



ŻYWNOŚĆ

Nauka Technologia Jakość

FOOD

Science Technology Quality

Nr 3 (88)

Kraków 2013

Rok 20

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. 12 662-48-30; 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. Tadeusz Sikora (jakość i bezpieczeństwo żywności, zarządzanie jakością, żywność pochodzenia zwierzęcego i towaroznawstwo żywności), prof. dr hab. Stefan Ziajka (technologia mleczarstwa, zarządzanie jakością)

Redaktor językowy (język polski): dr Anna Piechnik-Dębiec

Redaktor statystyczny: dr Antoni Goryl

Stali współpracownicy: prof. dr hab. Jacek Kijowski (Poznań), dr Grażyna Morkis (Warszawa), dr inż. Magdalena Niewczas (Kraków), 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 Barylko-Pikielna, prof. dr hab. Włodzimierz Bednarski, prof. dr hab. Józefa Chrzanowska, prof. dr hab. Janusz Czapski, prof. dr hab. Zbigniew Czarnecki, prof. dr Henryk Daun (USA), prof. dr hab. Teresa Fortuna, prof. dr hab. Mariola Friedrich, prof. dr hab. Jan Gawęcki, prof. dr hab. Stanisław Gwiazda, prof. dr Jerzy Jankun (USA), dr Józef Korolczuk (Francja), prof. dr hab. Henryk Kostyra, prof. dr hab. Andrzej Lenart, prof. dr hab. Zdzisława Libudzisz, prof. dr Marian Naczk (Kanada), prof. dr hab. Małgorzata Nogala-Kałużka, prof. dr hab. Jan Oszmiański, prof. dr Jan Pokorny (Czechy), prof. dr Roman Przybylski (Kanada), prof. dr hab. Piotr Przybyłowski, prof. dr hab. Bogusław Staniewski, 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 2013
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:

30-149 KRAKÓW, ul. Balicka 122

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 (88)

Kraków 2013

Rok 20

SPIS TREŚCI

Od Redakcji.....	3
JOANNA STADNIK: Aminy biogenne w wyrobach mięsnych surowo dojrzewających	5
MIROŚLAW GABRYSZUK, TOMASZ SAKOWSKI, EWA METERA, BEATA KUCZYŃSKA, EWA REMBIAŁKOWSKA: Wpływ żywienia na zawartość składników bioaktywnych w mleku krów z gospodarstw ekologicznych	16
BARBARA BUGAJ, TERESA LESZCZYŃSKA, MIROŚLAW PYSZ, ANETA KOPEĆ, JOANNA PACHO- LARZ, KATARZYNA PYSZ-IZDEBSKA: Charakterystyka i prozdrowotne właściwości <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni.....	27
KRZYSZTOF KARPIESIUŁ, WOJCIECH KOZERA, DOROTA BUGNACKA, JANUSZ FALKOWSKI: Wpływ warunków chowu tuczników na jakość mięsa i profil kwasów tłuszczowych w mięśniu najdłuższym grzbietu	39
ZENON NOGALSKI, PAULINA POGORZELSKA-PRZYBYŁEK, ZOFIA WIELGOSZ-GROTH, MONIKA SOBCZUK-SZUL, CEZARY PURWIN, RAFAŁ WINARSKI, JACEK NIEDŹWIEDŹ: Wartość rzeźna walców mieszkańców mięsnych w zależności od intensywności opasu i wieku zwierząt w momencie uboju	51
PIOTR SZYMAŃSKI, DANUTA KOŁOŻYŃ-KRAJEWSKA: Ocena możliwości zastosowania szczepu bakterii <i>Staphylococcus carnosus</i> ATCC-51365 w procesie peklowania mięsa.....	61
MONIKA SKWAREK, ZBIGNIEW J. DOLATOWSKI: Wpływ bakterii probiotycznych na właściwości reologiczne szynki surowo dojrzewających.....	73
JUSTYNA KOZIÓŁ, KATARZYNA SKRZYPCZAK, WALDEMAR GUSTAW, ADAM WAŚKO: Wpływ preparatów białek mleka na wzrost bakterii z rodzaju <i>Bifidobacterium</i>	83
ANNA MITUNIEWICZ-MAŁEK, IZABELA DMYTRÓW, JERZY BALEJKO, MAŁGORZATA ZIARNO: Komercyjne kultury probiotyczne <i>Lactobacillus</i> sp. (<i>Lb. paracasei</i> , <i>Lb. casei</i> i <i>Lb. acidophilus</i>) w napojach fermentowanych z mleka koziego	99
ANNA CHLEBOWSKA-ŚMIGIEL, MAŁGORZATA GNIEWOSZ: Próba zastosowania pullulanu jako stymulatora wzrostu wybranych bakterii probiotycznych i potencjalnie probiotycznych.....	111
SŁAWOMIR PIETRZYK, LESŁAW JUSZCZAK, TERESA FORTUNA, KAROLINA KRÓLIKOWSKA: Wpływ kompleksowania skrobi utlenionych składnikami mineralnymi na ich właściwości reologiczne.....	125
ANNA PTASZEK, PAWEŁ PTASZEK, MIROŚLAW GRZESIK: Zastosowanie wykładniczych reologicznych równań stanu do opisu strukturalnych właściwości hydrokolidów	140
KATARZYNA MARCINIĄK-ŁUKASIAK, ANNA ŻBIKOWSKA: Jakość makaronów instant w zależności od warunków procesu smażenia	151
AGATA GÓRSKA, KAROLINA SZULC, EWA OSTROWSKA-LIGĘZA, MAGDALENA WIRKOWSKA, JOANNA BRYŚ: Próba zastosowania β -laktoglobuliny jako nośnika palmitynianu retinolu w układach beztłuszczowych.....	164
EMILIA JANISZEWSKA, MONIKA ARCISZEWSKA, DOROTA WITROWA-RAJCHERT: Zależność między efektywnością mikrokapsułkowania aromatu wanilinowego i właściwościami fizycznymi uzyskanych proszków.....	174
ANNA S. TARCZYŃSKA: Projektowanie żywności wygodnej z wykorzystaniem metody QFD	187
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA: Interakcje składników żywności	200
GRAŻYNA MORKIS: Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym	203
MAGDALENA NIEWCZAS: Nowe książki.....	206
Twórcy polskiej nauki o żywności.....	209
Technolog Żywności.....	213

