzona glikolizą prowadzi do osłabienia tekstury mięsa [22]. W czasie dojrzewania w kąpieli marynującej w wyniku działania endogennych enzymów proteolitycznych i bakteryjnych następuje defragmentacja włókien mięśniowych [3, 32]. Niskie pH w zakresie od 4,0 do 4,8, wytworzone dzięki obecności kwasu octowego, aktywizuje katepsyny mięśniowe, które rozpuszczają mniej usieciowane frakcje kolagenu w tkance łącznej oraz denaturują białka mięśniowe [30]. W tej grupie decydujący wpływ wydaje się mieć kilka proteinaz, a wśród nich lizosomalne hydrolazy – katepsyny B, L i D [21]. Marynowanie, jako sposób konserwowania żywności, nie zabezpiecza w pełni produktu przed dalszymi zachodzącymi zmianami. Zawartość produktów utlenienia w początkowych dniach marynowania jest przeważnie mniejsza niż w surowcu, jednak okresowo podczas przechowywania marynat może wzrosnąć [16]. Składniki zalewy marynującej wpływają głównie na zahamowanie rozwoju mikroorganizmów [5, 12]. Podczas marynowania zmiany oksydacyjne są niewielkie, pomimo, że NaCl ma właściwości prooksydacyjne

[10]. Najważniejsze zmiany zachodzące w lipidach podczas marynowania ryb polegają na hydrolizie lipidów, co w konsekwencji może prowadzić do niewielkiego zmniejszenia ich zawartości w produkcie, wskutek wypłukiwania wolnych kwasów tłuszczowych [16]. Wzrost zakwaszenia środowiska w zakresie pH od 4,0 do 4,8 powoduje aktywację katepsyn mięśniowych, które z kolei oddziałują na białka, powodując ich denaturację [7]. Z drugiej strony obecność kwasu octowego wywołuje efekt konserwujący [19, 20, 35].

Stosunkowo niewiele badań koncentruje się na zmianach zawartości czy też profilu kwasów tłuszczowych podczas marynowania. Wiadomo jednak, że marynowanie nie wywołuje tak drastycznych zmian [24], jak np. smażenie czy gotowanie, podczas których na kwasy oddziałuje wysoka temperatura [14].

Celem pracy było określenie wpływu kolejnych procesów produkcji marynat na profil kwasów tłuszczowych w mięsie śledzia atlantyckiego (*Clupea harengus*) w zależności od metody marynowania.

Materiał i metody badań

Materiał badawczy stanowiło 320 mrożonych płatów śledzia atlantyckiego (*Clupea harengus*) złowionego w lutym 2005 roku w Morzu Północnym, w rejonie połowowym FAO 27. Do zakładu produkcyjnego przywieziono je w postaci głęboko zamrożonych (-18 °C) 15 - 20 kg bloków. Płaty wg Polskich Norm należały do sortymentu H, tj. na 1 kg surowca przypadało 10 - 16 sztuk płatów. Przed przystąpieniem do badań bloki przechowywano w zakładzie w stanie głębokiego zamrożenia (-18 °C) przez około 5 miesięcy. Do badań wykorzystano dwa bloki pochodzące z tej samej partii surowca.

Ryby rozmrażano w urządzeniu tunelowym, do którego wdmuchiowano powietrze o stałej temperaturze (15 °C) i wilgotności. Czas rozmrażania wynosił 12 h. Bloki rozmrażano w odstępie jednego miesiąca, ze względu na możliwości techniczne wykonania analiz. Po rozmrożeniu płaty dzielono na dwa filety: prawy i lewy. Filety lewe traktowano jako grupę kontrolną, a ich analizę wykonywano tego samego dnia po rozmrożeniu. Filety prawe, doświadczalne ważono i odpowiednio znakowano, a następnie poddawano marynowaniu. Wodny roztwór marynujący miał następujący skład: 4,5 % CH₃COOH, 8,2 % NaCl i 87,3 % H₂O. Filety zalewano marynatą w stosunku 1 : 2 (m/m). Stosowany sposób podziału materiału badawczego opracowano na podstawie badań własnych. Stwierdzono w nich, że filety prawy i lewy śledzia są homologiczne i nie ma pomiędzy nimi istotnej różnicy pod względem zawartości tłuszczu i kwasów EPA i DHA [17].

Przed wykonaniem analiz każdy filet odskórzano, a następnie rozdrabniano za pomocą miksera do uzyskania materiału o jednolitej konsystencji. Przeprowadzono dwa doświadczenia, a każde z nich składało się z 4 etapów. Dwa pierwsze były wybra-

nymi etapami procesu produkcyjnego i wykonane zostały w zakładzie przetwórczym, zgodnie z technologią tam stosowaną. Pozostałe dwa wprowadzono w celu określenia zmian zachodzących w tłuszczach badanych ryb w okresie ich składowania.

Etap 1 (technologiczny) – mieszanie rozmrożonych filetów w kąpielii marynującej w ciągu 15 min:

- doświadczenie I – metoda tradycyjna, w której dyfuzja składników zalewy do surowca następowała w kąpielii marynującej w basenie,
- doświadczenie II – metoda z zastosowaniem bębna, do którego zalewę doprowadzano rurociągiem, podczas gdy bęben z surowcem obracał się z prędkością 3 - 5 obr./min. Etap ten jest najważniejszą fazą technologiczną procesu produkcji, gdyż dokładne wymieszanie surowca z zalewą marynującą zapewnia ograniczenie strat w czasie dojrzewania.

Etap 2 (technologiczny) – dojrzewanie filetów z obu doświadczeń w kąpielii marynującej. Zgodnie z praktyką stosowaną w zakładzie dojrzewanie przebiegało w następujących warunkach: filety w zalewie marynującej znajdowały się w basenach pod przykryciem (w celu ograniczenia wpływu promieniowania słonecznego na kwasy tłuszczowe); czas dojrzewania wynosił 5 dni i w tym czasie filety mieszane były co dwa dni; temperatura w pomieszczeniu wynosiła do 7 °C.

Po marynowaniu filety, z obu doświadczeń, zostały wyjęte z zalewy, a następnie na linii produkcyjnej zapakowane w słoiki. Dodano do nich zalewę smakową o składzie: 0,42 % kwas octowy i 0,58 % sól, stosowaną do produktów typu „Bismarck”. Gotowe wyroby przewieziono z zakładu do jednego z marketów, gdzie były przechowywane w warunkach chłodniczych na półce sklepowej.

Etap 3 (przechowalniczy) – pobranie prób do badań z półki sklepowej po 30 dniach składowania od daty zapakowania, tj. w połowie terminu przydatności do spożycia.

Etap 4 (przechowalniczy) – pobranie prób do badań z półki sklepowej po 60 dniach składowania, tj. pod koniec terminu przydatności do spożycia.

Zawartość tłuszczu ogólnego oznaczano metodą Soxhleta [24], w dwóch powtórzeniach. Lipidy z filetów śledziowych ekstrahowano metodą Folsha i wsp. [4], a estryfikację wykonywano wg AOAC Official Method 991.39 [23]. Skład kwasów tłuszczowych w postaci estrów metylowych oznaczano za pomocą chromatografu gazowego PYE UNICAM, z detektorem płomieniowo-jonizującym (FIT) i kolumną SUPELCOWA 10 (30,0 m × 0,53 mm × 1 μm). Gazem nośnym był hel (2,5 ml/min). Każdą próbkę analizowano w dwóch powtórzeniach. Oznaczenia profilu kwasów tłuszczowych wykonano na 20 filetach surowych (lewych kontrolnych) i 20 marynowanych (prawych doświadczalnych) na każdym etapie doświadczenia I i II. Pomiar kwasowości wykonywano pH-metrem w 30 g homogenatu (15 g mięsa + 15 ml H₂O) w dwóch powtórzeniach.

Analizę statystyczną wyników przeprowadzono przy użyciu pakietu SAS [28]. Obliczono wartości średnie (\bar{x}) badanych cech mięsa i odchylenia standardowe (s). Obliczenia istotności różnic pomiędzy średnimi wartościami badanych parametrów mięsa filetów surowych i marynowanych wykonano testem T dla par skorelowanych wg podziału na doświadczenie i etap. Z kolei wpływ wybranych efektów na wartości badanych parametrów oszacowano w procedurze ANOVA wg następującego modelu liniowego:

$$Y_{ijk} = \bar{x} + D_i + E_j + e_{ijk}$$

gdzie: Y_{ijk} – wartość badanego parametru; \bar{x} – średnia populacji; D_i – stały efekt i-tego doświadczenia; E_j – stały efekt j-tego etapu; e_{ijk} – błąd losowy.

W celu stwierdzenia istotności wpływu czynnika na zmienność badanych parametrów (test F) dokonano pomiędzy średnimi porównań wielokrotnych za pomocą testu Tukey'a.

Wyniki i dyskusja

Zawartość tłuszczu ogólnego w filetach surowych (kontrolnych) doświadczenia I wynosiła średnio 4,91 % a doświadczenia II 4,69 %. Po każdym z etapów marynowania zawartość tłuszczu, w stosunku do zawartości oznaczonej w filetach surowych, zwiększała się. Najmniejszy przyrost stwierdzono po 5 dniach dojrzewania (etap 2). Po etapie 4. przyrost był największy. Zmiany te były statystycznie istotne ($P < 0,05$). Różnice pomiędzy wynikami zawartości tłuszczu po poszczególnych etapach doświadczenia I i II były nieistotne. Zbliżone wyniki uzyskali m.in. Kołakowska i wsp. [14], Kilinc i Cakli [12] oraz Sallama i wsp. [26]. Stwierdzony przyrost zawartości tłuszczu jest wynikiem zwiększenia zawartości suchej masy, przy jednoczesnym ubytku wody w mięsie, co z kolei jest następstwem działania składników kąpieli marynującej. Badania prowadzone na mięsie ryb dowodzą, że pomiędzy suchą masą a tłuszczem istnieje wysoka i dodatnia korelacja [6], a tym samym wysoka, ujemna korelacja pomiędzy zawartością wody i tłuszczu [2].

Proces marynowania śledzi nie wpłynął na zmianę grup kwasów tłuszczowych w mięsie. Dominującą grupą były kwasy jednonienasycone, następnie kwasy nasycone i wielonienasycone [6]. W grupie kwasów nasyconych oznaczono 6 kwasów tłuszczowych. Dominującym był kwas C16:0, którego zawartość w filetach surowych wynosiła średnio 14,28 %. W badanych próbkach oznaczono także kilkuprocentowe ilości kwasu C14:0 oraz C18:0. Zawartość pozostałych kwasów nasyconych, tj. C15:0, C17:0 i C20:0 nie przekroczyła 1 % wszystkich oznaczonych kwasów. Zmiany, jakie wystąpiły w profilu SFA w kolejnych etapach doświadczenia I i II były statystycznie nieistotne.

Filety marynowane I i II doświadczenia nie różniły się istotnie pomiędzy sobą pod względem zawartości SFA (tab. 1).

Tabela 1

Zawartość SFA w surowych i marynowanych filetach ze śledzia atlantyckiego, determinowana kolejnymi etapami doświadczenia I i II [%].

Content of SFA in raw and marinated fillets of Atlantic herring determined by subsequent experiment stages I and II [%].

Doświadczenie Experiment		Filety surowe Raw fillets n=160		Filety marynowane Marinated fillets n=160		Istotność Significance
		\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD	Różnica Difference
I	15 min 15 min	22,83	1,47	23,18	1,06	0,35
	5 dni 5 days	23,41	1,45	23,00	1,00	-0,41
	30 dni 30 days	23,19	1,07	23,39	1,19	0,20
	60 dni 60 days	24,06	1,27	23,80	1,19	-0,26
II	15 min 15 min	22,51	1,01	22,16	1,83	-0,35
	5 dni 5 days	23,05	1,07	23,32	1,62	0,27
	30 dni 30 days	22,69	1,36	23,20	1,20	0,51
	60 dni 60 days	22,21	2,34	22,46	1,54	0,25

Objaśnienia: / Explanatory notes:

\bar{x} – wartość średnia / mean value; s – odchylenie standardowe / SD – standard deviation;

Zarówno w grupie MUFA, jak i wśród wszystkich oznaczonych kwasów tłuszczowych dominującym był C22:1. Jego zawartość w filetach surowych wynosiła średnio 23,90 %. Drugim pod względem zawartości był kwas C20:1 (14,25 %), następnie C18:1 (12,60 %), C16:1 [n-7] (4 %), C17:1 (0,35 %), C14:1 (0,25 %). Różnice jakie wystąpiły w profilu MUFA w czasie marynowania, jak i przechowywania, były statystycznie nieistotne, podobnie jak różnice jakie wystąpiły po kolejnych etapach obydwu doświadczeń (tab. 2).

Tabela 2

Zawartość MUFA w surowych i marynowanych filetach ze śledzia atlantyckiego, determinowana kolejnymi etapami doświadczenia I i II [%].

Content of MUFA in raw and marinated fillets of Atlantic herring as determined by subsequent experiment stages I and II [%].

Doświadczenie Experiment		Filety surowe Raw fillets n=160		Filety marynowane Marinated fillets n=160		Istotność Significance
		\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD	Różnica Difference
I	15 min 15 min	54,72	3,67	54,94	3,58	0,22
	5 dni 5 days	53,81	3,32	55,04	3,42	1,23
	30 dni 30 days	56,66	2,96	56,45	2,52	-0,21
	60 dni 60 days	57,98	3,53	57,17	1,88	-0,81
II	15 min 15 min	54,91	4,15	56,14	3,05	1,23
	5 dni 5 days	56,69	1,99	58,50	1,91	1,81
	30 dni 30 days	56,23	3,94	55,68	3,57	-0,55
	60 dni 60 days	53,53	6,29	53,79	6,25	0,26

Objaśnienia: / Explanatory notes:

\bar{x} – wartość średnia / mean value; s – odchylenie standardowe / SD – standard deviation;

PUFA należały do rodziny n-6 i n-3. PUFA n-3 zarówno w filetach surowych, jak i marynowanych stanowiły ponad 90 % wszystkich kwasów polienowych. Największe istotne ($p < 0,05$) zmniejszenie zawartości PUFA stwierdzono po 5 dniach dojrzewania mięsa w kąpielii marynującej (tab. 3). Jedynym przedstawicielem kwasów z rodziny n-6 był C18:2. W grupie kwasów z rodziny n-3 oznaczono 5 kwasów tłuszczowych: C18:3 (α LNA), C18:4, C20:5, EPA [C20:5 (n-3)], C22:5 (DPA) i DHA [C22:6 (n-3)]. W filetach surowych i marynowanych dominował DHA, który wraz z EPA stanowił od ponad 70 % do ponad 80 % wszystkich oznaczonych kwasów polienowych (DHA \approx 9,96 %; EPA \approx 4,17 %). W doświadczeniu I i II po etapie 2. nastąpiło istotne ($p < 0,01$) zmniejszenie udziału sumy kwasów DHA i EPA. Zmniejszenie zawartości

tych kwasów miało miejsce również po 4. etapie doświadczenia II i różnice te były istotne na poziomie $p < 0,01$. Po dwóch pierwszych etapach obydwu doświadczeń zmniejszeniu uległa zawartość kwasu DHA. Największe obniżenie jego poziomu wystąpiło po etapie 2. W I doświadczeniu był istotny, na poziomie $p < 0,01$, a w II na poziomie $p < 0,05$.

Tabela 3

Zawartość PUFA w surowych i marynowanych filetach ze śledzia atlantyckiego, determinowana kolejnymi etapami doświadczenia I i II [%].

Content of PUFA in raw and marinated fillets of Atlantic herring as determined by subsequent experiment stages I and II [%].

Doświadczenie Experiment		Filety surowe Raw fillets n=160		Filety marynowane Marinated fillets n=160		Istotność Significance
		\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD	Różnica Difference
I	15 min. 15 minutes	20,32	2,16	19,65	2,26	-0,67
	5 dni 5 days	20,42	2,30	18,67	2,62	-1,75*
	30 dni 30 days	17,55	1,97	18,19	2,55	0,64
	60 dni 60 days	15,70	2,09	16,34	1,60	0,64
II	15 min. 15 minutes	19,19	3,86	18,44	2,22	-0,75
	5 dni 5 days	17,27	1,36	15,59	1,58	-1,68*
	30 dni 30 days	17,72	2,75	17,79	2,39	0,07
	60 dni 60 days	20,68	3,86	20,11	4,19	-0,57

Objaśnienia: / Explanatory notes:

\bar{x} – wartość średnia / mean value; s – odchylenie standardowe / SD – standard deviation;

* – różnice statystycznie istotne na poziomie $p < 0,05$ / statistically significant differences ($p < 0.05$);

Zawartość EPA zmniejszyła się w doświadczeniu II po wszystkich etapach. Największe zmniejszenie ($p < 0,01$) odnotowano po etapie 2. Po tym etapie wystąpiło

nieznaczne zmniejszenie zawartości EPA również w I doświadczeniu, jednak zmiana ta była nieistotna.

W trakcie marynowania w doświadczeniu I jedynie po etapie 2. tj. po 5 dniach dojrzewania filetów stwierdzono zmniejszenie stosunku kwasów n-3/n-6 i zmiana ta była istotna na poziomie $p < 0,01$ (tab. 4). W pozostałych etapach doświadczenia I stosunek tych kwasów zwiększył się, a po etapie 4. zmiana ta była istotna na poziomie $p < 0,01$. W doświadczeniu II po wszystkich etapach nastąpiło zmniejszenie n-3/n-6. Po etapie 2. zmniejszenie było, podobnie jak w doświadczeniu I, największe i istotne na poziomie $p < 0,01$.

Tabela 4

Stosunek kwasów n-3/n-6 w surowych i marynowanych filetach ze śledzia atlantyckiego, determinowany kolejnymi etapami doświadczenia I i II [%].

Ratio of n-3/n-6 fatty acids in raw and marinated fillets of Atlantic herring as determined by subsequent experiment stages I and II [%].

Doświadczenie Experiment		Filety surowe Raw fillets n=160		Filety marynowane Marinated fillets n=160		Istotność Significance
		\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD	Różnica Difference
I	15 min 15 min	14,50	3,65	15,46	3,07	0,96
	5 dni 5 days	15,98	5,20	14,23	3,68	-1,75**
	30 dni 30 days	11,53	1,62	12,03	2,43	0,5
	60 dni 60 days	10,53	1,30	12,04	1,79	1,51**
II	15 min 15 min	14,45	4,11	13,46	2,45	-0,99
	5 dni 5 days	12,89	1,43	10,96	1,56	-1,93**
	30 dni 30 days	13,67	3,05	13,51	2,33	-0,16
	60 dni 60 days	16,99	3,89	16,47	4,19	-0,52

Objaśnienia: / Explanatory notes:

\bar{x} – wartość średnia / mean value; s – odchylenie standardowe / SD – standard deviation;

** – różnice statystycznie istotne na poziomie $p < 0,01$ / statistically significant differences ($p < 0.01$).

W przypadku kwasów monoenowych i polienowych we wszystkich etapach zwiększeniu zawartości jednej grupy kwasów towarzyszyło zmniejszenie drugiej. Potwierdzeniem tego jest wysoka i ujemna korelacja pomiędzy tymi grupami kwasów, jaką wykazano zarówno w filetach surowych ($r = -0,89$; $p < 0,01$) jak i marynowanych. Podobne zależności opisuje Kołakowska i wsp. [14]. Zawartość kwasów MUFA po dwóch pierwszych etapach obydwu doświadczeń zwiększyła się, podczas gdy zawartość PUFA zmniejszyła się. Po etapie 2. zmiany PUFA były statystycznie istotne ($p < 0,05$). Decydujący dla zmniejszenia zawartości PUFA był okres trwający od początku procesu marynowania aż do 5. dnia. Można sądzić, że w tym czasie doszło do wyczerpania lub inaktywacji naturalnych antyoksydantów i zaprzestania ich ochronnej roli. Większe obniżenie poziomu EPA i DPA, które zaobserwowano po zastosowaniu bębna, mogło być wynikiem autooksydacji po natlenieniu roztworu marynującego w czasie jego mieszania. W ciągu pierwszych 30 dni od daty zapakowania filetów do słoików (etap 3) zaobserwowano nieistotne zwiększenie poziomu PUFA w obydwu doświadczeniach. Ta sama sytuacja miała także miejsce po 4. etapie doświadczenia I. Nie można wykluczyć hipotezy, że w trakcie nieustannego oddziaływania składników zalewy marynującej na mięso i jego składniki dochodziło do uwalniania PUFA związanych z fosfolipidami oraz cholesterolem w błonach komórkowych i wzrostu wydajności ich ekstrakcji w trakcie analiz [1].

Bardzo istotnym wyznacznikiem wartości żywieniowej ryb jest stosunek kwasów n-3 do n-6. Uważa się, że odpowiednio wyższy ich udział w żywności wpływa korzystnie na funkcjonowanie organizmu. Wyniki przedstawionych badań wskazują, że jedynie po 5 dniach dojrzewania filetów w kąpeli marynującej (etap 2) w obydwu doświadczeniach wystąpiło istotne zmniejszenie stosunku n-3/n-6. Można zatem wnioskować, że działające na mięso składniki zalewy marynującej nie są na tyle silne, aby spowodować takie zmiany, jakie powoduje np. smażenie czy gotowanie, podczas których na składniki mięsa działa wysoka temperatura [13, 14]. Dodatkowo konserwujące działanie kwasu octowego oraz soli w pewnym stopniu hamuje rozwój bakterii psychrotrofowych, dla których kwasy tłuszczowe mogłyby być substratem, powodując ich niekorzystne przemiany [26]. Rezultat ten jest korzystny z żywieniowego punktu widzenia, gdyż gotowy produkt pozostaje w mało zmienionym stanie w stosunku do surowca, co jest bardzo ważną cechą żywności funkcjonalnej.

W przedstawionych badaniach analizie poddano filety rybne tuż po rozmrożeniu, których pH wynosiło, od 6,14 - 6,45 co pozwala sądzić, że tuż po złowieniu były one odpowiednio przechowywane, a proces rozmrażania stosowany w zakładzie nie spowodował niekorzystnych zmian prowadzących do zbytowego obniżenia się kwasowości surowca. Wszystkie zmiany pH były statystycznie istotne na poziomie $p < 0,01$. Po etapie 1. nastąpiło obniżenie pH do 4,88 (doświadczenie I) i 4,22 (doświadczenie II). Wartość pH filetów marynowanych w końcowym etapie doświadczenia I nieznacznie

zwiększyła się. Zmiany te mogły nastąpić w wyniku działania heterofermentatywnych bakterii kwasu mlekowego lub bakterii gnilnych, które są w stanie przetrwać w środowisku kwaśnym [29].

Wnioski

1. W trakcie marynowania filetów ze śledzia atlantyckiego oraz ich przechowywania nie nastąpiły istotne zmiany w udziale poszczególnych grup kwasów tłuszczowych. Dominującą grupą były MUFA, następnie SFA i PUFA.
2. Istotne zmiany, związane ze zmniejszeniem poziomu PUFA wystąpiły po etapie 2. w obydwu doświadczeniach.
3. Zastosowanie w etapie 1. bębna, w celu lepszego wymieszania surowca z roztworem marynującym powodowało przyspieszenie zmniejszenia poziomu n-3 PUFA, w tym głównie kwasów DHA i EPA w filetach marynowanych. Filety marynowane w sposób tradycyjny w basenie charakteryzowały się wyższym poziomem kwasów EPA i DHA.
4. Zawartość długołańcuchowych kwasów tłuszczowych n-3 PUFA w filetach marynowanych w okresie 30 i 60 dni przechowywania była duża i nie różniła się istotnie od ich zawartości w filetach surowych.

Literatura

- [1] Aidos I.: Production of High-Quality Fish Oil from Herring Byproducts. Ph.D. Thesis, Wageningen University, The Netherlands, 2002.
- [2] Aidos I., Laureço S., van der Padt A., Luten J.B., Boom R.M.: Stability of crude herring oil produced from fresh byproduct: Influence of temperature during storage. *J. Food Sci.*, 2002, **67**, (9), 3314-3320.
- [3] Bremner H.A. Gaping in fish flesh. In: *Extracellular Matrix of Fish and Shellfish*. Ed. by K. Sato, M. Sakaguchi & H.A. Bremner). Trivandrum, India: Research Signpost., 1999, **273**, 32000-32008, pp. 81-94.
- [4] Folsch J, Lees M., Sloane G.H., Stanley G.H.: A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol.*, 1957, **226**, 497-509.
- [5] Halamičková A., Malota L.: Muscle thiobarbituric acid reactive substance of the Atlantic Herring (*Clupea harengus*) in marinades collected in the market network. *Acta Vet. Brno.*, 2010, **79**, 329-333.
- [6] Hamre K, Sandnes L.K.: Seasonal development of nutrient composition, lipid oxidation and colour of fillets from Norwegian spring-spawning herring (*Clupea harengus L.*). *Food Chem.*, 2003, **82**, 441-446.
- [7] Horst K., Roepstroff A., Huss H.H., Bloemsma B.: Survival of Anisakis larvae in marinated herring fillets. *Int. J. Food Sci. Tech.*, 1995, **29**, 661-670.
- [8] Hultin H.O.: Oxidation of lipids in the seafoods, In *Seafood Chemistry, Processing Technology and Quality*. Ed Shahidi F & Botto JR., Blackie A&P, London, UK, 1994, pp. 47-74.
- [9] Hultin H.O., Kelleher S.D.: Surimi processing from dark muscle fish. In JW Park. Ed. *Surimi and Surimi Seafood*, Marcel Dekker, New York 2000, pp. 59-77.

- [10] Kanner J, Harel S., Köse S.: Lipid peroxidation of muscle food as affected by NaCl. *J. Agr. Food Chem.*, 2002, **39**, 1017-1021.
- [11] Kelleher S.D., Silva L.A, Hultin H.H., Wilhelm K.A.: Inhibition of lipids oxidation during processing on washed, minced atlantic mackerel. *J. Food Sci.*, 1992, **57**, 1103-1119.
- [12] Kilinc B., Cakli S.: Chemical, microbiological and sensory changes in thawed frozen fillets of sardine (*Sardina pilchardus*) during marination. *Food Chem.*, 2004, **88**, 275-280.
- [13] Kołakowska A., Domiszewski Z., Bienkiewicz G., Szczygielski M.: Effect of thermal treatment of Baltic herring and spart on n-3 PUFA's and lipid oxidation. Presented at Lipidforum, 21st Nordic Lipid Symposium, Bergen 2001, June 5-8.
- [14] Kołakowska A., Olley J., Dunstan G.A.: Fish lipids. In: *Chemical and Functional Properties of Food Lipids*. Z.E. Sikorski and A. Kołakowska (eds.). CRC Press, Boca Raton, 2002, pp. 221-264.
- [15] Kołakowska A., Szczygielski M, Bienkiewicz G, Zienkiewicz L.: Some of fish species as a source of n-3 polyunsaturated fatty acids. *Acta Ichthyol. Pisc.*, 2000, **30**, 59-70.
- [16] Kołakowski E., Kołakowska A.: Postępy w technologii solenia i marynowania ryb. Poradnik dla przetwórców ryb. Opracowanie w ramach projektu „Transfer wiedzy z zakresu innowacyjnych technik hodowli i technologii przetwórstwa ryb z uczelni wyższej do sektora rybołówstwa”, SPO „Rybołówstwo i Przetwórstwo Ryb 2004-2006”. Wyd. AR Szczecin 2007.
- [17] Kuza K., Zapletal P., Pustkowiak H., Węglarz A., Skrzyński G.: The fatty acids composition in frozen flaps of atlantic herring (*Clupea harengus*). *Anim. Sci.*, 2006, **1**, Supl., 188-189.
- [18] Kuza K., Zapletal P., Węglarz A., Skrzyński G., Pustkowiak H.: Bioactive role of fish dark muscles. *Scientific Messenger of Lviv State Academy of Veterinary Medicine*, 2005, **7**, 4, (2), 149-153.
- [19] Lund B.M., Eklund T.: Control of pH and use of organic acids. In: Lund B.M., Baird-Parker T.C., Gould G.W. (Eds.), *The microbiological safety and quality of food*. Vol. 1, Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, Maryland 2000, p.175.
- [20] Lyhs U., Koort J.M.K., Lundström H.S., Björkroth K.J.: *Leuconostoc gelidum* and *Leuconostoc gasicomitatum* strains dominated the lactic acid bacterium population associated with strong slime formstion in an acetic-acid herring preserve. *Int. J. Food Microbiol.*, 2004, **90**, 207-218.
- [21] Nielsen L.B., Nielsen H.H.: Purification and characterization of cathepsin D from herring muscle (*Clupea harengus*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 2001, **128 B**, 351-363.
- [22] Nielsen M.K., Nielsen H.H.: Seafood enzymes. Chapter 17 in *Food Biochemistry and Food Processing*. Ed. by Y.H. Hui, Blackwell Publishing, 2006, p. 82.
- [23] Official Methods of Analysis of AOAC International, 16th Edition, 1995; Supplement, March 1996, AOAC International, Gaithersburg, MD, Chapter 41, p.21. Fatty Acids in Encapsulated Fish Oils and Fish Oil Methyl and Ethyl Esters.
- [24] PN-ISO 1444: 2000. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczenie zawartości tłuszczu wolnego.
- [25] Ren J., Wang H., Zhao M., Cui Ch., Hu X.: Enzymatic hydrolysis of grass carp myofibrillar protein and antioxidant properties of hydrolysates. *Czech J. Food Sci.*, 2010, **28 (6)**, 475-484.
- [26] Sallam Kh.I., Ahmed A.M., Elgazzar M.M., Eldaly E.A.: Chemical quality and sensory attributes of marinated Pacific saury (*Cololabis saira*) during vacuum-packaged storage at 4°C. *Food Chem.*, 2007, **102**, 1061-1070.
- [27] Sargent J.R.: (n-3) polyunsaturated fatty acids and farmed fish. In: Hamilton RJ, Rice RD, editors. *Fish oil technology, nutrition and marketing*. Bucks, UK: P.J. Barnes and Associates, 1995, p. 67-94.
- [28] SAS/STAT. User's Guide, Version 8, Fourth Edition, 1990, **2**, 1135-1195.
- [29] Shenderyuk V.I., Bykowski P.J.: Salting and marination of fish. In Z.E. Sikorski (Ed.), *Seafood: resources, nutritional composition and preservation*, CRC Press, Inc, Boca Raton, Florida, 1989, pp. 147-62.
- [30] Sikorski E. Z.: Ryby i bezkręgowce morskie, pozyskiwanie, właściwości i przetwarzanie. WNT, Warszawa 2004.

- [31] Slotte A.: Differential utilization of energy during wintering and spawning migration in Norwegian spring-spawning herring. *J. Fish Biol.*, 1999, **54**, 338-355.
- [32] Taylor R.G., Fjaera S.O., Skjervold P.O.: Salmon fillet texture is determined by myofiber-myofiber and myofibermyocommata attachment. *J. Food Sci.*, 2002, **67**, 2067-2071.
- [33] Underland I., Ekstrand B., Lingnert H.: Lipid oxidation in herring (*Clupea harengus*) light muscle, dark muscle and skin, stored separately or as intact fillets. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1998, **75**, 581-590.
- [34] Underland I., Stading M., Lingnert H.: Influence of skinning on lipid oxidation in different horizontal layers of herring (*Clupea harengus*) during storage. *J. Sci. Food Agr.*, 1998, **78**, 441-450.
- [35] Zaman M.Z., Bakar F.A., Selamat J., Bakar J.: Occurrence of biogenic amines and amines degrading bacteria in fish sauce. *Czech J. Food Sci.*, 2010, **28**, 440-449.

IMPACT OF PRODUCTION STAGES OF ATLANTIC HERRING (*CLUPEA HARENGUS*) COLD MARINADES ON PROFILE OF FATTY ACIDS IN FISH FAT

S u m m a r y

The objective of the study was to determine the composition of fatty acids in the fat of Atlantic herrings (*Clupea harengus*) after each subsequent stage of producing cold marinades thereof, and, also, during the period of storage. The study was performed using frozen fillets made of Atlantic herring fish (n = 320) netted in the FAO 27 fishing zone in the North Sea. Deep-frozen (-18 °C), 15 - 20 kg blocks of the fish netted were delivered to a manufacturing plant. According to the Polish Standards, the fish fillets represented an H assortment, i.e. 10 - 16 fillets equalled 1 kg of raw material. Two experiments were carried out; each one was divided into 4 stages. The first two stages were the production stages; they were performed at the processing plant. The other two were incorporated to determine the changes in the fat of fish analyzed during their storage. In stage 1, when the fish fillets were initially mixed with the marinating brine, two methods applied by the manufacturing plant were studied. Method I was a traditional method: components of the marinating brine diffused into the raw material during the marinating bath in a pool. In Method II, a special rotating drum was used: the raw material was in the drum and the marinating brine was supplied thereto by a pipeline. The process of marinating did not cause any significant changes in the percentage content of individual fatty acid groups. The monoenic acids prevailed, next, the saturated acids came followed by the polyenic acids (MUFA>SFA>PUFA). Significant ($p < 0.05$) changes were related only with the decreases in the level of PUFA and in the n-3/n-6 ratio ($p < 0.01$) in stage II in the two experiments. On this basis, it can be concluded that the use of rotating drum in order to better mix the raw material with the marinating brine did not contribute to the decreased in the PUFA level found in the marinated fillets. The traditionally marinated fillets were characterized by higher contents of EPA and DHA acids compared to the fillets marinated in the rotating drum. During the 30 and 60 day storage periods, the level of long-fatty n-3 PUFA acids in the marinating fillets was still high and did not differ significantly from the levels thereof in raw fillets.

Key words: marinating, Atlantic herring, fatty acids ☒

KAMILA GODERSKA, TOMASZ RYCHLIK, EWA ANDRZEJEWSKA,
ANDRZEJ SZKARADKIEWICZ, ZBIGNIEW CZARNECKI

ANTAGONISTYCZNY WPŁYW *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS* DSM 20079 I DSM 20242 NA BAKTERIE PATOGENNE IZOLOWANE OD LUDZI

Streszczenie

W pracy przedstawiono wyniki dotyczące antagonistycznego działania *Lactobacillus acidophilus* DSM 20079 i DSM 20242 w stosunku do szczepów bakterii *Helicobacter pylori*, *Escherichia coli* i *Salmonella enteritidis* izolowanych od pacjentów. Największe strefy zahamowania wzrostu obserwowano we wszystkich testowanych szczepach *H. pylori* – wynosiły one ponad 20 mm. Testowane szczepy *L. acidophilus* hamowały również rozwój wszystkich szczepów *S. enteritidis*, a wielkość stref wynosiła powyżej 12 mm. Spośród szczepów *E. coli* były takie, których wzrost nie był hamowany przez testowane szczepy *L. acidophilus*. Wielkość stref zahamowania wzrostu pozostałych testowanych szczepów *E. coli* wynosiła od 11 do 16 mm.

Słowa kluczowe: *Lactobacillus acidophilus*, aktywność antagonistyczna, *Helicobacter pylori*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*

Wprowadzenie

Zgodnie z definicją FAO/WHO z 2001 r. probiotyki definiuje się jako żywe mikroorganizmy, które podawane człowiekowi w odpowiedniej liczbie wykazują korzyści zdrowotne. Bakterie probiotyczne są zdolne do antagonizmu w stosunku do bakterii gram dodatnich i gram ujemnych, w tym bakterii patogennych. Mechanizm tego procesu polega na współzawodnictwie o miejsce adherencji do nabłonka przewodu pokarmowego, konkurencji o substancje odżywcze, stymulacji odporności organizmu oraz produkcji substancji antibakteryjnych. Produkują ponadto substancje wywołujące tzw. niespecyficzną inhibicję rozwoju patogenów, takie jak: kwas mlekowy, octowy, nad-

Dr inż. K. Goderska, mgr inż. T. Rychlik, prof. dr hab. Z. Czarnecki, Instytut Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego, Wydz. Nauk o Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 Poznań, dr E. Andrzejewska, prof. dr hab. A. Szkaradkiewicz, Katedra Mikrobiologii Lekarskiej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, ul. Wieniawskiego 3, 61-712 Poznań

tlenek wodoru i bakteriocyny. Istnieją dowody na to, że bakterie probiotyczne wykazują aktywność w zwalczaniu *Helicobacter pylori*, odpowiedzialnej za choroby wrzodowe żołądka i dwunastnicy. W badaniach *in vivo* na myszach oraz w badaniach *in vitro* potwierdzono znaczny wpływ *Lactobacillus acidophilus* na hamowanie rozwoju i obniżanie przeżywalności *Helicobacter pylori* [10].

Aktywność przeciwdrobnoustrojowa bakterii kwasu mlekowego przypisywana jest między innymi pozakomórkowym substancjom białkowym. Bakterie kwasu mlekowego (Lactic Acid Bacteria - LAB) oraz ich właściwości przeciwdrobnoustrojowe, za sprawą fermentacji umożliwiają wydłużanie okresu przechowywania. W celu zapewnienia odpowiednich warunków rozwoju bakterie te wytwarzają szereg substancji przeciwdrobnoustrojowych uwalnianych poza komórkę [49]. Oprócz kwasów organicznych, nadtlenu wodoru, diacetylu i CO₂ wytwarzają one liczną grupę substancji białkowych wykazujących znaczące działanie bakteriobójcze i/lub bakteriostatyczne [51]. Poznane oraz scharakteryzowane substancje białkowe wykazujące właściwości hamujące wzrost mikroorganizmów (najczęściej w obrębie gatunku) zwane są bakteriocynami [7, 35, 49]. Prawie wszystkie bakteriocyny pochodzące od LAB są to metabolity pierwotne [49], syntetyzowane rybosomalnie [9, 15, 22], które w większości przypadków ulegają potranslacyjnej modyfikacji. Łańcuchy polipeptydowe tworzące aktywne białka mają masę cząsteczkową rzędu od kilku ($\cdot 10^3$) do kilkunastu ($\cdot 10^3$) Da. Bakteriocyny wytwarzane przez LAB są najlepiej poznaną grupą tego typu związków. Oprócz postaci liniowej bakteriocyn, występują również mniej poznane formy cykliczne, odznaczające się zwiększoną opornością na proteazę oraz większą stabilnością termodynamiczną [46].

Liczna grupa bakterii z rodzaju *Lactobacillus* ssp. wykazująca zdolność biosyntezy bakteriocyn należy do grupy GRAS (Generally Recognized As Safe) [33, 37]. Dlatego też bakterie kwasu mlekowego są szeroko stosowane w przemyśle spożywczym do utrwalania żywności poprzez fermentację. Proces fermentacji mlekowej może jednak powodować niekorzystne zmiany sensoryczne produktu. Z tego względu dąży się do pozyskiwania form substancji oczyszczonych, tak aby mogły być zastosowane jako biokonserwanty. Oczyszczone bakteriocyny nie mają smaku, zapachu ani barwy [36, 37].

Chcąc efektywnie wykorzystywać bakteriocyny w przemyśle spożywczym, niezbędna jest optymalizacja warunków produkcji poprzez kontrolę parametrów technologicznych oraz środowiska. Szczegółowa analiza właściwości biochemicznych oraz technologicznych tego typu związków może wyjaśnić ich niską aktywność, często pojawiającą się w systemach produkcji żywności wykorzystujących mikroorganizmy bakteriocynogenne. Wykorzystanie biosyntezy bakteriocyn *in situ* daje możliwość ich taniaj i bezpieczniejszej aplikacji w celu zapewnienia jakości i bezpieczeństwa żywności.

W wielu badaniach stwierdzono, że najbardziej wydajna biosynteza bakteriocyn zachodzi w optymalnych dla danego szczepu warunkach hodowli. W większości jednak zauważono, że warunki hodowli odbiegające od optymalnych spowodowały znaczne zwiększenie ilości wytwarzanych związków białkowych o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych [35, 43]. Stres środowiskowy powoduje włączenie się mechanizmów obronnych komórki oraz intensywniejszą produkcję substancji pozakomórkowych w celu przetrwania w niekorzystnych warunkach.

Czynniki mające wpływ na zdolność wytwarzania przeciwbakteryjnych substancji białkowych, to: pH, temperatura, faza wzrostu, hodowla w kokulturze, pole elektryczne, skład medium hodowlanego [35].

Kwasowość czynna – pH

Oddziaływanie jonów hydroniowych determinuje zarówno zdolność biosyntezy bakteriocyn oraz ich aktywność przeciwdrobnoustrojową. Optymalne pH do produkcji większości bakteriocyn wytwarzanych przez bakterie kwasu mlekowego mieści się w przedziale od 5 do 7 [7]. Wpływ pH środowiska na komórkę związany jest z pracą enzymów wewnątrzkomórkowych i jednocześnie przepuszczalnością błony komórkowej. Od wartości pH zależy również stopień adsorpcji bakteriocyn do receptorów błony komórkowej producentów. Stwierdzono, że 93 - 100 % bakteriocyn ulega adsorpcji w środowisku o pH 6, natomiast w pH 1,5 - 2 adsorpcji ulega tylko poniżej 5 %. Nie jest to jednak regułą w odniesieniu do wszystkich białek tego typu [11, 16]. Bakteriocyna pochodząca z *Lactobacillus acidophilus* LF221 w bardzo małym stopniu ulegała adsorpcji w zakresie pH 5,5 - 7, natomiast pediocyna AcH, nizyna, sakacyna A prawie całkowicie ulegały adsorpcji w tym przedziale pH [7]. Zdolność adsorpcji pentocyny 31-1 wytwarzanej przez *L. pentosus* 31-1 w zależności od wartości pH wykorzystano do wstępnego oczyszczenia tej bakteriocyny metodą adsorpcji – desorpcji [51]. Warunki silnie kwasowe stabilizują aktywność bakteriocyn podczas wydłużania czasu hodowli [4].

Temperatura

Produkcja bakteriocyn przez bakterie kwasu mlekowego jest procesem zależnym od zmian temperatury. Optymalna temperatura wzrostu drobnoustrojów nie zawsze pokrywa się z najlepszą temperaturą biosyntezy białek o charakterze przeciwdrobnoustrojowym. Wzrost mikroorganizmów w temperaturze niższej niż optymalna skutkuje zmniejszoną produkcją biomasy oraz zwiększoną produktywnością specyficznych metabolitów. Spowolniony za sprawą obniżonej temperatury wzrost może wpływać na zachowanie większej ilości energii w komórce. Energia ta jest niezbędna do polimeryzacji cząstek (aminokwasów) tworzących aktywny peptyd oraz specyficznie skoordynowanej kontroli ekspresji genu odpowiedzialnego za formowanie się bakteriocyny

[13]. Zmiana temperatury do wartości suboptymalnej, przy jednoczesnym zwiększeniu ciśnienia osmotycznego intensyfikowała produkcję bakteriocyny wywarzanej przez *Lactobacillus pentosus* B96 [14, 15]. *Lactobacillus rhamnosus* GP1 [24, 34] i *Lactobacillus plantarum* ZJ316 [24] wykazywały najwyższą zdolność do produkcji bakteriocyn w temperaturze optymalnej dla ich wzrostu.

Faza wzrostu

Produkcja bakteriocyn jest ściśle skorelowana z liczbą komórek w medium hodowlanym. Maksimum produkcji bakteriocyn dla większości LAB znajduje się w końcowej fazie wzrostu logarytmicznego oraz na początku fazy stacjonarnej [4, 7, 15, 16]. Dla większości bakterii optymalne warunki wzrostu są najlepszymi warunkami do produkcji bakteriocyn, natomiast w przypadku amyłoworyny wytwarzanej przez *L. amylovorus* DCE 471 warunki odbiegające od optymalnych powodowały intensyfikację biosyntezy tego związku [13]. Słabą korelację pomiędzy liczbą komórek a produkcją bakteriocyn zauważono w przypadku szczepów produkujących białka sekretoryjne w fazie stacjonarnej wzrostu [15]. Podczas późnej fazy stacjonarnej następuje obniżenie aktywności bakteriocyn. Przyczyną tego może być proteolityczna degradacja aktywnych białek lub ich agregacja do form natywnych [51].

Hodowla w kokulturze

Informacje dotyczące biosyntezy, struktury oraz właściwości bakteriocyn zapisane są w DNA plazmidowym lub/i chromosomowym. Uznawano, że wydzielanie bakteriocynopodobnych substancji odbywa się w sposób konstytutywny [25]. W większości przypadków niezbędna jest obecność związków sygnałnych, by sekrecja aktywnego białka została uruchomiona. Regulacja procesu biosyntezy bakteriocyn klasy II jako związków obronnych zachodzi w warunkach zagrożenia danej populacji mikroorganizmów przez komórki danego szczepu bądź komórki obce. Komórki komunikują się pomiędzy sobą za pomocą substancji chemicznych, co zwane jest zjawiskiem *quorum sensing*. W przypadku bakteriocyn lantybiotykowych (klasa I), do których należy nieliczna grupa aktywnych białek pochodzących z LAB, mechanizm ten polega na działaniu trzech komponentów – peptydu indukującego (IP – inducing peptide), który aktywuje dwuskładnikowy system złożony z histydynowej kinazy białkowej (HK - histidine protein kinase) oraz z regulatora odpowiedzi (RR - reponse regulator) [25, 41]. Dla większości lantybiotyków bakteriocyna sama w sobie działa jako induktor [8, 41]. Bakteriocyny nielantybiotykowe (klasa II) również podlegają regulacji poprzez białko induktorowe, które wykazuje właściwości fizykochemicznych bakteriocyn, funkcjonujące jako swoisty feromon integrujący proces syntezy, transportu i regulacji białka. Związki indukujące wydzielane są do środowiska przez komórki gospodarza lub komórki innych mikroorganizmów zajmujących tą samą niszę. Uznano, że zjawisko *quo-*

rum sensing pozwala danej populacji mikroorganizmów synchronizować produkcję peptydów przeciwdrobnoustrojowych jako funkcję gęstości komórek [22].

Również pewne frakcje białek obecne w mleku mogą stanowić determinujący czynnik indukujący szlak biosyntezy bakteriocyn. Udowodniono, że jedynymi molekułami sygnałnymi pozwalającymi na produkcję macedocyny były związki pochodzące z degradacji białek mleka powstałych wskutek aktywności proteolitycznej samego producenta *Streptococcus macedonicus* ACA-DC 198 [19].