Zamieszczone artykuły są recenzowane

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

FOOD. Science. Technology. Quality

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

No 3 (88)

Kraków 2013

Vol. 20

CONTENTS

From the Editor.....	3
JOANNA STADNIK: Biogenic amines in dry cured meat product	5
MIROSLAW GABRYSZUK, TOMASZ SAKOWSKI, EWA METERA, BEATA KUCZYŃSKA, EWA REMBIAŁKOWSKA: Effect of feeding on content of bioactive substances in milk from cows raised in organic farms	16
BARBARA BUGAJ, TERESA LESZCZYŃSKA, MIROSLAW PYSZ, ANETA KOPEĆ, JOANNA PACHOLARZ, KATARZYNA PYSZ-IZDEBSKA: Profile and pro-health properties of <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni	27
KRZYSZTOF KARPESIUK, WOJCIECH KOZERA, DOROTA BUGNACKA, JANUSZ FALKOWSKI: Effect of rearing system conditions of fatteners on meat quality and profile of fatty acids in m. <i>Longissimus</i> <i>dorsi</i>	39
ZENON NOGALSKI, PAULINA POGORZELSKA-PRZYBYŁEK, ZOFIA WIELGOSZ-GROTH, MONIKA SOBCZUK-SZUL, CEZARY PURWIN, RAFAŁ WINARSKI, JACEK NIEDŹWIEDŹ: Slaughter value of crossbred beef steers as depending on fattening intensity and slaughter age of animals	51
PIOTR SZYMAŃSKI, DANUTA KOŁOŻYN-KRAJEWSKA: Evaluation of possibility to use <i>Staphylococcus</i> <i>carneus</i> ATCC-51365 bacterial strain in meat curing process	61
MONIKA SKWAREK, ZBIGNIEW J. DOLATOWSKI: Effect of probiotic bacteria on rheological properties of raw-ripening hams	73
JUSTYNA KOZIOŁ, KATARZYNA SKRZYPCZAK, WALDEMAR GUSTAW, ADAM WAŚKO: Effect of milk protein preparations on growth of <i>Bifidobacterium</i>	83
ANNA MITUNIEWICZ-MAŁEK, IZABELA DMYTRÓW, JERZY BALEJKO, MAŁGORZATA ZIARNO: Commercial probiotic <i>Lactobacillus</i> sp. cultures (<i>Lb. paracasei</i> , <i>Lb. casei</i> and <i>Lb. acidophilus</i>) in fermented drinks made from goat's milk	99
ANNA CHLEBOWSKA-ŚMIGIEL, MAŁGORZATA GNIEWOSZ: Attempt to apply pullulan as growth stimulator for selected probiotic and potentially probiotic bacteria	111
SŁAWOMIR PIETRZYK, LESŁAW JUSZCZAK, TERESA FORTUNA, KAROLINA KRÓLIKOWSKA: Effect of complexation of starches oxidised with mineral elements on their rheological properties.....	125
ANNA PTASZEK, PAWEŁ PTASZEK, MIROSLAW GRZESIK: Application of exponential rheological equations of state to describe structural properties of hydrocolloids.....	140
KATARZYNA MARCINIAK-ŁUKASIAK, ANNA ŻBIKOWSKA: Quality of instant noodles depending on frying process conditions	151
AGATA GÓRSKA, KAROLINA SZULC, EWA OSTROWSKA-LIGEŻA, MAGDALENA WIRKOWSKA, JOANNA BRYŚ: Attempt to use β -lactoglobulin as carrier for retinyl palmitate in non-fat systems.....	164
EMILIA JANISZEWSKA, MONIKA ARCISZEWSKA, DOROTA WITROWA-RAJCHERT: Correlation between efficiency of vanillin aroma micro-encapsulation and physical properties of powders obtained	174
ANNA S. TARCZYŃSKA: Developing convenient food products using QFD method.....	187
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA: Interactions among food components.....	200
GRAŻYNA MORKIS: Food problems in Polish and EU legislation	203
MAGDALENA NIEWCZAS: Book reviews	206
Creators of the Polish food science.....	209
The Food Technologist.....	213