Wykazano, że synteza laktacyny B przez *L. acidophilus* La-5 zachodziła pod warunkiem zastosowania hodowli w kokulturze z mikroorganizmami startowymi tj. *Streptococcus thermophilus* oraz *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Zauważono jednocześnie, że cistron odpowiedzialny za ekspresję białka autoindukcyjnego (IP) jest aktywny nawet w monokulturze, ale poziom sekrecji bakteriocyny nie był możliwy do określenia przy zastosowaniu metody z wykorzystaniem dyfuzji w żelu agarozowym [41]. Podobną zależność stwierdzono w badaniach nad szczepem *L. plantarum* NC8 który wytwarzał plantarycynę NC8 tylko w obecności innych szczepów bakterii gram dodatnich lub supernatantu z ich hodowli. Co więcej, zastosowanie peptydu autoindukcyjnego w pożywce płynnej MRS indukowało nie tylko ekspresję genu odpowiedzialnego za biosyntezę trzech dwuskładnikowych bakteriocyn, ale również operon regulacyjny, w ten sposób demonstrując proces autoindukcji.

Pole elektryczne

Jak wykazały badania, umiarkowane pole elektryczne zmienia aktywność metaboliczną komórek. A zatem wpływ częstotliwości pola elektrycznego może skutecznie stymulować pewne szlaki metaboliczne. Wykazano, że pole elektryczne o różnych częstotliwościach wywiera wpływ na przepuszczalność błon komórkowych oraz dyfuzję u eukariota [35].

Składniki medium hodowlanego

Rozwój wszystkich organizmów żywych jest uwarunkowany obecnością właściwych składników odżywczych w środowisku bytowania. Dostępność oraz ich przyswajalność determinuje prawidłowe funkcjonowanie danej populacji. Zmiany źródła węgla, azotu czy substancji, takich jak składniki mineralne i witaminy prowadzą do modyfikacji szlaków biochemicznych. Dzięki temu produkowane są enzymy oraz inne substancje wspomagające przyswajanie składników pokarmowych. Prawie każda grupa mikroorganizmów ma ściśle określone, optymalne źródło danego pierwiastka. Jednak nie oznacza to, że nie wykazuje zdolności adaptacji komórki do pobierania składników z innych źródeł.

Zastosowanie kombinacji tryptonu i/lub ekstraktu drożdżowego jako źródła azotu w modyfikowanej pożywce MRS skutkowało zwiększeniem aktywności przeciwdrob-

noustrojowej peptydu ST4SA wytwarzanego przez *Enterococcus mundtii* do 102400 AU/ml, z wartości 51200 AU/ml dla standardowej pożywki MRS. Stwierdzono, że produkcja peptydu ST4SA jest stymulowana przez trypton i ekstrakt drożdżowy, ale nie przez ekstrakt mięsny. Świadczy to o tym, że ekstrakt mięsny nie zawierał niezbędnych składników do biosyntezy bakteriocyny ST4SA [44]. Odmienne rezultaty otrzymano w przypadku bakteriocyny BacST8KF [31], pediocyny AcH [5] i helwetycyny J [23], w których to przypadku zastosowanie ekstraktu mięsnego jako źródła azotu skutkowało poprawą wydajności produkcji bakteriocyn.

Zastosowanie fruktozy jako jedyne źródła węgla pozwoliło uzyskać taką samą biosyntezę peptydu. Natomiast wykorzystanie laktozy i mannozy spowodowało dwukrotne obniżenie aktywności peptydu [44]. Szczep *L. brevis* OG1 syntetyzował znacznie większe ilości bakteriocyny przy zmniejszonym stężeniu glukozy do 1 % [29]. W miarę zwiększania stężenia glukozy w pożywce (z 20 do 60 g/l) nie uzyskano poprawy aktywności amyloworyny L471, co więcej białka te szybciej ulegały degradacji [30].

Środki obniżające napięcie powierzchniowe

Środki powierzchniowo czynne wpływają zarówno na intensywność biosyntezy bakteriocyn, jak i na ich aktywność. Zasada oddziaływania detergentów niejonowych tj. Tween 80 nie jest do końca poznana. Uważa się, że mogą one zmieniać napięcie powierzchniowe komórek producentów, przez co wzrasta tempo uwalniania bakteriocyn z powierzchni komórki i wzrasta ich stężenie w środowisku [44]. Tween 80 jako jeden z najczęściej stosowanych detergentów niejonowych wywierał dwojakie działanie. Szczep *Enterococcus mundtii* QU2 pozytywnie oddziaływał na syntezę bakteriocyny w porównaniu z medium bez dodatku detergentu. Podobną zależność zaobserwowano w przypadku pediocyny AcH [6], bakteriocyn ST23LD, ST341LD [43], ST311LD [42] i plantarycyny 423 [31]. Zatem może mieć on negatywny wpływ w procesie oczyszczania bakteriocyn, głównie z wykorzystaniem techniki HPLC na kolumnie C18 (Nucleosil) – zastosowanie aplikacyjne [44]. Jako związek powierzchniowo czynny stosowany jest również glicerol. W większości analizowanych przypadków wykazywał właściwości hamujące produkcję aktywnych białek. Za sprawą glicerolu stwierdzono obniżenie poziomu sekrecji bakteriocyny ST4SA w zależności od stężenia. Zwiększanie dawki glicerolu powyżej 2g/l powodowało obniżanie wydajności produkcji peptydu ST4SA, plantarycyny ST31 [31], bakteriocyn ST311LD [42] i ST194BZ [45]. Sugerowane jest, że glicerol powodując stres osmotyczny komórek producentów zmniejsza wydajność produkcji bakteriocyn [45].

Dwuwartościowe kationy metali

Kationy metali zawarte w medium hodowlanym wywierają istotny wpływ na biosyntezę bakteriocyn. Stopień wrażliwości na rodzaj pierwiastka oraz jego stężenie jest zależny od szczepu mikroorganizmu. Aniony (fosfor) oraz kationy (Mg^{2+} oraz Ca^{2+}) odgrywają znaczącą rolę w produkcji niskocząsteczkowych białek. Fosfor nieorganiczny wzmagal produkcję nizyny przez *L. lactis* subsp. *lactis* NIZO22186. Najlepszy efekt (3500 IU/ml) uzyskano, stosując 50 g/l K_2HPO_4 w pożywce o kontrolowanym pH 6,8. Jony Mg^{2+} spowodowały wzrost produkcji pediocyny AcH oraz nizyny, która również w znacznie mniejszym stopniu ulegała adsorpcji do komórek *L. lactis* subsp. *lactis* ATCC11454. Jakkolwiek nie potwierdzono takiego samego wpływu fosforu i magnezu w odniesieniu do szczepu *L. lactis* subsp. *lactis* IO-1 [30]. Dodatek $CaCl_2$ skutkował wzrostem koncentracji nizyny Z w medium oraz poprawą tempa syntezy bakteriocyny, natomiast nie wpływał na wzrost komórek i produkcję kwasu mlekowego. Jony wapnia mogą stymulować syntezę prepeptydu, powodować aktywację enzymów odpowiedzialnych za jego dojrzewanie lub wspomagać sekrecję poza komórkę. Przypuszcza się, że peptydaza NisP mająca miejsca wiążące Ca^{2+} powoduje odcięcie peptydu liderowego od prekursora nizyny. Prekursor nie wykazuje aktywności przeciwbakteryjnej, dlatego też Ca^{2+} może aktywować enzym odpowiedzialny za syntezę formy aktywnej. Sugerowano również, że jony wapnia odgrywają rolę w ochronie ciągłości błony lipidowej szczepu produkującego dane białko, wzmacniając tym jego odporność [26]. Jony dwuwartościowe Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} oraz Fe^{2+} jako często występujące w żywności wywarły niekorzystny wpływ na produktywność gaserycyny T wytwarzanej przez *L. gasseri* LA158. Zastosowano różne sole ww. metali. Stwierdzono, że wapń w postaci $CaCO_3$ ze względu na niski stopień dysocjacji trudno rozpuszczał się i nie wywierał negatywnego wpływu na aktywność gaserycyny. Związki wapnia również hamowały produkcję aktywnego białka przez *Enterococcus mundtii* QU2 [50]. Wykazano, że dwuwartościowe jony metali, a nie nierozpuszczalne sole, znacząco hamowały produkcję gaserycyny w sposób zależny od koncentracji danego pierwiastka w medium. Kationy te nie wpływały jednak na aktywność bakteriocyny [3].

Chlorek sodu w stężeniu 1 i 2 % zastosowany jako dodatek do medium hodowlanego spowodował dwukrotny wzrost aktywności bakteriocyny z *L. brevis* OG1 [29].

Obecność substancji dodatkowych (alkohol etylowy, NaCl)

Alkohol etylowy i chlorek sodu poprzez swoją aktywność osmotyczną powodują wyraźne zmiany ilości wytwarzanych metabolitów. W zależności od koncentracji czynnika stresującego możliwa jest intensyfikacja lub ograniczenie szlaków biochemicznych odpowiedzialnych za produkcję bakteriocyn. Alkohol etylowy w stężeniu

1 % v/v powodował podwojenie się ilości amyłoworiny L471 w hodowli w warunkach optymalnych dla wzrostu *L. amylovorus* [13].

Odnosząc się do żywności jako środowiska wieloczynnikowego niezbędna jest wiedza na temat oddziaływania poszczególnych czynników na biosyntezę i aktywność bakteriocyn. Modyfikując środowisko w odpowiedni sposób można zwiększyć efektywność produkcji aktywnych metabolitów białkowych, jak również poprawić ich zdolności bakteriobójcze i bakteriostatyczne.

Badane szczepy bakterii z gatunku *Lactobacillus acidophilus* spełniały podstawowe kryterium stawiane szczepom probiotycznym, czyli wykazywały zdolności do przeżycia w warunkach *in vitro* środowiska przewodu pokarmowego – w niskim pH oraz w obecności soli żółci.

Celem pracy było przetestowanie zdolności wybranych szczepów do hamowania rozwoju bakterii *H. pylori*, *S. enteritidis* i *E. coli* oraz określenie ilości syntetyzowanego białka o charakterze bakteriocyn.

Material i metody badań

Testowano dwa szczepy bakterii *Lactobacillus acidophilus* DSM 20079 i DSM 20242 pochodzące z niemieckiej kolekcji kultur Deutche Sammlung von Microorganismen und Zellkulturen. Testowano antagonizm wobec 11 klinicznych szczepów *Helicobacter pylori* izolowanych od pacjentów z chorobą wrzodową żołądka i dwunastnicy, 6 szczepów *Salmonella enteritidis* i 8 szczepów *Escherichia coli*. Wszystkie one były izolatami własnymi Katedry i Zakładu Mikrobiologii Lekarskiej UM w Poznaniu. Szczepy *Escherichia coli* izolowano od pacjentów z dróg moczowo-płciowych.

Do hodowli *H. pylori* stosowano podłoże Columbia agar (bioMerieux) z 7 % krwi baraniej. Hodowle prowadzono w temp. 37 °C w warunkach optymalnych dla rozwoju bakterii mikroaerofilnych (Genbag microaer lub Genbox microaer- bioMerieux) przez 4 dni. Hodowlę *S. enteritidis* i *E. coli* prowadzono na podłożu Drygalskiego i podłożu Mueller-Hintona (bioMerieux) bez ograniczania dostępu tlenu, w temp. 37 °C przez 24 h. Hodowlę *Lactobacillus acidophilus* prowadzono na podłożu Rogosa SL agar (Difco) oraz na podłożu MRS agar (Oxoid) w obecności 6 % CO₂ w temp. 37 °C przez 48 h.

Antagonizm między drobnoustrojami oznaczano metodą słupkową wg Strus i wsp. [38, 39]. Zawiesinę bakterii *L. acidophilus* o gęstości 2 w skali McFarlanda przesiewano na podłoże MRS i inkubowano w temp. 37 °C przez 48 h w obecności 6 % CO₂. Po inkubacji w MRS agar wycinano słupki o średnicy 10 mm, które przenoszono na podłoże uprzednio posiane badanymi szczepami – w przypadku *H. pylori* na podłoże Columbia agar (bioMerieux) z 7 % krwi baraniej, a w przypadku szczepów *S. enteritidis* i *E. coli* na podłoże Mueller-Hintona. Inokulum badanych szczepów stanowiła zawiesina badanych drobnoustrojów w soli fizjologicznej o gęstości 2 w skali

McFarlanda. Po nałożeniu słupka z hodowlą *L. acidophilus* podłoża z obydwoma badanymi drobnoustrojami umieszczano w temp. 4 °C na 4 h. Dalszą inkubację podłoży prowadzono w temp. 37 °C przez 4 dni w warunkach mikroaerofilnych w przypadku *H. pylori* i w ciągu 24 h bez ograniczania dostępu tlenu w przypadku *S. enteritidis* i *E. coli*. Po inkubacji oznaczano w mm średnicę strefy zahamowania wzrostu wokół słupków zawierających szczepy *L. acidophilus*, a wynik podawano łącznie ze średnicą samego słupka.

Białko po 16 h hodowli *L. acidophilus* DSM 20079 i DSM 20242 (2 % inokulum) w bioreaktorze o objętości 1,5 dm³, stosując zróżnicowane źródło węgla w ilości 2 % do standardowej pożywki MRS (Oxoid), wysalano wykorzystując frakcjonowanie nasyconym roztworem siarczanu amonu do końcowego stężenia w próbie 2 M (V frakcja) i 1,6 M (IV frakcja) w temp. 4 °C. W izolacji z płynu pohodowlanego wykorzystywano zjawisko zmniejszenia rozpuszczalności białka pod wpływem zwiększającego się stężenia soli (siarczanu amonu). Tak otrzymane zawiesiny odwirowywano w temp. 4 °C, 15000 x g, 15 min i zawieszano w 50 mM buforze octanowym (pH 5,0). Zawartość białka w próbach określano metodą Bradforda przy długości λ fali 595 nm. Masę cząsteczkową białek określano metodą elektroforezy SDS-PAGE w żelu poliakrylamidowym z tryciną (stężenie żelu rozdzielającego 14 %).

Analizę ilości i jakości wytworzonych metabolitów wykonywano metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej HPLC (Waters) z zastosowaniem detektora refraktometrycznego typu 2414. Do rozdzielania stosowano kolumnę BioRad Aminex HPX-87 M, eluent 5 mM H₂SO₄, przepływ 0,6 cm³/min, temp. kolumny 30 °C. Próbkę do analiz pobierano w czasie hodowli mikroorganizmów w pożywkach ze zróżnicowanym źródłem węgla. Ponadto określano zdolność szczepów *L. acidophilus* do produkcji nadtlenu wodoru w obecności 6 % CO₂ w temp. 37° C przez 48 h na podłożu różnicującym TMB-Plus agar przygotowanym wg Rabe i Hillier [33]. Wystąpienie zmiany zabarwienia wyrosłych kolonii (pojawienie się niebieskiego zabarwienia) oznaczało wytwarzanie nadtlenu wodoru.

Wyniki i dyskusja

Oba badane szczepy *L. acidophilus* najsilniej hamowały wzrost *H. pylori*, a strefy zahamowania wzrostu wynosiły od 19 do 25 mm w zależności od testowanego szczepu *H. pylori*. Zdecydowanie mniejsze strefy zahamowania wzrostu obserwowano w przypadku *S. enteritidis* i wynosiły one od 12 do 16 mm. Nie zaobserwowano aktywności hamującej wobec szczepów *E. coli* 2219 i 2480 przez testowane szczepy *Lactobacillus acidophilus*. Dla pozostałych testowanych szczepów strefy te wynosiły od 11 do 16 mm (tab. 1). Wrażliwość na *L. acidophilus* DSM 20079 i DSM 20242 uzależniona jest od określonego szczepu i jest jego cechą charakterystyczną. Można jednak zauwa-

żyć bardzo silne hamujące właściwości obydwu testowanych szczepów wobec *H. pylori*. Zależność ta może być związana z produkcją bakteriocyn przez te szczepy.

Tabela 1

Strefy zahamowania wzrostu *H. pylori*, *S. enteritidis* i *E. coli* (mm) przez *L. acidophilus* DSM 20079 i DSM 20242.

Zones of inhibited growth of *H. pylori*, *S. enteritidis*, and *E. coli* by *L. acidophilus* DSM 20079 and DSM 20242.

Bakterie patogenne Pathogenic bacteria	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
	DSM 20079	DSM 20242
	Strefa zahamowania [mm] Inhibition zone [mm]	
<i>Helicobacter pylori</i> 53	23,5	23,5
<i>Helicobacter pylori</i> 52	24,5	22,5
<i>Helicobacter pylori</i> 45	25	19
<i>Helicobacter pylori</i> 44	22,5	22
<i>Helicobacter pylori</i> 43	25	18
<i>Helicobacter pylori</i> 49	24	20,5
<i>Helicobacter pylori</i> 50	24	24
<i>Helicobacter pylori</i> 51	25	23
<i>Helicobacter pylori</i> 42	24,5	22,5
<i>Helicobacter pylori</i> 40	25	22
<i>Helicobacter pylori</i> 39	23	21,5
<i>Salmonella enteritidis</i> 1	13	14
<i>Salmonella enteritidis</i> 2	14	13
<i>Salmonella enteritidis</i> 3	16	14
<i>Salmonella enteritidis</i> 4	12	12
<i>Salmonella enteritidis</i> 5	14	12
<i>Salmonella enteritidis</i> 6	15	14
<i>Escherichia coli</i> 2254	12	12
<i>Escherichia coli</i> 2258	13	11
<i>Escherichia coli</i> 2308	12	12
<i>Escherichia coli</i> 2322	15	16
<i>Escherichia coli</i> 2347	13	12
<i>Escherichia coli</i> 2451	11	11

Objaśnienie: / Explanatory note:

Brak zahamowania wzrostu *Escherichia coli* 2219 i *Escherichia coli* 2480 przez *L. acidophilus* DSM 20079 i DSM 20242 / The growth of *Escherichia coli* 2219 and *Escherichia coli* 2480 is not inhibited by *L. acidophilus* DSM 20079 and DSM 20242.

W przypadku bakterii *L. acidophilus* DSM 20079 i DSM 20242 celem wyjaśnienia mechanizmu antagonistycznego wpływu wobec bakterii patogennych podjęto próbę izolacji białka o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych. Wg doniesień Deraz i wsp. [16] izolowane białko *L. acidophilus* DSM 20079 ma masę ok. $6,6 \cdot 10^3$ Da [16]. W zależności od medium hodowlanego uzyskano zróżnicowaną ilość pozyskanego białka o właściwościach bakteriocynogennych (tab. 2).

Tabela 2

Zawartość białka w próbkach w zależności od medium hodowlanego w przypadku hodowli bakterii *L. acidophilus* DSM 20079 i DSM 20242.

Content of proteins in samples depending on type of culture medium used to grow *L. acidophilus* DSM 20079 and DSM 20242 strains.

Źródło węgla Source of carbon	<i>L. acidophilus</i> DSM 20079		<i>L. acidophilus</i> DSM 20242	
	IV frakcja \pm s / SD [$\mu\text{g}/\text{cm}^3$]	V frakcja \pm s / SD [$\mu\text{g}/\text{cm}^3$]	IV frakcja \pm s / SD [$\mu\text{g}/\text{cm}^3$]	V frakcja \pm s / SD [$\mu\text{g}/\text{cm}^3$]
Laktoza / Lactose	319,75 \pm 35,27	489,75 \pm 10,49	79,8 \pm 3,2	174,3 \pm 10,2
Fruktoza / Fructose	169,75 \pm 38,38	347,25 \pm 100,19	82,3 \pm 3,2	72,3 \pm 2,1
Sacharoza / Saccharose	0 \pm 2,41	75,25 \pm 42,76	0	18,75 \pm 1,76
Głukoza / Glucose	144,75 \pm 46,51	109,75 \pm 32,83	78,8 \pm 3,3	74,0 \pm 3,2

Działanie hamujące wzrost testowanych mikroorganizmów patogennych możliwe jest również poprzez działanie kwasu mlekowego, dlatego też postanowiono ustalić ilość wytwarzanego kwasu mlekowego w zależności od zastosowanego źródła węgla w pożywce (tab. 3).

Fracjonowane białka zbierano w 16 h hodowli *L. acidophilus* DSM 20079 i DSM 20242 prowadzonej w bioreaktorze, pH pożywki regulowano do wartości 6,0 a w 16 h obniżano do wartości 5,0. Deraz i wsp. [16], prowadząc badania nad biosyntezą acidocyny D079 przez *L. acidophilus* DSM 20079, wykazali, że największe ilości tego peptydu wytwarzane są właśnie między 16 a 18 h hodowli, oznaczając masę cząsteczkową tego peptydu (acidocyna D079) na poziomie $6,6 \cdot 10^3$ Da. Doświadczenia własne potwierdzają obecność białka o charakterze bakteriocyny o masie cząsteczkowej $6,5 \cdot 10^3$ Da, a największy jego udział obserwowano w ostatnim etapie wysalania czyli V frakcji uzyskiwanego białka przy stężeniu siarczanu amonu w próbce równej 2 M.

Tabela 3

Zmiana zawartości sacharydów i kwasu mlekowego w podłożach podczas hodowli *L. acidophilus* DSM 20079 i DSM 20242 w zależności od źródła węgla w pożywce.

Change in the content of saccharides and lactic acid in media while growing *L. acidophilus* DSM 20079 and DSM 20242 depending on the carbon source in the medium.

Czas [h] Time [h]	<i>L. acidophilus</i> DSM 20079							
	Laktoza Lactose [mg/cm ³]	Kwas mlekowy Lactic acid [mg/cm ³]	Fruktoza Fructose [mg/cm ³]	Kwas mlekowy Lactic acid [mg/cm ³]	Glukoza Glucose [mg/cm ³]	Kwas mlekowy Lactic acid [mg/cm ³]	Sacharoza Sacharose [mg/cm ³]	Kwas mlekowy Lactic acid [mg/cm ³]
2	19,12	0,56	20,04	0,48	19,88	0,83	19,56	0,44
6	16,68	0,96	18,20	0,8	14,00	1,67	16,68	0,64
12	12,21	1,72	17,24	1,08	12,84	1,96	15,96	1,24
18	10,38	2,36	9,92	1,96	9,84	3,52	9,24	2,88
24	7,03	4,96	7,24	2,20	8,92	8,04	8,04	2,92
	<i>L. acidophilus</i> DSM 20242							
2	19,92	0,54	19,61	0,18	18,8	0,81	19,6	0,24
6	17,68	0,76	14,72	0,92	17,44	1,27	18,2	0,32
12	14,21	1,52	14,6	1,08	16,28	1,56	5,04	1,24
18	10,58	2,37	8,8	2,16	16,16	1,52	3,22	2,88
24	8,03	3,78	7,76	2,9	12,36	4,3	3,92	4,84

Największe stężenie białek niskocząsteczkowych o masie od $(6 - 7) \cdot 10^3$ Da występowało w próbach pochodzących z hodowli prowadzonej w pożywce z laktozą i fruktozą, jednak w przypadku szczepu *L. acidophilus* DSM 20242 uzyskiwano mniejsze ilości białek niskocząsteczkowych (tab. 2). Derez i wsp. [16] wykazali właściwości przeciwbakteryjne acidocyny D079 wobec szczepu *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*. Istotny zatem jest przedstawiony w niniejszych badaniach antagonizm wobec *H. pylori*, za który w dużym stopniu odpowiedzialne są właśnie białka niskocząsteczkowe. Największe stężenie uzyskiwanego białka o charakterze bakteriocyny stwierdzano w hodowli *L. acidophilus* DSM 20079 w podłożu z dodatkiem laktozy ($489,75 \pm 10,49 \mu\text{g/cm}^3$). Białko o podobnej masie cząsteczkowej uzyskano również w hodowli *L. acidophilus* DSM 20242 w podłożu z dodatkiem laktozy, glukozy i fruktozy (max. $174,3 \pm 10,2 \mu\text{g/cm}^3$). Biswas i wsp. [6] wykazali, że produkcja pediocyny AcH zachodzi z większą wydajnością, jeśli w pożywce zwiększona zostaje ilość glukozy do 20 g/dm^3 . Podobnie Yang i Ray [47] ustalili, że zwiększenie biosyntezy nizyny było możliwe po podwojeniu stężenia glukozy w pożywce. Badania prowadzone przez de

Vuysta i Vandamme'a [12] dowodzą, że stężenie sacharozy w zakresie 10 - 20 g/dm³ stymulowało zwiększenie produkcji nizyny o 20 %. Meghrous i wsp. [27] wykazali natomiast, że stężenie laktozy, podobnie jak innych sacharydów wpływa na biosyntezę bakteriocyn, a maksymalną ilość nizyny uzyskano stosując stężenie laktozy od 30 - 35 g/dm³, wyższe stężenie laktozy hamowało wzrost komórek *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* i zakłócało syntezę nizyny. Analizy HPLC metabolitów produkowanych przez testowane mikroorganizmy probiotyczne potwierdziły wytwarzanie największej ilości kwasu mlekowego przez *L. acidophilus* DSM 20079 w pożywce z glukozą, a ilość ta kształtowała się na poziomie 8,04 µg/cm³ po 24 h hodowli tych mikroorganizmów. Najmniejszy przyrost stężenia kwasu mlekowego obserwowano w pożywce z fruktozą. W przypadku *L. acidophilus* DSM 20242 ilość wytwarzanego kwasu mlekowego przez *L. acidophilus* DSM 20242 była prawie dwukrotnie mniejsza (tab. 3). Zastosowanie fruktozy jako źródła węgla spowodowało większą biosyntezę białka, co może wynikać ze zmiany szlaków metabolicznych. Anastasiadou i wsp. [1] wykazali, że bakterie *Pediococcus acidilactisci* NRRL B5627 biosyntetyzują kwas mlekowy i pediocynę SA-1, stwierdzając przy tym, że wraz ze wzrostem biosyntezy tego białka zmniejsza się wydajność biosyntezy kwasu mlekowego. Biosynteza wielu bakteriocyn uzależniona jest od stężenia kwasu mlekowego w podłożu hodowlanym. Taniguchi i wsp. [40] zauważyli zmniejszenie wzrostu komórek *L. lactis* subsp. *Lactis*, co jest uwarunkowane obecnością kwasu mlekowego w podłożu. Zmniejszenie koncentracji biomasy wiąże się ze zmniejszeniem biosyntezy białek niskocząsteczkowych.

Dotychczas opublikowane wyniki badań [20] wykazały istotną aktywność antagonistyczną bakterii *L. acidophilus* DSM 20079 w stosunku do czynników patogennych przenoszonych drogą pokarmową, takich jak: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Helicobacter pylori*, *Salmonella enteritidis*. To bardzo szerokie spektrum działania, odpowiadające I i II klasie bakteriocyn, umożliwia zastosowania jej jako biokonserwanta żywności. Możliwe jest również zwiększenie zasięgu jej działania przez synergistyczne działanie z inną bakteriocyną hamującą szczepy odporne na działanie *L. acidophilus* DSM 20079. Przykładem może być diwercyna produkowana przez bakterie *Carnobacterium divergens*, które mają zdolność do bakteriobójczego działania na bakterie *Listeria* sp. [36].

Szczepy *L. acidophilus* DSM 20079 i DSM 20242 nie były zdolne do produkcji nadtlenu wodoru.

W Polsce zatrucia pokarmowe wywołane *Salmonella enteritidis* stanowiły poważny problem od wielu lat. Udział tych mikroorganizmów w zatruciach u ludzi pozostaje w ścisłym związku z występowaniem *Salmonella* wśród ptaków. Niektóre szczepy *Escherichia coli* mogą wywoływać infekcje dróg moczowych. Bakterie *E. coli* normalnie występuje w przewodzie pokarmowym człowieka, ale stają się szkodliwe, jeśli namnożą się w żywności. *Helicobacter pylori* odpowiada za chorobę wrzodową

żołądka i dwunastnicy oraz proces nowotworowy [18]. Alternatywne rozwiązanie w walce z patogenami może stanowić zastosowanie probiotyków, szczególnie tych o działaniu antagonistycznym. Testowane w badaniach szczepy *L. acidophilus* mają zatem szansę być zaliczone do miana bakterii probiotycznych. Dotychczasowe badania dowiodły, że obydwie testowane szczepy *Lactobacillus acidophilus* w środowisku o pH 2 i 3 przeżywają do 24. godziny hodowli. Bakterie *Lactobacillus acidophilus* DSM 20079 w środowisku o pH 5 i 6 żyją dłużej niż *Lactobacillus acidophilus* DSM 20242. Inaczej zachowują się bakterie nie kapsułkowane obydwu tych szczepów w środowisku o pH 4. Bardziej wrażliwy okazał się szczep *Lactobacillus acidophilus* DSM 20079. W środowisku o pH 7 i 8 bakterie *Lactobacillus acidophilus* zmniejszają swoją przeżywalność do 0 w 144. godzinie hodowli – szczep *Lactobacillus acidophilus* DSM 20079 i w 168 godzinie hodowli – szczep *Lactobacillus acidophilus* DSM 20242. Tolerancja na żółć pozwala na przeżycie bakteriom kwasu mlekowego w jelicie cienkim. Na początku prowadzonych doświadczeń liczba bakterii kształtowała się na poziomie 10^6 jtk/ml i po 8 h inkubacji w temp. 37 °C liczba żywych bakterii *Lactobacillus acidophilus* DSM 20079 i *Lactobacillus acidophilus* DSM 20242 zwiększyła się o jeden rząd wielkości tj. do 10^7 jtk/ml w przypadku podłoża z dodatkiem żółci w ilości do 4 %. W ciągu 8 h hodowli obserwowano przyrost absorbancji świadczący o braku hamującego wpływu żółci na wzrost szczepów *Lactobacillus acidophilus*. Spośród szczepów bakterii *Lactobacillus acidophilus* bardziej wrażliwy okazał się szczep DSM 20242, który w porównaniu ze szczepem DSM 20079 wykazał wrażliwość na antybiotyki z grupy tetracyklin. Testowane w badaniach szczepy spełniały podstawowe kryterium stawiane bakteriom probiotycznym, czyli zdolność do przeżycia w warunkach przewodu pokarmowego [20]. Należy zatem przypuszczać, że szczepy różnią się również działaniem antagonistycznym w stosunku do bakterii patogennych. W badaniach *in vitro* wykazano, że szczepy innych gatunków mikroorganizmów, należących do bakterii probiotycznych, mogą hamować wzrost *Helicobacter pylori*. Wykazano również, że supernatant z hodowli *Lactobacillus johnsonii* La1 hamował wzrost *H. pylori* w testach *in vitro*. *Lactobacillus* GG jest szczepem, który przeciwdziała biegunkom wywołanym przez *Clostridium difficile* [28, 48]. Metabolitem o działanie hamującym wobec bakterii *H. pylori* jest kwas mlekowy, który wytwarzany jest przez *Lactobacillus*. W doświadczeniach na modelu mysim *in vitro* i *in vivo* stwierdzono, że blokuje on aktywność ureazy, czego przypuszczalnie następstwem jest ograniczenie przeżywalności *H. pylori* w środowisku niskiego pH żołądka. Wydzielana przez *H. pylori* ureaza determinuje rozkład mocznika, zapewnia neutralizację pH i w konsekwencji umożliwia kolonizację nabłonka śluzówki żołądka. Znaczenie tego enzymu jako głównego czynnika kolonizacji *H. pylori* dobrze jest udokumentowane w doświadczeniach *in vivo* z użyciem jego mutantów niewytwarzających ureazy [2].

Andrzejewska i Szkaradkiewicz [2] wykazali antagonistyczne oddziaływanie szczepów *L. acidophilus* izolowanych ze śliny zdrowych ludzi wobec 20 klinicznych szczepów *H. pylori*. Potwierdzono, że właściwości testowanych szczepów *Lactobacillus* były zróżnicowane, ale nie stwierdzono istotnego wpływu nadtlenu wodoru na hamowanie wzrostu *H. pylori* [2]. Badania kliniczne i dane z eksperymentów prowadzonych na zwierzętach wykazały, że *L. acidophilus*, *L. johnsonii* i *L. gasseri* mogą hamować wzrost *H. pylori* *in vivo* oraz *in vitro* [21].

Na podstawie przedstawionych danych można stwierdzić, że bakterie *L. acidophilus* DSM 20079 i DSM 20242 charakteryzowały się zróżnicowanym antagonistycznym działaniem wobec klinicznych szczepów *H. pylori*, *S. enteritidis* i *E. coli*. Na uwagę zasługuje jednak antagonistyczne oddziaływanie zarówno *L. acidophilus* DSM 20079, jak i DSM 20242 wobec testowanych szczepów *Helicobacter pylori*, co pośród szczepów bakterii o właściwościach probiotycznych stanowi dodatkową zaletę.

Wnioski

1. Szczepy *L. acidophilus* DSM 20079 i DSM 20242 bakterii wykazujących właściwości probiotyczne w największym stopniu hamowały wzrost *H. pylori*.
2. *L. acidophilus* DSM 20079 i DSM 20242 wykazywał też aktywność hamującą wzrost testowanych szczepów *S. enteritidis* i 6 spośród testowanych szczepów *E. coli*.
3. Nie obserwowano zdolności *L. acidophilus* DSM 20079 i DSM 20242 do hamowania wzrostu *E. coli* 2219 i 2480.
4. Zastosowanie laktozy lub fruktozy jako jedyne źródła węgla w medium hodowlanym powodowało znaczną poprawę biosyntezy białek niskocząsteczkowych.

Literatura

- [1] Anastasiadou S., Papagianni M., Filiouis G., Ambrosiadis I., Koidis P.: Pediocin SA-1, an antimicrobial peptide from *Pediococcus acidilactici* NRRL B5627: Production conditions, purification and characterization. *Bioresource Technol.*, 2008, **99** (13), 5384-5390.
- [2] Andrzejewska E., Szkaradkiewicz A.: Antagonistyczne oddziaływanie *Lactobacillus acidophilus* wobec klinicznych szczepów *Helicobacter pylori*. *Med. Dośw. Mikrobiol.* 2007, (59), 59-64.
- [3] Arakawa K., Kawai Y., Nishimura J., Kitazawa H., Saito T.: Negative effect of divalent metal cations on production of gassericin T, a bacteriocin produced by *Lactobacillus gasperi*, in milk-based media. *Int. Dairy J.*, 2009, **19**, 612-616.
- [4] Bendali F., Gaillard-Martinie B., Hebraud M., Sadoun D.: Kinetic of production and mode of action of the *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* anti-listerial bacteriocin, an Algerian isolate. *LWT – Food Sci. Technol.*, 2008, **41**, 1784-1792.
- [5] Bhunia A., Kim W.J., Johnson M.S., Ray B.: Purification, characterization and antimicrobial spectrum of bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici*. *J. Appl. Bacteriol.*, 1998, (65), 261-268.

- [6] Biswas S.R., Ray P., Johnson M.C., Ray B.: Influence of growth conditions on the production of bacteriocin, pediocin AcH by *Pediococcus acidilactici*. H. Appl. Environ. Microb., 1991, **(57)**, 1265-1267.
- [7] Bogovic-Matijasic B., Rogelj I.: Bacteriocin complex of *Lactobacillus acidophilus* LF221 – production studies in MRS media at different pH values and effect against *Lactobacillus helveticus* ATCC 15009. Process Biochem., 1997, **33 (3)**, 345-352.
- [8] Coburn P.S., Pillar C.M., Jett B.D., Haas W., Gilmore M.S.: *Enterococcus faecalis* senses target cells and in response expresses cytolysin. Science 2004, **(306)**, 2270-2272.
- [9] Corsetti A., Settanni L., Braga T.M., Silva Lopes M.F., Suzzi G.: An investigation of the bacteriocinogenic potential of lactic acid bacteria associated with wheat (*Triticum durum*) kernels and non-conventional flours. LWT - Food Sci. Technol., 2007, **(41)**, 1173-1182.
- [10] Coconier M. H., Lievin V., Hemery E., Servin A. L.: Antagonistic activity against *Helicobacter* infection in vivo and in vitro by the human *Lactobacillus acidophilus* strain L.B. Appl. Environ. Microb., 1998, **64 (11)**, 4573-4580.
- [11] Corsetti A., Settanni L., Braga T.M., Silva Lopes M.F., Suzzi G.: An investigation of the bacteriocinogenic potential of lactic acid bacteria associated with wheat (*Triticum durum*) kernels and non-conventional flours. LWT- Food Sci. Technol., 2007, **(41)**, 1173-1182.
- [12] De Vuyst L., Vandamme E.J.: Influence of the carbon source on nisin production in *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* batch fermentations. J. Gen. Microbiol., 1992, **138**, 571-578.
- [13] De Vuyst L., Callewaert R., Crabbe K.: Primary metabolite kinetics of bacteriocin biosynthesis by *Lactobacillus amylovorus* and evidence for stimulation of bacteriocin production under unfavorable growth conditions. Microbiology, 1996, **4 (142)**, 817-827.
- [14] Delgado A., Brito D., Peres C., Noe-Arroyo F., Garrido-Fernandez A.: Bacteriocin production by *Lactobacillus pentosus* B96 can be expressed as a function of temperature and NaCl concentration. Food Microbiol., 2005, **(22)**, 521-528.
- [15] Delgado A., Lopez F.N.A., Brito D., Peres C., Fevereiro P., Garrido-Fernandez A.: Optimum bacteriocin production by *Lactobacillus plantarum* 17.2b requires absence of NaCl and apparently follows a mixed metabolite kinetics. J. Biotechnol., 2007, **(130)**, 193-200.
- [16] Deraz S.F., Nordberg Karlsson E., Hedstrom M., Andersson M.M., Mattiasson B.: Purification and characterization of acidocin D20079, a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus* DSM 20079. J. Biotechnol., 2005, **(117)**, 343-354.
- [17] De Vuyst L., Callewaert R., Crabbe K.: Primary metabolite kinetics of bacteriocin biosynthesis by *Lactobacillus amylovorus* and evidence for stimulation of bacteriocin production under unfavorable growth conditions. Microbiology 1996, (142), 817-827.
- [18] Felley C., Michetti P.: Probiotics and *Helicobacter pylori*. Best Pract. Res. Cl. G., 2003, **17 (5)**, 785-791.
- [19] Georgalaki M., Papadelli M., Chassioti E., Anastasiou R., Aktypis A., De Vuyst L., Van Driessche G., Devreese B., Tsakalidou E.: Milk protein fragments induce the biosynthesis of macedocin, the lantibiotic produced by *Streptococcus macedonicus* ACA-DC 18. Applied Environ. Microb., 2010, **76(4)**, 1143-1151.
- [20] Goderska K., Czarnecki Z.: Characterization of selected strains from *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum*. Afr. J. Microbiol. Research 2007, **1 (6)**, 068-078.
- [21] Gorbach S. L.: Probiotics in the third millennium. Digest Liver Dis., 2002, **34 (Suppl. 2)**, S2-S7.
- [22] Huang Y., Luo Y., Zhai Z., Zhang H., Yang C., Tian H., Li Z., Feng J., Liu J., Hao Y.: Characterization and application of an anti-listeria bacteriocin produced by *Pediococcus pentosaceus* 05-10 isolated from Sichuan Pickle, a traditionally fermented vegetable product from China. Food Control, 2009, **(20)**, 1030-1035.

- [23] Joeger M.C., Klaenhammer T.R.: Characterisation and purification of helveticin J and evidence for a chromosomally determined bacteriocin produced by *Lactobacillus helveticus* 481. J. Bacteriol., 1986, **(167)**, 439-446.
- [24] Li J., Song D., Gu Q.: Optimization of plantaricin production by *Lactobacillus plantarum* ZJ316. Wei Sheng Wu Xue Bao, 2008, **48(6)**, 818-823.
- [25] Maldonado-Barragan A., Ruiz-Barba J.L., Jimenez-Diaz R.: Knockout of three-component regulatory system reveals that the apparently constitutive plantaricin-production phenotype shown by *Lactobacillus plantarum* on solid medium is regulated via quorum sensing. Int. J. Food Microbiol., 2009, **(130)**, 35-42.
- [26] Matsusaki H., Endo N., Sonomoto K., Ishizaki A.: Lantibiotic nisin Z fermentative production by *Lactococcus lactis* IO-1: relationship between production of the lantibiotic and lactate and cell growth. Appl. Microbiol. Biot., 1996, **(45)**, 36-40.
- [27] Meghrou J., Huot E., Quittelier M., Petitdemange H.: Regulation of nisin biosynthesis by continuous cultures and by resting cells of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*. Res. Microbiol., 1992, **143(99)**, 879-890.
- [28] Mottet C., Michetti P.: Probiotics: wanted dead or alive. Digest. Liver Dis., 2005, **37**, 3-6.
- [29] Ogunbanwo S.T., Sanni A.I., Onilude A.A.: Influence of cultural conditions on the production of bacteriocin by *Lactobacillus brevis* OG1. Afr. J. Biotechnol., 2003, **(2)**, 179-184.
- [30] Parente E., Ricciardi A.: Production, recovery and purification of bacteriocins from lactic acid bacteria. Appl. Microbiol. Biot., 1999, **(52)**, 628-638.
- [31] Powell J.E., Witthuhn R.C., Todorov S.D., Dicks L.M.T.: Characterization of bacteriocin ST8KF produced by a kefir isolate *Lactobacillus plantarum* ST8KF. Int. Dairy J., 2007, **(17)**, 190-198.
- [32] Quadri L.E.N. Regulation of antimicrobial peptide production by autoinducer-mediated quorum sensing in lactic acid bacteria. A.V. Leeuwenhoek, 2002, **(82)**, 133-145.
- [33] Rabe L. K., Hillier S. L.: Optimization of media for detection of hydrogen peroxide production by *Lactobacillus* species. J. Clin. Microbiol. 2003, **41**, 3260-3264.
- [34] Sarika A.R., Lipton A.P., Aishwarya M.S.: Bacteriocin production by a new isolate of *Lactobacillus rhamnosus* GP1 under different culture conditions. Adv. J. Food Sci. Technol., 2010, **2(5)**, 291-297.
- [35] Settani L., Valmorri S., Suzzi G., Corsetti A.: The role of environmental factors and medium composition on bacteriocin-like inhibitory substances (BLIS) production by *Enterococcus mundtii* strains. Food Microbiol., 2008, **(25)**, 722-728.
- [36] Sip A. Produkcja bakteriocyn przez bakterie mlekowe. Biotechnologia 1999, **2 (45)**, 145-166.
- [37] Sip A., Krasowska M., Więckowicz M., Grajek W.: Metody skryningu bakteriocynogennych bakterii fermentacji mlekowej. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość. 2009, **1 (62)**, 5-26.
- [38] Strus M.: A new method for evaluation of the antagonistic action of bacterial lactic acid (LAB) on selected pathogenic indicator bacteria. Med. Dosw. Mikrobiol. 1998, **50**, 123-130.
- [39] Strus M., Pakosz K., Gościniak H., Przondo-Mordarska A., Rożynek E., Pituch H., Meisel-Mikołajczyk F., Heczko P. B.: Aktywność antagonistyczna szczepów *Lactobacillus* przeciwko beztlenowym patogenom przewodu pokarmowego (*Helicobacter pylori*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium difficile*). Med. Dosw. Mikrobiol., 2001, **53**, 133-142.
- [40] Taniguchi M., Hoshino., Urasaki H., Fujii M. Continuous production of antibiotic polypeptide (nisin) by *Lactococcus lactis* using a bioreactor coupled to a microfiltration module. J Ferment. Bioeng. 1994, **6**, 704-708.
- [41] Tabasco R., Garcia-Cayuela T., Pelaez C., Requena T.: *Lactobacillus acidophilus* La-5 increases lactacin B production when it senses live target bacteria. Int. J. Food Microbiol., 2009, **(132)**, 109-116.
- [42] Todorov S.D., Dicks L.M.T.: Optimization of bacteriocin ST311LD production by *Enterococcus faecium* ST311LD, isolated from spoiled black olives. J. Microbiol., 2005, **(43)**, 370-374.

- [43] Todorov S.D., Dicks L.M.T.: Effect of medium components on bacteriocin production by *Lactobacillus plantarum* strains ST23LD and ST341LD, isolated from spoiled olive brine. *Microbiol. Res.* 2006, **(161)**, 102-108
- [44] Todorov S.D., Dicks L.M.T.: Effect of modified MRS medium on production and purification of antimicrobial peptide ST4SA produced by *Enterococcus mundtii*. *Anaerobe*, 2009, **15**: 65-73
- [45] Todorov S.D., Dicks L.M.T.: Effect of growth medium on bacteriocin production by *Lactobacillus plantarum* ST194BZ, a strain isolated from Boza. *Food Technol. Biotech.*, 2005, **(43)**, 165-173.
- [46] Trabi M., Craik D.J.: Circular proteins – no end in sight. *Trends in Biochem. Sci.*, 2002, **(27)**, 132-138
- [47] Yang R., Ray B.: Factors influencing production of bacteriocins by lactic acid bacteria. *Food Microbiol.*, 1994, **11(4)**, 281-291.
- [48] Young R. J., Huffman S.: Probiotic use in children. *J. Pediatr. Health Care*, 2003, **17 (6)**, 277-283.
- [49] Zamfir M., Callewaert r., Cornea P. C., De Vuyst L.: Production kinetics of acidophilin 801, a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus* IBB 801. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2002, **(190)**, 305-308.
- [50] Zendo T., Eunggruttanagorn N., Fujioka S., Tashiro Y., Nomura K., Sera Y., Kobayashi G., Nakayama J., Ishizaki A., Sonomoto K.: Identification and production of bacteriocin from *Enterococcus mundtii* QU2 isolated from soybean. *J. Appl. Microbiol.*, 2005, **(99)**, 1181-1190.
- [51] Zhang J., Liu G., Li P. Qu Y.: Pentocin 31-1, a novel meat-borne bacteriocin and its application as biopreservative in chill-stored tray-packaged pork meat. *Food Control*, 2010, **(21)**, 198-202.

ANTAGONISTIC IMPACT OF *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS* DSM 20079 AND DSM 20242 STRAINS ON PATHOGENIC BACTERIA ISOLATED FROM PEOPLE

S u m m a r y

The paper presents the results of a study on the antagonistic activity of *L. acidophilus* DSM 20079 and DSM 20242 strains towards *H. pylori*, *E. coli*, and *S. enteritidis* strains isolated from patients. The largest zones of inhibited growth were found in all the *H. pylori* strains analyzed; those zones were larger than 20 mm. The *L. acidophilus* strains also inhibited the development of all the *S. enteritidis* strains and the size of the inhibition zones was larger than 12 mm. Amidst the *E. coli* strains, there were some strains that grew uninhibited by the selected *L. acidophilus* strains analyzed. The size of inhibited growth zones of other *E. coli* strains was between 11 and 16 mm.