Only reviewed papers are published

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

OD REDAKCJI

Szanowni Czytelnicy,

nr **3 (88)** naszego czasopisma zawiera różnorodnie tematycznie artykuły naukowe, prezentujące dorobek kilku krajowych ośrodków nauki o żywności. Mamy nadzieję, że spełnią one Państwa oczekiwania.

Miło nam poinformować, że Thomson Reuters opublikował nowe wartości Impact Faktors ocenianych czasopism. **Nowa wartość IF naszego dwumiesięcznika to 0,190.**

W numerze 1 (80)/2012 rozpoczęliśmy publikację cyklu pt. „Twórcy polskiej nauki o żywności”, w którym prezentujemy sylwetki wybitnych ludzi nauki o żywności w Polsce. Obecnie prezentujemy sylwetki uczonych działających w okresie po II wojnie światowej. Jeżeli uważacie Państwo, że w waszym środowisku byli uczeni, którzy wnieśli znaczący wkład do nauki o żywności, to prosimy o propozycje zamieszczenia ich biogramu.

Nasz apel jest stale aktualny: **cytujmy polskich autorów publikujących w „Żywności”** w artykułach kierowanych do czasopism zagranicznych! Zwracajmy także większą uwagę na cytowanie wcześniej opublikowanych artykułów w „Żywności” w opracowaniach nadsyłanych do redakcji. Cytowanie wcześniej opublikowanych artykułów, wiążących się tematycznie z nadsyłanymi opracowaniami, będzie jednym z warunków przyjęcia pracy do druku.

Kraków, czerwiec 2013 r.

Redaktor Naczelny



Tadeusz Sikora

JOANNA STADNIK

AMINY BIOGENNE W WYROBACH MIĘSNYCH SUROWO DOJRZEWAJĄCYCH

Streszczenie

Aminy biogenne są naturalnymi składnikami surowców roślinnych i zwierzęcych, w których występują w stężeniach niestanowiących zagrożenia dla zdrowia człowieka. Ich podwyższona zawartość w produktach spożywczych jest wynikiem aktywności enzymów endogennych lub mikrobiologicznej dekarboksylacji aminokwasów, która zachodzi podczas kontrolowanej lub spontanicznej fermentacji, przetwarzania, przechowywania i dystrybucji. Wyroby mięsne surowo dojrzewające charakteryzują się dużą zmiennością występowania amin biogennych. Na powstawanie tych związków wpływają: jakość surowca, warunki higieniczne podczas jego przetwarzania oraz czynniki technologiczne, takie jak: temperatura, pH, aktywność wody, zawartość NaCl i potencjał redoks. Występowaniu amin biogennych w wyrobach mięsnych surowo dojrzewających można zapobiegać poprzez wykorzystanie w procesie fermentacji kultur starterowych niewykazujących zdolności do ich tworzenia. Probiotyczne szczepy bakterii fermentacji mlekowej, dzięki hamowaniu rozwoju mikroflory niepożądaną i związanej z tym redukcji zawartości amin biogennych, przyczyniają się do poprawy bezpieczeństwa zdrowotnego wyrobów mięsnych surowo dojrzewających.