Key words: *Lactobacillus acidophilus*, antagonistic activity, *Helicobacter pylori*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis* ☒

PIOTR PATELSKI, URSZULA DZIEKOŃSKA

WPLYW SELENIANU(IV) SODU NA WZROST I AKTYWNOŚĆ FERMENTACYJNĄ DROŻDŻY PIEKARSKICH

Streszczenie

W pracy oceniono wpływ dodatku selenu nieorganicznego (8 mg/dm^3) na wzrost i siłę pędną drożdży piekarskich. Hodowle prowadzono na pożywkach melasowych z dodatkiem selenianu(IV) sodu; odniesienie stanowiły próby bez dodatku selenu. Ocenie poddano piekarskie szczepy drożdży *S. cerevisiae* (13/24K, R, 16/24XXX oraz G) pochodzące z kolekcji Zakładu Technologii Spirytusu i Drożdży Politechniki Łódzkiej.

Wykazano znaczne zmniejszenie plonu biomasy w hodowlach z selenem – od 19 % w przypadku szczepu 16/24XXX do 33 % w przypadku szczepu 13/24K w odniesieniu do hodowli prowadzonych bez dodatku tego związku. Drożdże otrzymane z dodatkiem selenu odznaczały się dużo mniejszą siłą pędą (suma trzech pędów większa o 30 - 70 min od normatywnej). Siła pędna drożdży selenowych otrzymanych po hodowli z dodatkiem selenianu wynosiła od 156 min (szczep 13/24K) do 190 min (szczep 16/24XXX). Zawartość białka, fosforu i związków mineralnych w postaci popiołu w biomacie drożdży hodowanych na pożywkach melasowych z dodatkiem selenu również była mniejsza niż w hodowlach bez dodatku tego związku. Wyjątek stanowił szczep 16/24XXX, którego wartości te były porównywalne w obu hodowlach. Dodatek selenianu sodu do hodowli powodował również niekorzystne zmiany w wyglądzie oraz zapachu otrzymanej biomasy (ciemne zabarwienie i czosnkowo-cebulowy zapach).

Słowa kluczowe: drożdże piekarskie, selen, aktywność fermentacyjna, hodowla

Wprowadzenie

W XX w. odkryto, że selen jest pożądanym składnikiem paszy dla zwierząt (lata 50.) oraz żywności dla człowieka (1973 r.) [21]. Zauważono także, że pewne szczepy bakterii wykazują szybszy wzrost w podłożu wzbogaconym tym pierwiastkiem. Późniejsze badania wykazały, że selen jest niezbędnym i istotnym pierwiastkiem do prawidłowego funkcjonowania organizmu zwierząt i ludzi. Jednak do początku lat 90. XX w. traktowany był z pewną ostrożnością, ze względu na niewielką różnicę pomiędzy dawką prozdrowotną a szkodliwą dla zdrowia [12, 24].

W organizmie człowieka selen spełnia bardzo ważną funkcję przeciwutleniacza, ograniczającego szkodliwe procesy peroksydacji lipidów, RNA i DNA, chroniąc tym samym komórki przed deformacją i uszkodzeniami genetycznymi [23]. Selen ma fundamentalne znaczenie dla zdrowia człowieka i bierze udział w wielu procesach fizjologicznych. Wykryto ok. 35 selenoprotein, często o nieustalonych jeszcze funkcjach [18].

Niedobór selenu wiąże się głównie z uszkodzeniem mięśnia sercowego (choroba Keshan) i z chorobami układu kostnego (choroba Kashin-Becka – objawiająca się deformacją stawów). W ostatnich czasie publikowanych jest coraz więcej informacji potwierdzających związek między niedoborem selenu a schorzeniami nowotworowymi i chorobami układu krążenia. Niedobór może prowadzić do innych chorób, jak: astma – związana z zaburzeniem aktywności peroksydazy glutationowej, AIDS – niedobór powoduje jej znaczną progresję, niepłodność u mężczyzn związana z obniżeniem ruchliwości plemników, kretynizm, udar mózgu, czy nagła śmierć łóżeczkowa noworodków. Klinicznie udowodniono, że leczenie związkami selenu może działać zapobiegawczo lub nawet cofać objawy większości z tych chorób [4, 8, 11, 23, 24]. Przewlekłe narażenie na selen wywołuje natomiast niedokrwistość, zanik narządów mięsaszowych, zaburzenia żołądkowo-jelitowe, zeszytwnienie kończyn, artretyzm, wypadanie włosów, ostrą próchnicę zębów, ślinotok, ślepotę i dermatozy [21].

W Europie górny poziom bezpiecznego spożycia selenu ustalono dla osób dorosłych na 300 µg/dobę. U dzieci zmniejsza się on wraz z malejącym wiekiem i dla dzieci od 1 do 3 lat wynosi 60 µg/dobę [20].

Poziom selenu w produktach żywnościowych jest zróżnicowany i zależy od jego zawartości w glebie, determinowany rodzajem gleby, warunkami agroklimatycznymi i rodzajem upraw [24].

Z uwagi na wpływ selenu na metabolizm oraz jego niedobory w diecie, prowadzone są badania nad suplementacją żywności w związku selenu. Wprowadza się go do żywności w postaci wzbogaconych selenem bakterii mlekowych, kiełków zbóż, czosnku czy drożdży [3]. W związku z tym, że w drożdżach występują inne niezbędne składniki, jak np. witaminy z grupy B oraz uwzględniając łatwość przyswajania metaloidów przez te mikroorganizmy, od lat prowadzone są prace nad otrzymywaniem biomasy drożdżowej bogatej w organiczne pochodne selenu [10]. W Polsce badania takie prowadzili m.in. Chmielowski i wsp. [24], Achremowicz i wsp. [1], Achremowicz i Podgórska [2], Danch [5] oraz Diowkszy i wsp. [7].

Otrzymywanie biomasy drożdży zawierających selen organiczny jest kontynuacją badań związanych z opracowaniem metod suplementacji diety w selen. Zastosowanie do tego celu drożdży *Saccharomyces cerevisiae* syntetyzujących selenobiotynę pozwala wykorzystać je jako drożdże piekarskie niezbędne w procesie podnoszenia ciasta

przeznaczonego do wypieku pieczywa wraz z jednoczesnym użyciem biomasy drożdży jako źródła łatwo przyswajalnego selenu organicznego.

Celem podjętych badań było określenie wpływu dodatku selenu do pożywki hodowlanej na namnażanie i siłę pędną biomasy drożdży piekarskich.

Material i metody badań

Material biologiczny stanowiły piekarskie szczepy drożdży *Saccharomyces cerevisiae* 13/24K, R, 16/24XXX oraz G pochodzące z kolekcji Zakładu Technologii Spirytusu i Drożdży Politechniki Łódzkiej. Czyste kultury drożdży przeznaczonych do badań były przechowywane na skosach agarowych przygotowanych z brzeczeki słodowej 8°Błg zestalonej 2 % dodatkiem agaru (pH = 5,1, sterylizacja w temp. 121 °C/21 min). Do namnożenia inokulum stosowano brzeczkę słodową o ekstrakcie 8 °Błg, pH = 5,0: po 150 cm³ płynu przenoszono do kolb hodowlanych (500 cm³) i poddawano sterylizacji w autoklawie w temp.121 °C przez 30 min. Podłoże do hodowli stanowiła pożywka melasowa 8 °Błg, pH = 5,2, dodatkowo wzbogacona źródłami azotu, magnezu i fosforu w ilości: (NH₄)₂SO₄ – 4,5 g/dm³ pożywki, (NH₄)₂HPO₄ – 4,5 g/dm³ pożywki, MgSO₄·7H₂O – 0,75 g/dm³ pożywki oraz witaminami w ilości: biotyna – 20 µg/dm³ pożywki, tiamina – 1 mg/dm³ pożywki oraz pirydoksyna – 1 mg/dm³ pożywki. Tak przygotowane podłoże przenoszono do kolb płaskodennych o pojemności 1 dm³ i poddawano sterylizacji w autoklawie (121 °C/30 min).

Hodowle prowadzono na wytrząsarce laboratoryjnej, w pomieszczeniu termostatowym (30 °C) w ciągu 24 h. Do kolb płaskodennych o pojemności 1 dm³, zawierających 150 cm³ wysterylizowanego podłoża wprowadzano 20 cm³ (2 g s.m.) inokulum w postaci zawiesiny drożdży i selenu w dawce 8 mg Se⁴⁺/dm³ w postaci wodnego roztworu selenianu(IV) sodu. Odniesienie stanowiły wyniki uzyskane z równolegle prowadzonych hodowli bez dodatku selenu.

Wszystkie hodowle i oznaczenia wykonywano trzykrotnie.

Po przeprowadzeniu hodowli pobierano po 7 cm³ zawiesiny w celu oznaczenia przyrostu biomasy, pozostałą część biomasy wydzielano przez odwirowanie (3000 rpm/min przez 10 min w temp. 4 °C) oraz 3-krotnie przemywano wodą destylowaną. Zlany z nad osadu supernatant służył do zbadania zawartości cukrów. Otrzymane drożdże odciskano na bibule filtracyjnej i przechowywano w szczelnych pojemnikach. Biomase poddawano podstawowej analizie fizykochemicznej.

Oznaczenie zawartości suchej masy drożdży wykonywano metodą wagową, zgodnie z Polską Normą [14]. Suszenie do stałej masy prowadzono w temp. 105 °C. Oznaczenie plonu biomasy polegało na pobraniu określonej ilości otrzymanej zawiesiny, odwirowaniu, przemyciu wodą destylowaną a następnie wysuszeniu do stałej masy. Wyniki podano w g s.m./100 cm³ zawiesiny.

Siłę pędną, wyrażoną jako sumę trzech czasów podnoszenia ciasta, oznaczano zgodnie z Polską Normą [15]. Metoda polega na określeniu czasu potrzebnego do wyrośnięcia ciasta, sporządzonego według ustalonej receptury i fermentowanego w temp. 35 °C. Oznaczenie białka surowego oraz zawartości fosforu i popiołu wykonywano zgodnie z Polską Normą [16].

Oznaczenie cukrów wykonywano metodą Schoorla-Regenboga, polegającą na redukcji związków miedzi przez obecne w roztworze cukry o właściwościach redukujących.

Wyniki i dyskusja

Przyrost biomasy to jedna z ważniejszych cech technologicznych drożdży piekarskich. Badane szczepy poddano 24 h hodowli wstrząsanej w pożywce melasowej z dodatkiem soli mineralnych i witamin. Po hodowli oceniono namnożenie wybranych szczepów z dodatkiem i bez dodatku selenu.

Tabela 1

Plon biomasy badanych szczepów drożdży hodowanych w podłożach bez i z dodatkiem selenu.
Biomass of analyzed yeast strains grown in media with and without selenium added.

Badany szczep drożdży Yeasts strain analyzed	Dawka selenu [mg/dm ³] Dose of selenium [mg/dm ³]	Plon biomasy [g s.m./100 cm ³] Biomass [g dry matter/100 cm ³]
13/24K	0	1
13/24K	8	0,66
G	0	1,14
G	8	0,77
16/24XXX	0	0,86
16/24XXX	8	0,7
R	0	0,66
R	8	0,53

W przypadku hodowli drożdży w pożywkach bez dodatku selenu największy przyrost biomasy osiągnął szczep G – 1,14 g s.m./100 cm³, nieco mniejszy, równy 1 g s.m./100 cm³ szczep 13/24K, natomiast najmniejszym przyrostem charakteryzował się szczep R – 0,66 g s.m./100 cm³, jest to przyrost mniejszy o 42,4 % niż wspomnianego wyżej szczepu G.

W próbach z dodatkiem selenu największe namnożenie, podobnie jak to miało miejsce w serii bez tego pierwiastka, obserwowano w przypadku szczepu G – 0,77 g s.m./100 cm³, najniższy wynik otrzymano po hodowli szczepu R – 0,53 g s.m./100 cm³. Pozostałe dwa szczepy charakteryzowały się zbliżonym namnożeniem wynoszącym 0,66 g s.m./100 cm³ w przypadku szczepu 13/24K oraz 0,7 g s.m./100 cm³ - szczep 16/24XXX. Dodatek selenu w ilości 8 mg/dm³ spowodował zmniejszenie namnożenia biomasy. Najwyższe, 32-procentowe zmniejszenie namnożenia odnotowano w hodowlach szczepu G. W przypadku drożdży 13/24K wynosił on 33 %, pozostałe dwa szczepy charakteryzowały się znacznie słabszym przyrostem biomasy w hodowli bez selenu. Toksyczny wpływ SeO₂ na przeżywalność drożdży *Saccharomyces cerevisiae* wykazali m.in. Diowksz i wsp. [7]: przy wzroście stężenia selenu do 20 µg/cm³ podłoża MRS zaobserwowali zmniejszenie plonu komórek drożdży z poziomu 1,68×10⁷ do 8,5×10⁶ jtk/cm³. Wyniki uzyskane przez Demirci i Pometto [6] w hodowlach suplementowanych selenianem (IV) sodu również potwierdzają toksyczny wpływ selenu na wzrost drożdży.

Aktywność fermentacyjna to najważniejsza cecha drożdży przeznaczonych do celów piekarskich. Czas podnoszenia ciasta powinien wynosić według Polskiej Normy [17] <60 min (pierwszy pęd) i <120 min (suma trzech pędów). Oznaczenie polegało na określeniu czasu potrzebnego do wyrośnięcia ciasta w znormalizowanej foremce i w temp. 35 °C do określonej wysokości. Wyniki oznaczenia stanowiły czas poszczególnych pędów oraz ich sumę [min]. Na siłę pędną ma wpływ wiele czynników, m.in. skład chemiczny biomasy oraz stan metaboliczny komórki związany z obecnością substancji toksycznych.

Wyniki przedstawione w tab. 2. wskazują, że otrzymana biomasa, niezależnie od szczepu, nie spełniała wymagań ze względu na siłę pędną zalecaną w Polskiej Normie [17]. Tylko dwa szczepy osiągnęły zbliżoną do normatywnej sumę trzech pędów. W przypadku drożdży *Saccharomyces cerevisiae* G suma trzech pędów była równa 121 min, a szczepu 16/24XXX wynosiła 119 min. Dwie pozostałe odmiany: R i 13/24K przekroczyły wartość graniczną o odpowiednio 10 i 17 min.

W przypadku hodowli z dodatkiem 8 mg Se/dm³ najwyższą siłę pędną wykazywały szczepy 16/24XXX oraz G, odpowiednio: 156 i 158 min. Są to wyniki znacznie przekraczające wartości normatywne – określone jednak w stosunku do drożdży piekarskich bez dodatku selenu. Najniższą siłę pędną równą 190 min obserwowano w przypadku biomasy drożdży 13/24K.

W przypadku wszystkich testowanych drożdży piekarskich obserwowano znaczne wydłużenie czasu pierwszego pędu, który ma istotny wpływ na sumę wszystkich trzech pędów. Dawka selenu wpływała istotnie na obniżenie siły pędnej, spowodowane to było prawdopodobnie toksycznym działaniem selenu na metabolizm drożdży. Podobne

zmniejszenie siły pędnej w przypadku suplementacji drożdży selenem wykazał Patel-ski [13].

Tabela 2

Siła pędna drożdży wyhodowanych w pożywce melasowej z (i bez) dodatku selenu.
Rising power of yeast strains grown in molasses medium with (and without) selenium added.

Badany szczep drożdży Yeasts strain analyzed	Dawka selenu [mg/dm ³] Dose of selenium [mg/dm ³]	Siła pędna [min] Rising power [min]			
		I	II	III	Suma Sum
13/24K	0	69	41	27	137
13/24K	8	95	55	40	190
G	0	62	32	27	121
G	8	80	40	38	158
16/24XXX	0	70	27	22	119
16/24XXX	8	80	41	35	156
R	0	75	30	25	130
R	8	97	48	35	180

Tabela 3

Zawartość białka, popiołu i fosforu w biomacie badanych drożdży wyhodowanych z (i bez) dodatku selenu.

Protein, ash and P₂O₅ content in biomass of tested yeasts cultivated with (or without) selenium addition.

Badany szczep drożdży Yeasts strain analyzed	Dawka selenu [mg/dm ³] Dose of selenium [mg/dm ³]	Zawartość białka [% s.m.]	Zawartość popiołu [% s.m.]	Zawartość P ₂ O ₅ [% s.m.]
		Protein content [% of dry matter]	Ash content [% of dry matter]	P ₂ O ₅ content [% of dry matter]
13/24K	0	40,6	9,2	6,1
13/24K	8	37,2	8,2	5,5
G	0	51,8	9,5	6,7
G	8	46,6	8,1	5,6
16/24XXX	0	48,7	8,8	5,3
16/24XXX	8	48,9	7,6	4,5
R	0	43,8	9,5	6,8
R	8	30,6	7,5	5,7

W biomacie uzyskanej po 24-godzinnej hodowli bez oraz z dodatkiem selenu zawartość białka ogółem wynosiła od 30,6 do 51,8 % w s.m. drożdży. Dodatek seleny do podłoża zmniejszał ilość białka w biomacie. W przypadku hodowli bez dodatku seleny największą zawartością białka charakteryzował się szczep G – 51,8 % s.m., najmniejszą obserwowano w przypadku drożdży 13/24K – 40,6 % s.m. Pozostałe dwa szczepy użyte w badaniach odznaczały się następującą zawartością białka w suchej masie: 48,7 % - drożdże 16/24XXX i 43,8 % – szczep R.

W próbach z dodatkiem 8 mg/dm³ seleny największą zawartość białka stwierdzono w biomacie szczepu 16/24XXX – 48,9 % s.m. W przypadku szczepów 13/24K i R dodatek seleny spowodował znaczne zmniejszenie zawartości białka odpowiednio do wartości: 37,2 % s.m. i 30,6 % s.m. drożdży.

Wyniki badań prób bez dodatku seleny znajdują potwierdzenie w badaniach Sobczaka [22] – zawartość białka na poziomie 45 - 46 %. Według Rose'a i Harrisona [19] drożdże wyhodowane w pożywce melasowej powinny zawierać ok. 50 % białka. Należy zaznaczyć, że zawartość białek w biomacie drożdży jest wypadkową wielu czynników: składu pożywki, warunków hodowli oraz cech szczepu. Otrzymane wyniki są porównywalne z wynikami charakterystycznymi dla drożdży *Saccharomyces cerevisiae* prezentowanymi w literaturze [9, 23].

Aby uzyskać niezbędną wydajność i jakość drożdży piekarskich z melasy należy zapewnić odpowiednią ilość pożywek mineralnych, łatwo przyswajalnych dla drożdży. Melasa – podstawowe źródło cukru nie zawiera odpowiedniej ilości azotu, fosforu, magnezu, a często także wielu innych mikroelementów.

Zawartość fosforu, przeliczona na pięciotlenek, w przypadku wszystkich szczepów zawierała się w granicach od 4,5 do 6,8 % s.m. drożdży (tab. 3). Zawartość związków mineralnych oznaczonych jako popiół mieściła się natomiast w zakresie 7,5 - 9,5 % s.m. analizowanej biomasy. Największą zawartość fosforu w biomacie po hodowli bez dodatku seleny oznaczono w biomacie szczepu R – 6,8 % s.m., a najmniejszą wartość – 5,3 % s.m. obserwowano w przypadku szczepu 16/24XXX. Dodatek selenianu(IV) sodu do pożywki hodowlanej powodował zmniejszenie zawartości omawianego pierwiastka w otrzymanej biomacie. Zawartość fosforu wynosiła ok. 50 % wszystkich oznaczonych substancji mineralnych otrzymanej biomasy, co odpowiada danym literaturowym [13, 19]. Zwiększona zawartość popiołu, jak i fosforu może wynikać z zastosowania do badań zbyt bogatego podłoża hodowlanego.

W badaniach określono także wydajność biomasy oraz bilans cukrów pożywki w hodowlach drożdży prowadzonych z dodatkiem selenianu sodu.

Korzystając z poniższego równania obliczono wydajność plonu biomasy (W) w stosunku do zużytego cukru inwertowanego:

$$W[\%] = \frac{X[g_{s.s.}/100cm^3]}{\Delta\text{cukrów}[g_{s.s.}/100cm^3]} \cdot 100\%$$

gdzie:

X – plon biomasy [g s.m./100 cm³] / biomass [g d.m./100 cm³],

Δ cukrów – różnica między zawartością cukru inwertowanego w brzezce przed hodowlą i w odcieku pochodzonym / usage of inverted sugar during cultivation.

Tabela 4

Zużycie cukru inwertowanego oraz wydajność tworzenia biomasy podczas hodowli badanych szczepów.
Consumption of inverted sugar and biomass yield during the cultivation of strains analyzed.

Badany szczep drożdży Yeasts strain analyzed	Dawka selenu [mg/dm ³] Dose of selenium [mg/dm ³]	Cukier inwertowany [g/100 cm ³] Invert sugar [g/100 cm ³]		Ubytek cukrów Loss of sugars ΔC = [a-b]	Wydajność Biomasy yield [%]
		Brzezka przed hodowlą Wort before yeast cultivation [a]	Odciek po hodowli Effluent after yeast cultivation [b]		
13/24K	0	4,9	0,26	4,64	22
13/24K	8	4,9	0,24	4,66	14
G	0	4,9	0,29	4,61	24
G	8	4,9	0,22	4,68	16
16/24XXX	0	4,9	0,29	4,61	19
16/24XXX	8	4,9	0,2	4,7	15
R	0	4,9	0,33	4,57	14
R	8	4,9	0,29	4,61	11

W serii prób bez dodatku selenu największą, 24-procentową wydajność wykazywał szczep G. Nieznacznie mniejszą, 22-procentową wydajnością odznaczał się szczep 13/24K. Najmniejszą, 14-procentową wydajność uzyskano po hodowli drożdży R. W próbach z selenem największe wydajności biomasy równe 15 i 16 % stwierdzono

w przypadku szczepów: 16/24XXX oraz G. W przypadku pozostałych dwóch szczepów: 13/24K i R otrzymano wydajność odpowiednio 14 i 11 %.

Zmniejszenie wydajności biomasy po dodaniu selenu znajduje potwierdzenie w pracy Demirci i Pometto [6]. Otrzymane wydajności są bardzo małe. Może być to spowodowane słabym napowietrzaniem w czasie hodowli wstrząsanej, dlatego nie można otrzymanych wartości porównywać z wydajnościami obserwowanymi w przemyśle.

Zawartość cukrów w odciekach po hodowlach bez dodatku selenianu sodu mieściła się w granicach od 0,22 do 0,33 g/100 cm³ odcieku. W przypadku hodowli z dodatkiem selenu, największy wynik cukrów resztkowych otrzymano dla szczepu R – 0,29 g/100 cm³, najmniejszą zawartość cukru oznaczono po hodowli drożdży 16/24XXX – 0,2 g/100 cm³ odcieku.

W trakcie powyższych badań oceniono również wpływ selenu na wygląd i zapach otrzymanych drożdży. W przypadku biomasy otrzymanej z dodatkiem selenu obserwowano nieswoiste różowo-czerwone zabarwienie biomasy odznaczającej się również „czosnkowo-cebulowym” zapachem. Zmiany te są prawdopodobnie wynikiem detoksyfikacji komórki poprzez wydzielenie zredukowanego selenu na powierzchnię komórki oraz powstawania lotnych związków zawierających selen [24].

Wnioski

1. Dodatek selenu wpływał na zmniejszenie wydajności biomasy (nawet o 33 % w przypadku szczepu G).
2. Biomasa drożdży wyhodowanych w pożywkach z selenem odznaczała się mniejszą zawartością białka niż uzyskana bez dodatku selenu.
3. Selen wpływał na istotne zmniejszenie siły pędnej drożdży (nawet o 53 min w przypadku szczepu 13/24K).
4. Drożdże z dodatkiem selenu charakteryzowała nieswoista czerwona barwa i zapach „cebulowo-czosnkowy”.

Praca naukowa finansowana ze środków na naukę w latach 2010-2011 jako projekt badawczy N312 197838.

Literatura

- [1] Achremowicz B., Podgórska E., Udeh K.O.: Effect of different sources in inorganic selenium on the production of Se-enriched biomass of selected yeast strains. *Agro Food Industry Hi-Tech.*, 2002, **13(3)**, 27-30.
- [2] Achremowicz B., Podgórska E.: Sposób otrzymywania drożdży selenowych. Patent PL 165811, 1991.


- [3] Birringer M., Pilawa S., Floche L.: Trends in selenium biochemistry. Nat. Prod. Rep., 2002, **19**, 693-718.
- [4] Bronzetti G., Cini M., Andreoli E., Caltavuturo L., Panunzio M., Della Croce C.: Protective effects of vitamins and selenium compounds in yeast. Mutat. Res., 2001, **496**, 105-115.
- [5] Danch A.: Sposób otrzymywania drożdży selenowych. Patent PL 246802, 1985.
- [6] Demirci A., Pometto A.L.: Production of organically bound selenium yeast production by continuous fermentation. J. Agric. Food. Chem., 1999, **47**, 2491-2495.
- [7] Diowksz A., Ambroziak W., Włodarczyk M.: Investigation of the ability of selenium accumulation by lactic acid bacteria of *Lactobacillus* species and yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Pol. J. Nutr. Sci., 1999, **8**, 17-21.
- [8] Drake E.N.: Cancer chemoprevention: Selenium as a prooxidant, not an antioxidant. Med. Hyp., 2006, **67**, 318-322.
- [9] Gniewosz M., Sobczak E., Kucińska I.: Ocena jakości wybranych szczepów drożdży piekarskich. Przem. Ferm. Owoc.-Warz., 1997, **1**, 18-20.
- [10] Hsia H.S., Fan D., Yang P.: Assimilation of inorganic selenium and organic germanium by yeast. Patent US 6368643, 1999.
- [11] Navarro-Alarcon M., Lopez-Martinez M.C.: Essentiality of selenium in the human body: relationship with different diseases. Sci. Total Environ, 2000, **249**, 347-371.
- [12] Ollagnier-de-Choudens S., Mulliez E., Fontecave M.: The PLP-dependent biotin synthase from *Escherichia coli*: mechanistic studies. FEBS Lett., 2002, **532**, 465-468.
- [13] Patelski P.: Mieszance drożdży *Saccharomyces cerevisiae* syntetyzujące selenobiotynę. Praca doktorska, PL, Łódź 2004.
- [14] PN-A-79005-4:1997. Drożdże. Metody badań. Oznaczanie suchej masy.
- [15] PN-A-79005-5:1997. Drożdże. Metody badań. Oznaczanie siły pędnej.
- [16] PN-A-79005-7:1997. Drożdże. Metody badań. Oznaczanie zawartości białka ogólnego i strawnego.
- [17] PN-A-79002:1998. Drożdże piekarskie prasowane i drożdże piekarskie suszone.
- [18] Rayman M.P.: The importance of selenium to human health. Lancet, 2000, **356 (9225)**, 233-241.
- [19] Rose A.H., Harrison J.S.: The Yeasts vol.3. Academic Press, London, 1970.
- [20] Scientific Committee on Food (European Community, Health & Consumer Protection Directorate-General, Opinion of the Scientific Committee on Food on the Tolerable Upper Intake Level of Selenium (expressed on 19 October 2000) [dostęp online http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out80g_en.pdf].
- [21] Sher L.: Role of thyroid hormones in the effects of selenium on mood, behavior, and cognitive function. Med. Hyp., 2001, **57**, 480-483.
- [22] Sobczak E.: Wpływ niektórych czynników na aktywność drożdży piekarskich. Przegl. Piek. Cukier., 1991, **1**, 19-22.
- [23] Tapiero H., Townsend D.M., Tew K.D.: The antioxidant role of selenium and seleno-compounds. Biomed. Pharmacother., 2003, **57**, 134-144.
- [24] Wierzbicka M. (red.): Selen. Pierwiastek ważny dla zdrowia, fascynujący dla badacza. Wyd. Malmut, Warszawa 2007.

EFFECT OF SODIUM SELENATE (IV) ON GROWTH AND FERMENTATION ACTIVITY OF BAKER'S YEAST

S u m m a r y

In the paper, the effect of inorganic selenium (8 mg/dm³) on the growth and rising power of baker's yeast was assessed. The yeast cultures were grown on media of molasses supplemented with a sodium selenate (IV); the samples without the selenium added were used as a reference. The baker's strains of *S. cerevisiae* (13/24K, R, 16/24XXX and G), originating from a collection in the Department of Spirit and Yeast Technology, Technical University of Łódź, were assessed.

Compared to the cultures developed without the addition of selenium, a significant decrease in the biomass yield in the cultures with the selenium was confirmed: from 19% for the 16/24XXX strain up to 33% as for the 13/24K strain. The yeast grown on the media with the addition of selenium were characterized by a much lower rising power (the sum of three rising times is higher by 30 - 70 minutes than the normative value). The rising power of selenium yeast cultures, grown on the media with the selenium added, ranged from 156 minutes (13/24K strain) to 190 minutes (16/24XXX strain). The contents of protein, phosphorus, and mineral components in the form of ash in the yeast biomass grown on the media of molasses and supplemented with the selenium selenate (IV) were also lower than in the cultures without the addition of this compound. The 16/24XXX strain was an exception; the content levels of the three elements as mentioned above were comparable in the two cultures. The addition of sodium selenite to the culture resulted also in adverse changes in the appearance and odour of the biomass produced (dark colour and garlic – onion odour).

Key words: baker's yeast, selenium, fermentation activity, culture 

IZABELA PRZETACZEK-ROŻNOWSKA, TERESA FORTUNA,
KAROLINA PYCIA

WPLYW OGRZEWANIA POLEM MIKROFALOWYM NA WYBRANE WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNE SKROBI I MALTODEKSTRYN KUKURYDZIANYCH O RÓŻNYM STOPNIU DEPOLIMERYZACJI

Streszczenie

Celem niniejszej pracy była ocena wpływu ogrzewania mikrofalowego na wybrane właściwości fizykochemiczne żeli skrobi kukurydzianej oraz hydrolizatów z niej otrzymanych.

Materiał badawczy stanowiła skrobia kukurydziana oraz maltodekstryny kukurydziane o średnim i wysokim stopniu scukrzenia. Wszystkie próbki materiału wyjściowego poddano ogrzewaniu w polu mikrofalowym o mocy 440 W lub 800 W i oznaczono zawartość białka oraz tłuszczu, wyznaczono parametry barwy, zbadano podatność na retrogradację skrobi i jej hydrolizatów oraz wykreślono krzywe płynięcia w temp. 50 °C 2 % kleików skrobi i 40 % roztworów maltodekstryn.

Dowodzono, że modyfikacja fizyczna zarówno skrobi kukurydzianej, jak i jej hydrolizatów przyczyniła się do zmiany zawartości tłuszczu, a także wielkości parametrów barwy badanych próbek, jednak nie wpłynęła na zmianę zawartości białka. Ogrzewanie skrobi i maltodekstryn w polu mikrofalowym spowodowało obniżenie wartości turbidancji w całym okresie analiz. Natomiast podczas oznaczeń reologicznych zaobserwowano wpływ modyfikacji fizycznej na wartość naprężeń ścinających w trakcie analiz roztworów maltodekstryn. Jednak mikrofalowanie skrobi i maltodekstryn kukurydzianych nie wpłynęło na zmianę wartości parametrów reologicznych uzyskanych z nich próbek.

Słowa kluczowe: skrobia i maltodekstryny kukurydziane, pole mikrofalowe, reologia, retrogradacja, barwa

Wprowadzenie

Maltodekstryny stanowią produkt niecałkowitej hydrolizy skrobi [19]. Ze względu na bardzo szerokie zastosowanie maltodekstryn różnego pochodzenia botanicznego w przemyśle spożywczym [1, 8] ważne jest poznanie ich właściwości fizykochemicznych także w aspekcie modyfikacji pod wpływem pola mikrofalowego. Maltodekstry-

ny są chętnie wykorzystywane przez producentów żywności z uwagi na brak prawnych ograniczeń w ich stosowaniu oraz z racji wielu właściwości funkcjonalnych. Jednak hydrolizaty, jakimi są maltodekstryny, nie stanowią jednorodnych produktów hydrolyzy, ich właściwości w znacznej mierze zależą od stopnia depolimeryzacji skrobi. Poznanie właściwości fizykochemicznych hydrolizatów skrobi jest niezbędne do opracowania receptur produktów spożywczych o pożądanej konsystencji oraz w celu racjonalnego i efektywnego wykorzystania linii technologicznych [2, 6, 7].

Zastosowanie pola mikrofalowego w trakcie przetwarzania żywności znacznie skraca czas procesu, ale wpływa na zmianę właściwości produktu końcowego [3, 4, 9, 10]. Jednak coraz częściej w liniach technologicznych produktów spożywczych wykorzystywane są generatory mikrofal, a także powszechne jest stosowanie kuchenek mikrofalowych w gospodarstwach domowych. Dlatego również istotne w przetwórstwie żywności oraz w trakcie analizy właściwości fizykochemicznych hydrolizatów skrobi jest poznanie wpływu oddziaływania pola mikrofalowego na ich cechy.

Celem pracy było określenie wpływu ogrzewania mikrofalowego na wybrane właściwości fizykochemiczne skrobi kukurydzianej oraz maltodekstryn średnio- i wysokoscukrzonych poddanych działaniu pola mikrofalowego o mocy 440 W lub 800 W.

Materiał i metody badań

Materiał badawczy stanowiły skrobia kukurydziana (Cargill) oraz maltodekstryny o średnim i wysokim stopniu scukrzenia otrzymane metodą laboratoryjną [17] w trakcie enzymatycznej hydrolyzy skrobi kukurydzianej. Do hydrolyzy tej skrobi użyto preparatu BAN 480L – α -amylazy o standardowej aktywności 480 KNU/g, otrzymanej metodą głębokiej hodowli wyselekcjonowanego szczepu *Bacillus amyloliquefaciens*. Preparat enzymatyczny został wyprodukowany przez firmę Novozymes (Dania).

W celu uzyskania odpowiedniej ilości materiału badawczego powtarzano wielokrotnie hydrolyzę w identycznych warunkach i oznaczano wartości równoważnika glukozowego przy użyciu metody Schoorla-Regenboga [14]. Otrzymane laboratoryjne hydrolyzaty skrobiowe, których wartość DE mieściła się w granicach między 16,5 a 17,5 zostały zmieszane i stanowiły hydrolyzat średnioscukrzony, natomiast maltodekstryny, których DE mieściło się od 24,5 do 25,5 zostały zmieszane i oznaczone jako hydrolyzat wysokoscukrzony.

Naważki skrobi kukurydzianej oraz maltodekstryn kukurydzianych o masie 20 g (s.s.) rozprowadzano równomiernie na płytkach Petriego, a następnie poddawano ogrzewaniu w polu mikrofalowym o mocy 440 W lub 800 W oraz częstotliwości 2450 MHz w ciągu 5 min [17].

Wszystkie próbki materiału wyjściowego (skrobia oraz maltodekstryny kukurydziane) oraz modyfikowanego polem mikrofalowym analizowano na zawartość: suchej masy [14], białka [12] i tłuszczu [13] oraz wyznaczano parametry barwy. Ponadto

oznaczano wartość równoważnika glukozyowego maltodekstryn [14], charakteryzującego stopień scukrzenia skrobi, a także badano podatność na retrogradację skrobi i jej hydrolizatów [5] oraz wykreślono krzywe płynięcia 2 % kleików skrobi i 40 % roztworów maltodekstryn. Wszystkie oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach ($n = 3$).

Analizę barwy maltodekstryn niemodyfikowanych fizycznie oraz poddanych działaniu promieniowania pola mikrofalowego o mocy 440 W lub 800 W oznaczano przy użyciu spektrofotometru X-rite Color i5 (X-Rite Incorporated, USA). Zastosowano iluminanty D_{65} przy geometrii pomiaru $d/8$ i szczelinie pomiarowej 10 mm. Barwa maltodekstryn wyznaczona była dla dodatkowego obserwatora (CIE 1964) bez odbłyску (SPEX – *ang. specular excluded*). Maltodekstryny niemodyfikowane polem mikrofalowym stanowiły wzorce hydrolizatów skrobiowych o tym samym stopniu hydrolizy, które poddano działaniu pola mikrofalowego o mocy 440 W lub 800 W. Wartości współrzędnych L^* , a^* , b^* wyznaczano przy użyciu programu X-Rite Color Master. Wartości nasycenia (C^*) i kąta odcienia (h°) obliczano zgodnie z PN-89 E-04042/01 [15].

W celu oznaczenia podatności na retrogradację sporządzano 2 % wodne kleiki skrobiowe i 40 % wodne roztwory badanych maltodekstryn. Każdy z badanych kleików oraz roztworów był sporządzany w trzech niezależnych powtórzeniach. Tak przygotowane próbki przechowywano w temp. 8 °C. Pomiar turbidancji dokonywano w dniu przygotowania próbek oraz po 1, 3, 5, 7, 10, 14 i 21 dniach ich przechowywania.

Krzywe płynięcia roztworów maltodekstryn i kleików skrobiowych wykreślono przy zastosowaniu reometru rotacyjnego Rheolab MC1 (Physica Meßtechnik GmbH, Niemcy), wykorzystując jako system pomiarowy układ współosiowych cylindrów (roztwory maltodekstryn – cylinder Z2 DIN – średnica cylindra wewnętrznego 45,00 mm, zewnętrznego 48,80 mm; kleiki skrobi – cylinder Z3 DIN - średnica cylindra wewnętrznego 25,00 mm, zewnętrznego 27,12 mm). Reometr i termostat (Viscotherm2) były sterowane komputerowo w programie US 200 ((Physica Meßtechnik GmbH, Niemcy). W celu wyznaczenia krzywych płynięcia sporządzano 2 % wodne kleiki i 40 % wodne roztwory maltodekstryn. Tak przygotowane próbki mieszano przez 15 min w temp. 20 ± 2 °C przy użyciu mieszadła mechanicznego z szybkością 300 obr./min. Następnie naczynie z próbką ogrzewano w łaźni wodnej o temp. 95 ± 1 °C przez 15 min, przy ciągłym mieszaniu mieszadłem z prędkością 300 obr./min. Bezpośrednio po przygotowaniu, roztwory maltodekstryn umieszczano w elemencie pomiarowym reometru i termostatowano przez 10 min do temp. pomiaru wynoszącej $50 \pm 0,5$ °C.

Krzywe płynięcia wykreślano według programu:

- wzrastająca prędkość ścinania w zakresie $1-300$ s⁻¹, w ciągu 10 min,
- stała prędkość ścinania 300 s⁻¹, w ciągu 2 min,

– malejąca prędkość ścinania w zakresie 1-300 s⁻¹, w ciągu 10 min.

Do opisu krzywych płynięcia zastosowano model reologiczny Herschela-Bulkley'a [3, 23]:

$$\tau = \tau_0 + K \cdot (\dot{\gamma})^n$$

gdzie:

τ – naprężenie ścinające [Pa],

τ_0 – granica płynięcia [Pa],

K – współczynnik konsystencji [Pa·sⁿ],

$\dot{\gamma}$ – prędkość ścinania [s⁻¹],

n – wskaźnik płynięcia,

Obliczenia parametrów zastosowanego modelu wykonano, wykorzystując oprogramowanie komputerowe US 200.

Uzyskane wyniki opracowano statystycznie za pomocą dwuczynnikowej analizy wariancji przy użyciu programu Statistica 9.0 (test Duncana, p = 0,05)

Wyniki i dyskusja

Wyniki pomiarów zawartości białka i tłuszczu zamieszczono w tab. 1. Nie zaobserwowano wpływu pola mikrofalowego na zmianę zawartości białka w badanych próbkach w porównaniu z próbkami niemodyfikowanymi fizycznie (tab. 1). Stwierdzono również, że oddziaływanie polem mikrofalowym na skrobię kukurydzianą spowodowało zmniejszenie zawartości tłuszczu. Natomiast wśród hydrolizatów kukurydzianych, tylko maltodekstryna średniosukrzona poddana działaniu pola mikrofalowego o mocy 800 W zawierała znacząco mniej lipidów w porównaniu z maltodekstryną niemodyfikowaną fizycznie lub modyfikowaną polem o mniejszej mocy (tab. 1). Z kolei modyfikacja maltodekstryny wysokosukrzanej polem mikrofalowym nie wpłynęła na zmianę zawartości tłuszczu. Należy jednak zwrócić uwagę, że hydrolizat o najwyższym stopniu depolimeryzacji miał znacznie mniejszą zawartość tłuszczu niż maltodekstryna średniosukrzona i skrobia wyjściowa. Najprawdopodobniej przyczyną takiego poziomu lipidów w wysokosukrzanej maltodekstrynie był znacznie dłuższy czas hydrolizy podczas otrzymywania tego hydrolizatu.

Oddziaływanie polem mikrofalowym na hydrolizaty kukurydziane wpłynęło na zmianę wartości równoważnika glukozowego DE (tab. 1). Ogrzewanie maltodekstryn kukurydzianych w polu mikrofalowym o mocy 800 W spowodowało obniżenie wartości DE. Podobną zależność wykazano w przypadku maltodekstryn ziemniaczanych [17]. Z kolei modyfikacja hydrolizatów kukurydzianych w polu mikrofalowym o mocy 440 W spowodowała wzrost wartości równoważników DE (tab. 1), czego nie zaobserwowano w przypadku maltodekstryn pochodzenia ziemniaczanego [17].

Tabela 1

Zawartość białka, tłuszczu oraz wartość równoważnika glukozowego badanych próbek skrobi i maltodekstryn.

Content of protein, fat, and value of Dextrose Equivalent of starch and maltodextrine samples studied.

Próbka Sample	Białko / Protein [%]	Tłuszcz / Fat [%]	Równoważnik glukozowy DE Dextrose Equivalent
S	0,30 a	0,66	-
S440W	0,30 a	0,50 a	-
S800W	0,31 a	0,51 a	-
MS	0,34 a, b	0,46 b	16,75
MS 440W	0,41 b	0,45 b	17,23
MS 800W	0,40 b	0,34	14,40
MW	0,22 c	0,25 c	25,39
MW 440W	0,29 a, c	0,29 c	26,35
MW 800W	0,28 a, c	0,23 c	20,62

Objaśnienia / Explanatory notes:

Tymi samymi małymi literami a - c oznaczono wartości średnie w kolumnach nie różniące się statystycznie istotnie na poziomie $p = 0,05$; $n = 3$ / Mean values in the columns, and denoted by small a to c letters, do not differ statistically significantly at $p = 0.05$; $n = 3$; S – skrobia natywna / native starch; MS – maltodekstryna średnioscukrzona / maltodextrine showing a medium DE value; MW – maltodekstryna wysokoscukrzona / maltodextrine showing a high DE value; 440W – próbki mikrofalowane w polu mikrofalowym o mocy 440 W / samples irradiated in a 440 W microwave field; 800 W – próbki mikrofalowane w polu mikrofalowym o mocy 800 W / samples irradiated in a 800 W microwave field.

Równie istotną obserwacją jest wpływ ogrzewania polem mikrofalowym skrobi kukurydzianej i jej hydrolizatów na wartości parametrów barwy. Modyfikacja fizyczna skrobi oraz hydrolizatu niskoscukrzonego, niezależnie od użytej mocy pola mikrofalowego, wpłynęła na zmniejszenie jasności (L^*) tych próbek (tab. 2). Przy czym tylko w przypadku maltodekstryny średnioscukrzonowej obniżenie wartości parametru L^* było tym większe, im większa była moc pola mikrofalowego użytego podczas modyfikacji. Nie zaobserwowano takiej zależności w hydrolizatach pochodzenia ziemniaczanego [18]. Z kolei w przypadku hydrolizatu o najwyższym stopniu depolimeryzacji dopiero użycie pola mikrofalowego o mocy 800 W wpłynęło na istotne zmniejszenie jasności maltodekstryny (tab. 2). Podobne obserwacje uzyskano w przypadku hydrolizatów ziemniaczanych [18].

Fizyczna modyfikacja hydrolizatów skrobi kukurydzianej spowodowała przesunięcie wartości parametru barwy a^* w kierunku liczb dodatnich i było ono tym większe, im wyższa była użyta moc pola mikrofalowego. Należy jednak zwrócić uwagę, że tylko preparaty uzyskane po ogrzewaniu w polu mikrofalowym o mocy 800 W wyka-

zały dodatnie wartości składowej barwy a^* . Dowodzi to, że tylko ich barwa zawierała czerwoną składową. Preparaty te charakteryzowały się wyraźnie zmienioną barwą, dostrzegalną wzrokowo. Również pole mikrofalowe wpłynęło istotnie na zmianę wartości parametru b^* . Wszystkie próbki poddane działaniu pola mikrofalowego, niezależnie od użytej mocy, wykazały wyższe wartości składowej b^* , co dowodzi braku niebieskiej składowej w barwie badanych preparatów (tab. 2). Poddanie zarówno skrobi kukurydzianej, jak i jej hydrolizatów modyfikacji fizycznej zwiększyło nasycenie (C^*) barwy próbek, ale jednocześnie obniżyło wartość kąta odcienia (h°). Jednak takich zmian nie zaobserwowano w przypadku maltodekstryn pochodzenia ziemniaczanego [18]. Przyczyny zmiany nasycenia oraz kąta odcienia po ogrzewaniu maltodekstryn kukurydzianych w polu mikrofalowym można doszukiwać się w innym składzie chemicznym w porównaniu ze skrobią ziemniaczaną. Prawdopodobnie większa zawartość lipidów mogła wpłynąć na tak znaczące zmiany wartości parametru C^* i h° .

Tabela 2

Wartości parametrów barwy skrobi kukurydzianej i maltodekstryn kukurydzianych wyjściowych oraz poddanych działaniu pola mikrofalowego o mocy 440 W lub 800 W.
Colour parameters of initial samples of native corn starch and corn maltodextrines and of samples irradiated in a 440 W or 800 W microwave fields.