Słowa kluczowe: aminy biogenne, surowo dojrzewające wyroby mięsne, probiotyki

Wprowadzenie

Aminy biogenne to grupa aktywnych biologicznie zasad organicznych o małych masach cząsteczkowych powszechnie występujących w roślinach, organizmach zwierzęcych oraz w mikroorganizmach. Uczestniczą one w syntezie białek, hormonów, alkaloidów i kwasów nukleinowych, wpływają na replikację DNA i przepuszczalność błon komórkowych. Ponadto biorą udział w regulacji temperatury ciała, ciśnienia tętniczego krwi i aktywności mózgu. Z jednej strony są niezbędne do wzrostu i utrzymania żywotności komórek oraz prawidłowego przebiegu wielu procesów metabolicznych, z drugiej zaś mogą wykazywać działanie toksyczne, a niektóre z nich nawet rakotwórcze, jako prekursorzy kancerogennych N-nitrozwiązków [18, 20, 23].

Dr inż. J. Stadnik, Katedra Technologii Mięsa i Zarządzania Jakością, Wydz. Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Skromna 8, 20-704 Lublin

Celem pracy było przedstawienie aktualnego stanu wiedzy w zakresie ogólnej charakterystyki amin biogennych, czynników warunkujących ich tworzenie w surowo dojrzewających wyrobach mięsnych oraz wykorzystania kultur starterowych, w tym szczepów probiotycznych, jako metody zapobiegania ich występowaniu.

Aminy biogenne - charakterystyka ogólna

Aminy biogenne powstają w wyniku dekarboksylacji aminokwasów obojętnych i zasadowych. Aminy lotne (m.in. β -fenyloetyloamina) powstają także podczas redukcyjnego aminowania lub transaminacji aldehydów i ketonów [20, 27, 38, 40].

Ze względu na budowę chemiczną wyróżnia się aminy o strukturze alifatycznej (agmatyna, kadaweryna, putrescyna, spermidyna, spermina), aromatycznej (β -fenyloetyloamina, tyramina) oraz heterocyklicznej (histamina, tryptamina). Klasyfikacja ze względu na liczbę grup aminowych obejmuje podział na: monoaminy (β -fenyloetyloamina, tyramina), diaminy (histamina, kadaweryna, putrescyna, tryptamina) oraz poliaminy (agmatyna, spermidyna, spermina) [18, 20].

Nazwy amin biogennych tworzone są na podstawie nazw aminokwasów będących ich prekursorami. I tak: histamina powstaje w wyniku usunięcia grupy α -karboksylowej z histydyny, tyramina – z tyrozyny, β -fenyloetyloamina - z fenyloalaniny, tryptamina – z tryptofanu. Prekursorem kadaweryny jest lizyna, agmatyny – arginina, zaś putrescyny – ornityna [20].

Aminy biogenne, obecne w żywności jako naturalne składniki surowców roślinnych i zwierzęcych, występują w niskim stężeniu i nie stanowią zagrożenia dla zdrowia człowieka. Ich podwyższona zawartość w produktach spożywczych jest wynikiem aktywności enzymów endogennych zawartych w surowcach użytych do ich produkcji lub mikrobiologicznej dekarboksylacji aminokwasów zachodzącej podczas kontrolowanej lub spontanicznej fermentacji, przetwarzania, przechowywania i dystrybucji [40].

Czynnikami warunkującymi powstawanie amin biogennych w żywności jest obecność prekursorów, tj. wolnych aminokwasów oraz mikroorganizmów wykazujących zdolność biosyntezy enzymów katalizujących ich dekarboksylację. Ich tworzenie zależy również od warunków umożliwiających wzrost mikroorganizmów i biosyntezę dekarboksylaz oraz od warunków mających korzystny wpływ na aktywność dekarboksylaz [1, 40]. Wolne aminokwasy są naturalnymi składnikami żywności lub uwalniane są w wyniku reakcji proteolizy. Zatem wysoka zawartość białka oraz obecność w żywności szczepów bakterii charakteryzujących się wysoką aktywnością enzymów proteolitycznych są czynnikami zwiększającymi ryzyko powstawania amin biogennych [20].