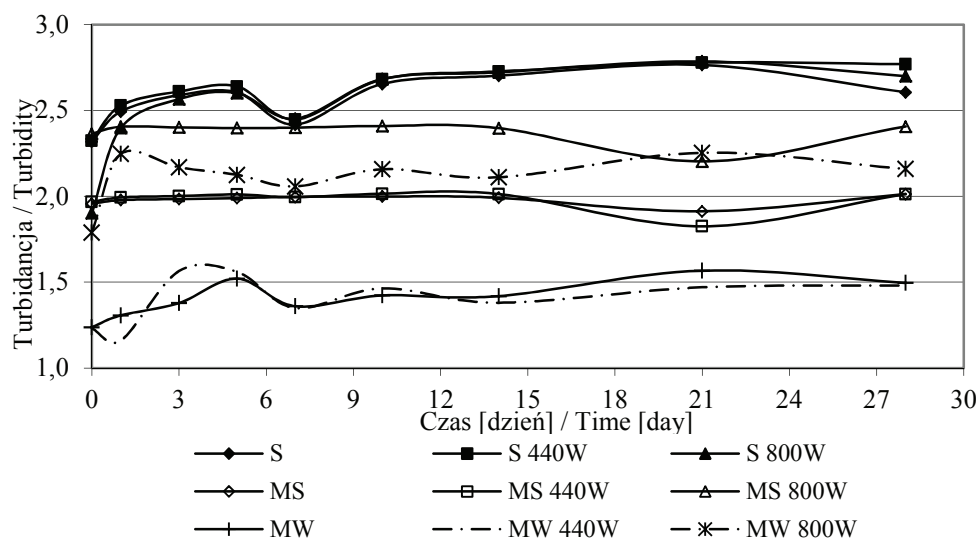
Próbka / Sample	L^*	a^*	b^*	C^*	h°
S	96,25	-0,63 a	4,01 a	4,06 a	98,86 a
S 440W	94,65 a	-0,63 a	4,73 b	4,77 b	97,53 b
S 800W	94,45 a	-0,70 a	4,88 b	4,93 b	98,11 b
MS	93,35	-0,63 a	4,12 a	4,17 a	98,69 a
MS 440W	92,38 b	-0,47 b	4,33 c	4,35 c	96,14 c
MS 800W	81,62 c	2,53	11,78	12,04	77,90
MW	92,79 b	-0,63 a	4,33 c	4,38 c	98,28 a
MW 440W	93,95 a,b	-0,43 b	4,42 c	4,44 c	95,49 c
MW 800W	81,70 c	2,70	14,44	14,69	79,41

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

W trakcie przeprowadzonych oznaczeń wpływu pola mikrofalowego na retrogradację badanych próbek nie stwierdzono istotnych zmian zmętnienia próbek poddanych działaniu pola mikrofalowego o mocy 440 W w porównaniu z próbkami niemodyfikowanymi fizycznie (rys. 1). Podobnych spostrzeżeń dokonano podczas analizy hydrolizatów pochodzenia ziemniaczanego [17], z tą jednak różnicą, że stopień zmętnienia hydrolizatów kukurydzianych zależał od stopnia scukrzenia, co potwierdza obserwację,

że szybkość retrogradacji determinowana jest długością łańcuchów obecnych w próbce [11], a tym samym stopniem hydrolizy skrobi.

Z kolei poddanie obu hydrolizatów kukurydzianych działaniu pola mikrofalowego o mocy 800 W spowodowało wzrost zmętnienia próbek w całym okresie prowadzenia analiz w porównaniu z próbkami niemodyfikowanymi w polu mikrofalowym lub ogrzewanymi w polu o mocy 440 W (rys. 1). Tę samą zależność zaobserwowano w przypadku hydrolizatów ziemniaczanych [17].



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

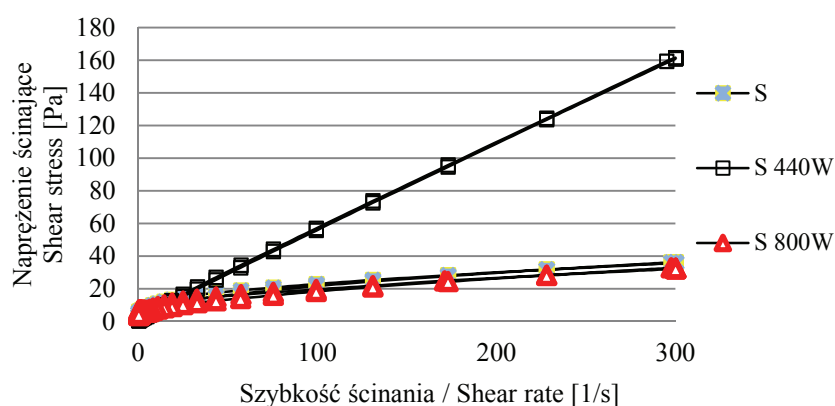
Rys. 1. Zdolność 2 % kleików skrobi i 40 % roztworów maltodekstryn do retrogradacji w temperaturze 8 °C.

Fig. 1. Retrogradation capacity of 2 % starch pastes and of 40 % solutions of maltodextrines at 8 °C.

Wyniki pomiarów reologicznych kleików skrobiowych oraz roztworów maltodekstryn przedstawiono w postaci krzywych płynięcia na rys. 2 - 3, a w tab. 3. zamieszczono uzyskane wartości liczbowe parametru modelu Herschela-Bulkley'a zastosowanego do opisu tych krzywych.

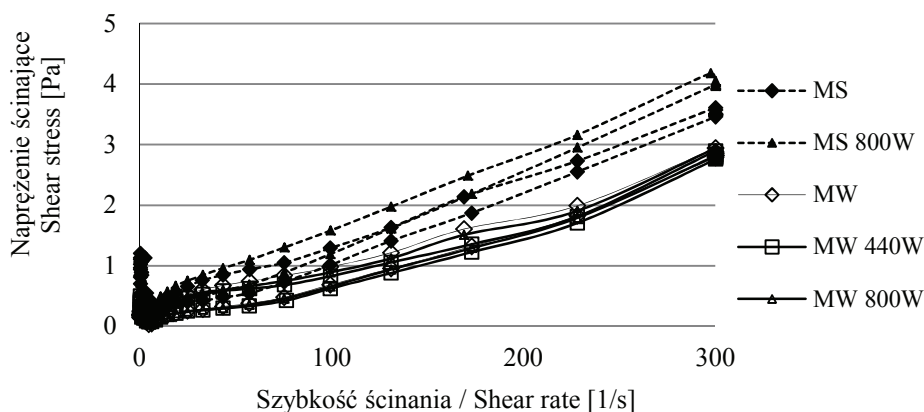
Na podstawie przeprowadzonych analiz stwierdzono, że zarówno stopień hydrolizy skrobi kukurydzianej, jak i użyta moc pola mikrofalowego podczas modyfikacji wpłynęła na właściwości reologiczne badanych preparatów. Kleiki ze skrobi kukurydzianej ogrzanej w polu mikrofalowym, niezależnie od mocy, charakteryzowały się znacznie niższymi wartościami naprężeń ścinających w całym zakresie zastosowanych prędkości ścinania (rys. 2). Z kolei roztwory maltodekstryn średniosukrzonych, poddanych oddziaływaniu pola mikrofalowego wykazały wyższe wartości naprężeń ścina-

jących. Zależność ta została również zaobserwowana podczas badań właściwości reologicznych hydrolizatów ziemniaczanych [16]. Jednakże w przypadku maltodekstryn kukurydzianych wartości naprężeń ścinających w całym zakresie zadanych prędkości ścinających były zdecydowanie niższe w porównaniu z hydrolizatami ziemniaczanymi [16]. Wyjątek stanowiła maltodekstryna kukurydziana, średniosukrzona ogrzewana w polu mikrofalowym o mocy 440 W, gdyż wykazała najwyższe wartości naprężeń ścinających. Wartości te były zbliżone do wartości charakteryzujących skrobię kukurydzianą modyfikowaną w polu o mocy 440 W (rys. 2 i 4).



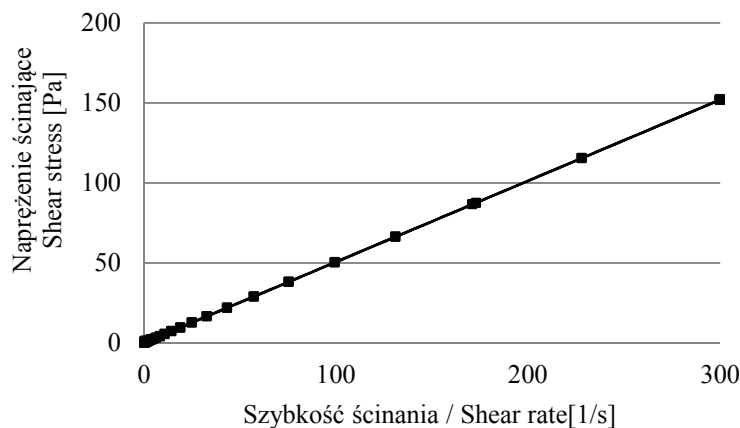
Rys. 2. Krzywe płynięcia 2 % kleików skrobi wyjściowej i poddanej działaniu pola mikrofalowego o mocy 440 W lub 800 W.

Fig. 2. Flow curves of 2 % pastes of native starch and of starch irradiated in a 440 W or 800 W microwave field.



Rys. 3. Krzywe płynięcia 40 % roztworów wyjściowych maltodekstryn średnio- i wysokosukrzonych oraz poddanych działaniu pola mikrofalowego.

Fig. 3. Flow curves of 40 % solutions of maltodextrins (showing medium and high DE values), and of samples thereof irradiated in microwave field.



Rys. 4. Krzywe płynięcia 40 % roztworu maltodekstryny średniosukrzonowej poddanej działaniu pola mikrofalowego o mocy 440 W.

Fig. 4. Flow curves of 40 % solution of maltodextrin (medium DE value) irradiated in 440 W microwave field.

Wysokie wartości współczynnika determinacji R^2 świadczą o wysokim dopasowaniu wybranego modelu do danych eksperymentalnych. Wielkości współczynnika determinacji modelu Hershela-Bulkley'a badanych kleików i roztworów wynosiły od 0,936 do 0,998 (tab. 3). Świadczy to o dobrym dopasowaniu modelu do uzyskanych krzywych.

Z porównania wartości parametrów reologicznych badanych kleików i roztworów wynika, że kleiki skrobiowe charakteryzowały się znacznie wyższymi wartościami granicy płynięcia (τ_0) i współczynnika konsystencji (K) od parametrów hydrolizatów skrobiowych (tab. 3). Jednak oddziaływanie polem mikrofalowym zarówno na skrobię kukurydzianą, jak i jej hydrolizaty nie wpłynęło na zmiany wartości tych parametrów. Również modyfikacja fizyczna polimeru i jego hydrolizatów nie wpłynęła na wartość wskaźnika płynięcia (n) (tab. 3). Należy jednak podkreślić, że roztwory maltodekstryn charakteryzował większy stopień zagęszczania ścinaniem w porównaniu z kleikami skrobiowymi, a wartość ta była tym większa im wyższy był stopień scukrzenia skrobi (tab. 3).

Tabela 3

Wartości parametrów reologicznych modelu Hershela-Bulkley'a badanych kleików skrobi i roztworów maltodekstryn wyjściowych oraz poddanych działaniu pola mikrofalowego o mocy 440 W lub 800 W.

Values of rheological parameters of Hershel-Bulkley model referring to starch pastes studied and to solutions of initial maltodextrines and of those irradiated in 400 W or 800 W microwave fields.

Próbka Sample	τ_0 [Pa]	K [Pa·s ⁿ]	n [-]	R ²
S	3,33 a	2,57 a	0,44 a	0,9986
S440W	2,34 a	1,69 a	0,51 a, b	0,9963
S800W	3,73 a	1,13 a	0,58 a, b	0,9354
MS	0,18 b	0,03 b	0,86 b, c	0,9741
MS 440W	0,40 b	0,01 b	0,99 c, d	0,9857
MS 800W	0,09 b	0,05 b	0,73 a, b, c	0,9916
MW	0,11 b	0,01 b	1,02 d	0,9763
MW 440W	0,14 b	0,01 b	1,06 d	0,9760
MW 800W	0,30 b	0,02 b	1,03 d	0,9360

Objaśnienia / Explanatory notes:

Oznaczenia symboli, jak pod tab. 1. / Explanation of symbols as in Tab. 1

Tymi samymi małymi literami a, b, c, d oznaczono wartości średnie w kolumnach nie różniące się statystycznie istotnie na poziomie $p = 0,05$; $n = 3$ / Mean values in the columns, and denoted by the a, b, c, and d letters, do not differ statistically significantly at $\alpha = 0.05$; $n = 3$.

Wnioski

1. Modyfikacja skrobi kukurydzianej polem mikrofalowym o mocy 440 W lub 800 W nie wpłynęła na zawartość białka w badanych próbkach, jednak spowodowała zmniejszenie zawartości lipidów, natomiast w hydrolizatach skrobiowych nie spowodowała zmiany zawartości protein, a w przypadku średniosukrzanej maltodekstryny, także zawartości lipidów w porównaniu z nieogrzewanymi hydrolizatami.
2. Stwierdzono wpływ ogrzewania polem mikrofalowym na wartości równoważnika glukozy DE maltodekstryn. Wartości tego parametru zwiększały się wraz ze wzrostem mocy użytej do modyfikacji hydrolizatów.
3. Ogrzewanie skrobi i jej hydrolizatów spowodowało zmianę wartości parametrów barwy, a użycie mocy 800 W przyczyniło się do widocznych zmian barwy.
4. Skrobia modyfikowana fizycznie nie wykazała zmian w retrogradacji, a hydrolizaty skrobiowe po ogrzaniu w polu mikrofalowym o mocy 800 W charakteryzowały się najniższymi wartościami turbidancji w całym okresie prowadzenia analizy.

5. Oddziaływanie polem mikrofalowym na skrobię kukurydzianą spowodowało znaczne obniżenie naprężeń ścinających podczas wykreślenia krzywych płynięcia. W przypadku maltodekstryn, tylko hydrolizat średnioscukrzony modyfikowany w polu o mocy 440 W wykazał podczas analiz reologicznych wyższe wartości naprężeń ścinających w porównaniu z hydrolizatami wyjściowymi. Jednak żadna z badanych próbek poddana ogrzewaniu w polu mikrofalowym nie zmieniła wartości parametrów reologicznych w porównaniu z próbkami wyjściowymi.

Literatura

- [1] Fortuna T., Sobolewska J.: Maltodekstryny i ich wykorzystanie w przemyśle spożywczym. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2002, **2** (23), 100-109.
- [2] Fortuna T., Sobolewska-Zielińska J., Juszczyk L.: Wybrane właściwości reologiczne roztworów maltodekstryn ziemniaczanych. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 2002, **489**, 413-422.
- [3] Fortuna T., Przetaczek I., Dyrek K., Bidzińska E., Łabanowska M.: Some physicochemical properties of commercial modified starches irradiated with microwaves. *EJPAU*, 2008, **11**, 4, 20.
- [4] Gralik J.: Wpływ czynników fizycznych na wybrane właściwości fizykochemiczne, biochemiczne, technologiczne i odporność ziarna na owadzie szkodniki magazynowe. Rozpr. dokt. AR w Poznaniu, 2003.
- [5] Jacobson M.R., Obanni M., BeMiller J.N.: Retrogradation of starches from different botanical sources. *Cer. Chem.*, 1997, **74**, 5, 511-518.
- [6] Jarosławski L., Zielonka R., Słomińska L.: Zmiany lepkości roztworów maltodekstryn w zależności od stopnia ich scukrzenia. *Mat. Konf. Nauk. pt., „Ziemniak spożywczy i przemysłowy oraz jego przetwarzania. Perspektywy ekologicznej produkcji ziemniaka w Polsce”*, Polanica Zdrój, 2002, ss. 137-138.
- [7] Lewandowicz G., Prochaska K., Grajek W., Krzyżaniak W., Majchrzak A., Ciapa T.: Właściwości użytkowe maltodekstryn w układach emulsyjnych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **1** (42), 35-47.
- [8] Maarel van M.J.E.C., Veen van der B., Uitdehaag J.C.M., Leemhuis H., Dijkhuizen L.: Properties and application of starch-converting enzymes of the α -amylase family. *J. Biot.*, 2002, **94**, 137-155.
- [9] Mitrus M.: Zastosowanie mikrofal w technologii żywności. *Post. Nau. Rol.*, 2000, **4**, 99-114.
- [10] Parosa R.: Mikrofałe w przemyśle spożywczym. *Przem. Spoż.*, 2007, **1**, 15-19.
- [11] Pfannemülle B. Struktura i właściwości skrobi. *Materiały IV Letniej Szkoły Skrobiowej – Problemy modyfikacji skrobi*. Zawoja, 1992, ss. 63-78.
- [12] PN-EN ISO 3188:2000. Skrobia i produkty pochodne. Oznaczanie zawartości azotu metodą Kjeldahla. Metoda miareczkowa.
- [13] PN-ISO-3947:2001. Skrobie naturalne i zmodyfikowane. Oznaczanie całkowitej zawartości tłuszczu.
- [14] PN-78/A-74701. Hydrolizaty skrobiowe (krochmalowe). Metodyka badań.
- [15] PN-89 E-04042/01. Pomiary promieniowania optycznego. Pomiary kolorymetryczne. Postanowienia ogólne.
- [16] Przetaczek I., Fortuna T.: Wpływ ogrzewania mikrofalowego na właściwości reologiczne roztworów hydrolizatów skrobi o różnym stopniu depolimeryzacji. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, **5** (66), 43-57.

- [17] Przetaczek-Rożnowska I., Fortuna T.: Wpływ ogrzewania mikrofalowego na zmianę wybranych właściwości maltodekstryn ziemniaczanych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **2** (69), 111-131.
- [18] Przetaczek-Rożnowska I., Rożnowski J.: Wpływ oddziaływania pola mikrofalowego na zmiany barwy maltodekstryn o różnym stopniu scukrzenia. *Nauka Przyroda Technologie*, 2011, **5**, 3, #18.
- [19] Słomińska L.: Enzymatyczne metody transformacji skrobi. *Przem. Spoż.*, 1995, **12**, 472-475, 480.


EFFECT OF MICROWAVE IRRADIATION ON SELECTED PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF CORN STARCH AND CORN MALTODEXTRINS SHOWING DIFFERENT DEXTROSE EQUIVALENTS

S u m m a r y

The objective of the study was to assess the impact of microwave irradiation on the selected physical and chemical properties of corn starch gels and hydrolysates produced from corn starch.

The research material constituted a corn starch and corn maltodextrins showing a medium and high degree of saccharification. All samples of the initial material were heated in a 400 W or 800 W microwave oven. Next, the contents of protein and fat were determined in the samples, as were the colour parameters; the sensitivity of starch and its hydrolysates to retrogradation was analyzed; the flow curves were drawn of 2 % starch paste and of 40 % solutions of maltodextrins, at a temperature of 50 °C.

It was proved that the physical modification of both the corn starch and its hydrolysates contributed to the change in the fat content and in the values of colour parameters of the samples analyzed; however, it did not impacted any change in the content of proteins. The heating of the starch and maltodextrins in a microwave field caused the turbidance value to decrease over the entire period of analyses. In contrast, when rheological determinations were performed, it was found that the physical modification impacted the value of shear stresses during the analyses of maltodextrin solutions. However, no effect was found of the microwave irradiation of the corn starch and maltodextrins studied on the change in the rheological parameters of the samples prepared from the initial material studied.

Key words: corn starch and corn maltodextrins, microwave field, rheology, retrogradation, colour 

DOROTA PASTUSZKA, HALINA GAMBUŚ, MAREK SIKORA

WARTOŚĆ ODŻYWCZA I DIETETYCZNA PIECZYWA BEZGLUTENOWEGO Z DODATKIEM NASION LNU OLEISTEGO

Streszczenie

Celem przeprowadzonych badań było wykazanie korzyści wynikających z zastosowanego udziału zmielonych nasion lnu oleistego do pieczywa bezglutenowego, w ilości 10 % masy skrobi przewidzianej recepturą.

Pieczyczo bezglutenowe, w postaci bułek, wzbogacone nasionami lnu i bez tego dodatku, z wypieku laboratoryjnego, badano pod względem jakości oraz wartości odżywczej. Metodami AOAC oznaczono zawartość: białka, tłuszczu, włókna pokarmowego i popiołu. Przeprowadzono również analizę składu aminokwasowego białek, analizatorem aminokwasów (AAA-400, INGOS), oraz profilu kwasów tłuszczowych chromatografem gazowym (QP 5050A, Shimadzu). Na podstawie składu aminokwasowego wyliczono wskaźniki jakości białka – wskaźnik aminokwasu ograniczającego (CS) i zintegrowany wskaźnik aminokwasów egzogennych (EAA). Ponadto oznaczono zawartość fosforanów mioinozytolu metodą kolorymetryczną z odczynnikiem Wade.

Wykazano, że użyta do wzbogacenia ilość zmielonych nasion lnu oleistego nie wpłynęła na jakość technologiczną badanych bułek bezglutenowych, natomiast istotnie zwiększyła w nich zawartość składników pokarmowych tj. białka (w tym aminokwasów egzogennych), tłuszczu (w tym deficytowego kwasu α -linolenowego, 18:3, n-3), związków mineralnych w postaci popiołu oraz włókna pokarmowego, zmniejszając jednocześnie ilość przyswajalnych węglowodanów, w porównaniu z pieczywem kontrolnym. W bułkach z udziałem zmielonych nasion lnu oleistego oznaczono istotnie większą zawartość fitynianów, w odniesieniu do bułek niewzbogaconych.

Słowa kluczowe: pieczywo bezglutenowe, len oleisty, wartość odżywcza

Wprowadzenie

Celiakia jest zaliczana do nietolerancji pokarmowych, za którą odpowiedzialny jest gluten, a właściwie prolaminy zawarte w zbożach i ich przetworach [7, 17]. Obecnie szacuje się, że średnio ok. 1 % generalnej populacji, zarówno dzieci, młodzieży, jak i osób dorosłych, cierpi z powodu celiakii [6, 17]. Dużą część przypadków (ok. 85 %)

Dr inż. D. Pastuszka, prof. dr hab. inż. H. Gambuś, prof. dr hab. inż. M. Sikora, Katedra Technologii Węglowodanów, Wydz. Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków

uważa się wciąż za niezdiagnozowane [6, 30]. Choroba ta, nazywana chorobą trzewną lub enteropatią glutenową, cechuje się wrodzoną, trwałą nietolerancją glutenu, prowadzącą do zmian w strukturze jelita cienkiego [6, 7, 17, 30].

Całkowita eliminacja z diety produktów zawierających gluten wpływa na poprawę stanu zdrowia osób chorych na celiakię. Na skutek rygorystycznego przestrzegania diety bezglutenowej u pacjentów z celiakią obserwuje się regenerację kosmków jelitowych, a przede wszystkim zanik typowych objawów klinicznych tej choroby [17, 24]. Wykluczenie z diety osób chorych na celiakię przetworów z pszenicy, żyta i jęczmienia związane jest ze zmianą wielu nawyków żywieniowych, gdyż produkty te są często podstawą wyżywienia tych osób [6].

Pieczczywo zajmuje szczególne miejsce w diecie każdego człowieka. W Polsce jest ono najczęściej spożywanym produktem zbożowym, dostarczającym organizmowi istotnych składników odżywczych i dietetycznych [12]. Wśród osób chorych na celiakię, często obserwuje się mniejsze spożycie produktów zbożowych, w tym również pieczywa, co związane jest z niższą jakością produktów bezglutenowych i mniejszą ich dostępnością na rynku, a także z ich wysoką ceną [4, 12, 24]. Pieczywo bezglutenowe produkowane jest ze skrobi różnego pochodzenia tj. pszennej (odbiączanej), kukurydzianej, ziemniaczanej i ryżowej, jak również z mąki z surowców z natury wolnych od glutenu, np. kukurydzianej czy ryżowej [4, 8, 9, 11, 12, 17]. Ze względu na taki skład, pieczywo bezglutenowe najczęściej odznacza się niższą wartością odżywczą niż jego tradycyjne odpowiedniki, dlatego często stosuje się wzbogacanie takiego pieczywa, głównie przez dodatek naturalnych surowców pochodzenia zwierzęcego lub roślinnego, które jednocześnie zwiększają zawartość kilku składników żywieniowych [4, 8, 9, 10, 12]. Jednym z takich dodatków, poprawiających wartość odżywczą produktów bezglutenowych, są nasiona lnu oleistego [10, 11, 12]. Często ilość stosowanego dodatku musi być limitowana, ze względu na obniżanie cech jakościowych pieczywa bezglutenowego, którego struktura jest i tak słabsza niż pieczywa tradycyjnego, ze względu na brak glutenu [4, 9, 10].

Celem przeprowadzonych badań było określenie korzyści wynikających z zastosowanego udziału zmielonych nasion lnu oleistego do bułek bezglutenowych, w ilości 10 % masy skrobi przewidzianej recepturą.

Material i metody badań

Material badawczy stanowiło pieczywo bezglutenowe w postaci bułek bezglutenowych niewzbogaconych (standard) oraz bułek bezglutenowych wzbogaconych zmielonymi nasionami lnu oleistego, w ilości 10 % masy skrobi przewidzianej recepturą (standard + nasiona lnu). Nasiona lnu oleistego mielono w młynku bijakowym, uzyskując duży stopień rozdrobnienia.

Ciasto na bułki bezglutenowe, o konsystencji 350 j.B. oznaczonej w farinografie Brabendera [2] – zbliżonej do ciasta glutenowego, sporządzono wg receptury zamieszczonej w tab. 1 w mieszarce spiralnej firmy DIOSNA, typ SP12 (DIOSNA Dierks & Söhne, Osnabrück, Niemcy), stosując 12-minutowy czas mieszenia (3 min przy wolnych obrotach, 9 min przy szybkich obrotach). Pierwszą fermentację prowadzono przez 10 min, następnie po uformowaniu kęsów o masie 70 g przez 20 min prowadzono fermentację końcową w temp. ok. 40 °C i przy 85 % wilgotności względnej powietrza. Bułki wypiekano na blachach, na trzonie, w temp. 230 °C, w piecu elektrycznym modułowym firmy Miwe Condo, typ C – 52 (MIWE, Arnstein, Niemcy), przez 20 min.

Tabela 1

Receptura na bułki bezglutenowe.

Recipe for gluten-free rolls.

Surowiec Raw material [g]	Standard	Standard + nasiona lnu + flaxseeds
Skrobia kukurydziana / Corn starch (Amidon De Mains Alimentaire, Lestrem, France)	700	600
Skrobia ziemniaczana / Potato starch (PPZ Bronisław Sp. z o.o., Strzelno, Poland)	100	100
Mąka kukurydziana / Corn flour (BOLY ZRT, Boly, Hungary)	150	150
Nasiona lnu oleistego / Flaxseeds (Andrzej Sztabiński, Nowy Dwór Gdański, Poland)	-	100
Hydroksymetylopropyloceluloza / Hydroxypropyl-methylcellulose (HPMC), (The Dow Chemical Company, Dow Europe GmbH Stade, Germany)	16	16
Guma guarowa / Guar gum, (Lotus Gums & Chemicals, Jodhpur, India)	8	16
Pektyna wysokometylowana / Highly methylated pectin, (Zakład Przemysłu Owocowo-Warzywnego „PEKTOWIN” Sp. z o.o., Jasło, Poland)	16	8
Mączka chleba świętojańskiego / Locust bean gum from C.E. ROEPER GmbH (Hamburg, Germany)	8	8
Lakton kwasu glukonowego / Gluconic acid lactone (A.H.A. International CO., LTD., Hwei, China)	5	5
Mleko w proszku (pełne) / Full cream milk powder (SM Mlekovita, Wysokie Mazowieckie, Poland)	50	50
Drożdże instant / Instant dried yeast, (Lesaffre Group, Strasbourg Cedex, France)	50	50
Sól / Salt (Wzrzelnia Soli Janikowskich Zakładów Sodowych, Janikosoda S.A., Janikowo, Poland)	20	20
Cukier / Sucrose (crystalline) (Krajowa Spółka Cukrowa S.A., Toruń, Poland)	50	50
Olej rzepakowy / Rape-oil (ZT „Kruszwica” S.A., Kruszwica, Poland)	30	30
Woda / Water	780 ml	780 ml

Po wyjęciu z pieca i 1 h chłodzenia oznaczano masę bułek, ich objętość w materiale sypkim, posługując się nasionami rzepaku [2]. Znając masę bułek i wydajność ciasta, wyliczano wydajność pieczywa [2]. Dokonano także oceny sensorycznej, wg PN-A-74108:1996 [21], przez 15-osobowy panel przeszkolony do tego typu analiz.

Oznaczano również profil tekstury miękiszku, analizatorem tekstury TA.XT Plus (Stable Micro Systems, Wielka Brytania), w środku kromki o grubości 3 cm. Analizę prowadzono stosując sondę aluminiową P-20, szybkość przesuwu 5 mm/s, mierząc odkształcenie w warstwie grubości 50 % całkowitej wysokości próbki. Na podstawie analizy przy użyciu oprogramowania TPA Exponent v. 4.0.13.0., posługując się standardowym programem makro testu TPA (Stable Micro Systems, Wielka Brytania), obliczano twardość i spójność miękiszku.

Oceniając skład chemiczny badanych bułek oznaczano zawartość:

- suchej masy – metodą suszarkową wg AOAC [3] – metoda nr 925.10,
- białka ogółem wg AOAC [3] – metoda nr 950.36,
- poszczególnych aminokwasów – analizatorem aminokwasów (AAA-400, INGOS) oraz oszacowanie wskaźnika aminokwasu ograniczającego (CS) i zintegrowanego wskaźnika aminokwasów egzogennych (EAA), posługując się białkiem wzorcowym rekomendowanym przez WHO/FAO/UNU 2007 [29],
- tłuszczu surowego wg AOAC [3] – metoda nr 930.05,
- kwasów tłuszczowych – analizę otrzymanych estrów metylowych kwasów tłuszczowych (AOAC 2006, metoda nr 935,38) wykonywano w chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrem mas, firmy Shimadzu (model QP 5050A) wyposażonym w kolumnę kapilarną SPTM-2560, o długości 100 m, grubości filmu 0,25 μm i średnicy 0,25 mm (Supelco). Jako gazu nośnego używano helu. Chromatograf gazowy pracował w opcji z podziałem strumienia (split). Identyfikacji estrów metylowych wyższych kwasów tłuszczowych dokonywano na podstawie mieszaniny referencyjnej tych związków (FAME Mixture ME 100, Larodan Fine Chemicals) oraz bibliotekę widm masowych (NIST 1.7).
- włókna pokarmowego całkowitego oraz jego frakcji rozpuszczalnej i nierozpuszczalnej wg AOAC [3] – metoda nr 991.43,
- związków mineralnych w postaci popiołu całkowitego wg AOAC [3] – metoda nr 930.05,
- fosforanów mioinozytolu – metodą kolorymetryczną z odczynnikiem Wade [16].

Ponadto na podstawie oznaczonego składu chemicznego bułek obliczano zawartość dostępnych węglowodanów (wg FAO/WHO, 1998).

Wszystkie analizy wykonano co najmniej w dwóch powtórzeniach, a wyniki poddano jednoczynnikowej analizie wariancji (ANOVA), stosując program komputerowy Statistica 8.0. Istotność różnic weryfikowano testem Duncana, przy $p \leq 0,05$. Wyniki przedstawiono jako wartości średnie \pm odchylenie standardowe (SD).

Wyniki i dyskusja

Z powodu znacznej zawartości włókna pokarmowego w nasionach lnu oleistego (ok. 30 % s.m.) [10, 12, 19] ich dodatek do ciasta mógł negatywnie wpłynąć na jakość bułek bezglutenowych. Ze względów technologicznych udział nasion musiał więc być ograniczony. Na podstawie wcześniejszych badań zdecydowano stosować do bułek bezglutenowych 10 % udział zmielonych nasion lnu oleistego [10]. Receptura ciasta na bułki bezglutenowe, o konsystencji zbliżonej do ciasta glutenowego, została opracowana w Katedrze Technologii Węglowodanów Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie, w ramach projektu badawczego EU-FRESH BAKE.

Badane pieczywo charakteryzowało się dobrą jakością technologiczną (tab. 2). Zarówno bułki z dodatkiem wzbogacającym, jak i bez tego dodatku, zostały wysoko ocenione pod względem sensorycznym (38 i 39 punktów) i zostały zakwalifikowane do I klasy jakości.

Tabela 2

Wyniki oceny jakości technologicznej badanych bułek bezglutenowych.
Assessment results of technological quality of gluten-free rolls.

Rodzaj bułki Kind of roll	Wilgotność miękiszu Moisture of crumb	Wydajność pieczywa Yield of bread	Masa pieczywa Weight of roll	Objętość pieczywa Roll volume	Twardość miękiszu Hardness of crumb	Spójność miękiszu Cohesiveness of crumb	Ocena sensoryczna Sensory evaluation	
							Liczba punktów Score	Klasa jakości Grade
	[%]		g	[cm ³]	[N]	-	-	-
standard	44,86 ± 1,02 a*	139,95 ± 1,60 a	55,08 ± 0,45 a	255,0 ± 5,0 a	4,82 ± 0,18 a	0,46 ± 0,03 a	39	I
standard + nasiona lnu + flaxseeds	46,09 ± 0,51 b	143,32 ± 1,58 a	56,77 ± 0,19 a	230,0 ± 8,3 a	5,90 ± 0,17 a	0,63 ± 0,01 b	38	I

*Różne litery oznaczają statystycznie istotne różnice w kolumnach, przy poziomie istotności $p \leq 0,05$

* Different letters denote statistically significant differences in the columns, at $p \leq 0.05$

Udział zmielonych nasion lnu oleistego nie wpłynął na: wydajność pieczywa, jego objętość oraz twardość miękiszu, natomiast wzbogacenie bułek tym surowcem wpłynęło korzystnie na spójność miękiszu, co mogło być związane z większą zawartością substancji tłuszczowych (oleju roślinnego) w nasionach lnu oleistego. Znane są bowiem korzystne, wielorakie funkcje tłuszczu w produkcji piekarskiej – nawet doda-

tek niewielkich ilości tłuszczu (powyżej 0,5 %) praktycznie mało wpływa na wartość energetyczną, smak i aromat wyrobu, ale zasadniczo modyfikuje właściwości fizyczne ciasta, poprawia jego stabilność podczas obróbki i rozrostu, a w efekcie teksturę gotowych wyrobów [1].

W ocenie składu chemicznego wykazano znaczne korzyści wynikające z zastosowania nasion lnu oleistego do wzbogacania bułek bezglutenowych. Wraz z udziałem tego surowca istotnie zwiększyła się w bułkach zawartość białka, tłuszczu i związków mineralnych w postaci popiołu, a także włókna pokarmowego zarówno frakcji rozpuszczalnej, jak i nierozpuszczalnej, a tym samym zmniejszyła się zawartość przyswajalnych węglowodanów (tab. 3).

Tabela 3

Skład chemiczny bułek bezglutenowych.
Chemical composition of gluten-free rolls.

Rodzaj bułki Kind of roll	Białko ogółem Total protein [Nx6,25]	Tłuszcz surowy Raw fat	Popiół całkowity Total ash	Włókno pokarmowe / Dietary fibre			Dostępne węglowodany Available carbohydrates
				nierozpuszczalne insoluble	rozpuszczalne soluble	całkowite total	
[g/100g s.m. (d.m.)]							
Standard	4,32±0,04 a*	4,79±0,05 a	2,54±0,00 a	3,37±0,08 a	2,61±0,01 a	5,98±0,09 a	82,37
Standard + nasiona lnu + flax-seedS	6,46±0,10 b	9,52±0,08 b	2,94±0,06 b	8,65±0,06 b	3,92±0,10 b	12,57±0,16 b	68,51

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

Pieczyczo w diecie przeciętnego człowieka stanowi bardzo dobre źródło białka roślinnego, gdyż dostarcza go ok. 30 % w dziennej racji pokarmowej [12, 14], dlatego ważne jest, aby pieczywo bezglutenowe również dostarczało odpowiednie ilości tego składnika, co znacznie ułatwiłoby osobom chorym na celiakię bilansowanie diety. Pieczywo pszenne, w zależności od rodzaju, zawiera 8,1 - 9,0 % białka w świeżym produkcie, co w przeliczeniu na suchą masę wynosi ok. 11,8 - 13,4 % [15]. Badane pieczywo bezglutenowe standardowe zawierało ok. 30 % tej zawartości białka, którą zawiera pieczywo tradycyjne, tj. nieco ponad 4 % s.m. Było to głównie białko pochodzą-

ce z suchych drożdży piekarskich i mleka w proszku. Zastosowanie dodatku wzbogacającego pozwoliło zwiększyć zawartość białka w badanych bułkach średnio o 2 g/100 g s.m. i co ważne – było to białko roślinne. Po wzbogaceniu bułki ze zmielonymi nasionami lnu oleistego zawierały już tylko o połowę mniej białka niż tradycyjne pieczywo pszenne.

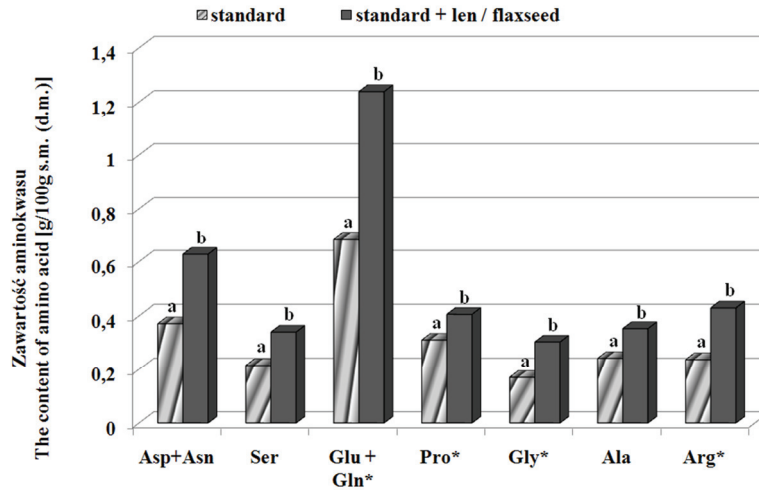
Zaledwie 10 % udział zmielonych nasion lnu oleistego w badanych bułkach wpłynął na zwiększenie zawartości w nich wszystkich aminokwasów endogennych i egzogennych (rys. 1 i 2), ale nie wpłynął na wartość biologiczną białka, która w przypadku wszystkich bułek była bardzo duża, ponieważ obydwa wskaźniki – CS i EAA wynosiły 100 % (tab. 4).

Nasiona lnu oleistego są uważane za źródło cennego białka roślinnego, co związane jest z dużą zawartością aminokwasów rozgałęzionych (walinę, leucynę, izoleucynę) tzw. BCAA oraz wysokim współczynnikiem Fischera (BCAA/AAA), porównywalnym z białkiem sojowym [19]. W badaniach wcześniejszych wykazano ponadto, że białko lniane jest też dobrym źródłem argininy, glutaminy i histydyny (34,8 g/100 g białka przy 32,1 g/100 g w białku soi) – trzech aminokwasów znanych z silnego korzystnego wpływu na funkcje immunologiczne organizmu [19, 20]. Natomiast wysoki poziom cysteiny i metioniny w białku lnianym (4,5 g/100 g białka przy 3,0 g/100 g w białku sojowym) może wywierać korzystny wpływ na poziom antyoksydantów stabilizujących DNA podczas podziału komórek i zmniejszyć ryzyko wystąpienia niektórych form nowotworów odbytu [19, 20]. Przyrost poziomu tych aminokwasów w bułkach bezglutenowych suplementowanych nasionami lnu oleistego (o ok. 35 % w przypadku cysteiny i o ok. 60 % w przypadku metioniny) należy uznać za znaczący (rys. 2).

Tabela 4

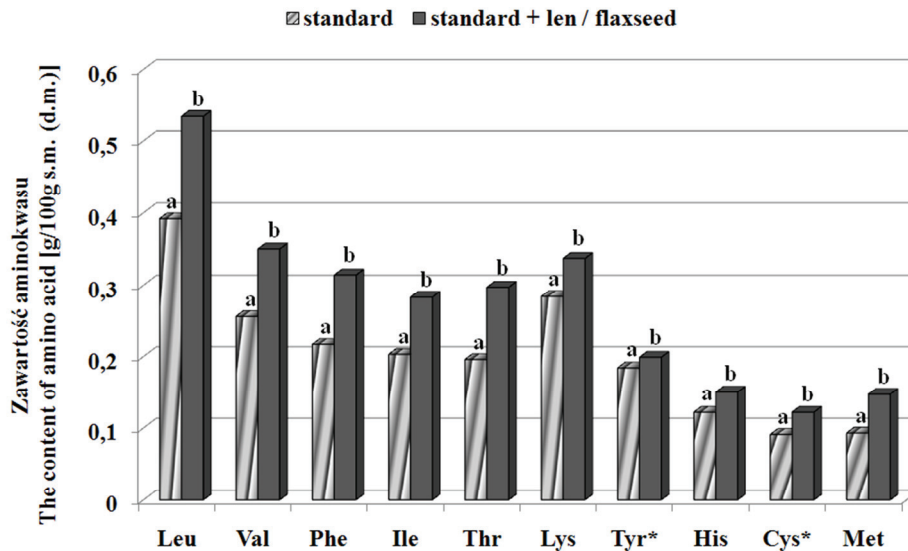
Wskaźnik aminokwasu ograniczającego (CS), zintegrowany wskaźnik aminokwasów egzogennych (EAA) i współczynnik Fischera białka bułek bezglutenowych.
Chemical Score (CS), Essential Amino Acid Index (EAAI), and Fischer ratio of gluten-free rolls' protein.

Rodzaj bułki Kind of roll	CS	EAA	Współczynnik Fischera Fischer ratio (BCAA/AAA)
Standard	100	100	2,06
Standard + nasiona lnu + flaxseeds	100	100	2,13



Rys. 1. Zawartość aminokwasów endogennych i względnie endogennych (*) w badanych bułkach, różne litery oznaczają statystycznie istotne różnice, przy poziomie istotności $p \leq 0,05$.

Fig. 1. Content of non-essential and relatively essential (*) amino acids in analyzed gluten-free rolls; different letters denote statistically significant differences, at $p \leq 0.05$.



Rys. 2. Zawartość aminokwasów egzogennych i względnie egzogennych (*) w badanych bułkach, różne litery oznaczają statystycznie istotne różnice, przy poziomie istotności $p \leq 0,05$.

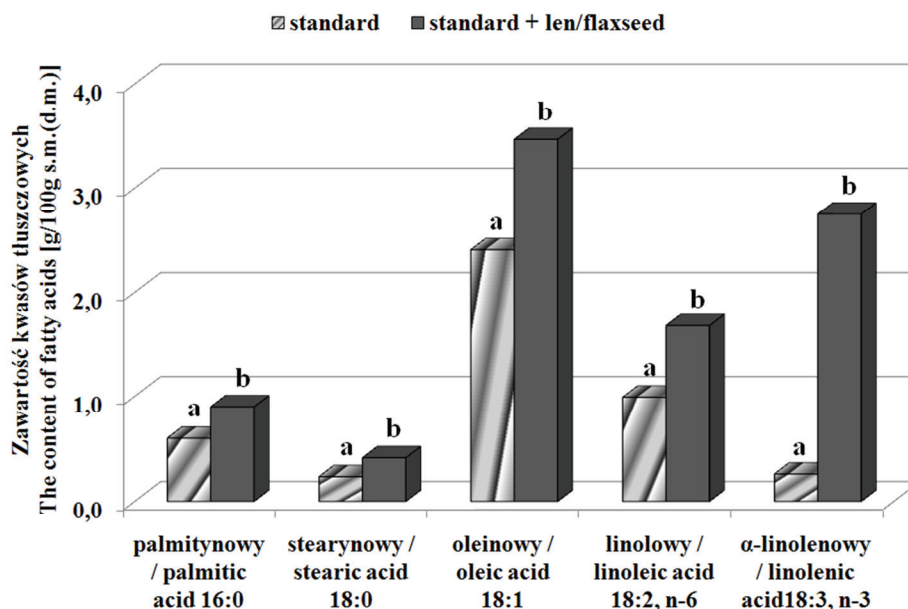
Fig. 2. Content of essential and relatively essential amino acids (*) in analyzed gluten-free rolls; different letters denote statistically significant differences, at $p \leq 0.05$.

Produkty zawierające białko o wysokim współczynniku Fischera, na co składa się niewielka ilość aminokwasów aromatycznych przy znacznym udziale aminokwasów rozgałęzionych, są wykorzystywane jako produkty specjalnego przeznaczenia, szczególnie dla niedożywionych pacjentów z nowotworami, oparzeniami, uszkodzeniami ciała, niedoczynnością wątroby, a także jako produkty wzbogacające dietę dzieci z chroniczną chorobą trzewną lub alergią na białka mleka [28, 20]. Niewielki wzrost tego współczynnika (tab. 4) w badanych bułkach suplementowanych nasionami lnu oleistego można uznać za godny podkreślenia.

Zastosowana suplementacja bułek bezglutenowych wpłynęła także na korzystne zmiany w profilu kwasów tłuszczowych (rys. 3), a szczególnie wzrost zawartości kwasu α -linolenowego z rodziny n-3 w tych bułkach, który jest deficytowy w diecie człowieka.

Dieta przeciętnego człowieka obfituje w kwas linolowy, ważne jest zatem, aby uzupełniać ją w kwasy z rodziny n-3, a przede wszystkim w kwas α -linolenowy [22]. Ze względu na znaczny udział tego kwasu w nasionach lnu oleistego (ponad 50 % udziału w oleju lnianym), korzystne wydaje się ich stosowanie do suplementacji pieczywa bezglutenowego [10, 19]. Zgodnie z obecnymi normami żywienia człowieka przyjęto w Polsce, że kwas α -linolenowy (n-3) powinien być dostarczany w ilości minimum 2 g na osobę dziennie. Ponadto w preparatach przeznaczonych do żywienia niemowląt, niewzbogacanych w LC-PUFA, a suplementowanych kwasem α -linolenowym, ilość tego kwasu powinna stanowić minimum 2 % tłuszczu zawartego w tych preparatach [26]. Badane bułki bezglutenowe z 10 % udziałem nasion lnu oleistego można więc zaliczyć do produktów wzbogaconych tym kwasem, zawierają one bowiem 2,75 g kwasu linolenowego w 100 g s.m., natomiast 100 g świeżej bułki dostarcza 2 gramy tego cennego kwasu tłuszczowego, pokrywając tym samym jego dzienne zapotrzebowanie. Ponadto bardzo wysoki stosunek n-6/n-3 jest uznawany za szkodliwy dla zdrowia człowieka, zaś gdy jest on zbliżony do 1 – prawdopodobnie pełni funkcję ochronną przed schorzeniami zwyrodnieniowymi [22]; w badanych bułkach z udziałem nasion lnu stosunek ten wynosi 0,61, przy 3,82 w bułkach standardowych, niewzbogaconych.