Pomimo że zdolność do dekarboksylacji aminokwasów nie jest powszechna wśród bakterii, wiele gatunków należących do rodzajów: *Bacillus*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Kocuria*, *Listeria*, *Micrococcus*, *Photobacterium*,

Plesiomonas, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Shewanella*, *Shigella*, *Staphylococcus* oraz bakterii kwasu mlekowego z rodzaju *Carnobacterium*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Pediococcus* i *Streptococcus*, jest zdolnych do dekarboksylacji jednego lub więcej aminokwasów [20, 40, 45]. Nie wszystkie szczepy tego samego gatunku wykazują zdolność do wytwarzania amin biogenych [11]. Mikroorganizmy wytwarzające dekarboksylazy aminokwasów mogą stanowić naturalną mikroflorę surowców spożywczych, przeniknąć do żywności w wyniku jej zanieczyszczenia w trakcie produkcji lub przechowywania bądź też zostać celowo wprowadzone, jako kultury starterowe w produkcji żywności fermentowanej [20, 40].

Metabolizm amin biogenych w organizmie

Aminy biogenne, pobrane w niewielkiej ilości z pożywieniem, są szybko metabolizowane w przewodzie pokarmowym do mniej aktywnych fizjologicznie produktów. Enzymami biorącymi udział w procesie detoksykacji amin w organizmie są monoaminooksydaza (MAO, EC 1.4.3.4), diaminooksydaza (DAO, EC 1.4.3.6) oraz poliaminooksydaza (PAO, EC 1.5.3.11). Zdolność do detoksykacji jest znacząco zróżnicowana indywidualnie i zależy od stanu zdrowia, a w przypadku osób uczulonych lub przyjmujących leki będące inhibitorami wymienionych enzymów, jak również w wyniku spożycia znacznych ilości amin biogenych, proces detoksykacji zostaje spowolniony, a nawet zahamowany, co prowadzi do zatrucia [28]. Alkohol i aldehyd octowy mogą potęgować toksyczne działanie amin, gdyż wspomagają ich transport przez ściany jelit. Ponadto szacuje się, że około 20 % Europejczyków regularnie przyjmuje leki antydepresyjne z grupy inhibitorów MAO [36].

Zawartość amin biogenych jako wskaźnik jakości mięsa

Duża zawartość białka i wolnych aminokwasów decyduje o tym, że mięso i produkty mięsne stanowią korzystne środowisko dla wzrostu i rozwoju bakterii, które mogą wytwarzać aminy biogenne [5, 18, 27, 36]. Związkami naturalnie występującymi w świeżym mięsie są poliaminy: spermina i spermidyna. Zawartość sperminy wynosi od 20 do 60 mg/kg, poziom spermidyny rzadko przekracza 10 mg/kg [18]. Podczas przechowywania mięsa wzrasta w nim poziom histaminy, kadaweryny, putrescyny i tyraminy, zawartość sperminy nieznacznie zmniejsza się, zaś stężenie spermidyny utrzymuje się na niezmiennym poziomie [17, 19, 36]. Obecność w mięsie amin biogenych niebędących jego naturalnymi składnikami świadczy o nieprzestrzeganiu warunków higienicznych podczas jego pozyskiwania i przetwarzania, a w konsekwencji o obecności licznych niepożądanych bakterii. W tym celu do oceny świeżości mięsa i jego przydatności do spożycia można wykorzystać indeks BAI (*ang. Biogenic Amines Index*), stanowiący sumę zawartości histaminy, kadaweryny, putrescyny i tyraminy. Wartość indeksu BAI świeżego mięsa nie przekracza 5 mg/kg. W mięsie nadającym

się do spożycia, ale wykazującym początkowe objawy psucia, suma zawartości histaminy, kadaweryny, putrescyny i tyraminy wynosi od 5 do 20 mg/kg. Wartość indeksu BAI pomiędzy 20 a 50 mg/kg świadczy o niskiej jakości mięsa, a powyżej 50 mg/kg – o jego zepsuciu [19]. Określanie jakości na podstawie indeksu BAI jest przydatne w odniesieniu do mięsa świeżego i produktów poddawanych obróbce cieplnej. Jego zastosowanie do oceny jakości wyrobów mięsnych surowo dojrzewających jest ograniczone. W posługiwaniu się indeksem BAI do oceny czystości mikrobiologicznej mięsa należy zachować ostrożność, gdyż nie wszystkie drobnoustroje stanowiące niepożądaną mikroflorę wykazują zdolność do dekarboksylacji wolnych aminokwasów. Dlatego niska zawartość amin biogennych nie zawsze jest równoznaczna z dobrą jakością mikrobiologiczną [36].