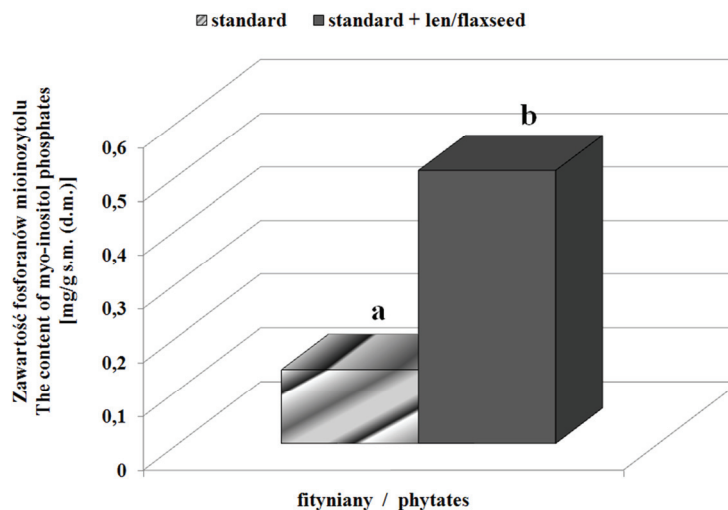
Zawartość poszczególnych składników pokarmowych w diecie nie zawsze wpływa na wykorzystanie ich przez organizm człowieka. Mniejsza biodostępność składników żywności może mieć różne podłoże; jednym z nich jest obecność heksafluorku miedzi [25]. Nasiona roślin oleistych, w tym i lnu oleistego, odznaczają się zwykle dość dużą zawartością tego składnika [27]. W badanych bułkach bezglutenowych zaobserwowano wpływ zastosowanej ilości nasion lnu oleistego (10 % masy mąki bezglutenowej), na zawartość fitynianów. Bułki z udziałem nasion lnu oleistego zawierały 3,7 razy więcej tego składnika, w odniesieniu do bułek standardowych (rys. 4).



Rys. 3. Zawartość wybranych kwasów tłuszczowych w badanych bułkach, różne litery oznaczają statystycznie istotne różnice, przy poziomie istotności $p \leq 0,05$.

Fig. 3. Content of selected fatty acids in analyzed gluten-free rolls; different letters denote statistically significant differences, at $p \leq 0.05$.

Zwiększenie zawartości fitynianów w badanych bułkach może prowadzić do ograniczonego przyswajania składników mineralnych, należy jednak zaznaczyć, że obecnie coraz więcej badań wskazuje również na pozytywne oddziaływanie fitynianów na organizm człowieka. Przypisuje się im właściwości antyutleniające i przeciwdziałające tworzeniu się wolnych rodników [5, 25, 27]. Ponadto obecność kwasu fitynowego spowalnia trawienie skrobi, a tym samym wpływa korzystnie na stężenie glukozy we krwi, bowiem do prawidłowego działania α -amylazy niezbędne są jony wapnia, które są wiązane przez kwas fitynowy [25]. Prawdopodobnie kwas fitynowy odgrywa także istotną rolę w zapobieganiu zwapnieniu tkanek [13] oraz formowaniu się kamieni nerkowych [23], a także może korzystnie wpływać na obniżenie poziomu cholesterolu i triacylogliceroli w surowicy krwi [5, 18]. Fosforanom mioinozytolu przypisuje się również właściwości przeciwnowotworowe, gdyż jako związki silnie kompleksujące mogą neutralizować substancje kancerogenne [5, 27].



Rys. 4. Zawartość kwasu fitynowego w badanych bułkach, różne litery oznaczają statystycznie istotne różnice, przy poziomie istotności $p \leq 0,05$.

Fig. 4. Content of myo-inositol phosphates in gluten-free rolls; different letters denote statistically significant differences, at $p \leq 0.05$.

Wnioski

1. Udział zmielonych nasion lnu oleistego, w ilości 10 % masy mąki bezglutenowej nie obniżył jakości bułek bezglutenowych wzbogaconych tym surowcem, zarówno pod względem parametrów sensorycznych, jak i teksturalnych.
2. Użyta ilość surowca wzbogacającego istotnie zwiększyła zawartość składników pokarmowych i dietetycznych w bułkach bezglutenowych, tj. białka, tłuszczu, związków mineralnych w postaci popiołu oraz włókna pokarmowego, zmniejszając jednocześnie ilość przyswajalnych węglowodanów w tych bułkach.
3. Badane bułki bezglutenowe zawierały białko pełnowartościowe, przy czym bułki z udziałem zmielonych nasion lnu oleistego zawierały więcej aminokwasów, zarówno egzogennych, jak i endogennych, co związane jest z większą zawartością białka w tych bułkach.
4. Bułki z udziałem nasion lnu oleistego charakteryzowały się korzystnym składem kwasów tłuszczowych, a zwłaszcza 10-krotnie większą zawartością kwasu α -linolenowego (18:3, n-3), w odniesieniu do bułek standardowych.
5. W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono większą zawartość fosforanów mioinozytolu w bułkach z udziałem nasion lnu oleistego.

Literatura

- [1] Ambroziak Z.: Produkcja piekarsko-ciastkarska. Część I i II, Wyd. WSiP, Warszawa 1999.
- [2] Analiza zbóż i przetworów zbożowych. Red. T. Jaubczyk i T. Haber. Wyd. SGGW/Akademii Rolniczej Warszawa 1981.
- [3] AOAC: Official methods of analysis, 18th edn. Gaithersburg Association of Official Analytical Chemists International, 2006.
- [4] Arendt E.K., Morrissey A., Moore M.M., Dal Bello F.: Gluten-free breads. In: Gluten-Free Cereal Products and Beverages. E.K.Arendt and F.Dal Bello Eds. Food Science and Technology, International Series. Elsevier, 2008, **13**, 289-319.
- [5] Bohn L., Meyer A.S., Rasmussen S.K.: Phytate: impact on environment and human nutrition. A challenge for molecular breeding. J. Zhejiang Univ., Science B, 2008, **9 (3)**, 165-191.
- [6] Catassi C., Fasano A.: Celiac disease. In: Gluten-Free Cereal Products and Beverages. E.K.Arendt and F.Dal Bello Eds. Food Sci. Technol., Int. Series, 2008, **1**, 1-27.
- [7] Darewicz M., Dziuba J.: Dietozależny charakter enteropatii pokarmowych na przykładzie celiakii. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2007, **1 (50)**, 5-15.
- [8] Diowksa A., Sucharzewska D., Ambroziak W.: Wpływ składu mieszanek skrobiowych na właściwości chleba bezglutenowego, Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2008, **2 (57)**, 40-50.
- [9] Gallagher E., Gormley T.R., Arendt E.K.: Crust and crumb characteristics of gluten-free breads. J. Food Eng., 2003, **56 (2-3)**, 153-161.
- [10] Gambuś H.: Nasiona lnu oleistego (*Linum usitatissimum* L.) jako źródło składników odżywczych w chlebie bezglutenowym. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2005, **4 (45) Suppl.**, 61-74.
- [11] Gambuś H., Gambuś F., Pastuszka D., Wrona P., Ziobro R., Sabat R., Mickowska B., Nowotna A., Sikora M.: Quality of gluten – free supplemented cakes and biscuits. Int. J. Food Sci. Nutr., 2009, **60 (S4)**, 31-50.
- [12] Gambuś H.: Pieczywo dla osób chorych na celiakię. W: Prawda, dobro i piękno w naukach rolniczych. Wyd. UR w Krakowie, 2009, ss. 109-120.
- [13] Grases F., Perello J., Prieto R.M., Simonet B.M., Torres J.J.: Dietary myo-inositol hexaphosphate prevents dystrophic calcifications in soft tissues: A pilot study in Wistar rats. Life Sciences, 2004, **75 (1)**, 11-19.
- [14] Kawka A.: Możliwości wzbogacania wartości odżywczych, dietetycznych i funkcjonalnych pieczywa. W: Żywność wzbogacona i nutraceutyki. Wyd. PTTŻ, Oddział Małopolski, 2009, ss. 109-122.
- [15] Kunachowicz H., Nadolna I., Przygoda B., Iwanow K.: Tabele składu i wartości odżywczej żywności. Wyd. Lek. PZWL, Warszawa 2005.
- [16] Latta M., Eskin M.: A Simple and Rapid Colorimetric Method for Phytate Determination. J. Agric. Food Chem., 1980, **28 (6)**, 1313-1315.
- [17] Niewinski M.M.: Advances in Celiac Disease and Gluten-Free Diet. J. Am. Diet. Assoc., 2008, **108 (4)**, 661-672.
- [18] Onomi S., Okazaki Y., Katayama T.: Effect of dietary level of phytic acid on hepatic and serum lipid status in rats fed a high-sucrose diet. Biosci. Biotechnol. Biochem., 2004, **68 (6)**, 1379-1381.
- [19] Oomah B. D.: Flaxseed as functional food source. J. Sci. Food Agric., 2001, **81 (9)**, 889-894.
- [20] Oomah B.D. Mazza G., Kenaschuk E.O.: Cyanogenic compounds in flaxseed. J. Agric. Food Chem., 1992, **40 (8)**, 1346-1348.
- [21] PN-A-74108:1996. Pieczywo. Metody badań.
- [22] Russo G.L.: Dietary n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids: From biochemistry to clinical implications in cardiovascular prevention. Biochem. Pharmacol., 2009, **77 (6)**, 937-946.
- [23] Selvam R.: Calcium oxalate stone disease: Role of lipid peroxidation and antioxidants. Urol. Res., 2002, **30 (1)**, 35-47.

- [24] Stolarczyk A.: Zasady żywienia pacjentów na diecie bezglutenowej. Problemy związane z akceptacją diety. W: Dieta bezglutenowa – co wybrać? Red. Kunachowicz H. Wyd. Lek. PZWL, Warszawa 2001, **5**, 42-49.
- [25] Szkudelski T.: Phytic acid - its influence on organism. J. Anim. Feed Sci., 1997, **6 (4)**, 427-438.
- [26] Szponar L., Mojska H., Ołtarzewski M.G.: Tłuszcze. W: Normy żywienia człowieka – Podstawy prewencji otyłości i chorób niezakaźnych. Red. Jarosz M., Bułhak-Jachymczyk B. Wyd. Lek. PZWL, Wyd. I, Warszawa 2008, **4**, 91-129.
- [27] Troszyńska A., Honke J., Kozłowska H.: Naturalne substancje nieodżywcze (NSN) pochodzenia roślinnego jako składniki żywności funkcjonalnej. Post. Fitot., 2000, **2/2000**, 17-22.
- [28] Weisdorf S.A.: Nutrition in liver disease. In: Textbook of Gastroenterology and Nutrition in Infancy. E Lebenthal Eds., Raven Press, New York, 1998, pp. 665-676.
- [29] WHO/FAO/UNU 2007. Protein and Amino Acid Requirements in Human Nutrition. Report of a Joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation, Geneva, 2002, WHO Technical Report Series 935.
- [30] Ziółkowski B.: Celiakia dorosłych. Przew. Lek., 2005, **3 (8)**, s. 125-130.

This study has been carried out with the financial support of the Commission of the European Communities; FP 6, Thematic Area "Food quality and safety", FOOD-2006-36302 EU-FRESH BAKE. It does not necessarily reflect its views and in no way anticipates the Commission's future policy in this area. This work was also supported by the Polish Ministry of Science and Higher Education, Grant No. 162/6. PR UE/2007/7.


NUTRITIONAL AND DIETARY VALUE OF GLUTEN-FREE ROLLS WITH FLAXSEEDS ADDED

Summary

The objective of the study performed was to demonstrate benefits resulting from the addition of ground flaxseeds to gluten free rolls, at a level equal to 10% of starch as provided by the roll recipe.

Gluten-free rolls, both those enriched and non-enriched with flaxseeds, were baked in a laboratory and, next, their quality and nutritional values were assessed. AOAC methods were used to determine the contents of protein, fat, dietary fibre, and ash. An amino acid analysis was also performed using an AAA-400 analyser (INGOS); a profile of fatty acid was made using a gas chromatograph (QP 5050A, Shimadzu). Based on the amino acid composition, the protein quality indices were computed, i.e. a chemical score (CS) and an exogenous amino acid index (EAA). Additionally, the content of myoinositol phosphates was measured by a colorimetric method with a Wade reagent.

It was confirmed that the amount of ground flaxseeds used to enrich the rolls did not impact the technological quality of gluten-free rolls; however, it significantly increased the content of nutrients therein, i.e. protein (including exogenous amino acids), fat (including alpha-linolenic acid), mineral compounds in the form of ash, and dietary fibre. At the same time, it also reduced the level of digestive carbohydrates compared to the control rolls. The content of phytates in rolls with flaxseeds was significantly higher compared to the non-enriched products.

Key words: gluten-free rolls, common flaxseeds, nutritional value 

AGNIESZKA NAWIRSKA-OLSZAŃSKA, ANITA BIESIADA,
ALICJA Z. KUCHARSKA, ANNA SOKÓŁ-ŁĘTOWSKA

WPLYW SPOSOBU PRZYGOTOWANIA I WARUNKÓW PRZECHOWYWANIA PRZETWORÓW Z OWOCÓW DYNI OLBRZYMIEJ Z DODATKIEM OWOCÓW PIGWOWCA I DERENIA NA ICH WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNE

Streszczenie

Celem badań było porównanie składu fizykochemicznego przetworów z dyni, takich jak: przecieri, soki przecierowe i soki mętne z dodatkiem pigwowca i derenia, świeżych i po trzymiesięcznym przechowywaniu w temperaturze 4 i 30 °C. Ekstrakt, sucha masa oraz zawartość związków mineralnych we wszystkich produktach były na podobnym poziomie. Przecier i sok przecierowy charakteryzowały się znacznie większą lepkością niż sok mętny. Najwięcej związków bioaktywnych pozostało w produktach mało przetworzonych (przecier, sok przecierowy i sok mętny bez dodatku enzymów) oraz przechowywanych w temp. 4 °C. Wykazano bardzo duży ubytek karotenoidów w przetworach poddawanych procesowi tłoczenia, ilość oznaczonych karotenoidów w soku przecierowym wynosiła 5,02 mg/100 g ś.m, w przecierze 4,07 mg/100 g ś.m, a w sokach mętnych $0,1 \div 0,25$ mg/100 g ś.m. Proces tłoczenia wpłynął również na znaczące obniżenie parametrów barwy. Warunki przechowywania miały istotny wpływ na zmniejszenie zawartości witaminy C oraz polifenoli, a nie wpłynęły znacząco na parametry barwy i zawartość karotenoidów.

Słowa kluczowe: *Cucurbita maxima*, *Chaenomeles japonica*, *Cornus mas*, przecier, sok przecierowy, sok mętny

Wprowadzenie

Owoce dyni olbrzymiej (*Cucurbita maxima* Duch.) są bardzo dobrym, nisko kalorycznym surowcem do przetwórstwa, bogatym przede wszystkim w karotenoidy. Poza tym owoce dyni zawierają znaczną ilość witamin: C, E, B₆, a także pierwiastki, takie jak: potas, fosfor, magnez, żelazo i selen [1, 5, 21]. Owoce dyni można wykorzystać

Dr inż. A. Nawirska-Olszańska, dr inż. A.Z. Kucharska, dr inż. A. Sokół-Łętowska, Katedra Technologii Owoców, Warzyw i Zbóż, Wydz. Nauk o Żywności, ul. Chelmońskiego 37/42, dr hab. inż. A. Biesiada prof. UP, Katedra Ogrodnictwa, pl. Grunwaldzki 24, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, 50-375 Wrocław

zarówno do produkcji przetworów słonych, jak i słodkich. Pewną wadą dyni, która może przyczynić się do jej małego spożycie, jest mdły smak oraz specyficzny ogórkowy zapach. Rozwiązaniem tego problemu może być mieszanie dyni z innymi surowcami w celu uzyskania przetworów o lepszych właściwościach sensorycznych i składzie chemicznym.

Owoce derenia właściwego (*Cornus mas* L.) charakteryzują się dużą zawartością suchej masy, ekstraktu, pektyn, kwasów organicznych, a także witaminy C i polifenoli [4, 20]. Ze względu na tak cenny skład chemiczny mogą one być wykorzystywane do produkcji żywności prozdrowotnej oraz jako dodatek wzbogacający inne produkty żywnościowe. Za ciekawy i wartościowy komponent soków, przecierów, likierów czy cukierków należy uznać również owoce pigwowca japońskiego (*Chaenomeles japonica* Thunb.) o dużej zawartości suchej masy, ekstraktu, włókna, polifenoli i kwasowości (pH 2,6, kwasowość miareczkowa 3,5 % w przeliczeniu na kwas cytrynowy), o bardzo przyjemnym silnym zapachu [19].

Celem badań było porównanie właściwości fizycznych i chemicznych przecierów, soków przecierowych oraz soków mętnych przygotowywanych w różnych technologiach na bazie dyni z dodatkiem pigwowca i derenia.

Material i metody badań

Material badawczy stanowiły przeciery, soki przecierowe i mętne przygotowane w trzech wariantach, w skali laboratoryjnej, na bazie przecieru z owoców dyni olbrzymiej z dodatkiem przecieru z owoców pigwowca i derenia. Badania przeprowadzono zaraz po wykonaniu produktów oraz po trzymiesięcznym przechowywaniu w temp. 4 i 30 °C. Owoce dyni odmiany Karowita pochodziły ze Stacji Badawczo-Dydaktycznej Roślin Warzywnych i Ozdobnych, należącej do Katedry Ogrodnictwa UP we Wrocławiu, owoce pigwowca z Ogrodu Botanicznego we Wrocławiu, a owoce derenia z Arboretum w Bolestraszcach. Świeże owoce dyni, pigwowca i derenia rozdrabniano przez ok. 1 min przy użyciu Termomixu. Przygotowanie poszczególnych przetworów odbywało się w następujący sposób:

- **przeciery**: do rozdrobnionej dyni (65 % v/v) dodawano 10 % pigwowca i 25 % derenia (tak przygotowaną mieszaninę traktowano jako bazę do przygotowania pozostałych produktów) oraz 20 % wody (w stosunku do przecieru owocowego), następnie macerowano w termomiksie przez 10 min w temp. 90 °C;
- **sok przecierowy**: do bazy, dodawano 0,02 % preparatu pektolitycznego, Pectinex Smash XXL oraz 20 % wody (w stosunku do przecieru owocowego), następnie macerowano w termomiksie przez 3 h w temp. 45 °C;
- **sok mętny 1**: rozdrobnioną bazę tłoczono bez maceracji i bez dodatku żadnych preparatów pektolitycznych;

- sok mętny 2: do bazy dodawano 0,05 % preparatu pektolitycznego, Pectinex Smash XXL oraz 20 % wody (w stosunku do przecieru owocowego), następnie macerowano w termomiksie przez 3 h w temperaturze 45 °C, następnie tłoczono;
- sok mętny 3: do bazy dodawano 0,05 % preparatu pektolitycznego, Pectinex Smash XXL oraz 0,05 % preparatu amyloglukozydazy AMYLASE AG XXL i 20 % wody (w stosunku do przecieru owocowego), następnie macerowano w termomiksie przez 1,5 h w temp. 50 °C, następnie tłoczono.

Wszystkie przetwory umieszczano w słoikach o pojemności 120 ml, które pasteryzowano przez 30 min, w temp. 85 °C.

Charakterystyka chemiczna przetworów obejmowała określenie zawartości: ekstraktu według PN-90/A-75101/02 [12], suchej masy według PN-90/A-75101/03 [13], popiołu według PN-90/A-75101/08 [14], witaminy C jako kwasu L-askorbinowego według PN-90/A-75101/11 [15], karotenoidów ogółem według PN-90/A-75101/12 [16], zawartości polifenoli ogółem metodą Folina-Ciocalteu'a (w przeliczeniu na kwas galusowy) [9]. Oznaczenie polifenoli ogółem wykonywano w ekstraktach metanolowych (80 % v/v, stosunek materiału do odczynnika ekstrahującego 1 : 5).

Pomiary lepkości prowadzono przy użyciu lepkościomierza BROOKFIELD LV, DV-II-Pro (wrzeczono numer 64, obroty 10, czas 30 s). Wynik odczytywano w Pa·s.

Pomiaru barwy dokonywano w systemie klasyfikacji barw CIE Lab przy użyciu kolorymetru Color Quest XE firmy HunterLab. Pomiarów dokonywano przy użyciu iluminantu D₆₅ dla obserwatora 10°. Przetwory umieszczano w kuwetach o grubości 2 cm. Pomiaru dokonywano w świetle odbitym.

W sokach mętnych oznaczano mętność i obliczano zmętnienie. Badanie mętności wykonywano za pomocą mętnościomierza (Hanna Instrument, Hi 937003 MICROPROCESSOR). Zmętnienie obliczano z równania:

$$Z [\%] = (Z_c/Z_0) \times 100$$

gdzie: Z₀ i Z_c – mętność przed i po wirowaniu przy obrotach 4200 g przez 15 min w temp. 20 °C [11].

Analizę statystyczną przeprowadzono stosując jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA). Różnice oceniano testem Duncana, przy poziomie istotności p<0,05. Do obliczeń statystycznych zastosowano program komputerowy Statistica 8.1. Wszystkie analizy wykonano w trzech powtórzeniach. Wyniki podano w przeliczeniu na świeżą masę przetworów.

Wyniki i dyskusja

Podstawowy skład chemiczny oraz lepkość dyniowego przecieru, soku przecierowego i trzech wariantów soku mętnego z dodatkiem owoców pigwowca i owoców derenia, przed i po 3 miesiącach przechowywania w temperaturze 4 i 30 °C, przedsta-

wiono w tab. 1. W literaturze fachowej brakuje doniesień na temat przecierów, soków przecierowych i mętnych na bazie owoców dyni.

Zawartość ekstraktu w większości badanych przetworów bez przechowywania była na podobnym poziomie 8,0 - 8,3 %, tylko w soku przecierowym znacząco odbiegała od tej wartości i wynosiła 6,3 %. Po przechowywaniu oznaczona zawartość ekstraktu na ogół malała, najmniejszą różnicę odnotowano w soku przecierowym z 6,3 do 6,2 %, a największą w przecierze przechowywanym w temp. 4 °C (z 8,2 do 7,7 %). Warunki przechowywania nie miały istotnego wpływu na zawartość ekstraktu.

Zawartość suchej masy w analizowanych przetworach wahała się od 10,48 do 7,33 %, a po przechowywaniu w większości przypadków nieznacznie wzrosła, wyjątek stanowił sok przecierowy 2 uzyskany po tłoczeniu z dodatkiem preparatu pektolitycznego, Pectinex Smash XXL. Większy przyrost tego parametru stwierdzono w przypadku przechowywania w warunkach chłodniczych. W badaniach Skupień i wsp. [17], nad składem homogenizowanych truskawek z dodatkiem cukru przechowywanych w stanie zamrożonym przez 6 i 12 miesięcy, stwierdzono po 6 miesiącach nieznaczny ubytek suchej masy, natomiast po 12 miesiącach jej zwiększenie.

We wszystkich przetworach po przechowywaniu odnotowano znaczne zmniejszenie zawartości związków mineralnych w postaci popiołu. Początkowa jego zawartość wahała się od 0,79 do 1,70 %, po przechowywaniu zmniejszyła się: w warunkach chłodniczych do 0,66 ÷ 0,84 %, natomiast w warunkach cieplarnianych do 0,46 ÷ 0,74 %. Największy ubytek związków mineralnych zaobserwowano w soku mętym 2 – uzyskanym poprzez tłoczenie z dodatkiem preparatu pektolitycznego, Pectinex Smash XXL, przechowywanym w warunkach chłodniczych (z 1,70 do 0,74 %). Analiza statystyczna wykazała istotny wpływ warunków przechowywania na zmianę zawartości związków mineralnych.

Największą lepkością charakteryzował się przecier i sok przecierowy. Po przechowywaniu w obu tych przetworach zaobserwowano zwiększenie wartości tego parametru, najwięcej w przecierze przechowywanym w temperaturze 30 °C (o 50 %). W soku przecierowym po przechowywaniu w temp. 30 °C wzrost tego parametru był statystycznie nieistotny, a w temp. 4 °C statystycznie lepkość zwiększyła się o 28 %. Lepkość soków mętnych, bez względu na sposób ich uzyskania, była niewielka, a po przechowywaniu nieznacznie zmalała, nie były to jednak różnice statystycznie istotne. W badaniach Nawirskiej-Olszańskiej i wsp. [7] nad przecierami z dyni z dodatkiem m.in. derenia i pigwowca oznaczona lepkość była znacznie mniejsza, wynikać to może z innej technologii przygotowywania przecieru. Badając wpływ różnych preparatów enzymatycznych na jakość soków z jabłek Oszmiański i wsp. [11] zaobserwowali zmniejszenie lepkości pod wpływem preparatów enzymatycznych, natomiast jej wzrost po 6-miesięcznym okresie przechowywania. Zwiększenie lepkości po przechowywaniu w przecierach dereniowych z dodatkami zaobserwowali również Kucharska i wsp. [3].

T a b e l a 1

Zawartość ekstraktu, suchej masy i popiołu oraz lepkość w przetworach na bazie dyni z dodatkiem owoców pigwowca i owoców derenia przed i po 3-miesięcznym przechowywaniu w temperaturze 4 i 30 °C.

Content of extract, dry matter, and ash in, and viscosity of pumpkin preserves with added Japanese quince and cornelian cherry before and after 3 month storage at 4 °C and 30° C.

Przetwory Preserves	Ekstrakt Extract [%]			Sucha masa Dry matter [%]			Popiół Ash [%]			Lepkość Viscosity [Pa s]		
	0	3 L	3 C	0	3 L	3 C	0	3 L	3 C	0	3 L	3 C
Przecier Puree	8,2 ± 0,14bA	7,7 ± 0,11cB	7,9 ± 0,12aB	10,48 ± 0,16aA	10,66 ± 0,14aB	10,49 ± 0,12aA	1,10 ± 0,28cA	0,84 ± 0,35aB	0,71 ± 0,16a,bC	122,70 ± 10,25aB	211,15 ± 14,94aA	249,50 ± 4,39aA
Sok przecierowy Puree juice	6,3 ± 0,07dA	6,2±0,07d B	6,2±0,07c B	7,85±0,11 cC	8,33±0,11 bA	8,04±0,07 cB	0,79±0,08 dA	0,66±0,10 dB	0,46±0,06 dC	44,09±5,6 9bB	62,99±2,2 9bA	48,89±1,3 7bB
Sok mętny 1 Cloudy juice 1	8,0 ± 0,13cA	7,7 ± 0,11cB	7,7 ± 0,09bB	7,33 ± 0,11dC	7,99 ± 0,10eA	7,65 ± 0,09eB	1,10 ± 0,05cA	0,76 ± 0,33cB	0,63 ± 0,19cC	2,21 ± 0,28cA	2,12 ± 0,69cB	2,09 ± 0,57cC
Sok mętny 2 Cloudy juice 2	8,3±0,19a A	8,0±0,12b B	8,1±0,14a B	9,92±0,12 bA	8,09±0,09 dC	8,23±0,10 bB	1,70±0,12 aA	0,76±0,15 cB	0,74±0,15 aB	1,72±0,64 cA	1,41±0,31 cC	1,56±0,18 cB
Sok mętny 3 Cloudy juices3	8,3 ± 0,19aA	8,1 ± 0,12aB	8,1 ± 0,12aB	7,89 ± 0,09cC	8,14 ± 0,06c,dA	7,95 ± 0,12dB	1,40 ± 0,13bA	0,79 ± 0,06aB	0,73 ± 0,21aC	1,63 ± 0,81cA	1,51 ± 0,04cC	1,59 ± 0,34cB

Objaśnienia:/ Explanatory notes:

0 – przed przechowywaniem / before storage; 3L – przechowywane przez 3 miesiące w temp. 4 °C / after 3 month storage at 4 °C; 3 C - przechowywane przez 3 miesiące w temp. 30 °C / after 3 month storage at 30 °C; Litery a, b, c... w kolumnach oznaczają różnice statystycznie istotne (p < 0,05) / The letters a, b, c... in the columns denote statistically significant differences (p < 0,05); Litery A, B, C w wierszach w obrębie oznaczenia, oznaczają różnice statystycznie istotne (p < 0,05) / The letters A, B, C in the line, within the markings, denote statistically significant differences (p < 0,05).

T a b e l a 2

Zawartość wybranych składników bioaktywnych w przetworach na bazie dyni z dodatkiem owoców pigwowca i owoców derenia przed i po 3-miesięcznym przechowywaniu w temp. 4 i 30 °C.
 Content of selected bioactive components in pumpkin preserves enriched with Japanese quince and cornelian cherry before and after 3 month storage at a temperature of 4° C and 30° C.

Przetwory Preserves	Witamina C Vitamin C [mg/100g ś.m.]		Karotenoidy Carotenoids [mg/100g ś.m.]		Polifenole ogółem Total polyphenols [mg GAE/100g ś m]		
	0	3 L	0	3 L	0	3 L	3 C
Przecier Puree	5,82 ± 0,14aA	4,85 ± 0,31aB	5,07 ± 0,07aA	4,00 ± 0,04aB	34,51 ± 2,39aA	29,84 ± 2,93aB	13,20 ± 1,25aC
Sok przecierowy Puree juice	5,60 ± 0,11bA	4,25 ± 0,04bB	4,02 ± 0,11bA	3,78 ± 0,08bB	33,15 ± 1,37bA	26,34 ± 1,29bB	12,36 ± 1,69bC
Sok mętny 1 Cloudy juice 1	5,66 ± 0,13bA	3,39 ± 0,08cB	0,35 ± 0,07cA	0,30 ± 0,06cB	22,37 ± 1,72cA	15,97 ± 2,08b,cB	12,60 ± 1,28bC
Sok mętny 2 Cloudy juice 2	3,10 ± 0,19cA	2,64 ± 0,09dB	0,12 ± 0,01dA	0,08 ± 0,00dB	17,15 ± 1,75dA	15,63 ± 1,31cA	9,26 ± 0,64cC
Sok mętny 3 Cloudy juice 3	3,32 ± 0,26cA	2,60 ± 0,18dB	0,10 ± 0,00dA	0,07 ± 0,00dB	16,80 ± 1,68dA	15,02 ± 1,04dA	8,65 ± 0,81dC

Objaśnienia: patrz tab. 1/ Explanatory notes: See Tab. 1.

Oznaczona zawartość witaminy C w badanych produktach wahała się od 3,10 do 5,82 mg/100 g ś.m. Dodatek preparatów enzymatycznych spowodował jej zmniejszenie. Warunki przechowywania istotnie wpływały na poziom witaminy C w badanych przetworach. Przechowywanie we wszystkich przypadkach wpłynęło na zmniejszenie zawartości tej witaminy, jednak jej ubytek był znacznie mniejszy podczas przechowywania w temp. 4 °C niż w 30 °C. Straty zawartości witaminy C podczas przechowywania w temp. 30 °C sięgały 67 %, a w temp. 4 °C – 40 %. Wyniki te pozostają w zgodzie z wynikami uzyskanymi przez Mazurka i Jamroza [6], którzy stwierdzili znacznie większy ubytek witaminy C w sokach przetrzymywanych w temp. 21 niż w 4 °C. Warto podkreślić, że większą stratę witaminy C wykazano w przetworach w których jej początkowa zawartość była większa (w przecierze z 5,82 do 1,92 mg/100 g ś.m., a w soku mętym 2 z 3,10 do 1,33 mg/100 g ś.m.). Przetwory z dyni, surowca bogatego w karotenoidy (2 - 10 mg/100 g ś.m.) [5, 8], zawierały także znaczące ilości tych składników. W badaniach Biesiady i wsp. [1] dynia odmiany Karowita zawierała 8,52 mg karotenoidów w 100 g ś.m. Dodatek owoców pigwowca i derenia oraz dodatek preparatów pektolitycznych i cały proces przetwarzania spowodował zmniejszenie zawartości tego składnika. Największy wpływ na zmniejszenie zawartości karotenoidów w otrzymanych produktach miał proces tłoczenia, po którym nastąpił ubytek ich zawartości z 5,04 mg/100 g ś.m. w przecierze do 0,35 mg/100 g ś.m. w soku mętym bez dodatku preparatów enzymatycznych, a jedynie tłoczonym. Dodatek preparatów enzymatycznych zmniejszył jeszcze bardziej ich zawartość w produkcie końcowym (do 0,1 ÷ 0,12 mg/100 g ś.m.). Przechowywanie wpłynęło w istotny sposób na zmniejszenie zawartości karotenoidów, jednak warunki, w jakich oceniane produkty były przechowywane, nie miały już statystycznie istotnego wpływu na ich zawartość. Wyniki uzyskane w niniejszych badaniach potwierdzają wcześniejsze badania Nawirskiej-Olszańskiej i wsp. [7] nad wpływem dodatku owoców pigwowca i owoców derenia do przecierów z dyni, na zmniejszenie zawartości karotenoidów.

Technologia produkcji soków wpływa istotnie na zawartość związków fenolowych, co udowodnili Spanos i wsp. [18] oraz Cliff i wsp. [2]. Znaczne różnice zawartości polifenoli w przetworach spowodowane mogą być również warunkami prowadzenia procesu technologicznego, które mogą istotnie wpłynąć na ich zawartość w produkcie końcowym. Straty polifenoli związane z tłoczeniem surowca mogą sięgać nawet 50 % [10]. Stąd też w badaniach własnych ich największa zawartość została oznaczona w najmniej przetworzonych i nieprzechowywanych produktach. Istotnie większą degradację związków polifenolowych stwierdzono po przechowywaniu w temp. 30 °C. W przypadku soków mętnych 2 i 3 nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic pomiędzy sokami bez przechowywania i przechowywanych w warunkach chłodniczych.

Przecier i sok przecierowy charakteryzowały się istotnie wyższą wartością parametru L*, odpowiadającym za jasność barwy, parametrem a*, określającym udział

barwy od czerwonej do zielonej i parametrem b*, określającym udział barwy od żółtej do niebieskiej w postrzeganej barwie (tab. 3).

Tabela 3

Parametry barwy L*, a*, b* przetworów na bazie dyni z dodatkiem owoców pigwowca i owoców derenia przed i po 3-miesięcznym przechowywaniu w temp. 4 i 30 °C.

Colour parameters L*, a*, b* of pumpkin preserves with added Japanese quince and cornelian cherry before and after 3 month storage at 4° C and 30° C.

Przetwory Preserves	Parametr L* Parameter L*			Parametr a* Parameter a*			Parametr b* Parameter b*		
	0	3 L	3 C	0	3 L	3 C	0	3 L	3 C
Przecier Puree	41,12 ± 0,01aC	42,52 ± 0,02aB	43,27 ± 0,01aA	21,72 ± 0,01aA	19,96 ± 0,16aB	16,20 ± 0,15aC	20,45 ± 0,18aC	21,75 ± 0,35aB	22,71 ± 0,28aA
Sok przecierowy Puree juice	41,08 ± 0,07aC	41,36 ± 0,03bB	43,22 ± 0,06aA	20,86 ± 0,11bA	16,30 ± 0,06bB	14,99 ± 0,09bC	20,87 ± 0,11aB	20,02 ± 0,10bC	22,21 ± 0,08aA
Sok mętny 1 Cloudy juice 1	30,96 ± 0,13bC	32,44 ± 0,22cB	36,51 ± 0,04bA	5,26 ± 0,07cA	3,48 ± 0,19cB	2,58 ± 0,01cC	5,01 ± 0,01bB	5,49 ± 0,33cA	2,03 ± 0,05bC
Sok mętny 2 Cloudy juice 2	27,65 ± 0,09dC	28,12 ± 0,04eB	28,72 ± 0,03cA	4,96 ± 0,01cA	3,18 ± 0,15cB	1,65 ± 0,04cC	0,95 ± 0,03cA	0,71 ± 0,15dC	0,80 ± 0,21bB
Sok mętny 3 Cloudy juice 3	28,45 ± 0,06cC	29,22 ± 0,17dA	28,66 ± 0,05cB	5,27 ± 0,05cA	3,38 ± 0,21cB	2,00 ± 0,06cC	0,92 ± 0,01cB	0,94 ± 0,06dB	1,43 ± 0,13bA

Objaśnienia: patrz tabela 1/ Explanatory notes: See Table 1.

Tabela 4

Mętność i zmętnienie soków mętnych na bazie dyni z dodatkiem owoców pigwowca i owoców derenia przed i po 3-miesięcznym przechowywaniu w temp. 4 i 30 °C.

Cloudiness and muddiness of pumpkin cloudy juices with added Japanese quince and cornelian cherry before and after 3 month storage at 4° C and 30° C.

Przetwory Preserves	Mętność Turbidity [NUT]			Zmętnienie Turbidity stability [%]		
	0	3 L	3 C	0	3 L	3 C
Sok mętny 1 Cloudy juice 1	797 ± 4,39aC	938 ± 8,25aB	1600 ± 6,93aA	14,9b ± 0,39A	9,2 ± 0,21bB	6,4 ± 0,18bB
Sok mętny 2 Cloudy juice 2	188 ± 1,37cC	250 ± 5,69bB	465 ± 1,72bA	34,6a ± 0,74A	17,6 ± 0,57aB	11,0 ± 0,56aB
Sok mętny 3 Cloudy juice 3	305 ± 9,72bB	334 ± 1,28cA	347 ± 1,06cA	12,1b ± 0,77A	2,5 ± 0,32cB	1,4 ± 0,21cB

Objaśnienia: patrz tabela 1/ Explanatory notes: / See Table 1.

Proces przechowywania spowodował rozjaśnienie badanych przetworów. Poza sokiem mętym 3 jasność pozostałych produktów była największa po przechowywaniu w temp. 30 °C. Warunki przechowywania w istotny sposób wpłynęły na jasność produktów. Największy udział barwy czerwonej miały produkty w chwili przygotowania, przechowywanie spowodowało istotne obniżenie tego parametru, większe w przypadku przechowywania w temp. 30 °C. Związane jest to zapewne z degradacją antocyjanów obecnych w dereniu. Zmiany wartości parametr b^* nie wykazywały jednakowych tendencji, uzależnione były od rodzaju produktu. Proces przechowywania w różny sposób wpłynął na jego wartość. Zmiany parametrów barwy a^* i b^* wskazują na zachodzenie negatywnych procesów brązowienia produktów podczas przechowywania, szczególnie w temp. 30 °C. Analogiczne zmiany zaobserwowali Kucharska i wsp. [3], badając wpływ przechowywania na przecieri dereniowe z dodatkami.

Dodatkowo w sokach mętnych zbadano mętność i obliczono ich zmętnienie, wyniki zestawiono w tab. 4. W trakcie przechowywania mętność soków wzrastała, większy jej przyrost wystąpił w wyższej temperaturze. Z obliczeń statystycznych wynika, że warunki przechowywania miały istotny wpływ na mętność większości badanych soków. Również dodatek preparatów enzymatycznych w istotny sposób wpłynął na badaną cechę. Najmniejszą zmianą mętności po procesie przechowywania charakteryzowała się sok 3. Obserwacje te pozostają w zgodzie z wynikami badań Oszmiańskiego i wsp. [11] nad mętnością soków jabłkowych z dodatkiem różnych preparatów enzymatycznych.

Obliczona stabilność mętności soków po przechowywaniu zmalała. Stwierdzono, że warunki przechowywania nie miały istotnego wpływu na obniżenie się tego parametru. Najbardziej, o 88 %, zmalało zmętnienie soku 3, z dodatkiem preparatu pektolitycznego i amyloglukozydazy. Z badań Oszmiańskiego i wsp. [11] wynika, że zmętnienie soków jabłkowych, z dodatkiem preparatów enzymatycznych, po 6 miesiącach przechowywania zwiększyło się, dodatkowo stabilność mętności w sokach jabłkowych była wyższa niż w sokach dyniowych z dodatkiem owoców pigwowca i owoców derenia. Taka rozbieżność podyktowana może być właściwościami surowca wykorzystanego do produkcji soków mętnych.

Wnioski

1. Przechowywanie w warunkach chłodniczych miało istotny wpływ na zmniejszenie strat związków mineralnych oznaczonych jako popiół, witaminy C, polifenoli ogółem, a także mniejsze zachowanie barwy (parametru a^*) w otrzymanych przetworach z owoców dyni olbrzymiej.
2. Przecier i sok przecierowy z owoców dyni olbrzymiej można zaliczyć do przetworów bogatych w karotenoidy. Proces tłoczenia miał bardzo istotny wpływ na zmniejszenie ich zawartości w otrzymanych produktach.

3. Proces tłoczenia oraz warunki przechowywania w istotny sposób wpłynęły na zmniejszenie zawartości polifenoli ogółem w badanych przetworach.
4. Stabilność mętności badanych soków po przechowywaniu była niewielka od 1,4 do 11 % w temp. 30 °C i od 2,5 do 17,6 % w temp. 4 °C.

Literatura

- [1] Biesiada A., Nawirska A., Kucharska A.Z., Sokół-Lętowska A.: The effect of nitrogen fertilization methods on yield and chemical composition of pumpkin (*Cucurbita maxima*) fruits before and after storage. *Vegetable Crops Research Bulletin*, 2009, **70**, 202-211.
- [2] Cliff M., Dever M.C., Gayton R.: Juice extraction process and apple cultivar influence on juice properties. *J. Food Sci.*, 1991, **56** (6), 1614-1617, 1627.
- [3] Kucharska A.Z., Kowalczyk K., Nawirska-Olszańska A., Sokół-Lętowska A.: Wpływ dodatku aronii, truskawek i malin na skład fizykochemiczny przecieru dereniowego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **4** (71), 95-106.
- [4] Kucharska A.Z., Sokół-Lętowska A., Piórecki N.: Differentiation of chemical composition of fruits from *Cornus mas* L. International Scientific Conference Quality of Horticultural Production, Lednice, Czech Republic 2007, May 30-31, pp. 285-294.
- [5] Kunachowicz, H., Nadolna, I., Przygoda, B., Iwanowicz, K.: Tabele składu i wartości odżywczej żywności. Wyd. Lek. PZWL, Warszawa 2005.
- [6] Mazurek A., Jamroz J.: Stabilność witaminy C w sokach owocowych i nektarze z czarnej porzeczki podczas przechowywania, *Acta Agrophysica*, 2010, **16** (1), 93-100.
- [7] Nawirska-Olszańska A., Biesiada A., Sokół-Lętowska A., Kucharska A.Z.: Content of bioactive compounds and antioxidant capacity of pumpkin puree enriched with Japanese quince, cornelian cherry, strawberry and apples. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 2011, **10** (1), 51-60.
- [8] Niewczas J., Mitek M.: Wpływ przechowywania nowych odmian dyni olbrzymiej (*Cucurbita maxima*) na wybrane parametry składu chemicznego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **5** (54), 155-164.
- [9] Olszen M.E., Andersson S., Oredsson S., Berglund R.H., Gustavsson K.R.: Antioxidant levels and inhibition of cancer cell proliferation in vitro by extracts from organically and conventionally cultivated strawberries. *J. Agric. Food Chem.*, 2006, **54**, 1248-1255.
- [10] Oszmiański J.: Soki owocowe o wysokiej aktywności biologicznej. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2007, **4**, 12-14.
- [11] Oszmiański J., Wojdyło A., Kolniak J.: Effect of pectinase treatment on extraction of antioxidant phenols from pomace, for the production of puree-enriched cloudy apple juices. *Food Chem.*, 2011, **127**, 623-631.
- [12] PN-90/A-75101/02 Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. Oznaczenie zawartości ekstraktu ogólnego.
- [13] PN-90/A-75101/03 Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. Oznaczenie zawartości suchej masy metodą wagową.
- [14] PN-90/A-75101/08 Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. Oznaczenie zawartości popiołu ogólnego i jego alkaliczności.
- [15] PN-90/A-75101/11 Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. Oznaczenie zawartości witaminy C.
- [16] PN-90-75101/12 Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. Oznaczenie zawartości karotenoidów ogółem.
- [17] Skupień K., Wójcik-Stopczyńska B.: Ocena jakości przecierów z truskawek odmiany „Elsanta”. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* 2005, **4** (2), 25-35.

- [18] Spanos G.A., Wrolstad R.E., Hestherbell D.A.: Influence of processing and storage on the phenol composition of apple juice. *J. Agric. Food Chem.*, 1990, **38**, 1572-1579.
- [19] Thomas, M., M.J. Crépeau, K. Rumpunen, and J.-F. Thibault.: Dietary fibre and cell-wall polysaccharides in the fruits of Japanese quince (*Chaenomeles japonica*). *Lebensmittel-Wissenschaft Technologie*, 2000, **33**, 24-131.
- [20] Tural S., Koca I.: Physico-chemical and antioxidant properties of cornelian cherry fruits (*Cornus mas* L.) grown in Turkey. *Sci. Hortic.*, 2008, **116**, 362-366.
- [21] USDA National Nutrient Database for Standard Reference. 2004, Nutritional value of pumpkin and winter squash. Release **17**.

EFFECT OF PRODUCTION METHOD AND STORAGE CONDITIONS OF PUMPKIN PRESERVES ENRICHED WITH JAPANESE QUINCE AND CORNELIAN CHERRY ON THEIR PHYSICAL-CHEMICAL PROPERTIES

S u m m a r y

The objectives of the study was to compare the physical and chemical composition of fresh and 3-month stored pumpkin preserves, such as purees, puree juices, and cloudy juices, all of them enriched with the Japanese quince and cornelian cherry; the preserves were stored at a temperature of 4 °C and 30 °C. The extracts, the dry matter, and the content of mineral compounds were similar in all of the products. The puree and puree juice were characterized by a much higher viscosity level than the cloudy juice. The largest amounts of bioactive compounds were detected in the lowly processed products (puree, puree juice, and cloudy juice with no enzymes added) and in those stored at 4 °C. In the products pressed, it was found that the loss of carotenoids was the highest; the quantity of carotenoids determined in the puree juice was 5.02 mg/100 g FM, in the puree: 4.07 mg/100 g FM, and in the cloudy juices: between 0.1 and 0.25 mg/100g FM. The pressing process impacted also the colour parameters and caused a significant deterioration thereof. The storage conditions contributed significantly to the decrease in the content of vitamin C and polyphenols; however, they did not significantly impact the colour parameters or the content of carotenoids.