Czynniki wpływające na tworzenie amin biogennych w wyrobach mięsnych surowo dojrzewających

Zawartość amin biogennych w surowo dojrzewających wyrobach mięsnych była przedmiotem szeregu prac badawczych, z których większość dotyczy kielbas [5, 6, 8, 16, 23, 24, 25, 27, 40, 42]. Wyroby te charakteryzują się dużą zmiennością występowania amin biogennych. W badaniach dotyczących zawartości amin biogennych w hiszpańskich kielbasach fermentowanych (chorizo, fuet, sobrasada i salsichon) najwyższe stężenie osiągnęła tyramina – średnio 200 mg/kg, w niektórych próbach jej zawartość przekraczała 600 mg/kg. Poziom putrescyny w niektórych kielbasach był również znaczący i wynosił nawet 450 mg/kg. W niektórych kielbasach typu chorizo i salsichon zawartość kadaweryny sięgała 600 mg/kg, lecz jej średnie stężenie było niższe i wynosiło ok. 20 mg/kg. Zawartość β -fenyloetyloaminy i tryptaminy na poziomie powyżej 50 mg/kg została stwierdzona tylko w kilku kielbasach. W niektórych przebadanych próbkach kielbas typu chorizo i fuet wykryto także niebezpieczny dla zdrowia poziom histaminy (300 mg/kg) [40]. Liczni autorzy [15, 23, 24] wskazują, że na powstawanie tych związków wpływa wiele czynników, spośród których jakość surowca, warunki higieniczne podczas jego przetwarzania oraz czynniki technologiczne, takie jak: temperatura, pH, aktywność wody, zawartość NaCl i potencjał redoks odgrywają istotną rolę w tworzeniu amin biogennych.

Jakość surowca stanowi najistotniejszy czynnik wpływający na zawartość amin biogennych w wyrobach surowo dojrzewających [7]. W surowcu o niskiej jakości, charakteryzującym się dużą populacją enterobakterii została stwierdzona duża zawartość diamin, w szczególności kadaweryny [5].

Wartość pH jest kluczowym czynnikiem wpływającym na powstawanie amin biogennych, gdyż aktywność dekarboksylaz aminokwasów, uzależniona od kwasowości środowiska, jest najsilniejsza w środowisku o pH 4,0 - 5,5 [41]. Ponad 80 lat temu Koessler i wsp. [21] stwierdzili, że wytwarzanie amin biogennych przez bakterie sta-

nowi fizjologiczny mechanizm neutralizacji kwaśnego środowiska. Autorzy cytowani przez Suzziego i Gardiniego [cyt. za 40] stwierdzili dodatnią korelację pomiędzy zawartością amin biogennych a obniżeniem pH wywołanym fermentacją mlekową w kiełbasach dojrzewających. Jak wskazują Yoshinaga i Frank [44], tworzenie amin biogennych uzależnione jest raczej od natężenia wzrostu bakterii wytwarzających enzymy dekarboksylujące niż od warunków ich tworzenia jako takich. Tworzeniu amin biogennych może zapobiegać szybkie i znaczące obniżenie pH wywołane przez kultury starterowe bakterii niewytwarzających enzymów dekarboksylujących. Jest to związane z szybką dominacją mikroflory starterowej w procesie fermentacji nad mikroflorą niestarterową i niepożądaną, w szczególności z rodziny *Enterobacteriaceae*, cechującą się zwykle wysoką zdolnością do produkcji amin biogennych [6, 27]. Ponadto dominacja kultur starterowych bakterii fermentacji mlekowej nad mikroflorą niestarterową podczas dojrzewania i przechowywania produktów zapobiega dalszemu wytwarzaniu amin biogennych [40].