Key words: *Cucurbita maxima*, *Chaenomeles japonica*, *Cornus mas*, puree, puree juice, cloudy juice ☒

LUBOSŁAWA NOWACZYK

OCENA JAKOŚCI I PRZYDATNOŚCI TECHNOLOGICZNEJ PAPRYKI (*CAPSICUM SPP.*) LINII MIĘKKOMIĘKISZOWEJ (SOFT-FLESH)

Streszczenie

Formy miękkomięszowe papryki przeznaczone są do produkcji przecierów zachowujących w pełni walory smakowe i odżywcze surowca. Materiałem badawczym były owoce pochodzące z dwóch linii soft-flesh wyselekcjonowanych z mieszańca międzygatunkowego *Capsicum frutescens* L. × *Capsicum annuum* L. Oceniano owoce, perykarp, puree uzyskane z przecierania i wyciskania owoców oraz pozostałości po przecieraniu i wyciskaniu. Owoce badanych linii różniły się pod względem średniej masy oraz szerokości. Wydajność technologiczna, rozumiana jako procentowy udział puree w stosunku do masy surowca, była jednakowa niezależnie od linii owoców, a jednocześnie większa przy zastosowaniu wyciskania. Technika HPLC wykazano, że najwięcej kapsaicyny i dihydrokapsaicyny znajdowało się w puree. O około połowę niższy poziom kapsaicynoidów stwierdzono w perykarpie owoców. Zdecydowanie najmniej było ich w pozostałościach po separacji miękkiej tkanki perykarpu. Zasadnicza część kapsaicynoidów przenikała w czasie przecierania lub wyciskania z łożyska, będącego miejscem ich syntezy, do puree. Stwierdzono, że w ocenianym materiale udział kapsaicyny był większy niż dihydrokapsaicyny.

Słowa kluczowe: kapsaicyna, dihydrokapsaicyna, puree, mechaniczna separacja

Wprowadzenie

Czynnikami warunkującymi rozwój przetwórstwa roślin są innowacje technologiczne oraz wprowadzanie nowych odmian surowców. W celu rozszerzenia zmienności o nowe kombinacje genów i warunkowanych przez nie cech wykorzystuje się hybrydyzację międzygatunkową. W obrębie rodzaju *Capsicum* możliwe jest tworzenie mieszańców między *C. annuum* L. i *C. frutescens* L. Dotyczy to głównie potencjału produkcyjnego pierwszego z nich i zróżnicowania morfologicznego i technologicznego owoców drugiego. Dobrze plonujące linie miękkomięszowe (soft-flesh) wyprowa-

dzone z takich mieszańców stanowią surowiec do produkcji przecierów i koncentratów.

Przetwory te w pełni zachowują walory sensoryczne i żywieniowe surowca. Wynika to z możliwości mechanicznej separacji tkanki perykarpu od części niejadalnych bez konieczności stosowania wysokiej temperatury do maceracji surowca. Wyniki badań nad termiczną obróbką surowca [4, 10] wskazują jednoznacznie, że ten sposób przetwarzania jest przyczyną wielu zmian biochemicznych, mimo systematycznego doskonalenia technologii produkcji.

Dziedziczenie umiejętności syntezy kapsaicynoidów, grupy metabolitów wtórnych specyficznych dla *Capsicum*, opisano jako monogeniczne, zależne od obecności allela dominującego. Tak prosty sposób przekazywania informacji genetycznej wskazywałby, że w naturze mogą funkcjonować albo formy ostre albo słodkie, pozbawione kapsaicynoidów. W rzeczywistości istnieje bardzo duża liczba odmian uprawnych, lokalnych i form dzikich różniących się znacznie ostrością owoców. Należy zatem przyjąć, że obecność genu *S* jest konieczna do syntezy omawianych związków. Jednak efektywność działania zależy od interakcji z innymi elementami genomu [3] oraz od stopnia dojrzałości owoców. Ponadto, poziom kapsaicynoidów modyfikowany jest dodatkowo warunkami środowiska [1, 7, 17]. W celu uzyskania wymaganej ostrości smaku możliwe jest także tworzenie mieszańców przy wykorzystaniu linii lub odmian o znanym poziomie kapsaicynoidów [2].

Miejscem syntezy kapsaicynoidów są komórki łożyska, z których przenikają do innych tkanek owocu, przede wszystkim do perykarpu, stanowiącego część jadalną. Obserwuje się także dystrybucję do organów wegetatywnych to znaczy łodyg i liści [8]. Przedstawiony opis wskazuje, że poziom kapsaicynoidów, warunkowany przez tak wiele czynników środowiskowych, może być niestabilny, a surowiec lub uzyskany produkt trudny do standaryzacji. Ustalenie korelacji między istotnymi cechami technologicznymi [12] stanowić może pewne ułatwienie w tym zakresie.

Celem podjętych badań była ocena przydatności technologicznej, a przede wszystkim zawartości kapsaicyny i dihydrokapsaicyny w perykarpie oraz produktach uzyskanych z zastosowaniem dwóch sposobów mechanicznej separacji miękkiej tkanki perykarpu z owoców. Ocenie podlegały także pozostałości po oddzieleniu tkanki owocni od części niejadalnych.

Material i metody badań

Materiałem badawczym były owoce linii 12 i 18, wyprowadzone z mieszańca *Capsicum frutescens* L. × *C. annum* L., charakteryzujące się owocami typu soft-flesh. Pochodziły one z upraw w nieogrzewanym namiocie foliowym, w stacji doświadczalnej Katedry Genetyki i Biotechnologii Roślin Uniwersytetu Technologiczno-Przyrodniczego w Bydgoszczy. Zbiory przeprowadzono w fazie pełnej dojrzałości,

a owoce poddano analizie biometrycznej, określając średnią masę, długość, szerokość i grubość ścian, zawartość ekstraktu oraz suchej masy. Oceny dokonano w trzech powtórzeniach po 10 owoców. Ustalono także wydajność technologiczną wyrażoną procentowym udziałem puree w masie surowca (owoce bez szypulek). Z plonów każdej linii wydzielono 7 prób losowo wybranych owoców po około 1 kg każda. W pierwszej, z owoców wycięto łożyska z nasionami i przegrody wewnętrzne pozostawiając perykarp. Zawartość substancji rozpuszczalnych, to jest ekstraktu, mierzono za pomocą refraktometru. Zawartość suchej masy oznaczano metodą suszarkową w temp. 105 °C. Z pozostałych, wcześniej umytych owoców przygotowano 6 jednokilogramowych prób. Trzy z nich rozdrobniono w mikserze i przetarto przez sito. Trzy pozostałe poddano wyciskaniu w wyciskarce do soku. Na podstawie różnic masy surowca i produktu ustalono wydajność technologiczną. Z uzyskanych materiałów: perykarp (PE), puree przecierane (PP), puree wyciskane (PW), pozostałości po przecieraniu (RP) i wyciskaniu (RW) wydzielono około 100 g porcje. Wysuszono je w suszarce z nawiewem powietrza o temp. 60 °C i ciśnieniu atmosferycznym. Proces suszenia trwał 3 doby.

Zawartość kapsaicyny i dihydrokapsaicyny oznaczano metodą HPLC, zgodnie z procedurą opisaną przez Collins i wsp. [6] w odniesieniu do standardowych form hard-flesh. Różnice dotyczyły opisanego wyżej sposobu przygotowania próbek. Wysuszony materiał mielono bezpośrednio przed ekstrakcją kapsaicynoidów. Próbkę proszku o masie 1,5 g zalewano 15 ml acetonitrylu w probówkach o pojemności 50 ml. Ekstrakcję prowadzono w łaźni wodnej, w temp. 80 °C przez 4 h, wstrząsając ręcznie co godzinę. Uzyskany supernatant filtrowano przez filtry Waters-Millex 0,45 µm zakładane na strzykawkę 10 ml. Filtrat używano do analiz HPLC w aparacie Perkin-Elmer, Series 200, z autosamplerem. Zastosowano kolumnę typu reverse-phase Nova-Pak 100 × 5 mm, wypełnioną żelalem krzemionkowym C18. Jako eluent stosowano metanol. Standardy: 8-methyl-N-vanillyl-6-nonemamide (kapsaicyna) i N-vanillylnonemamide (dihydrokapsaicyna) pochodziły z firmy Sigma-Aldrich.

Wyniki badań poddano analizie statystycznej. Za pomocą testu Tukey'a weryfikowano istotność różnic między wartościami średnimi przy $p = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

W pracach nad hybrydyzacją międzygatunkową *C. frutescens* L. × *C. annuum* L., w ramach tematu badawczego nad genetycznym doskonaleniem roślinnych źródeł surowcowych do produkcji nutraceutyków, uwzględniono aspekty technologiczne i ekologiczne. Założono, że proces technologiczny uzyskanego surowca powinien być energooszczędny. Miękki miąższ dojrzałych owoców pozwala na bardzo prostą, mechaniczną separację tkanki perykarpu od części niejadalnych. Zbędna jest maceracja owoców w wysokiej temperaturze. W rezultacie uzyskuje się jednorodny, homogeniczny produkt, charakteryzujący się określonym stopniem ostrości smaku. Poziom tej

cechy uzależniony jest od ogólnej zawartości kapsaicynoidów oraz ich przenikania do puree w trakcie przecierania lub wyciskania owoców.

Różnice cech morfologicznych badanych linii dotyczyły średniej masy oraz szerokości owoców (tab. 1). Większą masą i szerszymi owocami wyróżniła się linia 18. Pod względem technologicznym owoce soft-flesh powinny charakteryzować się na tyle małą masą, aby nie ulegały uszkodzeniom podczas transportu. Jednocześnie wiadomo [12], że masa owoców tych form jest istotnie dodatnio skorelowana z grubością ścian. Właściwość ta korzystnie wpływa na wydajność technologiczną. W pracach nad tworzeniem nowych odmian konieczne jest zatem poszukiwanie optymalnego poziomu tych cech.

Tabela 1

Charakterystyka morfologiczna owoców papryki linii miękkomiększowych (*Capsicum* spp.)
Morphological profile of *Capsicum* spp. fruits of soft-flesh capsicum lines.

Linia Line	Masa [g] Weight [g]	Długość [mm] Length [mm]	Szerokość [mm] Width [mm]	Grubość ścian [mm] Wall thickness [mm]
12	9,38 ^a	51,2 ^a	25,6 ^a	2,95 ^a
18	10,6 ^b	52,3 ^a	29,4 ^b	3,07 ^a

Objaśnienie / Explanatory note:

Wartości średnie w kolumnach oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie istotnie / Mean values in the columns denoted by the same letters do not differ statistically significantly.

Twardoowocowe odmiany papryki ostrej różnią się pod względem rozmiarów i masy owocu. Zazwyczaj są to jednak genotypy o drobnych jagodach. W badaniach Cisneros-Pinedy i wsp. [5] nad zawartością kapsaicynoidów oceniono także inne cechy surowca. Masa owocu odmiany Habanero orange (*Capsicum chinense* Jacq.), jednej z najbardziej ostrych form papryki, nie przekroczyła 7 g. W tureckich odmianach papryki ostrej [15] wahała się ona od 0,75 g w Cin (*Capsicum frutescens* L.) do 2,57 g, w Maras (*Capsicum annuum* L.). Polskie odmiany papryki ostrej charakteryzują się większą masą owoców [9].

Badane linie nie różniły się pod względem zawartości suchej masy owocni (tab. 2), a jej poziom był niższy od obserwowanej wśród twardoowocowych odmian i mieszańców hiszpańskich oraz węgierskich form papryki ostrej [2], ocenianych w zakresie przydatności do produkcji suszonych przypraw. Natomiast zbliżoną zawartość suchej masy oznaczyły Perucka i wsp. [14] w półostrej odmianie Capel hot. Nie stwierdzono różnic między liniami w zakresie wydajności technologicznej surowca. Bardzo duży wpływ na poziom tej cechy miał sposób pozyskiwania puree. Zdecydowanie efektywniejszy okazał się proces wyciskania.

Tabela 2

Charakterystyka technologiczna owoców papryki linii miękkomięszowych *Capsicum* spp.
Technological profile of *Capsicum* spp. fruits of soft-flesh capsicum lines.

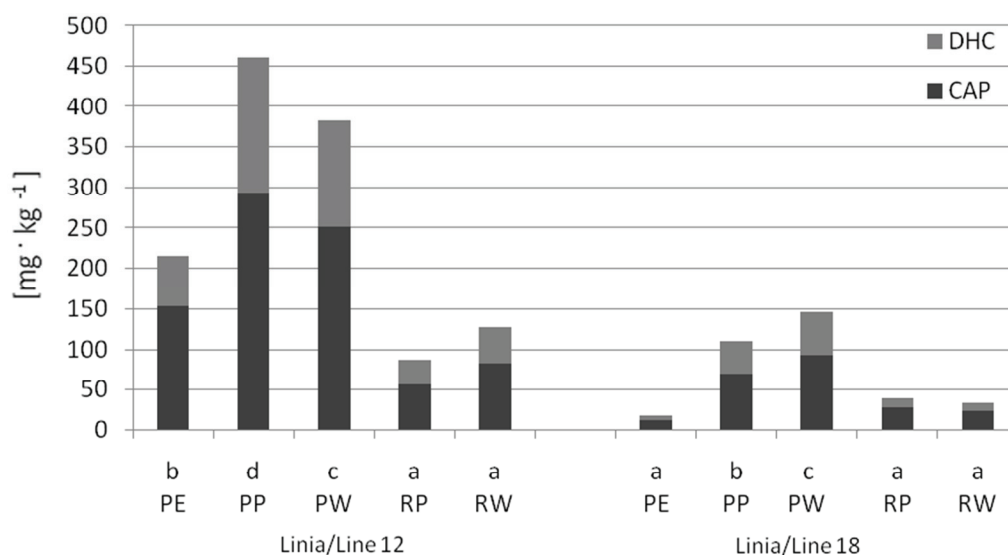
Linia Line	Zawartość ekstraktu Content of soluble solids [%]	Zawartość suchej masy Dry matter content [%]	Wydajność technologiczna Technological performance [%]	
			przecieranie sieving	wyciskanie squeezing
12	7,53 ^a	8,80 ^a	58 ^a	69 ^a
18	8,51 ^a	8,71 ^a	57 ^a	69 ^a

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

Na rys. 1. przedstawiono zawartość kapsaicynoidów w perykarpie, w puree, a także w pozostałościach po separacji tkanki perykarpu. Puree uzyskane w wyniku zastosowanych metod charakteryzowało się największą zawartością każdego z badanych metabolitów, jak i w odniesieniu do sumy obu związków. Istotnie mniej tych związków zawierał produkt otrzymany w wyniku wyciskania miąższu z owoców. Kilkakrotnie mniejsza była ilość kapsaicyny i dihydrokapsaicyny w pozostałościach po przecieraniu i wyciskaniu, w relacji do ilości oznaczonych w puree.

Podejmując próbę wyjaśnienia obserwowanych wyników należy wskazać, że miejscem syntezy kapsaicynoidów jest tkanka łożyska oraz w pewnym zakresie przegrody [16]. W badaniach nad obecnością kapsaicynoidów w owocach kilku odmian papryki uprawianej w Meksyku [5] stwierdzono, że ich zawartość w łożysku była kilkunastokrotnie większa niż w perykarpie. W dwóch z nich w perykarpie stwierdzono tylko ilości śladowe, mimo bardzo dużej zawartości tych metabolitów w łożysku. Odnosząc te dane do własnych badań należałoby się spodziewać, że pozostałości tkanki łożyska w resztkach po przecieraniu i wyciskaniu powinny być bogate w kapsaicynę i dihydrokapsaicynę. Okazało się jednak, że zastosowane sposoby oddzielania miękkiej tkanki perykarpu od łożyska, nasion, przegród i skórki spowodowały uwolnienie badanych związków do puree. Można zatem przedstawić sugestię, że ilość kapsaicyny, dihydrokapsaicyny oraz sumy tych związków w puree i pozostałościach, odpowiednio dla dwóch sposobów separacji, powinna być jednakowa lub co najmniej zbliżona. Jednak większą zawartość stwierdzono w puree, a także w pozostałościach po procesie przecierania niż w produktach uzyskanych przez wyciskanie. Był to niewątpliwie efekt różnej struktury pozostałości po przecieraniu i wyciskaniu, a w konsekwencji przygotowania próbek do analiz z różnym udziałem resztek perykarpu, łożyska, nasion i skórki. Jako uwagę uzupełniającą i modyfikującą do metody opracowanej przez Collins i wsp. [6] w stosunku do standardowych form twardoowocowych należy podać, że

próbki do analiz z pozostałości po separacji należy przygotowywać z większych ilości materiału, tak aby były one w pełni reprezentatywne. Masa przed suszeniem nie powinna być mniejsza niż 100 g.



Dane dotyczące sumy kapsaicynoidów oznaczone takimi samymi literami w obrębie linii nie różnią się statystycznie istotnie / Data concerning the sum of capsaicinoids denoted by the same letters within one line do not differ statistically significantly.

Rys. 1. Zawartość kapsaicyny (CAP) i dihydrokapsaicyny (DHC) w perykarpie (PE), puree przecieranym (PP), puree wyciskanym (PW), pozostałościach po przecieraniu (RP) i pozostałościach po wyciskaniu (RW) owoców dwóch linii soft-flesh *Capsicum* spp.

Fig. 1 Content of capsaicin (CAP) and dihydrocapsaicin (DHC) in pericarp (PE), sieved puree (PP), squeezed puree (PW), sieved leftovers (RP), and squeezed leftovers (PW) of fruits of two soft-flesh *Capsicum* spp. lines.

Ze względów praktycznych celowe staje się porównanie zawartości omawianych związków między badanymi materiałami a standardową, polską odmianą papryki. Według badań Peruckiej i Materskiej [13] zawartość kapsaicyny i dihydrokapsaicyny w owocach odmiany Bronowicka ostra sięga poziomu 880 mg/kg⁻¹. Porównując tę wartość z poziomem tej cechy w badanych puree stwierdzono, że linia 12 charakteryzowała się o około połowę mniejszą zawartością kapsaicynoidów. Koncentracja metabolitów w puree uzyskanych z owoców linii 18 była wielokrotnie mniejsza.

W tab. 3. przedstawiono stosunki ilościowe między kapsaicyną i dihydrokapsaicyną w badanych materiałach. Stwierdzone różnice nie były duże. Można jednak zauważyć, że najbardziej stabilne relacje zawartości tych metabolitów były typowe dla obu rodzajów puree. Zróżnicowanie omawianych zależności w owocach odmian twar-

doowocowych, będących przedmiotem badań już opublikowanych [2, 5, 9, 15], jest zdecydowanie większe i waha się w granicach 0,3 do 7,8 zależnie od ogólnego poziomu kapsaicynoidów.

Tabela 3

Relacje ilościowe kapsaicyny do dihydrokapsaicyny w analizowanym materiale linii soft-flesh *Capsicum* spp.

Quantitative relationships between capsaicin and dihydrocapsaicin in assessed material of *Capsicum* spp. soft-flesh lines.

Linia Line	Perykarp Pericarp	Puree przecierane Sieved puree	Puree wyciskane Squeezed puree	Pozostałości po przecieraniu Leftovers after sieving	Pozostałości po wyciskaniu Leftovers after squeezing
12	2,47	1,74	1,90	1,82	1,80
18	2,00	1,75	1,75	2,25	2,30

Wnioski

1. Zróżnicowanie genetyczne będące efektem hybrydyzacji międzygatunkowej *Capsicum* spp. pozwoliło na wyhodowanie stabilnych genetycznie genotypów papryki miękkoowocowej (soft-flesh) o różnym poziomie kapsaicynoidów.
2. Uzyskane w wyniku mechanicznej separacji puree z owoców papryki dwóch linii miękkoowocowych wykazywało taką zawartość wymienionych metabolitów, która klasyfikuje je odpowiednio, jako ostre i półostre.

Literatura

- [1] Antonious G.F., Berke T., Jarret R.L.: Pungency in *Capsicum chinense*: Variation among countries of origin. J. Environment. Sci. Health, Part B, 2009, **44**, 179-184.
- [2] Ayuso M.C., Bernalte M.J., Lozano M., Garcia M.I., Montero de Espinosa V., Perez Hernandez M.T., Somogyi N.: Quality characteristics of different red pepper cultivars (*Capsicum annuum* L.) for hot paprika production. Euro. Food Res. Tech., 2008, **227**, 557-563.
- [3] Ben-Chaim A., Borovsky Y., Falise M., Mazourek M., Kang B-Ch., Paran I., Jahn M.: QTL analysis for capsaicinoid content in *Capsicum*. Theoretical Appl. Genet., 2006, **113**, 1481-1490.
- [4] Castro S.M., Saraiva J.A., Domingues F.M.J., Delgadillo I.: Effect of mild pressure treatments and thermal blanching on yellow bell peppers (*Capsicum annuum* L.). LWT-Food Sci. Technol., 2011, **44**, 363-369.
- [5] Cisneros-Pineda O., Torres-Tapia L.W., Gutierrez-Pacheco L.C., Contreras-Martin F., Gonzales-Estrada T., Peraza-Sanchez S.R.: Capsaicinoids quantification in chilli peppers cultivated in the state of Yucatan, Mexico. Food Chem., 2007, **104**, 1755-1760.
- [6] Collins M.D., Wasmund L.M., Bosland P.W.: Improved method for quantifying capsaicinoids in *Capsicum* using high – performance Liquid Chromatography. Hort. Sci., 1995, **30**, **1**, 137-139.

- [7] Contreras-Padilla M., Yahia E.M.: Changes in capsaicinoids during development, maturation, and senescence of chilli peppers and relation with peroxidase activity. *J. Agric. Food Chem.*, 1998, **46**, 2075-2079.
- [8] Estrada B., Bernal M.A., Diaz J., Pomar F., Merino F.: Capsaicinoids in vegetative organs of *Capsicum annuum* L. in relation to fruiting. *J. Agric. Food Chem.*, 2002, **50**, 1188-1191.
- [9] Golcz A., Kujawski P.: Analysis of yielding and selected biometric parameters of the fruit of several hot pepper (*Capsicum annuum* L.) cultivars. *Rocz. AR w Poznaniu*, 2004, **38**, 31-36.
- [10] Ismail N., Revathi R.: Studies on the effects of blanching time, evaporation time, temperature and hydrocolloid on physical properties of chili (*Capsicum annuum* var. kulai) puree. *LWT-Food Sci. Technol.*, 2006, **39**, 91-97.
- [11] Kurian A.L., Starks A.N.: HPLC analysis of capsaicinoids extracted from whole orange habanero chili peppers. *J Food Sci.*, 2002, **67**, 956-962.
- [12] Nowaczyk L., Nowaczyk P., Banach-Szott M.: Relationship between technological characters in *Capsicum* spp. soft -flesh forms. *Veget. Crops Res. Bull.*, 2009, **70**, 31-36.
- [13] Perucka I., Materska M.: Antioxidant activity and content of capsaicinoids isolated from paprika. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2003, **12/53**, **2**, 15-18.
- [14] Perucka I., Materska M., Jachacz L.: Ocena jakościowa preparatów otrzymanych z wysuszonych owoców papryki (*Capsicum annuum* L.). *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **1 (68)**, 30-39.
- [15] Poyrazoglu E.S., Yemis O., Kadakal C., Artik N.: Determination of capsaicinoid profile of different chilli peppers grown in Turkey. *J. Sci. Food Agric.*, 2005, **85**, 1435-1438.
- [16] Stewart C., Kang B., Mazourek M., Liu K., More S.L., Paran I., Jahn M.M.: The Pun1 gene or pungency I pepper encodes a putative acyltransferase. *Plant J.*, 2005, **42**, 675-688.
- [17] Zewdie Y., Bosland P.W.: Evaluation of genotype, environment, and genotype by environment interaction for capsaicinoids in *Capsicum annuum* L. *Euphytica*, 2000, **111**, 185-190.

ASSESSING QUALITY AND PROCESSING USEFULNESS OF *CAPSICUM* SPP. SOFT-FLESH LINES

S u m m a r y

Soft-flesh forms of capsicums are used as a raw material in producing purees that retain, in full, the taste of fresh fruits and all the nutritive properties. The research material comprised fruits of two *Capsicum* spp. soft-flesh lines selected from a *Capsicum frutescens* L. and *C. annuum* L. interspecific hybrid. The following was assessed: fruits, pericarp, puree made of fruits that were sieved and squeezed, and leftovers thereof. The fruits of the lines studied varied in their mean fruit weight and their width. Regardless of the fruit lines, the technological performance, expressed as a per cent content of puree in the raw material weight, was the same, and, at the same time, it was higher when the fruits were squeezed. With the use of an HPLC analysis, it was proved that the highest contents of capsaicin and dihydrocapsaicin were in the puree. The content of capsaicinoids in the pericarp of fruits was lower: ca. half of that in the puree, and in the soft tissue separation leftovers, it was definitely the lowest. During sieving or squeezing processes, the main part of capsaicinoids diffused from placenta that was a place of their synthesis, into the puree. It was found that in the material assessed, the per cent content of capsaicin was higher than that of dihydrocapsaicin.

Key words: capsaicin, dihydrocapsaicin, puree, mechanical separation ☒

SYLWIA SKĄPSKA, BARBARA SOKOŁOWSKA,
MONIKA FONBERG-BROCZEK, JOLANTA NIEZGODA,
MARTA CHOTKIEWICZ, AGNIESZKA DEKOWSKA

ZASTOSOWANIE PASTERYZACJI WYSOKOCIŚNIENIOWEJ DO INAKTYWACJI PRZETRWAŁNIKÓW *ALICYCLOBACILLUS* *ACIDOTERRESTRIS* W SOKU JABŁKOWYM

Streszczenie

Acidotermofilne bakterie przetrwalnikujące *Alicyclobacillus acidoterrestris* (AAT) są przyczyną psucia soków owocowych i warzywnych. Proces pasteryzacji nie niszczy całkowicie przetrwalników tych bakterii, aktywując je jednocześnie do kiełkowania i dalszego wzrostu.

Celem pracy była ocena przydatności pasteryzacji wysokociśnieniowej do inaktywacji przetrwalników AAT w soku jabłkowym.

Scharakteryzowano wpływ ciśnienia hydrostatycznego 300 i 500 MPa stosowanego w temperaturze 50 °C, na przeżywalność przetrwalników ośmiu szczepów AAT w soku jabłkowym. Redukcja liczby przetrwalników po zastosowaniu ciśnienia 300 MPa przez 10 min wynosiła 1,27 - 3,46 log jtk/ml soku, w zależności od szczepu. Przedłużenie pasteryzacji do 30 min, zastosowane do dwóch najbardziej opornych szczepów, umożliwiło redukcję przetrwalników o 2,06 i 2,64 log jtk/ml. Dalsze zwiększenie ciśnienia do 500 MPa nie spowodowało istotnego zwiększenia skuteczności procesu pasteryzacji. Efektywniejsze okazało się zastosowanie ciśnieniowania pulsacyjnego. Stosowano sześć 5-minutowych cykli ciśnienia 100 MPa, 300 MPa i 500 MPa w temperaturze 50 °C. Największą redukcję liczby przetrwalników dwóch szczepów AAT, wynoszącą 2,40 i 3,11 log jtk/ml, uzyskano przy zastosowaniu ciśnienia 300 MPa. Ciśnieniowanie pulsacyjne (100 MPa, 50°C) połączone z godzinną inkubacją w temperaturze 50 °C i kolejnym etapem ciśnieniowania w 500 MPa spowodowało redukcję liczby przetrwalników o ponad 4 log jtk/ml.

Przetrwalniki AAT wykazywały oporność na działanie wysokiego ciśnienia hydrostatycznego przy parametrach stosowanych w niniejszej pracy.

Słowa kluczowe: *Alicyclobacillus acidoterrestris*, soki owocowe, pasteryzacja wysokociśnieniowa

Wprowadzenie

W 1982 r. stwierdzono pierwszy przypadek zepsucia aseptycznie pakowanego soku jabłkowego przez kwasolubne, termofilne bakterie przetrwalnikujące [4], które zostały wprowadzone do nomenklatury w roku 1992 jako nowy rodzaj *Alicyclobacillus* [28]. Obecność bakterii z rodzaju *Alicyclobacillus* stwierdzano w sokach i napojach otrzymywanych z różnych gatunków owoców i warzyw: w pomarańczowym, jabłkowym, grejpfrutowym, gruszkowym, z białych winogron, bananowo-morelowym, ananasowym, mango, pomidorowym i cytrynowym [2, 3, 6, 9, 20, 21, 24, 26, 27]. Bakterie *Alicyclobacillus* izolowano również z innych napojów np. z napoju izotonicznego [29], czy z „Ice tea” [2, 5].

Niekorzystne zmiany sensoryczne soków i napojów spowodowane są wytwarzanymi przez bakterie *Alicyclobacillus* związkami nadającymi tym produktom zapach określany jako medyczny, dezynfekcyjny, dymny. Związki te to przede wszystkim 2-metoksyfenol (gwajakol), oraz 2,6-dibromofenol i 2,6-dichlorofenol. Spośród aktualnie znanych dwudziestu gatunków bakterii z rodzaju *Alicyclobacillus* cztery: *Alicyclobacillus acidoterrestris*, *Alicyclobacillus herbarius*, *Alicyclobacillus acidiphilus* oraz niektóre szczepy z gatunku *Alicyclobacillus hesperidum* są zdolne do wytwarzania gwajakolu [16, 19, 20]. Gatunkiem najczęściej izolowanym z zepsutych soków jest *Alicyclobacillus acidoterrestris* (AAT). Przetrwalniki tego gatunku bakterii mają zdolność przeżywania w typowych warunkach pasteryzacji soków owocowych [2, 3, 22, 24]. Przykładowe, cytowane w literaturze, wartości D_{95} w sokach owocowych wyniosły od 1,85 min do 15,1 min [12, 23, 24].

Z uwagi na nieskuteczność procesu pasteryzacji w ograniczaniu wzrostu bakterii *Alicyclobacillus* podejmowane są badania nad nowymi metodami ich inaktywacji. Jednym z kierunków badań jest zastosowanie pasteryzacji wysokociśnieniowej (High Pressure Pasteurization - HPP). Technika wysokich ciśnień została zastosowana w skali przemysłowej po raz pierwszy w Japonii w roku 1990 do utrwalania dżemów, a następnie soków cytrusowych, dressingów i jogurtów. Od tego czasu nastąpił znaczny wzrost liczby przedsiębiorstw stosujących tę metodę na skalę przemysłową. I tak, w USA utrwała się w ten sposób soki jabłkowe, pomarańczowe, lemoniadę, ostrygi, plasterkowane wędliny, we Francji – soki cytrusowe, w Hiszpanii – plasterkowaną szynkę, w Meksyku – soki cytrusowe, w Portugalii – soki jabłkowe i cytrusowe, we Włoszech – sok jabłkowy, gruszkowy, truskawkowy i marchwiowy, w Czechach - sok brokułowo-jabłkowy. W Polsce zastosowanie wysokiego ciśnienia hydrostatycznego do utrwalania żywności pozostaje nadal w sferze badań [7, 8, 13, 15].

Celem niniejszej pracy była ocena przydatności pasteryzacji wysokociśnieniowej do inaktywacji przetrwalników *Alicyclobacillus acidoterrestris* w soku jabłkowym.

Material i metody badań

Badania przeprowadzono z wykorzystaniem przetrwalników pięciu szczepów AAT wyizolowanych z próbek zagęszczonego soku jabłkowego (szczepy oznakowane TO-29/4/02, TO-117/02, TO-224/1/05, TO-169/06 i U-44/25/06), szczepu wyizolowanego z zepsutego napoju pomarańczowego (szczep TO-41/06), z zagęszczonego soku pomarańczowego (szczep TO-27/2/07) oraz z emulsji do produkcji napojów (szczep TO-57/1/04). Do izolacji szczepów *Alicyclobacillus* zastosowano metodę zalecaną przez Internationale Fruchtsaft Union [11]. Szczepy zakwalifikowano do gatunku *Alicyclobacillus acidoterrestris* na podstawie ich zdolności do wytwarzania kwasu z erytritolu [1, 3] oraz do wytwarzania gwajakolu w pożywce YSG z kwasem wanilinowym [16, 17, 18].

W celu uzyskania przetrwalników szczepy inkubowano w temp. 45 °C przez 10 dni na podłożu PDA (Oxoid) o pH 4,0. Biomasa bakterii zmywano z powierzchni agaru jałową wodą redestylowaną, a następnie wirowano przez 10 min przy 14 000 obr./min w temp. 4 °C. Osad przemywano trzykrotnie: jałową wodą redestylowaną, 50 % alkoholem etylowym i ponownie jałową wodą redestylowaną. Przygotowaną zawiesinę przechowywano w temp. 5 °C. Obecność przetrwalników w zawiesinie potwierdzano w preparatach mikroskopowych, barwionych metodą Schaeffera-Fultona w modyfikacji Wirtza. Liczbę przetrwalników oznaczano metodą płytkową na BAT-agarze (Merck, pH 4,0) po 5 dniach inkubacji w temp. 45 °C.

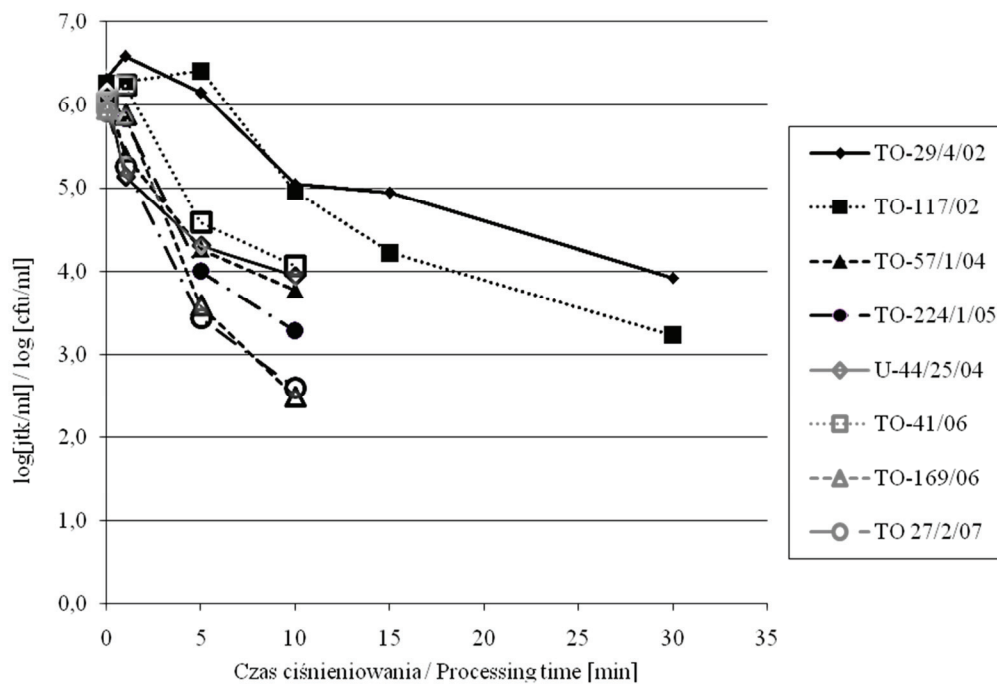
Przetrwalniki AAT wprowadzono do próbek handlowego soku jabłkowego (pH 3,4, ekstrakt 11,2 °Bx) w ilości powyżej 10⁶ jtk/ml i poddawano skojarzonemu działaniu ciśnienia hydrostatycznego oraz temperatury w komorze wysokociśnieniowej typu tłok-cylinder o objętości roboczej 1,5 litra, wyposażonej w mierniki ciśnienia i temperatury (w Instytucie Wysokich Ciśnień PAN w Warszawie). Ciśnienie w komorze – wyposażonej w zewnętrzny płaszcz termostatujący, pozwalający na stosowanie temperatury 0 - 50 °C – wytwarzane było przy użyciu prasy hydraulicznej 1000 ton. Jako medium ciśnieniowe stosowano mieszaninę wody z glikolem polipropylenowym (1 : 1). Ciśnienia 100 MPa, 300 MPa oraz 500 MPa aplikowano w sposób ciągły i pulsacyjny. Procesy prowadzono w ciągu 5 do 30 min w temp. 50 °C. Wszystkie doświadczenia wykonano w co najmniej w dwóch powtórzeniach. Liczbę przetrwalników przeżywających proces ciśnieniowania i zdolnych do wzrostu oznaczano metodą płytkową na BAT-agarze (Merck, pH 4,0) po 5 dniach inkubacji w temp. 45 °C.

Wyniki i dyskusja

W pracy scharakteryzowano wpływ wysokiego ciśnienia hydrostatycznego i temperatury na przeżywalność przetrwalników ośmiu szczepów *A. acidoterrestris* w soku jabłkowym. Redukcja liczby przetrwalników po zastosowaniu ciśnienia o wartości

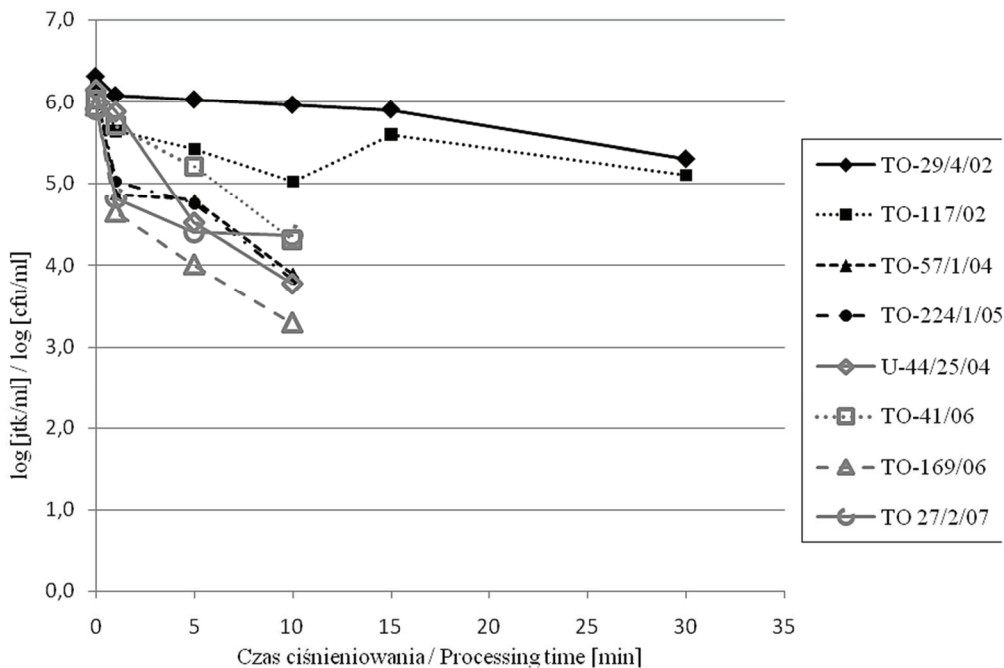
300 MPa w temp. 50 °C przez 10 min wyniosła 1,27 - 3,46 log jtk/ml soku, w zależności od szczepu (rys. 1). Przedłużenie do 15 min czasu pasteryzacji dwóch najbardziej opornych szczepów: TO-29/4/02 i TO-117/02 spowodowało zmniejszenie liczby przetrwalników o 1,04 i 1,66 log jtk/ml. Znacznie lepsze efekty osiągnięto przedłużając czas procesu do 30 min, co umożliwiło redukcję liczby przetrwalników o 2,06 i 2,64 log jtk/ml.

Zwiększenie wartości stosowanego ciśnienia do 500 MPa nie spowodowało wzrostu skuteczności procesu pasteryzacji (rys. 2). Redukcja liczby przetrwalników ośmiu badanych szczepów po 10 min ciśnieniowania wynosiła 0,35 - 2,66 log jtk/ml. Również przedłużenie czasu pasteryzacji, zastosowane w stosunku do dwóch najbardziej opornych szczepów, nie było skuteczne i spowodowało zmniejszenie liczby przetrwalników jedynie o 0,45 i 0,55 log jtk/ml po 15 min, a po 30 min redukcja wynosiła 1,06 i 1,05 log jtk/ml.



Rys. 1. Przeżywalność przetrwalników szczepów *Alicyclobacillus acidoterrestris* poddanych działaniu ciśnienia 300 MPa w temp. 50 °C.

Fig. 1. Survival of spores of *Alicyclobacillus acidoterrestris* strains treated using 300 MPa pressure at 50° C.



Rys. 2. Przeżywalność przetrwalników szczepów *Alicyclobacillus acidoterrestris* poddanych działaniu ciśnienia 500 MPa w temp. 50 °C.

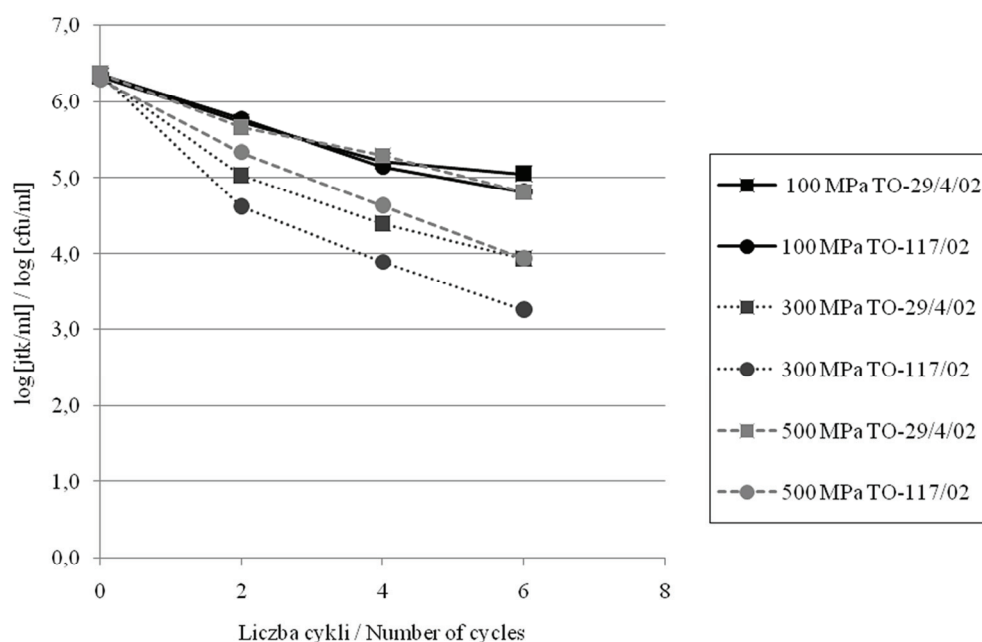
Fig. 2. Survival of spores of *Alicyclobacillus acidoterrestris* strains treated using 500 MPa pressure at 50 °C.

Jak wykazali Lee i wsp. [14], do inaktywacji przetrwalników AAT w soku jabłkowym niezbędne było zastosowanie połączonego działania wysokiego ciśnienia i temperatury. Inaktywację przetrwalników w soku jabłkowym do poziomu <1 jtk/ml (o ponad 5,5 log jtk/ml) uzyskano po zastosowaniu ciśnienia 207 MPa przez 5 min w temp. 90 °C, ciśnienia 414 MPa lub 621 MPa w temp. 71 °C przez 10 min lub w temp. 90 °C przez 1 min. W warunkach naszego doświadczenia nie było możliwe osiągnięcie tak wysokich temperatur, stąd obserwowana redukcja liczby przetrwalników AAT nie była tak znaczna.

Vercammen i wsp. [25], w badaniach prowadzonych w zakresie ciśnień 100 - 800 MPa, przy pH 4 - 7, w temp. 25, 40 i 60 °C, z wykorzystaniem buforów i sosu pomidorowego jako medium, wykazali, że niskie pH sprzyjało redukcji przetrwalników AAT. W niższej temperaturze największą redukcję umożliwiało zastosowanie stosunkowo niskiego ciśnienia 100 - 300 MPa, natomiast przy wyższych ciśnieniach skuteczniejszą inaktywację uzyskiwano w wyższej temperaturze. Obserwowana w niniejszej pracy większa inaktywacja przetrwalników AAT w soku jabłkowym o pH

3,4 i przy zastosowaniu ciśnienia 300 MPa aniżeli w warunkach ciśnienia 500 MPa i temp. 50 °C jest zgodna z powyższymi wynikami.

Efektywniejsze od ciśnieniowania stałego okazało się ciśnieniowanie pulsacyjne przetrwalników AAT (rys. 3). Stosując sześć 5-minutowych cykli ciśnienia o wysokości 100 MPa w temp. 50 °C, uzyskano redukcję liczby przetrwalników dwóch najbardziej opornych szczepów AAT o 1,28 i 1,54 log jtk/ml, a przy ciśnieniu 300 MPa - o 2,40 i 3,11 log jtk/ml. Zwiększenie ciśnienia do 500 MPa, w tych samych warunkach, spowodowało zmniejszenie liczby przetrwalników o 1,56 i 3,36 log jtk/ml.



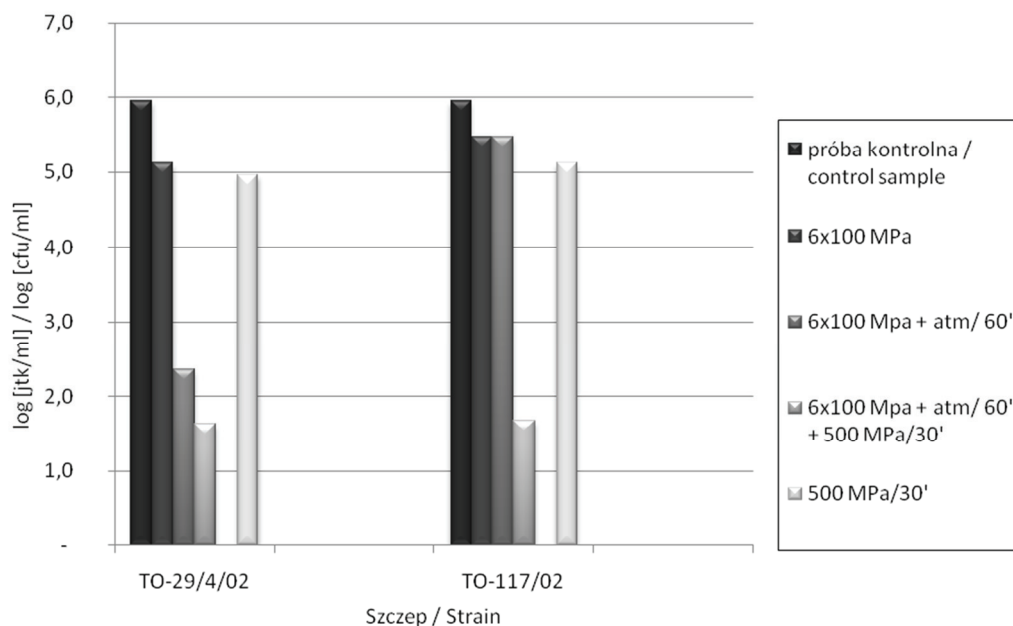
Rys. 3. Przeżywalność przetrwalników *Alicyclobacillus acidoterrestis* poddanych działaniu ciśnienia pulsacyjnego (cykl: HPP – 5 min, ciśnienie atmosferyczne – 5 min) w temp. 50 °C.