Temperatura ma znaczący wpływ na tworzenie amin biogennych. Wielu autorów wykazało, że ich zawartość wzrasta wraz ze wzrostem temperatury i wydłużeniem czasu przechowywania [15, 17, 20]. Poprzez bezpośredni związek z kinetyką wzrostu mikroflory produktów fermentowanych i związaną z nią aktywnością enzymów proteolitycznych i dekarboksylujących, temperatura może mieć również odwrotny wpływ na tworzenie amin biogennych [40]. Maijala i wsp. [27] wykazali, że wpływ temperatury na tworzenie amin biogennych jest uzależniony od rodzaju użytej kultury starterowej. Wyższa, optymalna dla wzrostu kultur starterowych, temperatura fermentacji (24 °C) umożliwiała ich rozwój i dominację nad mikroflorą niestarterową, hamując w ten sposób wytwarzanie amin biogennych. Dlatego, dokonując wyboru kultury starterowej, należy uwzględnić nie tylko obecność w niej bakterii niewytwarzających enzymów dekarboksylujących, lecz również ich zdolność wzrostu w warunkach temperaturowych przewidzianych dla danego procesu.

Kolejnym czynnikiem wpływającym na zawartość amin biogennych w wyrobach surowo dojrzewających jest potencjał oksydoredukcyjny. Jego wpływ na aktywność bakteryjnych dekarboksylaz jest niejednoznaczny. W warunkach beztlenowych *Enterobacter cloacae* wytwarza o połowę mniej putrescyny w porównaniu z warunkami tlenowymi. Synteza kadaweryny przez *Klebsiella pneumoniae* w warunkach beztlenowych zostaje znacząco ograniczona, lecz drobnoustrój ten nabywa wówczas zdolności do syntezy putrescyny. Z drugiej strony wykazano, że obniżenie potencjału oksydoredukcyjnego stymuluje produkcję histaminy. W obecności tlenu aktywność dekarboksylazy histydyny ulega znacznemu ograniczeniu [17, 20].

Stwierdzono również zależność pomiędzy zawartością amin biogennych a średnicą batonów kiełbas surowo dojrzewających. Średnica batonów determinuje warunki rozwoju mikroorganizmów, np. w wyrobach o większej średnicy, zawartość soli jest

zwykle mniejsza zaś aktywność wody wyższa niż w kiełbasach o mniejszej średnicy. W kiełbasach o większej średnicy poziom zawartości tyraminy i putrescyny był większy w porównaniu z produktami o mniejszej średnicy. W próbkach pochodzących z centralnej części batonów stwierdzono większą zawartość amin biogennych w porównaniu z próbkami pobranymi z brzegów [36, 40].

Istotny wpływ na tworzenie amin biogennych mają substancje chemiczne stosowane podczas produkcji surowo dojrzewających wyrobów mięsnych. Inhibicyjny wpływ NaCl na tworzenie amin biogennych wykazano m.in. w badaniach przeprowadzonych przez Gardiniego i wsp. [15], dotyczących efektów interakcyjnych pomiędzy pH, temperaturą a stężeniem NaCl (1 %, 3 % i 6 %) i ich wpływem na tworzenie amin biogennych. Tempo wytwarzania amin biogennych przez szczep *Enterococcus faecalis* E37 znacząco malało wraz ze wzrostem stężenia soli. Dodatek cukru stanowiącego pożywkę dla bakterii wchodzących w skład kultur starterowych do kiełbas wspomaga ich wzrost i umożliwia dominację nad mikroflorą niestarterową. Bover-Cid i wsp. [8] wykazali większą zawartość amin biogennych w próbach bez dodatku cukru. W przypadku tyraminy i kadaweryny wzrost ten był najbardziej widoczny. Ich zawartość w próbach bez dodatku cukru była dwukrotnie większa.

Wykorzystanie kultur starterowych w zapobieganiu występowania amin biogennych

Występowaniu amin biogennych w wyrobach mięsnych surowo dojrzewających można zapobiegać poprzez wykorzystanie w procesie fermentacji kultur starterowych niewykazujących zdolności do ich tworzenia [29, 40]. Ich użycie może zredukować poziom amin biogennych poprzez szybką i znaczną redukcję wartości pH oraz skuteczną i szybką dominację mikroflory starterowej nad mikroflorą niestarterową, cechującą się zwykle wysoką zdolnością do produkcji amin biogennych [2, 40, 45].