Fig. 3. Survival of spores of *Alicyclobacillus acidoterrestis* strains treated using pulsed pressure (cycle: HPP - 5 min, atmospheric pressure - 5 min) at 50° C.

Najskuteczniejsza okazała się metoda kombinowana, polegająca na zastosowaniu ciśnieniowania pulsacyjnego (6 x 100 MPa/50 °C/5 min) połączonego z godziną inkubacją w temp. 50 °C, a następnie ciśnieniowaniem w 500 MPa/50 °C/30 min. Ten sposób prowadzenia procesu, sprzyjający przejściu przetrwalników w bardziej wrażliwą na działanie ciśnienia i temperatury formę wegetatywną, pozwolił na redukcję liczby przetrwalników AAT o ponad 4 log jtk/ml (rys. 4). Na rysunku dla porównania przedstawiono efekt działania ciśnienia 500 MPa w temp. 50 °C przez 30 min.

W literaturze brak jest danych dotyczących zastosowania ciśnienia pulsacyjnego do inaktywacji przetrwalników AAT, natomiast z powodzeniem stosowano ciśnienia

pulsacyjne do inaktywacji przetrwalników *Bacillus stearotherophilus* [10]. Sześć 5-minutowych cykli ciśnienia 400 MPa w temp. 70 °C powodowało redukcję liczby przetrwalników tych bakterii o 4 log, a zastosowanie ciśnienia 600 MPa, w tej samej temperaturze, umożliwiło ich redukcję o ponad 6 log.



Rys. 4. Przeżywalność przetrwalników *Alicyclobacillus acidoterrestris* poddanych działaniu kombinacji ciśnienia pulsacyjnego (cykl: HPP – 5 min, ciśnienie atmosferyczne – 5 min) i ciśnienia stałego po godzinnej inkubacji w temp. 50 °C.

Fig. 4. Survival of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores treated using combined pulsed pressure (cycle: HPP - 5 min, atmospheric pressure - 5 min) and continuous pressure following one hour incubation at 50° C.

W zastosowanych w niniejszej pracy warunkach ciśnieniowania nie osiągnięto całkowitej redukcji przetrwalników *A. acidoterrestris*, zapewniającej trwałość soku jabłkowego. Prace zmierzające do optymalizacji procesu pasteryzacji wysokociśnieniowej będą kontynuowane z zastosowaniem niższych ciśnień.

Wnioski

1. Stopień inaktywacji przetrwalników badanych szczepów *Alicyclobacillus acidoterrestris* w wyniku działania wysokiego ciśnienia 300 lub 500 MPa był zróżnicowany i zależał od szczepu.

2. Większą redukcję liczby przetrwalników uzyskano stosując ciśnienie 300 MPa niż przy wyższym ciśnieniu 500 MPa.
3. Pod względem aplikacyjnym efekty działania wysokiego ciśnienia, stosowanego zarówno w sposób ciągły, jak i pulsacyjny, nie były zadowalające.
4. Znacznie bardziej efektywny był proces ciśnieniowania łączący działanie niskiego ciśnienia pulsacyjnego, pobudzającego kiełkowanie przetrwalników, z wysokim ciśnieniem powodującym ich inaktywację.

Praca finansowana ze środków MNISW, projekt badawczy N N312 429337.

Literatura

- [1] Baumgart J.: Media for the detection and enumeration of *Alicyclobacillus acidoterrestris* and *Alicyclobacillus acidocaldarius* in foods. In: Handbook of Culture Media for Food Microbiology. Progress in industrial microbiology vol. 37. J.E.L. Corry, G.D.W Curtis, R.M. Baird. Eds. Elsevier. Amsterdam, 2003, pp. 161-166.
- [2] Baumgart J., Husemann M., Schmidt C.: *Alicyclobacillus acidoterrestris*: Vorkommen, Bedeutung und Nachweis in Getränken und Getränkegrundstoffen. Fluss. Obst, 1997, **64** (4), 178-180.
- [3] Baumgart J., Menje S.: The impact of *Alicyclobacillus acidoterrestris* on the quality of juices and soft drinks. Fruit Process., 2000, **10** (7), 251-254.
- [4] Cerny G., Hennlich W., Poralla K.: Fruchtsaftverderb durch bacillen isolierung und charakterisierung des verderbserregers. Z. Lebensmitt. Untersuch. Forsch., 1984, **179**, 224-227.
- [5] Duong H.A., Jensen N.: Spoilage of iced tea by *Alicyclobacillus*. Food Australia, 2000, **52** (7), 292.
- [6] Eguchi S. Y., Manfio G.P., Pinhatti M.E., Azuma E., Variane S.F.: Acidotermofilic sporeforming bacteria (ATSB) in orange juices: ecology, and involvement in the deterioration of fruit juices – Report of the Research Project, Part II. Fruit Process., 2001, **11** (2), 55-62.
- [7] Fonberg-Broczek M., Arabas J., Kostrzewa E., Rejs A., Szczawiński J., Szczepek J., Indyga B., Porowski S.: High-pressure treatment of fruit, meat and cheese products – equipment, methods and results. In: Processing Foods, Quality Optimization and Process Assessment. Oliveira F.A.R., Oliveira J.C., Eds. CFR Press, Boca Raton, 1999, pp. 281-300.
- [8] Fonberg-Broczek M., Windyga B., Prestamo G., Scieżyńska H., Grochowska A., Górecka K.: Zastosowanie metody wysokich ciśnień (HHP) do pasteryzacji świeżo wyciskanych soków. Bromat. Chem. Toksykol., 2006, **39** Supl., 129-133.
- [9] Gouws P.A. Gie L., Pretorius A., Dhansay N.: Isolation and identification of *Alicyclobacillus acidocaldarius* by 16S rDNA from mango juice and concentrate. Int. J. Food Sci. Technol., 2005, **40**, 789-792.
- [10] Hayakawa I., Kanno T., Yoshiyama K., Fujio Y.: Oscillatory compared with continuous High Pressure Sterilization on *Bacillus stearothermophilus* spores. J. Food Sci., 1994, **59** (1), 164-167.
- [11] IFU Method No 12, September 2004/ revised march 2007. Method on the Detection of taint producing *Alicyclobacillus* in Fruit Juices.
- [12] Komitopoulou E., Boziaris I.S., Davies E.A. Delves-Broughton J., Adams M. R.: *Alicyclobacillus acidoterrestris* in fruit juices and its control by nisin. Int. J. Food Sci. Technol., 1999, **34**, 81-85.
- [13] Kostrzewa E., Fonberg-Broczek M., Jakubowski J., Skąpska S., Sieliwanowicz B., Witkowska-Gwiazdowska A., Zdziennicka D., Arabas J., Szczepek J.: The Apple Juice Preserved by High Pressure Treatment At Moderate Temperature and Pasteurisation. Comparative Quality Assessment. In:

- High Pressure Effect in Chemistry, Biology and Materials Science, Defect and Diffusion Forum. Lojkowski W. Eds. Scitec Publications Ltd, Switzerland. 2002, **208-209**, 77-82.
- [14] Lee S.Y., Dougherty R.H., Kang D.H.: Inhibitory effect of high pressure and heat on *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores in apple juice. Appl. Environ. Microbiol., 2002, **68**, 4158-4161.
- [15] Malinowska-Pańczyk E., Kołodziejska I.: Wpływ połączonego działania wysokiego ciśnienia i innych czynników na mikroorganizmy. Med. Wet. 2007, **63 (5)**, 515-518.
- [16] Niwa M.: Control of hazardous bacteria in acidic beverages by using a guaiacol detection kit (peroxidase method). Fruit Process., 2005, **15 (6)**, 388-392.
- [17] Niwa M., Kawamoto A.: Development of a rapid detection method of *A. acidoterrestris*, hazardous bacteria to acidic beverage. Fruit Process., 2003, **13 (2)**, 102-107.
- [18] Niwa M., Kuriyama A.: *A. acidoterrestris* Rapid detection kit. Fruit Process., 2003, **13 (5)**, 328-331.
- [19] Orr R.V., Shewfelt R. L., Huang C.J., Tefera S., Beuchat L.R.: Detection of guaiacol produced by *Alicyclobacillus acidoterrestris* in apple juice by sensory and chromatographic analyses, and comparison with spore and vegetative cell populations. J. Food Protect., 2000, **11**, 1517-1522.
- [20] Pettipher G.L., Osmundson M.E., Murphy J.M.: Methods for the detection and enumeration of *Alicyclobacillus acidoterrestris* and investigation of growth and production of taint in fruit juice and fruit juice-containing drinks. Lett Appl. Microbiol., 1997, **24**, 185-189.
- [21] Pinhatti M.E.M.C., Variante S., Eguchi S.Y., Manfio G.P.: Detection of acidotermophilic bacilli in industrialized fruit juices. Fruit Process., 1997, **7 (9)**, 350-353.
- [22] Silva F.V.M., Gibbs P., Silva C.L.M.: Establishing a new pasteurization criterion based on *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores for shelf-stable high – acidic fruit products. Fruit Process., 2000, **10 (4)**, 138-141.
- [23] Sokołowska B., Łaniewska-Trokenheim L., Niezgodna J., Bytońska M.: Ciepłooporność przetrwalników *Alicyclobacillus acidoterrestris*. Przem. Ferm. Owoc. Warz., 2008, **12**, 22-27.
- [24] Splittstoesser D.F., Churey J.J., Lee C.Y.: Growth characteristic of aciduric sporeforming bacilli isolated from fruit juices. J. Food Protect., 1994, **57 (12)**, 1080-1083.
- [25] Vercammen A., Vivijs B., Lurguin I., Michels C.W.: Germination and inactivation of *Bacillus coagulans* and *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores by high hydrostatic pressure treatment in buffer and tomato sauce. Int. J. Food Microbiol., 2011, doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2011.02.019
- [26] Walls I., Chuyate R.: Spoilage of fruit juices by *Alicyclobacillus acidoterrestris*. Food Australia, 2000, **2 (7)**, 286-288.
- [27] Witthuhn R.C., Duvange W., Gouws P.A.: Isolation and identification of species of *Alicyclobacillus* from South African fruit juices and concentrates. 21nd Int. ICFMH Symp. Food Micro, Bologna, 29.08 – 2.09.2006, p. 390.
- [28] Wisotzkey J.D., Jurtshuk P., Fox G.E., Deinhard G., Poralla K.: Comparative sequence analysis on the 16S rRNA (rDNA) of *Bacillus acidocaldarius*, *Bacillus acidoterrestris* and *Bacillus cycloheptanicus* and proposal for creation of a new genus, *Alicyclobacillus* gen. nov. Int. J. Syst. Bacteriol., 1992, **42 (2)**, 263-269.
- [29] Yamazaki K., Murakami M., Kawai Y., Inoue N., Matsuda T.: Use of nisin for inhibition of *Alicyclobacillus acidoterrestris* in acidic drinks. Food Microbiol., 2000, **17**, 315-320.

**APPLICATION OF HIGH PRESSURE PASTEURIZATION TO INACTIVATE SPORES OF
ALICYCLOBACILLUS ACIDOTERRESTRIS IN APPLE JUICE**

S u m m a r y

Alicyclobacillus acidoterrestris (AAT), thermoacidophilic, and spore-forming bacteria cause fruits and vegetable juices to spoil. A pasteurization process does not completely destroy the spores of those bacteria, but it activates their germination and further growth.

The objective of this study was to assess the usefulness of high pressure pasteurization applied to inactivate AAT spores in apple juice.

There was described the effect of a 300 MPa and 500 MPa pressure at 50° C on the survival of spores of eight AAT strains in the apple juice. When a 300 MPa pressure was applied for 10 min, the number of living spores was reduced to 1.27 - 3.46 log cfu/ml of juice depending on the strain. When the pasteurization process was prolonged by 30 min. and applied to the two most resistant strains, it was possible to reduce the number of living spores to 2.06 and 2.64 log cfu/ml. The increasing of the pressure to 500 MPa did not cause the pasteurization process to become significantly more efficient. It was confirmed that the application of a pulsed high pressure was the most effective. There were applied six five-minute pressure cycles of 100 MPa, 300 MPa, and 500 MPa, at 50° C. The highest reduction in the number of spores of the two AAT strains amounting to 2.40 and 3.11 log cfu/ml was achieved when a 300 MPa pressure was applied. The application of a pulsed high pressure (100 MPa at 50° C), followed by one hour incubation at 50° C, and the subsequent application of high pressure (500 MPa) resulted in the reduction in the number of the spores by more than 4 log cfu/ml.

The AAT spores were resistant to the high hydrostatic pressure under the conditions as described in this study.

Key words: *Alicyclobacillus acidoterrestris*, fruit juices, high pressure pasteurization ☒

MARZENA JEŻEWSKA-ZYCHOWICZ, MARIA JEZNACH,
MAŁGORZATA KOSICKA-GĘBSKA

ZAINTERESOWANIE KONSUMENTÓW SŁODYCZAMI FUNKCJONALNYMI A ICH PREFERENCJE

Streszczenie

Celem badań było określenie, w jakim stopniu preferencje konsumentów względem słodyczy warunkują zainteresowanie konsumentów słodyczami funkcjonalnymi, reprezentowanymi przez wyroby czekoladowe, na etykietach których producent zadeklarował ich specjalne właściwości zdrowotne. Badanie empiryczne zostało zrealizowane jesienią 2010 roku wśród 1000 konsumentów stanowiących reprezentatywną próbę mieszkańców Polski w wieku 18 lat i powyżej, o zróżnicowanej charakterystyce socjodemograficznej.

W analizie materiału empirycznego wykorzystano analizę częstości oraz tablice krzyżowe, do porównywania danych zastosowano test χ^2 oraz jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA. Do wyodrębnienia jednorodnych skupień konsumentów ze względu na preferencje wobec słodyczy zastosowano analizę czynnikową w celu redukcji zmiennych, a następnie analizę skupień. Wykorzystano pakiet statystyczny SPSS for Windows PL14.

Stwierdzono małe zainteresowanie nowymi produktami czekoladowymi o specjalnych właściwościach zdrowotnych. Najbardziej akceptowanym składnikiem poprawiającym właściwości zdrowotne słodyczy okazały się witaminy, a następnie błonnik i składniki mineralne. Deklarowane preferencje względem słodyczy nie wykazały statystycznie istotnej zależności z zainteresowaniem słodyczami o specjalnych właściwościach zdrowotnych.

Słowa kluczowe: żywność funkcjonalna, nowa żywność, słodycze, konsument, preferencje konsumentekkie

Wprowadzenie

Wymagania współczesnego konsumenta, a także możliwości zastosowania nowych technologii przyczyniają się do produkowania żywności dostarczającej dodatkowych korzyści dla zdrowia i funkcjonowania człowieka, zwanej żywnością funkcjo-

nalną. Obserwuje się intensywny rozwój rynku tej żywności [18, 19, 22, 32], zwłaszcza w Europie w porównaniu ze Stanami Zjednoczonymi czy Japonią [4].

W wielu konwencjonalnych produktach żywnościowych zastosowano modyfikacje przyczyniające się do uznania ich za funkcjonalne. Żywność funkcjonalną uzyskuje się poprzez dodanie substancji bioaktywnej, usunięcie jakiegoś składnika (np. tłuszczu), użycie zamiennika (zamiast cukru słodzik) lub zwiększenie biodostępności składnika – dodanie substancji wzmacniającej działanie, bądź usunięcie substancji, która utrudnia przyswajanie bardziej korzystnych składników.

Wśród najbardziej dynamicznie rozwijających się produktów funkcjonalnych można wymienić: napoje bezalkoholowe (soki, napoje izotoniczne i energetyzujące), produkty zbożowe [21], mleczne, tłuszcze oraz żywność dla dzieci [10, 23]. Słodczy jako kategoria produktów żywnościowych, a szczególnie słodczy o podwyższonej wartości zdrowotnej wzbudzają wiele kontrowersji, przede wszystkim ze względu na negatywne konsekwencje spożywania ich konwencjonalnych odpowiedników. W dużym stopniu przyczyniają się do tego środki masowej komunikacji oraz reklamy słodczy zwłaszcza kierowane do najmłodszych konsumentów [9].

Czynnikami wpływającymi na rozwój rynku żywności funkcjonalnej są: świadomość konsumentów oraz ich postawy względem żywności i zdrowia, gotowość do nabywania oraz zachowania przejawiane na rynku [2, 3, 6, 29]. Konsumenty wykazują zróżnicowaną skłonność do akceptowania żywności funkcjonalnej. Jej akceptacja jest warunkowana przede wszystkim pozytywną postawą, dostrzeganiem korzyści ze spożywania takiej żywności, a jednocześnie postrzeganiem małego ryzyka dla zdrowia [4, 7, 13, 15, 25].

Jednym z elementów postawy wobec obiektu są preferencje, które stanowią jej emocjonalny komponent [12, 27]. Preferencje żywieniowe stanowią czynnik istotnie warunkujący wybór żywności, w tym słodczy, oraz sposób żywienia, przy czym dotychczasowe badania relacji między preferencjami i zachowaniami konsumentkami dotyczyły przede wszystkim żywności niewykazującej właściwości funkcjonalnych [11].

Pomimo że konsumenci często nie postrzegają żywności funkcjonalnej jako specyficznego produktu, innego niż jego odpowiednik funkcjonalny [24], można oczekiwać, że zmieni się znaczenie preferencji w warunkowaniu jej wyboru, zwłaszcza w przypadku słodczy. Słodczy nie stanowią dobrego nośnika dodatkowych wartości zdrowotnych ze względu na ich walory odżywcze, m.in. wysoką wartość energetyczną wynikającą z dużej zawartości sacharozy i tłuszczów, ale jednocześnie są lubiane ze względu na smak oraz właściwości wywołujące pozytywny stan emocjonalny po ich spożyciu.

Celem podjętych badań było określenie, w jakim stopniu preferencje konsumentów względem słodczy warunkują zainteresowanie konsumentów słodczami o spe-

cyjnych właściwościach zdrowotnych, osiągniętych poprzez wzbogacenie ich różnymi składnikami odżywczymi.

Material i metody badań

Badania empiryczne zostały zrealizowane jesienią 2010 r. wśród 1000 konsumentów stanowiących reprezentatywną grupę mieszkańców Polski w wieku 18 lat i powyżej, o zróżnicowanej charakterystyce socjodemograficznej (tab. 1).

Tabela 1

Charakterystyka badanej populacji [%].
Characteristics of the population studied [%].

Wyszczególnienie Items	Ogółem Total	Płeć / Gender	
		Kobiety Female	Mężczyźni Male
Ogółem / Total	100,0	53,0	47,0
Wiek (NS) / Age (NS)			
18-24 lata / 18-24 years	22,5	24,5	20,2
25-34 lata / 25 -34 years	16,5	16,0	17,0
35-44 lata / 35-44 years	20,9	21,2	20,5
45-54 lata / 45-54 years	19,5	18,5	19,6
55 lat i więcej / 55 years and more	20,6	19,8	21,7
Wykształcenie (IS) / Education (IS)			
Zasadnicze zawodowe i niższe / Vocational and lower	25,2	22,1	28,7
Średnie / Secondary	45,3	46,8	43,6
Wyższe / Higher	29,5	31,1	27,7
Ocena dochodu rodziny (IS) / Family income evaluation (IS)			
Pozwala zaspokoić tylko podstawowe potrzeby lub jest niewystarczający Allows to fulfil only basic needs or is insufficient	22,6	25,8	18,9
Stać nas na niektóre, ale nie na wszystkie wydatki / Allows to cover some expenditures, but not all of them	53,3	52,2	54,7
Stać nas na wszystko lub dodatkowo możemy zaoszczędzić Enough to afford everything or, additionally, some savings are possible	24,1	22,0	26,4

Objaśnienia: / Explanatory notes:

(NS) – zależność statystycznie nieistotna między zmienną i płcią przy $p < 0,05$ / no statistically significant correlation between variable and gender at $p < 0.05$;

(IS) – zależność statystycznie istotna między zmienną i płcią przy $p < 0,05$ / statistically significant correlation between variable and gender at $p < 0.05$.

W badaniu wykorzystano autorski kwestionariusz, w którym zastosowano pytania typu zamkniętego dotyczące zainteresowania konsumenta słodyczami o specjalnych

właściwościach zdrowotnych, akceptacji różnych dodatków w celu poprawy właściwości zdrowotnych tej grupy produktów oraz kupowania lub zwracania uwagi na słodczyce, na których zamieszczona została informacja o specjalnych właściwościach zdrowotnych.

Do oceny preferencji konsumentów względem słodczych zastosowano skalę 5-punktową, w której ocenę 1 opisano jako „nie lubię”, a ocenę 5 jako „lubię”, w stosunku do 10 sortymentów słodczych, wśród których uwzględniono: batony czekoladowe; czekoladę nadziewaną; czekoladę pełną gorzką; czekoladę pełną mleczną bez dodatków oraz z dodatkami; cukierki czekoladowe z nadzieniem owocowym lub innym niż owocowe; cukierki toffi, karmelki lub podobne; ciastka; wafle. W wyniku zastosowania analizy czynnikowej [26] dokonano redukcji zmiennych opisujących preferencje względem poszczególnych sortymentów słodczych do dwóch składowych, wyjaśniających 61,8 % skumulowanej wariancji (miara KMO 0,884; test sferyczności χ^2 5039,7; df 45; $p < 0,001$). Pierwsza składowa była reprezentowana przez preferencje względem czekolady nadziewanej (współczynnik korelacji $r = 0,832$), czekolady pełnej mlecznej z dodatkami ($r = 0,765$), cukierków czekoladowych z nadzieniem owocowym ($r = 0,799$) lub innym niż owocowe ($r = 0,801$); natomiast druga składowa składała się z dwóch zmiennych, a mianowicie obejmowała preferencje względem ciastek ($r = 0,884$) oraz wafli ($r = 0,891$). Zmienne te wykorzystano w analizie skupień wykonanej z zastosowaniem rotacji Varimax z normalizacją Kaisera [17] do wyodrębnienia 3 jednorodnych skupień ze względu na podobieństwo preferencji względem tych produktów.

W analizie materiału empirycznego do opisu struktury populacji i poszczególnych zmiennych wykorzystano analizę częstości oraz tablice krzyżowe, do porównywania danych zastosowano test χ^2 oraz jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA. Jako poziom istotności przyjęto prawdopodobieństwo $p = 0,05$. Do realizacji analiz wykorzystano pakiet statystyczny SPSS for Windows Pl.14.

Wyniki i dyskusja

Jednorodne skupienia wyodrębnione ze względu na preferencje wobec konwencjonalnych sortymentów słodczych opisano jako „lubiący słodczyce”, „neutralny wobec słodczych” oraz „nie lubiący słodczych” (tab. 2). Prawie połowa badanych reprezentowała „lubiących słodczyce”, podczas gdy tylko 15,6 % zakwalifikowano do skupienia „nie lubiących słodczych” (tab. 3).

Płeć i miejsce zamieszkania nie wykazały statystycznie istotnej zależności z przynależnością do skupień. W przypadku płci w wielu badaniach taki związek był wykazywany, przy czym więcej kobiet niż mężczyzn lubi czekoladę [31].

Tabela 2

Charakterystyka skupień [wartość średnia].
Characteristics of clusters [mean value].

Preferencje względem: Preferences for:	Ogółem Total	Skupienie / Cluster			F, p < 0,001
		1*	2	3	
czekolady nadziewanej / cream filled chocolate	3,42	4,32	3,05	1,56	757,9
czekolady pełnej mlecznej z dodatkami milk chocolate with additions	3,50	4,25	3,28	1,68	616,4
cukierków czekoladowych z nadzieniem owocowym chocolate coated sweets with fruit filling	3,17	4,12	2,64	1,52	758,4
cukierków czekoladowych z nadzieniem innym niż owocowe chocolate coated sweets with non-fruit filling	3,37	4,18	3,08	1,56	741,9
ciastek / cakes	3,74	4,20	3,66	2,54	208,2
wafli /wafers	3,64	4,15	3,52	2,42	207,6

Objaśnienia: / Explanatory notes:

*1 - „lubiący słodycze” / „liking sweets”; 2 - „neutralni wobec słodyczy” / „neutral towards sweets”; 3 - „nie lubiący słodyczy” / „not liking sweets”.

Wśród osób „lubiących słodycze” statystycznie istotnie większy odsetek stanowili respondenci w wieku 44 lat i mniej, a zwłaszcza reprezentanci najmłodszej grupy wiekowej, co zaobserwowano również w innych badaniach [31]. Osoby w wieku 45 lat i więcej, w porównaniu z innymi, liczniej reprezentowały skupienie opisane jako „nie-lubiący słodyczy”, a osoby z najstarszej grupy wiekowej stanowiły prawie 1/3 reprezentacji tego skupienia. Osoby z wykształceniem zasadniczym zawodowym i niższym najliczniej reprezentowały skupienie „nie-lubiący słodyczy”, a pozostałe skupienia były najliczniej reprezentowane przez osoby z wykształceniem średnim. Osoby z wykształceniem wyższym mniej licznie reprezentowały skupienie lubiących i nie-lubiących w porównaniu ze skupieniem 2 reprezentowanym przez osoby „neutralne wobec słodyczy”. Lubiący słodycze stanowili największy odsetek osób deklarujących, że „stać ich na niektóre, ale nie wszystkie wydatki”. Osoby najbardziej pozytywnie oceniające dochód rodziny stanowiły relatywnie największy udział w skupieniu 2 (tab. 3).

Ponad połowa badanych zadeklarowała, że nie jest w ogóle zainteresowana nowymi produktami czekoladowymi o specjalnych właściwościach zdrowotnych, a tylko 13,4 % osób stwierdziło jednoznacznie, że jest nimi zainteresowana. Nie stwierdzono różnic w odsetkach osób zainteresowanych tymi produktami w poszczególnych skupieniach. Więcej osób nie-lubiących słodyczy, w porównaniu z pozostałymi, preferowa-

ło sprawdzone produkty czekoladowe, podczas gdy mniejszy odsetek tych osób deklarował zainteresowanie „od czasu do czasu” (tab. 4).

Tabela 3

Charakterystyka socjodemograficzna skupień [%].
Socio-demographic profile of clusters [%].

Cechy populacji Characteristics	Ogółem Total	Skupienia ze względu na preferencje Clusters according to preferences		
		1*	2	3
Ogółem / Total	100,0	48,0	36,4	15,6
Płeć (NS) / Gender (NS)				
Kobiety / Female	53,0	54,8	51,1	51,9
Mężczyźni / Male	47,0	45,2	48,9	48,1
Wiek (IS) / Age (IS)				
18-24 lata / 18-24 years	22,5	25,2	22,8	13,5
25-34 lata / 25 -34 years	16,5	17,3	16,2	14,7
35-44 lata / 35-44 years	20,9	22,1	21,4	16,0
45-54 lata / 45-54 years	19,5	17,5	20,6	23,1
55 lat i więcej/ 55 years and more	20,6	17,9	19,0	32,7
Wykształcenie (IS) / Education (IS)				
Zasadnicze zawodowe i niższe / Vocational and lower	25,2	23,1	21,2	41,0
Średnie / Secondary	45,3	48,8	46,7	31,4
Wyższe / Higher	29,5	28,1	32,1	27,6
Ocena dochodu rodziny (IS) / Family income evaluation (IS)				
Pozwala zaspokoić tylko podstawowe potrzeby lub jest niewystarczający / Allows to fulfil only basic needs or is insufficient;	22,6	19,9	21,8	32,7
Stać nas na niektóre, ale nie na wszystkie wydatki / Allows to cover some expenditures, but not all of them	53,3	56,5	51,0	49,4
Stać nas na wszystko lub dodatkowo możemy zaoszczędzić / Enough to afford everything or, additionally, some savings are possible	24,1	23,6	27,3	17,9

Objaśnienia: / Explanatory notes:

*1 – „lubiący słodczy” / „liking sweets”; 2 – „neutralni wobec słodczy” / „neutral towards sweets”; 3 – „nie lubiący słodczy” / „not liking sweets”;

(NS) – zależność statystycznie nieistotna między zmienną i przynależnością do skupień przy $p < 0,05$ / no statistically significant correlation between variable and cluster at $p < 0.05$;

(IS) – zależność statystycznie istotna między zmienną i przynależnością do skupień przy $p < 0,05$ / statistically significant correlation between variable and cluster at $p < 0.05$

T a b e l a 4

Opinie badanych o nowych produktach czekoladowych z uwzględnieniem preferencji konsumenckich [%].

Respondents' opinions on new chocolate products according to consumer preferences [%].

Opinie Opinions	Ogółem Total	Skupienia ze względu na preferencje Clusters according to preferences		
		1*	2	3
Zwracam uwagę na nowe produkty czekoladowe, na których producent zadeklarował ich specjalne właściwości zdrowotne (IS) I pay attention to new chocolate products on which the producer declared their special pro-health properties (IS)				
Tak, jestem nimi zainteresowany / Yes, I am interested in those products	13,4	13,1	13,7	13,5
Tak, ale tylko o czasu do czasu / Yes, but only from time to time	34,8	37,1	37,6	21,2
Nie, wolę sprawdzone produkty / No, I prefer proven products	51,8	49,8	48,6	65,4
W celu poprawy właściwości zdrowotnych słodyczy można stosować In order to improve the pro-health properties of sweets, the following may be applied:				
Błonnik (IS) / Fibre (IS)	45,4	50,2	40,7	41,7
Witaminy / Vitamins	71,5	75,0	68,1	68,6
Składniki mineralne / Minerals	42,8	43,3	42,9	41,0
Bakterie pro biotyczne / Pro-biotic bacteria	28,1	31,0	23,6	29,5
Surowce ekologiczne / Raw organic materials	23,2	24,8	22,0	21,2
Zwróciłam uwagę lub kupiłam w ostatnim miesiącu słodycze, na których producent zadeklarował ich specjalne właściwości zdrowotne Last month, I paid attention and bought sweets on which the producer declared their special pro-health properties				
Nie / No	79,1	80,2	76,1	82,7
Tak, ale tylko wyroby czekoladowe / Yes, but only chocolate products	7,3	8,1	7,7	3,8
Tak, ale tylko ciastka, waffle / Yes, but only cakes and wafers	7,5	5,4	10,2	7,7
Tak, kupuję takie wyroby / Yes, I buy such products	6,1	6,3	6,0	5,8

Objaśnienia: / Explanatory notes:

*1 - „lubiący słodycze” / „liking sweets”; 2 - „neutralni wobec słodyczy” / „neutral towards sweets”; 3 - „nie lubiący słodyczy” / „not liking sweets”;

(IS) – zależność statystycznie istotna między zmienną i przynależnością do skupień przy $p < 0,05$ / statistically significant correlation between variable and clusters at 0.05.

W opinii badanych najbardziej akceptowanymi składnikami poprawiającymi właściwości zdrowotne słodyczy okazały się witaminy, wskazane przez ponad 70 % badanych. Zdaniem ponad 40 % respondentów w celu poprawy właściwości zdrowotnych

słodyczy można stosować błonnik i składniki mineralne, natomiast mniej niż 25 % badanych akceptowała surowce ekologiczne. Bakterie probiotyczne były akceptowane przez około 28 % badanych. Brak wpływu dodatku tych bakterii do musu czekoladowego na akceptację konsumentką tego produktu w porównaniu z konwencjonalnym odpowiednikiem potwierdzają wyniki badania Aragon-Alegro i wsp. [1]. Opinie dotyczące poszczególnych dodatków nie różniły się statystycznie istotnie po uwzględnieniu deklarowanych względem słodyczy preferencji, z wyjątkiem opinii na temat zastosowania błonnika. Akceptację błonnika jako dodatku do słodyczy zadeklarowało istotnie statystycznie więcej osób reprezentujących skupienie „lubiących słodycze” (tab. 4).

Potwierdzeniem małego zainteresowania słodyczami o podwyższonej wartości odżywczej były deklaracje badanych dotyczące ich zachowań w ciągu ostatniego miesiąca, związane z kupowaniem czy tylko zwróceniem uwagi na słodycze, na których producent zadeklarował ich specjalne właściwości zdrowotne. Około 80 % badanych nie ujawniło zainteresowania tymi produktami w formie konkretnych zachowań. Deklarowane preferencje względem słodyczy nie wykazały statystycznie istotnej zależności z zainteresowaniem słodyczami o specjalnych właściwościach zdrowotnych.

Wnioski

1. Wykazano małe zainteresowanie badanych poprawą właściwości zdrowotnych słodyczy poprzez modyfikacje polegające na wzbogacaniu ich składnikami pozytywnie oddziałującymi na zdrowie.
2. Preferencje względem różnych sortymentów słodyczy w niewielkim stopniu różnicowały opinie prezentowane przez badanych, aczkolwiek wśród osób mniej lubiących słodycze stwierdzono nieco większe przywiązanie do tradycyjnych słodyczy.
3. Małe zainteresowanie badanych poprawą właściwości zdrowotnych słodyczy oraz większe przywiązanie do tradycyjnych słodyczy wśród osób mniej lubiących słodycze powinno być uwzględniane w trakcie projektowania nowych produktów, a przede wszystkim w procesie komunikowania się z konsumentem.

Literatura

- [1] Aragon-Alegro L.C., Alegro J.H.A., Cardarelli H.R., Chiu M.C., Saad S.M.I.: Potentially probiotic and synbiotic chocolate Mouse. *LWT*, 2007, **40**, 669-675.
- [2] Ares G., Besio M., Giménez A., Deliza R.: Relationship between involvement and functional milk deserts intention to purchase. Influence of attitude towards packaging characteristics. *Appetite*, 2010, **55**, 298-304.
- [3] Bäckström A., Pirttilä-Bäckman A.-M., Tuorila H.: Willingness to try new foods as predicted by social representations and attitude and trait scales. *Appetite*, 2004, **43**, 75-83.
- [4] Bech-Larsen T., Scholderer J.: Functional foods in Europe: Consumer research, market experiences and regulatory aspects. *Trends Food Sci Technol*, 2007, **18**, 231-234.
- [5] Berndsen M., Van Der Pligt J.: Ambivalence towards meat. *Appetite*, 2004, **42**, 71-78.

- [6] Cox D.N., Koster A., Russell C.G.: Predicting intentions to consume functional foods and supplements to offset memory loss using an adaptation of protection motivation theory. *Appetite*, 2004, **43**, 55-64.
- [7] Diplock A.T., Aggett P.J., Ashwell M., Bornet, F., Fern E.B., Roberfroid M. B.: Scientific concepts of functional foods in Europe: Consensus document. *Br. J. Nutr.*, 1999, **81**(4), S1-S27.
- [8] Fletcher B.C., Pine K.J., Woodbridge Z., Nash A.: How visual images of chocolate affect the craving and guilt of female dieters. *Appetite*, 2007, **48**, 211-217.
- [9] Halford J.C.G., Gillespie J., Brown V., Pontin E.E., Dovey T.M.: Effect of television advertisements for foods on food consumption in children. *Appetite*, 2004, **42**, 221-225.
- [10] Jeznach M., Zegan M., Święcicka A., Henze A., Rogdaki E., Menrad K.: Stan i perspektywy rozwoju rynku żywności funkcjonalnej. Wyd. SGGW, Warszawa 2003.
- [11] Jeżewska-Zychowicz M.: Wpływ wybranych cech indywidualnych i środowiskowych na zachowania żywieniowe młodzieży. Wyd. SGGW, Warszawa 2006.
- [12] Jeżewska-Zychowicz M., Pilska M.: Postawy względem żywności i żywienia. Wybrane aspekty teoretyczne i metodyczne. Wyd. SGGW, Warszawa 2007.
- [13] Jeżewska-Zychowicz M., Babicz-Zielińska E., Laskowski W.: Konsument na rynku nowej żywności. Wybrane uwarunkowania spożycia. Wyd. SGGW, Warszawa 2009.
- [14] Kampov-Polevoy A.B., Alterman A., Khalitov E., Garbutt J.C.: Sweet preference predicts mood altering effect of and impaired control over eating sweet foods. *Eating Behaviors*, 2006, **7**, 181-187.
- [15] Lähteenmäki L., Lyly M., Urala N.: Consumer attitudes towards functional foods. In: *Understanding consumers of food products*. Eds. L. Frewer & H. van Trijp, Cambridge, England: Woodhead, 2007, pp. 412-427.
- [16] Macht M., Dettmer D.: Everyday mood and emotions after eating a chocolate bar or an apple. *Appetite*, 2006, **46**, 332-336.
- [17] Marek T., Noworol C.: Zarys analizy skupień – niehierarchiczne i hierarchiczne techniki skupiania. W: W.J. Brzeziński (red.) *Wielozmiennowe modele statystyczne w badaniach psychologicznych*. PWN, Poznań 1987, ss. 184-204.
- [18] Menrad K.: Market and marketing of functional food in Europe. *J. Food Eng.*, 2003, **56**, 181-188.
- [19] Nöthlings U., Murphy S.P., Wilkens L.R., Henderson B.E. and Kolonel L.N.: Flavonols and Pancreatic Cancer Risk-The Multiethnic Cohort Study. *Amer. J. Epid.*, 2007, **166** (8), 924-931.
- [20] Osman J.L., Sobal J.: Chocolate cravings in American and Spanish individuals: Biological and cultural influences. *Appetite*, 2006, **47**, 290-301.
- [21] Ötles S., Cagindi Ö.: Cereal based functional foods and nutraceuticals. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment*, 2006, **5** (1), 107-112.
- [22] Remacle C., Reusens B.: *Functional Foods, Aging, and Degenerative Disease*. CRC Publisher, 2004, p. 771.
- [23] Report on Functional Food: FAO, November, 2007.
- [24] Siró I., Káplona E., Káplona B., Lugasi S.: Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance – a review. *Appetite*, 2008, **51**, 456-467.
- [25] Sojkin B., Małecka M., Olejniczak T., Bakalarska M.: Konsument wobec innowacji produktowych na rynku żywności. Wyd. UE, Poznań 2009.
- [26] SPPS Professional Statistics. SPPS, Inc. Chicago 1993.
- [27] Thomson D.M.H., Croker C., Marketo C.G.: Linking sensory characteristics to emotions: An example using dark chocolate. *Food Qual. Pref.*, 2010, **21**, 1117-1125.
- [28] Urala N., Lähteenmäki L.: Attitudes behind consumers' willingness to use functional foods. *Food Qual. Pref.*, 2004, **15**, 793-803.
- [29] Urala N., Lähteenmäki L.: Consumers' changing attitudes towards functional foods. *Food Qual. Pref.*, 2007, **18**, 1-12.

- [30] Verbeke W.: Consumer acceptance of functional foods: Socio-demographic, cognitive and attitudinal determinants. *Food Qual. Pref.*, 2005, **16**, 45-57.
- [31] Wansink B., Cheney M.M., Chan N.: Exploring comfort food preferences across age and gender. *Physiology & Behavior*, 2003, **79** (4-5), 739-747.
- [32] Weststrate J. A., van Poppel G., Verschuren P. M.: Functional foods, trends and future. *Br. J. Nutr.*, 2002, **88**, S233-S235.


CONSUMERS' INTEREST IN FUNCTIONAL SWEETS AND CONSUMER PREFERENCES

Summary

The objective of the study was to verify to what degree the preferences of consumers for sweets impacted their interest in functional sweets represented by the chocolate products with labels containing the declaration of a manufacturer about "special pro-health properties" of the products. The empiric survey was carried out in autumn 2010 and comprised 1000 consumers constituting a representative sample of the Polish residents aged 18 and more, and whose socio-demographic profile was diversified.

To analyse the empirical material, a frequency analysis was applied, as well as cross tables; the data were compared using a χ^2 test and a one-way ANOVA analysis. To select homogenous clusters of consumers based on their preferences for sweets, first, a factor analysis was applied to reduce variables, and, next, a cluster analysis. A statistical package 'SPSS for Windows PL. 14' was utilized.

It was found that the consumers' interest in the new chocolate products having special pro-health properties was low. The vitamins were the most accepted component improving the pro-health properties of sweets; next, the fibre and the minerals. The declared preferences for sweets did not show any statistically significant correlation with the consumers' interest in the sweets showing special pro-health properties.

Key words: functional food, novel food, sweets, consumer, consumer preferences 

HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA

INTERAKCJE SKŁADNIKÓW ŻYWNOŚCI

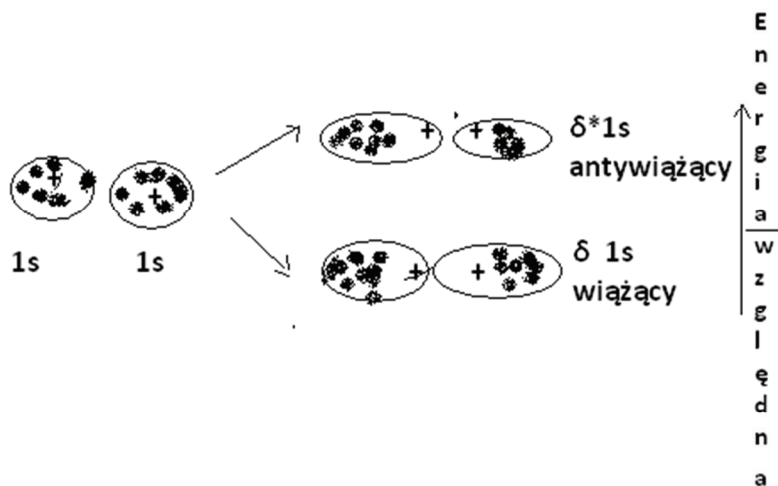
Prezentujemy 9. część cyklu nt.: „Interakcje składników żywności”. Druk materiałów z tego cyklu rozpoczęliśmy w *Żywności* nr 1 (74), 2011.

Pytanie: Jak przebiega utlenianie organicznych związków żywności za pomocą tlenu?

Cząsteczka tlenu jest dwuatomowa i zarówno w postaci cieczy, jak i gazu jest dzięki obecności w niej dwóch niesparowanych elektronów paramagnetyczna.

Jej wzór elektronowy można przedstawić jako: $\text{O}:\text{O}:$, lecz ta postać wyraźnie narusza regułę oktetu.

Postać ta nie jest również zgodna z energią wiązania, która dla cząsteczki O_2 wynosi 492 kJ i jest pośrednia między energią wiązania potrójnego w cząsteczce N_2 (941 kJ) i wiązania pojedynczego w cząsteczce F_2 (151 kJ). Wyjaśnienia tego faktu dostarcza teoria orbitali molekularnych, według której elektron należy do cząsteczki jako całości, a nie pojedynczego atomu, i porusza się w całej cząsteczce. Ilustracją tej teorii jest powstawanie cząsteczki H_2 . Atom wodoru zbudowany jest z dodatnio naładowanego jądra i elektronu z ujemnym ładunkiem elektrycznym znajdującym się na poziomie elektrycznym 1s. Dwa atomy wodoru mogą utworzyć dwa rodzaje orbitali cząsteczkowych przez połączenie orbitalu 1s jednego atomu wodoru z orbitalem 1s drugiego atomu wodoru. Schematycznie powstanie orbitalu cząsteczkowego w H_2 przez połączenie dwóch orbitali atomowych 1s przedstawiono na rys. 1.



Rys. 1. Powstanie orbitalu cząsteczkowego w H_2 przez połączenie dwóch orbitali atomowych 1s.

Powstanie górnego orbitalu cząsteczkowego wyjaśnia się falową teorią elektronu. Przyjmując falową naturę elektronu można założyć, że dwie takie fale o przeciwnej fazie (wierzchołek jednej nakłada się na dolinę drugiej) nakładają się na siebie, wywołując destrukcję interferencyjną. Efektem tego jest zanik w tym obszarze gęstości elektronowej, a tym samym brak ekranowania jądra. Pozbawione tej osłony elektronowej jądra dodatnio naładowane odpychają się, co uniemożliwia utworzenie między nimi wiązania. Takie orbitale cząsteczkowe nazywa się antywiązącymi i oznacza się gwiazdką. Dolny orbital powstał z nałożenia się na siebie dwóch orbitali atomowych 1s, powodując wzrost gęstości elektronowej i utworzenie wiązania pomiędzy atomami wodoru. Z tego powodu orbital ten jest nazywany wiążącym. Wyjaśnieniem różnic w energiach wiązania w cząsteczkach N_2 , O_2 i F_2 , które wynoszą odpowiednio 941, 494 i 151 kJ/mol, są następujące fakty. W cząsteczce N_2 każdy atom N ($1s^2 2s^2 2p^3$) ma na orbitalu p trzy elektrony. W cząsteczce N_2 będzie ich sześć. Obsadzają one trzy najniższe orbitale wiążące, tworząc sparowane pary, nadając cząsteczce azotu właściwości diamagnetyczne. W cząsteczce O_2 są dwa dodatkowe elektrony ($1s^2 2s^2 2p^4$). Po wypełnieniu trzech wiążących orbitali p w cząsteczce tlenu, dwa pozostałe muszą zająć pozycję na orbitalach niewiążących. W celu zmniejszenia odpychania między ładunkami jednoimiennymi w każdym orbitalu znajduje się jeden niesparowany elektron. To powoduje, że cząsteczka O_2 jest paramagnetyczna. Obecność dwóch elektronów antywiązących w O_2 osłabia wiązanie w porównaniu z N_2 . Jeżeli więc w cząsteczce N_2 obecne jest potrójne wiązanie, to w O_2 jest potrójne wiązanie, na które składają się trzy pary wiążące minus dwa elektrony antywiązące, które są równoważne dwóm parom wiążącym. Dzięki temu rząd wiązania, który określa się jako połowę liczby elektronów wiążących pomniejszonych o liczbę elektronów antywiązących, maleje z trzech dla N_2

do dwóch dla O₂. Energia wiązania maleje z 941 do 494 kJ. Podobne rozumowanie można przeprowadzić dla cząsteczki F₂. Schemat obsady orbitali cząsteczkowych w N₂, O₂ i F₂ przedstawiono na rys. 2.

	N ₂		O ₂		F ₂	
δp^*	-		-		-	
$\Pi p_y^* \Pi p_z^*$	-	-	↑	↑	↑↓	↑↓
δp	↑↓		↑↓		↑↓	
$\Pi p_y \Pi p_z$	↑↓	↑↓	↑↓	↑↓	↑↓	↑↓

Rys. 2. Obsada orbitali cząsteczkowych N₂, O₂ i F₂.

W kolejnym odcinku przedstawione będą mechanizmy reakcji utleniania związków żywności za pomocą tlenu. ☒

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 31 maja 2012 r.

Polskie akty prawne

1. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 19 marca 2012 r. w sprawie przekazywania danych przez organizacje producentów, oznaczania wycofanych produktów rybnych oraz przekazywania informacji przez okręgowych inspektorów rybołówstwa morskiego (Dz. U. 2012 r., poz. 330).

Rozporządzenie określa:

- formę, sposób, tryb oraz terminy przekazywania danych przez organizacje producentów,
- sposób, tryb i terminy przekazywania Agencji Restrukturyzacji i Modernizacji Rolnictwa przez okręgowych inspektorów rybołówstwa morskiego informacji dotyczących działań interwencyjnych,
- sposób, w jaki oznacza się wycofane produkty rybne uznane za nienadające się do spożycia przez ludzi, w celu uniemożliwienia wprowadzenia ich do obrotu.

Organizacja producentów zamierzająca w danym roku połowowym wyczołać produkty rybne przekazuje informacje dyrektorowi oddziału regionalnego Agencji właściwemu ze względu na siedzibę tej organizacji.

2. Rozporządzenie Prezesa Rady Ministrów z dnia 27 kwietnia 2012 r. w sprawie szczegółowego trybu pobierania i badania próbek produktów przez organy Inspekcji Handlowej (Dz. U. 2012 r., poz. 496).

W niniejszym rozporządzeniu zostało określone:

- tryb pobierania i badania próbek produktów lub próbek kontrolnych,
- wzór protokołu pobrania próbki,
- sposób zabezpieczenia oraz przechowywania próbek,
- termin i sposób dostarczenia próbki do badań,
- wzór protokołu przyjęcia próbki do badań,
- wzór sprawozdania z badań oraz wzór sprawozdania z badań organoleptycznych,
- sposób postępowania z pozostałościami po próbkach,
- sposób ustalania wysokości oraz uiszczania należności pieniężnych.

Unijne akty prawne

1. Rozporządzenie Komisji (UE) NR 231/2012 z dn. 9 marca 2012 r. ustanawiające specyfikacje dla dodatków do żywności wymienionych w załącznikach II i III do rozporządzenia (WE) nr 1333/2008 Parlamentu Europejskiego i Rady (Dz. Urz. UE L 2012 r., Nr 83, s. 1).

Zostały uchylone Dyrektywy 2008/60/WE, 2008/84/WE oraz 2008/128/WE, które tracą moc ze skutkiem od dnia 1 grudnia 2012 r.

W załącznikach do rozporządzenia określono nowe specyfikacje dodatków do żywności, w tym dla barwników i substancji słodzących.

Niniejsze rozporządzenie stosuje się od dnia 1 grudnia 2012 r., natomiast środki spożywcze zawierające dodatki do żywności, które w sposób zgodny z prawem zostały wprowadzone do obrotu przed dniem 1 grudnia 2012 r., ale które nie są zgodne z niniejszym rozporządzeniem, mogą być nadal sprzedawane aż do wyczerpania zapasów.

2. Dyrektywa Parlamentu Europejskiego i Rady 2012/12/UE z dn. 19 kwietnia 2012 r. zmieniająca dyrektywę Rady 2001/112/WE odnoszącą się do soków owocowych i niektórych podobnych produktów przeznaczonych do spożycia przez ludzi (Dz. Urz. UE L 2012 r. Nr 115, s. 1).

Załączniki do niniejszej dyrektywy zawierają:

- nazwy produktów, definicje i właściwości produktów oraz szczegółowe oznaczenia niektórych produktów,
- definicje surowców,
- przepisy szczególne dotyczące nektarów owocowych,
- minimalne wartości w skali Brix dla odtworzonego soku owocowego i odtworzonego przecieru owocowego.

Wprowadzone w dyrektywie 2001/112/WE zmiany państwa członkowskie zobowiązane są przyjąć przepisy ustawowe, wykonawcze i administracyjne niezbędne do wykonania niniejszej dyrektywy przed dniem 28 października 2013 r. ☒

NOWE KSIĄŻKI

Praktyka zarządzania jakością w XXI wieku

Sikora T., Giemza M. (red.)

Wydawca: Wyd. Nauk. PTTŻ, Kraków 2012, ISBN 978-83-929209-7-7, stron 727, cena 40 zł

Zamówienia: zj@uek.krakow.pl

System zarządzania jakością z wykorzystaniem wymagań norm ISO serii 9000 od 25 lat jest z powodzeniem wdrażany w przedsiębiorstwach. Stał się pierwowzorem dla innych systemów zarządzania, które zostały objęte wymaganiami normatywnymi, jak: zarządzanie środowiskowe, zarządzanie bezpieczeństwem i higieną pracy czy zarządzanie bezpieczeństwem informacji. Dokonuje się także ewolucja systemu zarządzania jakością. Jest on dostosowywany do potrzeb wybranej gałęzi przemysłu (systemy branżowe). Własne systemy zarządzania jakością zostały opracowane na potrzeby takich przemysłów, jak: spożywczy, motoryzacyjny czy lotniczy.

Książka składa się z dwóch części. W pierwszej zamieszczono współczesne zagadnienia dotyczące systemowego zarządzania jakością. Natomiast druga zawiera informacje z zakresu technik doskonalenia zarządzania jakością. Oprócz podstawowych zagadnień z tego zakresu przedstawiono najnowsze rozwiązania umożliwiające działanie przedsiębiorstwa w warunkach konkurencji początku XXI. wieku.

Monografia może być przydatna zarówno dla praktyków, jak i teoretyków zarządzania jakością.

Determinanty zarządzania jakością życia. Usługi i żywność

Sikora T., Balon U. (red.)

Wydawca: Wyd. Nauk. PTTŻ, Kraków 2012, ISBN 978-83-929209-6-0, stron 526, cena 40 zł

Zamówienia: zj@uek.krakow.pl

Zarządzanie jakością stanowi element zintegrowanego systemu zarządzania organizacją, który obejmuje m.in. zarządzanie: środowiskowe, bezpieczeństwem i higieną pracy, bezpieczeństwem informacji. Jakość w zintegrowanym systemie zarządzania odnosi się do wyrobu, informacji, procesu, usługi, ale również dotyczy jakości życia.

Jakość życia jest kategorią filozoficzną, która często utożsamiana jest z zaspokojeniem potrzeb człowieka. Obok zadowolenia z życia codziennego i subiektywnej oceny materialnych warunków egzystencji elementem budującym jakość życia jest również ocena dostępności i funkcjonowania usług. Im szersze i możliwości skorzystania z różnorodnych usług są szersze, tym klient będzie postrzegał jakość życia jako wyższą. Klient jest głównym motorem działania każdej organizacji, a także czynnikiem warunkującym jej rozwój. Klienci wymagają w dzisiejszych czasach zarówno wysokiej jakości produktów czy usług, jak i obsługi na najwyższym poziomie.

Organizacje funkcjonujące w branży spożywczej dbają o klienta, poprzez zapewnienie jakości i bezpieczeństwa produktów. W tym celu wdrażają systemy charakterystyczne w tej branży (m.in. GMP/GHP, HACCP, ISO 22000).

Monografię podzielono na dwie części. Pierwszą zatytułowano: „Jakość usług jako wyznacznik jakości życia”, drugą: „Zarządzanie jakością żywności a jakość życia”. W opracowaniu zamieszczono rozważania teoretyczne oraz przykłady praktycznych rozwiązań wykorzystywanych w organizacjach. Książka przeznaczona jest dla wszystkich osób zainteresowanych problematyką jakości, w szczególności jakości usług oraz zapewnieniem i zarządzaniem jakością i bezpieczeństwem żywności.

Challenges of quality management

[Wyzwania zarządzania jakością]

Sikora T., Nowicki P. (red.)

Wydawca: Wyd. Nauk. PTTŻ, Kraków 2012, ISBN 978-83-935421-0-9, stron 526, cena 25 zł

Zamówienia: zj@uek.krakow.pl

W warunkach stale rosnącej konkurencji przedsiębiorstwa poszukują strategii działań na rynkach niszowych, które pomogłyby przyciągnąć nowych klientów i wypracować zysk. W celu budowy przewagi konkurencyjnej i bardziej efektywnego zaspokojenia potrzeb klientów, coraz większa liczba organizacji wdraża systemy zarządzania jakością. Pozwala to na zdobycie zaufania klientów i osiągnięcie lepszej pozycji na rynku. Przedsiębiorstwa, które zdecydowały się na wdrożenie systemu zarządzania jakością zgodnego z normami, powinny traktować je jako wytyczne do tworzenia skutecznie i efektywnie funkcjonującej organizacji. Wdrażanie systemu zarządzania jakością w organizacji wymaga ciągłego doskonalenia, które jest wielkim wyzwaniem zarówno dla kierownictwa, jak i wszystkich pracowników. Umiejętne zarządzanie przedsiębiorstwem, jak również intuicja oraz kreatywne podejście do jakości, ułatwia prowadzenie działalności gospodarczej. Jednym z głównych celów tej książki jest wyznaczenie kierunków rozwoju badań i przedsiębiorczości z zakresu jakości.

Książka przeznaczona jest dla wszystkich osób zainteresowanych różnymi aspektami jakości.

Marketing produktów żywnościowych

Domański T., Bryła P.

Wydawca: PWE, Warszawa 2010, ISBN 978-83-208-1875-8, stron 228, cena 35,94 zł

Zamówienia: www.pwe.com.pl

Książka obejmuje problematykę marketingu produktów żywnościowych ze szczególnym uwzględnieniem branż: mleczarskiej, przetwórstwa mięsa i owocowo-warzywnej. Podręcznik składa się z ośmiu rozdziałów. W poszczególnych rozdziałach autorzy omówili: teoretyczne aspekty marketingu żywności, strategie wykorzystania środków unijnych przez polskich producentów, zmiany w wymianie handlowej Polski po wejściu do UE, konkurencyjność polskich produktów żywnościowych na rynku europejskim. W czterech rozdziałach omówiono studia przypadków poświęcone strategiom producentów i dystrybutorów na polskim rynku. Książka jest przeznaczona głównie dla wykładowców marketingu, studentów kierunków ekonomicznych, technologii żywności oraz praktyków gospodarczych.

Komercjalizacja produktów żywnościowych

Sojkin B. (red.)

Wydawca: PWE, Warszawa 2012, ISBN 978-83-208-2026-3, stron 248, cena 53,91 zł

Zamówienia: www.pwe.com.pl

We współczesnych gospodarkach coraz częściej mamy do czynienia z postępującymi procesami komercjalizacji różnych produktów. Dotyczy to także produktów żywnościowych. Autorzy przedstawili: pojęcie i elementy komercjalizacji produktów (w tym produktów żywnościowych), uwarunkowania komercjalizacji produktów żywnościowych w przedsiębiorstwie, procesy komercjalizacji produktów żywnościowych w polskich przedsiębiorstwach, zachowania konsumenta wobec innowacji produktowych na rynku żywności oraz modelowanie procesu komercjalizacji produktów żywnościowych w Polsce.

Książka jest przeznaczona dla pracowników naukowych badających zachowania konsumentów, a także studentów ekonomii, zarządzania, marketingu.

Technika ekstruzji w przemyśle rolno-spożywczym

Mościcki L., Mitrus M., Wójtowicz A.

Wydawca: PWRiL, Warszawa 2012, ISBN 978-83-090-1027-2, stron 222, cena 45,79 zł

Zamówienia: www.naukowa.pl

Ekstruzja jest coraz częściej stosowana w przetwórstwie rolno-spożywczym, zarówno przez producentów żywności, jak i pasz. W podręczniku omówiono problematykę dotyczącą tej stosunkowo nowej dziedziny produkcji. Opisano procesy technologiczne związane z produkcją różnorodnych ekstrudatów oraz stosowane maszyny i urządzenia. Przedstawiono zalecenia o charakterze czysto eksploatacyjnym. Książka umożliwia poznanie i zrozumienie szczegółów inżynierijno-technologicznych produkcji wyrobów ekstrudowanych, ale także może ułatwić producentom podjęcie decyzji o ewentualnym wdrożeniu tej techniki w swoich zakładach przetwórczych. Podręcznik przeznaczony jest dla pracowników naukowych, studentów, kadry inżynierijno-technicznej oraz technologów zajmujących się zagadnieniami z zakresu inżynierii rolniczej, technologii żywności, inżynierii procesowej oraz dyscyplin pokrewnych.

Opracowała: *Anna Florek-Paszkowska (dawniej Gręda)*

TWÓRCY POLSKIEJ NAUKI O ŻYWNOSCI

POLSCY UCZENI W OKRESIE ZABORÓW I POLSKI ODRODZONEJ PROF. DR HAB. INŻ. WIKTOR SYNIEWSKI (1865-1927)



Wiktor Syniewski urodził się 5 listopada 1865 r. w Czerniowcach (obecnie Ukraina). W 1884 r. ukończył Szkołę Realną w Czerniowcach i podjął studia na Wydziale Filozoficznym Uniwersytetu Czerniowieckiego. Rok później wstąpił na Wydział Chemii Technicznej Szkoły Politechnicznej we Lwowie. Jeszcze jako student został w roku 1888/89 asystentem w Katedrze Chemii Ogólnej i Analitycznej, kierowanej przez prof. Augusta Freunda. W 1891 r. Wiktor Syniewski ukończył studia i podjął pracę jako asystent w Katedrze Mineralogii i Geologii, kierowanej przez prof. Juliana Niedźwieckiego. W tym czasie jego zainteresowania naukowe skłaniały się do zagadnień przemysłu naftowego. Efektem tych zainteresowań była jego pierwsza praca pt. „Maż jako materiał opałowy” (Kosmos, 10, 1891).

W latach 1891 - 94 Wiktor Syniewski pracował w urzędzie Kontroli Skarbowej na stanowisku kontrolera kontroli technicznej. Tam zapoznał się z przemysłem rolnym: gorzelnictwem, browarnictwem, krochmalnictwem oraz produkcją octu. Przemysł rolny był po przemyśle naftowym najważniejszą gałęzią przemysłu w zaborze austriackim.

W 1894 r. Wiktor Syniewski został mianowany asystentem Katedry Technologii Chemicznej, kierowanej przez prof. Bronisława Pawlewskiego w Szkole Politechnicznej we Lwowie. W katedrze tej już od 1872 r. prowadzono wykłady z technologii rolnej dla studentów Wydziału Chemii Technicznej. Początkowo Wiktor Syniewski kontynuował prace nad przetwarzaniem ropy naftowej i tej problematyki dotyczyły jego publikacje. W tym też czasie opracował konstrukcję jednej z pierwszych na świecie lamp żarowych („Spirytusowa lampa żarowa”, Czasopismo Techniczne, Lwów 1896). Następnie zajął się zagadnieniami przemysłu rolnego. Opublikował kilka prac dotyczą-

cych mikrobiologii i gorzelnictwa. Od 1894 r. był redaktorem i wydawcą organu Polskiego Towarzystwa Gorzelniczego „Gorzelnik”, a po jego likwidacji w 1902 r. redagował, wspólnie z Tadeuszem Chrzęszczem i Andrzejem Krzemeckim, reaktywowane czasopismo ukazujące się w latach 1908-1913 r. pod tytułem „Gorzelnictwo”.

W latach 1897 - 1905 Wiktor Syniewski, niezależnie od pracy w Katedrze Technologii Chemicznej, wykładał w Krajowej Szkole Gorzelniczej w Dublanach, kierowanej przez Romana Wawnikiewicza, profesora Wyższej Szkoły Rolniczej w Dublanach. Wykłady te dotyczyły enzymów oraz produkcji drożdży prasowanych. W tym okresie rozpoczął badania dotyczące budowy i właściwości skrobi i z tego zakresu ukazały się jego pierwsze publikacje w 1898 i 1899 r. W 1899 r. Wiktor Syniewski odbył roczny staż naukowy w Laboratorium Karlsberskim, kierowanym przez prof. Emila Hansena, a następnie w Instytucie Pasteura, w pracowni prof. Emila Duclaux. Po powrocie w 1900 r. habilitował się w zakresie technologii chemicznej w Szkole Politechnicznej we Lwowie. W tym też roku wydał podręcznik „Mikrobiologia fermentacyjna” (Nakładem autora, Lwów 1900), pierwszy polski podręcznik z tego działu wiedzy.

W 1904 r. Wiktor Syniewski został mianowany profesorem nadzwyczajnym technologii chemicznej i mykologii technicznej. Utworzono też dla niego Katedrę Technologii Chemicznej II i Mykologii Technicznej. W 1908 r. został mianowany profesorem zwyczajnym. Oprócz wykonywanych badań naukowych, prowadził wykłady i ćwiczenia z „mykologii technicznej” (mikrobiologii ogólnej i przemysłowej) oraz wykłady z „technologii przemysłu rolniczego”, obejmującej chemię węglowodanów (krochmalnictwo, przetwórstwo skrobi) gorzelnictwo, drożdżownictwo, browarnictwo i wyrób octu, z „urządzeń zakładów przemysłu rolniczego”, z „metod analitycznych w przemyśle fermentacyjnym” oraz z „encyklopedii chemii technicznej”.

Prof. Wiktor Syniewski pełnił odpowiedzialne funkcje organizacyjne – był dziekanem Wydziału Chemii Technicznej, potem Wydziału Chemicznego w latach: 1905 - 1907, 1919 - 1922 i 1923/24 oraz dwukrotnie prodziekanem tegoż wydziału w latach 1908/09 i 1922/23, a także rektorem Szkoły Politechnicznej w roku 1907/08 i jej prorektorem w roku 1908/09. W latach 1925 - 27 sprawował też godność prezesa Komisji Egzaminacyjnej dla Egzaminu Dyplomowego na Wydziale Chemicznym. Pełnił funkcję przewodniczącego i członka honorowego Polskiego Stowarzyszenia Gorzelniczego oraz członka honorowego Związku Techników Gorzelnicznych, był członkiem założycielem Akademii Nauk Technicznych w Warszawie, członkiem Krajowej Rady Górniczej, organizatorem i członkiem Towarzystwa Przyrodników im. Mikołaja Kopernika, członkiem Polskiego Towarzystwa Naukowego we Lwowie i Polskiego Towarzystwa Chemicznego oraz biegłym sądowym w zakresie gorzelnictwa.

Prof. Wiktor Syniewski opracował oryginalną teorię struktury cząsteczki skrobi. Jako pierwszy na świecie przedstawił przestrzenną jej budowę. Jako też pierwszy na

świecie zaobserwował zjawisko retrogradacji skrobi, nazywając je rewersją. Również jako pierwszy na świecie, prowadząc badania nad rozkładem skrobi przez enzym zwany wówczas diastazą, stwierdził, że składa się on z dwóch różnych enzymów. Pierwszy z nich, odszczepiający z łańcucha skrobi maltozę i pozostawiając dekstrynę graniczną, został nazwany przez Syniewskiego α -diastazą. Enzym ten później został nazwany przez Richarda Kuhna β -amylazą i znany jest pod tą nazwą. Drugi z tych enzymów, który w czasie hydrolizy skrobi wytwarzał dekstryny (oligosacharydy) i niewielkie ilości maltozy, Syniewski nazwał β -diastazą, a obecnie jest on znany jako α -amylaza. Syniewski wyjaśnił też przebieg enzymatycznej hydrolizy skrobi i określił jej produkty. Stwierdził również zmiany aktywności i działania amylaz w czasie kiełkowania ziarna jęczmienia oraz opracował metodę oznaczania ich aktywności, zwanej „siłą diastatyczną”. Dokonania naukowe prof. Wiktora Syniewskiego, dotyczące skrobi i amylaz, były wówczas powszechnie znane i opisywane w podręcznikach na całym świecie. Stanowiły bowiem znaczący wkład w postęp nauki w tej dziedzinie.

Prof. Wiktor Syniewski był w Polsce pierwszym uczonym, który zainicjował szerokie badania nad skrobią i jej enzymatyczną hydrolizą. Prowadził też prace nad fermentacją alkoholową, m.in. pionierskie doświadczenia nad fermentacją ciągłą w specjalnie skonstruowanej aparaturze. Potrafił zebrać wokół siebie grono współpracowników zaangażowanych w badania, tworzących zespół nazwany potem Polską Szkołą Skrobiową, do tradycji której nawiązuje kilka ośrodków naukowych w Polsce, zwłaszcza w Krakowie, Łodzi i Wrocławiu. Pod jego kierunkiem prace doktorskie wykonali m.in. późniejsi profesorowie kilku uczelni: Andrzej Krzemecki (1912), Ignacy Ihnatowicz (1912), Zenon Wierzchowski (1913), Adolf Joszt (1913), Aleksander Tychowski (1925), Jerzy Kardaszewicz (1925) i Feliks Polak (1925).

Prof. dr hab. Wiktor Syniewski za zasługi został w 1926 r. odznaczony Krzyżem Komandorskim Orderu Odrodzenia Polski. Zmarł nagle 17 lutego 1927 r. Został pochowany we Lwowie.

Wacław Leszczyński

WACŁAW LESZCZYŃSKI

XXXV LAT DZIAŁALNOŚCI WYDZIAŁU NAUK O ŻYWNOSCI UNIwersytetu PRZYRODNICZEGO WE WROCLAWIU

Dnia 20 kwietnia 2012 r. odbyły się uroczystości 35-lecia istnienia Wydziału Nauk o Żywności Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Z tej okazji Senat Uczelni nadał tytuł doktora honoris causa prof. Janowi Gawęckiemu, wybitnemu specjalście z żywienia człowieka, z Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Dziekan Wydziału Nauk o Żywności, prof. Antoni Golachowski, wygłosił laudację na jego cześć, a aktu promocji dokonał prof. Wacław Leszczyński. Po podziękowaniu prof. Jana Gawęckiego i odznaczeniu kilku przedstawicieli nauki i przemysłu Medalami „Zasłużony dla Wydziału Nauk o Żywności”, prof. Wacław Leszczyński wygłosił wykład o tradycjach Wydziału Nauk o Żywności, a Dziekan, prof. Antoni Goluchowski, przedstawił jego aktualny stan i działalność.

Wydział Nauk o Żywności powstał w 1977 r., ale jego tradycje sięgają XIX wieku. W 1855 r., w zaborze austriackim we wsi Dublany koło Lwowa, Gospodarskie Towarzystwo Galicyjskie ufundowało Szkołę Gospodarstwa Wiejskiego, w której jako szkole prywatnej posługiwano się językiem polskim. Tam, od 1872 r., prof. Roman Wawnikiewicz prowadził przedmiot „technologia rolna”, a dodatkowo w latach 1881-91 kursy gorzelnicze. W 1891 r. wzniesiono gorzelnię doświadczalną i powołano autonomiczną Krajową Szkołę Gorzelniczą w Dublanach, a jej dyrektorem mianowano prof. Romana Wawnikiewicza. W szkole tej zajęcia prowadzili profesorowie Szkoły Politechnicznej i Wyższej Szkoły Rolniczej w Dublanach, a także wybitni fachowcy praktycy, tacy jak właściciel lwowskiej fabryki wódek, Leopold Baczewski. Jednym z wykładowców był prof. Wiktor Syniewski, autor pierwszego polskiego podręcznika z technologii fermentacji, redaktor dwutygodnika „Gorzelnik”, późniejszy rektor Politechniki Lwowskiej. Był on uznanym w świecie specjalistą z zakresu nauki o skrobi, wnoszącym w publikowanych w tym okresie pracach nowe teorie, dotyczące m.in. istnienia dwóch różnych enzymów amylolitycznych, czy trójwymiarowej struktury cząsteczek

skrobi. Stworzył on zespół zwany „Polską Szkołą Skrobiową”, z której wywodzą się współczesne skrobiowe szkoły naukowe w różnych polskich ośrodkach naukowych.

W latach 1905 - 1918 Krajową Szkołą Gorzelniczą kierował prof. Tadeusz Chrzęszcz, wykładowca technologii rolnej w Akademii Rolniczej w Dublanach. Zmodernizował on gorzelnię doświadczalną, w której wykonywał badania. Był twórcą naukowych podstaw gorzelnictwa w Polsce. Obok prac naukowych, napisał w Dublanach monumentalne dzieło „Gorzelnictwo” – t. I (Lwów 1912), t. II (Poznań 1921).

W latach 1914 - 1919, na skutek działań wojennych, Dublany zostały zniszczone. W tej sytuacji, Akademia Rolnicza w Dublanach wraz z Wyższą Szkołą Lasową we Lwowie została włączona w 1919 r. do Politechniki jako Wydział Rolniczo-Leśny (od 1924 r. Rolniczo-Lasowy) z oddziałami: Rolniczym w Dublanach oraz Lasowym we Lwowie. Krajowa Szkoła Gorzelnicza w Dublanach weszła w skład tego wydziału jako Katedra Technologii Rolniczej, a jej kierownikiem został były asystent prof. Chrzęszcza, prof. Adolf Joszt. Od 1928 r. Katedrą kierował Aleksander Tychowski, były adiunkt prof. Syniewskiego w Katedrze Technologii Chemicznej II i Mykologii Wydziału Chemicznego. W Katedrze prowadzono dla studentów rolnictwa zajęcia z: mikrobiologii, młeczarstwa i technologii rolniczej, obejmującej przemysły fermentacyjne i wszystkie dziedziny przetwórstwa surowców roślinnych przemysłu spożywczego. W Katedrze prowadzono badania rozpoczęte wcześniej przez prof. Syniewskiego razem z Aleksandrem Tychowskim nad chemią i technologią skrobi oraz jej enzymatyczną hydrolizą, a także zgodnie z tradycjami naukowymi prof. Chrzęszcza, z zakresu gorzelnictwa. Wyniki doświadczeń laboratoryjnych sprawdzane były na skalę produkcyjną w przebudowanej i zmodernizowanej gorzelnii doświadczalnej Katedry. Od 1935 r. Katedra wydawała własne czasopismo pt. "Sprawozdania i Prace Gorzelnii Doświadczalnej w Dublanach", w którym publikowano część prac badawczych pracowników Katedry. Wyniki badań publikowano też w czasopismach zagranicznych, głównie w *Biochemische Zeitschrift*.

Katedra, prócz prowadzenia badań naukowych oraz zajęć dydaktycznych, powiązana była ściśle z praktyką przemysłową. Prowadzono w niej dział szczepionek czystych kultur drożdży gorzelnicznych i winiarskich oraz bakterii kwasu mlekowego (zakwasów gorzelnicznych), rozprowadzając je do gorzelnii w całej Polsce. W latach 1929 - 1940 przy Katedrze prowadzono Państwowe Kursy Gorzelnicze o 10-miesięcznym programie nauczania, podlegające bezpośrednio Ministerstwu Wyznań Religijnych i Oświecenia Publicznego. Dzięki wysokiej ocenie działalności naukowo-dydaktycznej i szkoleniowej Katedry powstała w 1938 r. przy Katedrze filia Instytutu Fermentacyjnego w Warszawie. Opracowane przez prof. Tychowskiego i zatwierdzone przez władze plany wybudowania przy katedrze młeczarni doświadczalnej z laboratorium młeczarskim zniweczył wybuch II wojny światowej.

W czasie okupacji sowieckiej, w latach 1939 - 41, Katedra Technologii Rolniczej prowadziła nadal normalne zajęcia dla studentów rolnictwa. Niemcy po wkroczeniu do Lwowa w 1941 r. zamknęli wszystkie uczelnie. Jednak w 1942 r. pozwolili na uruchomienie tzw. „Fachkurse”, ale nie na poziomie studiów wyższych. W rzeczywistości Politechnika Lwowska, w porozumieniu z Delegaturą Rządu RP, prowadziła je według przedwojennych programów. W taki sposób, Katedra prowadziła do 1944 r. 3-letnie studia pod szyldem „Fachowych Kursów Gorzelniczych”. Ponadto organizowano kursy dla techników gorzelniczych i prowadzono dział czystych kultur gorzelniczych i mleczarskich.

Po wkroczeniu, w styczniu 1944 r., Rosjan do Lwowa, kadra naukowa uczelni lwowskich opuszczała w latach 1945 - 46 rodzinne strony, przenosząc się m.in. do Wrocławia. Latem 1946 r. do Wrocławia przybył też prof. Aleksander Tychowski i utworzył Katedrę Technologii Rolnej i Przetwórstwa Owocowo-Warzywnego na Wydziale Rolniczym Uniwersytetu i Politechniki. Była ona kontynuacją katedry dublańskiej – ta sama kadra, takie same programy dydaktyczne i tematyka badań. Przy Katedrze, w latach 1947 - 51, prowadzono Państwowe Kursy Gorzelnicze, a Katedra posiadała wówczas gorzelnię doświadczalną. Do gorzelni w całej Polsce rozsyłano szczepionki czystych kultur drożdży gorzelniczych i bakterii kwasu mlekowego. Katedra prowadziła zajęcia dydaktyczne oraz specjalizację magisterską „technologia rolna” na Wydziale Rolniczym, a także specjalizację z technologii fermentacji i węglowodanów na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej. W obecnym Lwowskim Państwowym Uniwersytecie Rolniczym w Dublanach nie ma katedry technologii żywności. Tak więc jedynym spadkobiercą ośrodka dublańskiego z zakresu technologii żywności jest obecna Katedra Technologii Rolnej i Przechowalnictwa Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, obchodząca w tym roku 121 rocznicę istnienia.

Od lat 50. XX w. wysuwano, zwłaszcza ze strony przemysłu spożywczego makroregionu południowo-zachodniego, postulaty utworzenia we Wrocławiu, na bazie Katedry Technologii Rolnej, kierunku kształcenia z zakresu technologii żywności, zwanej wówczas technologią rolną. Staraniach tych nie przerwała śmierć prof. Aleksandra Tychowskiego (1962 r.), ani jego następców, profesorów Wilhelma Kamienobrodzkiego (1967 r.) i Karola Gerlicza (1970 r.). Dzięki inicjatywie doc. Jerzego Kiersnowskiego, staraniom profesorów Jerzego Sobieszkańskiego i Gustawa Sobkowicza oraz poparciu prof. Antoniego Rutkowskiego z PAN, w 1971 r. powołano Oddział Technologii Rolno-Spożywczej (od 1973 r. Technologii Żywności) przy Wydziale Rolniczym Wyższej Szkoły Rolniczej we Wrocławiu. W jego skład wchodziły zakłady: technologii rolnej i przechowalnictwa (z pracownią przetwórstwa owoców i warzyw), oceny i obrotu surowców zwierzęcych, technologii zbóż, mikrobiologii technicznej oraz chemii ogólnej. Pierwszy nabór studentów odbył się w 1972 r., a po 5 latach było już ok. 300 słuchaczy. Prodziekanami Wydziału Rolniczego ds. Oddziału byli: prof. Irena

Małunowicz z Instytutu Chemii Ogólnej (1972 - 1975) i prof. Gustaw Sobkowicz z Zakładu Technologii i Przechowalnictwa (1975 - 1977).

Stan kadry naukowej i wysoka ocena poziomu kształcenia studentów spowodowały powołanie w 1977 r., w miejsce oddziału, Wydziału Technologii Żywności. Rozwój kadry oraz osiągnięcia naukowe Wydziału stały się podstawą do uzyskania w 1979 r. prawa do nadawania stopnia naukowego doktora nauk technicznych (od 1987 r. nauk rolniczych w zakresie technologii żywności i żywienia).


W 1988 r. na Wydziale, na kierunku „technologia żywności i żywienie człowieka”, powołano pierwszą w Polsce specjalność „biotechnologia żywności”, a nabór na nią (po II roku studiów) odbył się w 1990 r. Z niej, w 1999 r., powstał osobny kierunek studiów „biotechnologia”. Od 1992 r. wprowadzono po raz pierwszy w Polsce nowy system kształcenia, 5 letnie studia magisterskie zamieniono na studia dwustopniowe: I stopnia - inżynierskie (3,5 roku) i II stopnia – magisterskie (1,5 roku). W 1993 r. w efekcie osiągnięć naukowych i rozwoju kadry Wydziału, przyznano mu prawa nadawania stopnia doktora habilitowanego nauk rolniczych w zakresie technologii żywności i żywienia. W 1995 r. Rada Wydziału, uzupełniona o 5 specjalistów z różnych uczelni, nadała pierwszy w Polsce stopień doktora habilitowanego nauk biologicznych z zakresu biotechnologii. W 1999 r. Rada Wydziału, jako jedyna w Polsce uzyskała prawo nadawania stopnia doktora nauk biologicznych w zakresie biotechnologii, a w 2007 r. prawo nadawania stopnia doktora habilitowanego w tej dyscyplinie.

W 2000 r. Wydział zmienił nazwę na Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu, a w 2011 r. otrzymał nowy budynek – Centrum Nauk o Żywności i Żywieniu. Wydział, według oceny parametrycznej ministerstwa, zakwalifikowany został do I kategorii. Ta wysoka pozycja jest wynikiem realizacji grantów finansowanych z funduszy europejskich, działalności publikacyjnej, patentowej i wdrożeniowej oraz współpracy z przemysłem. Wydział wydawał czasopismo naukowe „Technologia Żywności”, będące jednym z serii Zeszytów Naukowych Akademii Rolniczej we Wrocławiu. W latach od 1979 do 2001 (gdy nastąpiła likwidacja pisma) ukazało się 14 jego numerów. Wydział kształcił na kierunku „technologia żywności i żywienie człowieka” oraz na kierunku „biotechnologia” na studiach I i II stopnia, a także na kierunku towaroznawstwo na studiach I stopnia. Od 2013 r. uruchomione będą studia na kierunku „żywienie człowieka”. Na Wydziale prowadzone są 2 studia doktoranckie: z technologii żywności i żywienia człowieka oraz z biotechnologii. Pierwszym dziekanem Wydziału był prof. Gustaw Sobkowicz z Katedry Technologii Rolnej i Przechowalnictwa (1977 - 1981), a następnymi: prof. Wacław Leszczyński z Katedry Technologii Rolnej i Przechowalnictwa (1981 - 1987 i 1993 - 1999), prof. Irena Górską z Katedry Technologii Surowców Zwierzęcych (1987 - 1993), prof. Józefa Chrzanowską z Katedry Technologii Surowców Zwierzęcych (1999 - 2005) i prof. Antoni Gołachowski z Katedry Technologii Rolnej i Przechowalnictwa (2005 - 2012). Na nową kadencję 2012 - 2016 wybrana

została prof. Józefa Chrzanowska z Katedry Technologii Surowców Zwierzęcych i Zarządzania Jakością.

Na Wydziale pracuje 15 profesorów, 16 doktorów habilitowanych i 65 doktorów, a studiuje ok. 1,5 tysiąca słuchaczy. W skład Wydziału wchodzi: Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności (kierownik prof. Waldemar Rymowicz), Katedra Chemii (kierownik prof. Czesław Wawrzeńczyk) z Zakładami: Chemii Bioorganicznej (kierownik dr hab. Ewa Huszcza) oraz Syntezy Organicznej (kierownik prof. Czesław Wawrzeńczyk), Katedra Technologii Owoców, Warzyw i Zbóż (kierownik prof. Jan Oszmiański) z Zakładami: Technologii Owoców i Warzyw (kierownik prof. Jan Oszmiański) oraz Technologii Zbóż (kierownik prof. Zygmunt Gil), Katedra Technologii Rolnej i Przechowywania (kierownik dr hab., prof. UP Józef Błazewicz) z Zakładami: Technologii Fermentacji (kierownik dr Joanna Kawa-Rygielska), Technologii Przetworów Ziemiakanych (kierownik dr hab., prof. UP Agnieszka Kita) i Technologii Węglowodanów (kierownik dr hab. Tomasz Zięba), Katedra Technologii Surowców Zwierzęcych i Zarządzania Jakością (kierownik prof. Tadeusz Trziszka) oraz Katedra Żywienia Człowieka (kierownik prof. Jadwiga Biernat).

Na Wydziale, w okresie 35 lat, dyplom magistra inżyniera otrzymało 2793 absolwentów kierunku „technologia żywności i żywienie człowieka” oraz 357 absolwentów kierunku „biotechnologia”. Dyplom inżyniera uzyskało 156 absolwentów „technologii żywności i żywienia człowieka”, 32 absolwentów „biotechnologii” i 171 absolwentów kierunku „towaroznawstwo”. Studia podyplomowe ukończyło 350 osób. Rada Wydziału nadała 148 stopni doktora, w tym 47 nauk biologicznych w zakresie biotechnologii oraz 43 stopnie doktora habilitowanego, w tym 19 nauk biologicznych w zakresie biotechnologii. Na wniosek Rady Wydziału, Senat Uczelni nadał 9 osobom tytuł doktora *honoris causa*. Byli to: prof. Adam Sroczyński (Politechnika Łódzka), prof. Józef Pezacki Akademia Rolnicza w Poznaniu), prof. Mieczysław Pałasiński (Akademia Rolnicza w Krakowie), prof. Helena Oberman (Politechnika Łódzka), prof. Antoni Polanowski (Uniwersytet Wrocławski), prof. Henryk Górecki (Politechnika Wrocławska), prof. Wacław Leszczyński (Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu), prof. Włodzimierz Bednarski (Uniwersytet Warmińsko-Mazurski) i prof. Jan Gawęcki (Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu).

Informacje o Wydziale znajdują się na stronie internetowej <http://wnoz.up.wroc.pl>.

PROF. DR HAB. JAN GAWĘCKI – DOKTOREM *HONORIS CAUSA* UNIWERSYTETU PRZYRODNICZEGO WE WROCŁAWIU



Profesor Jan Gawęcki urodził się 8 sierpnia 1944 r. w Skierniewicach. Studia wyższe ukończył na Wydziale Technologii Rolno-Spożywczej Wyższej Szkoły Rolniczej (obecnie Uniwersytetu Przyrodniczego) w Poznaniu. W tej uczelni następował Jego rozwój naukowy – stopień doktora nauk technicznych uzyskał w 1974 r., stopień doktora habilitowanego w 1982 r., tytuł profesora w 1991 r.

Zainteresowania naukowe Profesora związane są z fizjologią i higieną żywienia człowieka, a w szczególności z określaniem wartości odżywczej i prozdrowotnej żywności, interakcjami składników żywności w aspekcie chorób dietozależnych, wpływem ksenobiotyków na biodostępność składników odżywczych. Do szczególnych osiągnięć Profesora Gawęckiego należą pionierskie badania dotyczące fizjologicznych mechanizmów wyboru pokarmu – czyli nutrisensoryki.

Dorobek naukowy Profesora Gawęckiego obejmuje ponad 400 pozycji, w tym 129 oryginalnych prac twórczych opublikowanych w renomowanych czasopismach naukowych polskich i zagranicznych, 30 oryginalnych prac twórczych opublikowanych w materiałach konferencyjnych, 44 prace przeglądowe i 149 komunikatów na konferencjach i sympozjach.

Na szczególne podkreślenie zasługują osiągnięcia Profesora jako autora, współautora i redaktora 31 książek naukowych, podręczników, skryptów i monografii. Wielokrotnie wznawiane podręczniki „Żywienie człowieka”, „Podstawy nauki o żywieniu”, „Żywienie człowieka zdrowego i chorego”, „Żywienie człowieka a zdrowie publiczne” weszły na stałe do kanonu lektur studentów uczelni przyrodniczych i medycznych.

Doświadczenie zawodowe, cechy osobowe i wysoka pozycja w środowisku naukowym sprawiły, że Profesor Jan Gawęcki pełni lub pełnił ponad 50 funkcji w gremiach decydujących o polityce naukowej państwa, m.in. był członkiem Rady Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej, przewodniczył Zespołowi Nauk Rolniczych i Leśnych PAN, pracował w zespole do Spraw Reformy Administracji Publicznej, gdzie zajmował się podziałem kompetencji w obszarze rolnictwa i gospodarki żywnościowej, działał w ministerialnym Zespole do Spraw Działalności Wspomagającej Badania i w Zespole do Spraw badań Własnych Szkół Wyższych, był ekspertem Komitetu Sterującego Programem FORESIGHT. Powołany został do Rady Narodowego Centrum Badań i Rozwoju oraz Zespołu Interdyscyplinarnego do Spraw Strategicznych Programów Badań i Prac Rozwojowych, w którym opracował założenia programu „Innowacyjne produkty żywnościowe o wysokiej wartości odżywczej i prozdrowotnej”.

Był i jest członkiem i przewodniczącym wielu rad naukowych, kolegów redakcyjnych, komitetów i komisji Polskiej Akademii Nauk.

Wypromował 10 doktorów, był recenzentem kilkudziesięciu prac doktorskich, habilitacyjnych i postępowań na tytuł profesora.

Na szczególne podkreślenie zasługuje zaangażowanie Profesora Gawęckiego w upowszechnianie wiedzy o żywności i w edukację żywieniową społeczeństwa. Jest pomysłodawcą i kierownikiem naukowym „Krajowych warsztatów żywieniowych” odbywających się cyklicznie od 1994 roku oraz inicjatorem i przewodniczącym Komitetu Głównego Ogólnopolskiej Olimpiady Wiedzy o Żywieniu. W dotychczasowych 16 edycjach tej Olimpiady uczestniczyło ponad 80 000 uczniów szkół średnich z całej Polski, wzbogacając swoją wiedzę z racjonalnego żywienia i zdrowego trybu życia.

Za zasługi Profesor Jan Gawęcki odznaczony został Krzyżem Oficerskim Orderu Odrodzenia Polski, Krzyżem Kawalerskim Orderu Odrodzenia Polski, Złotym Krzyżem Zasługi i Medalem Komisji Edukacji Narodowej, odznaką „Zasłużony dla Rolnictwa”, czterema nagrodami Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego, dwiema nagrodami Polskiego Towarzystwa Nauk Żywieniowych imienia Profesora Aleksandra Szczygła oraz wieloma innymi odznaczeniami i nagrodami.

Charakteryzując sylwetkę Profesora Jana Gawęckiego nie można nie wspomnieć o Jego bogatej osobowości, wysokich walorach moralnych, umiejętnościach dydaktycznych i uzdolnieniach artystycznych.

Dnia 20 kwietnia 2012 r. odbyły się uroczystości 35-lecia istnienia Wydziału Nauk o Żywności Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Z tej okazji Senat Uczelni nadał Profesorowi Janowi Gawęckiemu tytuł doktora *honoris causa*.

*Prof. dr hab. inż. Antoni Golachowski
Dziekan Wydziału Nauk o Żywności
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu*

TECHNOLOG ŻYWNOŚCI

INFORMATOR POLSKIEGO TOWARZYSTWA TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI

Rok 22 Nr 3

czerwiec 2012

DZIAŁALNOŚĆ TOWARZYSTWA

Zarząd Główny

W Oddziałach PTTŻ odbywają się zebrania sprawozdawczo-wyborcze w związku z końcem kadencji oraz wybory delegatów na Walne Zebranie PTTŻ, które odbędzie się w IV kwartale br.

Oddział Małopolski

W dniu 24.04.2012 r. odbyło się Walne Zebranie Oddziału Małopolskiego PTTŻ, na którym wybrano nowy zarząd Oddziału. Prezesem został wybrany dr hab. inż. Lesław Juszcak.

WAŻNIEJSZE MIĘDZYKRAJOWE I KRAJOWE KONFERENCJE NAUKOWE W 2012 r.

Sierpień

5 – 9 BRAZYLIA = XVI IUFoST World Congress nt.: „Addressing global food security and wellness through Food Science and Technology”
Informacje: <http://www.iufost.org.br/ingles/inscricao.html>

Wrzesień

9 – 12 BERN, Switzerland = 5th European Conference on Sensory and Consumer Research.
Informacje: www.eurosense.elsevier.com
18 – 20 MOSKWA, Rosja = XIX INTERNATIONAL STARCH CONVENTION Kontakt: iscmosc2012@mail.ru
26 - 27 **POZNAŃ = Konferencja Naukowa nt.: „Współczesne trendy w technologii żywności. Od żywności tradycyjnej do prozdrowotnej”**
Organizatorzy: Koordynator Projektu Bioaktywna Żywność Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, KNoŻ PAN, Polskie Towarzystwo Nauk Żywnościowych - Oddział Wielkopolski, Polskie Towarzystwo Technologów Żywności - Oddział Wielkopolski.

Informacje: konferencjawnoziz@up.poznan.pl
www.wnozizpoznan.konferencja.org

Listopad

7 – 9 **ROGÓW = V Konferencja Naukowa nt. „Fizjologiczne uwarunkowania postępowania dietetycznego”.**

Organizatorzy: Wydział Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji SGGW

Informacje: <http://wnzck.sggw.pl/konferencje-2/>

e-mail: fizj_diet@sggw.pl

CZŁONKOWIE WSPIERAJĄCY POLSKIEGO TOWARZYSTWA
TECHNOLOGÓW ŻYWNOCI

Przy Zarządzie Głównym: **TCHIBO – WARSZAWA Sp. z o.o. Marki, BUNGE POLSKA Sp. z o.o. Karczew, HORTIMEX Plus Spółka komandytowa Konin.**

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

Przy Oddziale Szczecińskim: **Hartim Szczecin**

Material zawarty w Nr 3 (82)/2012 Biuletynu podano według stanu informacji do 1 czerwca 2012 r. Materiały do Nr 4 (83)/2012 prosimy nadsyłać do 1 sierpnia 2012 r. na adres Redakcji Czasopisma.

KOMUNIKAT

Informujemy P.T. Autorów, że od 1 stycznia 2012 roku uaktualnione zostały *Informacje dla Autorów oraz wymagania redakcyjne*, które 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. Lesław Juszcak Oddział Małopolski	UR, ul. Balicka 122, 30-149 KRAKÓW
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
Prof. dr hab. Grażyna Lewandowicz Oddział Wielkopolski	UP, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ Tel.: 061 846 60 03, e-mail: prezes.ow.pttz@gmail.com
Dr hab. inż. Agnieszka Kita, prof. UP Oddział Wrocławski	UP, ul. Norwida 25/27, 50-375 WROCŁAW Tel.: 071 320 50 38; e-mail: agnieszka.kita@wnoz.up.wroc.pl
SEKCJE	
Doc. dr hab. Renata Jędrzejczak Analizy i Oceny Żywności	IBPRS, ul. Rakowiecka 36, 02-532 WARSZAWA Tel. 022 849 02 24; 0606 38 76; Fax: 022 849 04 26
Dr Karol Krajewski Ekonomiczna	WSliZ, ul. Rakowiecka 32, 02-532 WARSZAWA Tel.: 022 646 20 60; e-mail: krajewski@wsiiz.pl
Prof. dr hab. Edward Pospiech Technologii Mięsa	UP, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ Tel.: 061 848 72 60; e-mail: pospiech@up.poznan.pl
Prof. dr hab. Krzysztof Krygier Chemii i Technologii Tłuszczów	SGGW, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 WARSZAWA Tel.: 022 847 58 17; E-mail: krzysztof_krygier@sggw.pl
Prof. dr hab. Waław Leszczyński Technologii Węglowodanów	UP, ul. Norwida 25/27, 50-375 WROCŁAW Tel.: 071 320 52 21; Fax: 071 320 52 73
Prof. dr hab. Janusz Czapski Technologii 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