W Europie do produkcji wędlin surowo dojrzewających używa się głównie szczepionek z kulturami bakterii *Lactobacillus sakei* i *Lactobacillus curvatus*. Z uwagi na fakt, że większość szczepów *L. curvatus* wykazuje zdolność do wytwarzania amin biogennych, bardziej wskazane jest wykorzystywanie szczepów *L. sakei*, u których nie stwierdzono występowania enzymów katalizujących dekarboksylację aminokwasów [2, 22, 35]. Wyselekcjonowane szczepy *L. sakei* przyczyniły się do znacznego zredukowania zawartości amin biogennych w kiełbasach fermentowanych [7, 16]. Zastosowanie szczepu *L. sakei* CTC494 w produkcji kiełbasy dojrzewającej spowodowało redukcję lub nawet zahamowanie wytwarzania amin biogennych podczas fermentacji [7].

Dodatek komercyjnej kultury starterowej *Lactobacillus plantarum* BCC 9546 do tajlandzkiej kiełbasy nham przyczynił się do znaczącej redukcji zawartości histaminy, kadaweryny, putrescyny i tyraminy [42]. Wielu autorów cytowanych przez Lu i wsp.

[cyt. za 25] oraz González-Fernández i wsp. [cyt. za 16] potwierdziło skuteczność stosowania kultur starterowych bakterii niewytwarzających amin biogennych w zapobieganiu ich występowania w fermentowanych produktach mięsnych. Ci sami autorzy przytaczają również wyniki badań świadczące o braku skuteczności takiego działania. Przyczyn tych rozbieżności należy upatrywać w jakości surowca użytego do badań. Zanieczyszczenie mięsa bakteriami w wyniku nieprzestrzegania higieny podczas jego pozyskiwania i przetwarzania ogranicza skuteczność kultur starterowych w zapobieganiu powstawania amin biogennych [7].

Wykorzystanie kultur starterowych wykazujących aktywność oksydaz aminowych może przyczynić się do dalszej redukcji zawartości amin biogennych w produktach surowo dojrzewających. Działanie takie potwierdzono w badaniach z wykorzystaniem szczepów *Lactobacillus plantarum* i *Lactobacillus casei* [13].

Aminy biogenne w probiotycznych wyrobach mięsnych

Wraz z dynamicznym rozwojem rynku żywności funkcjonalnej pojawiły się propozycje wykorzystania probiotycznych kultur starterowych w przetwórstwie mięsa [3, 4, 10, 26]. Według definicji FAO/WHO probiotyki to żywe mikroorganizmy, które podawane w odpowiednich ilościach wywierają korzystne skutki zdrowotne [14]. Badania kliniczne potwierdzają korzystne działanie probiotyków w schorzeniach układu pokarmowego (syndrom jelita drażliwego, zapalenie jelit, biegunki) oraz w schorzeniach alergicznych (atopowe zapalenie skóry). Najsilniejsze dowody oddziaływania probiotyków na zdrowie człowieka wskazują na zwiększanie odporności organizmu (immunomodulacja) [32].

Obok pozytywnego oddziaływania na organizm człowieka ważnym aspektem wykorzystania probiotyków w produkcji surowo dojrzewających wyrobów mięsnych jest możliwość hamowania rozwoju niepożądanego mikroflory cechującej się zwykle wysoką zdolnością do produkcji amin biogennych. Poprzez wytwarzanie szeregu metabolitów o właściwościach bakteriostatycznych i bakteriobójczych (m.in. kwasu mlekowego, kwasu mrówkowego, etanolu oraz bakteriocyn) wspomagających działanie mieszanki peklującej, bakterie probiotyczne mogą przyczynić się do zahamowania rozwoju mikroflory zanieczyszczającej i patogennej (m.in. *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*) w surowo dojrzewających wyrobach mięsnych [2, 43, 45]. Podejmowane do tej pory próby otrzymania produktów mięsnych w wyniku kontrolowanej fermentacji prowadzonej przez wyselekcjonowane szczepy bakterii o udowodnionych cechach probiotycznych dotyczyły jedynie kielbas [33, 34, 37].

Istotne kryterium selekcji probiotycznych szczepów drobnoustrojów do produkcji wyrobów mięsnych powinien stanowić ich brak zdolności do wytwarzania amin biogennych [2, 11]. Badania modelowe z wykorzystaniem probiotycznych szczepów bak-

terii kwasu mlekowego wykazały, że szczepy *Lactobacillus casei* (TISTR 389) i *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (TISTR 895) mają zdolność wytwarzania amin biogennych. Cechy tej nie stwierdzono u testowanych szczepów *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactobacillus plantarum* [11]. W badaniach Ruiz-Moyano i wsp. [37] wykazano, że wybrane szczepy *Lactobacillus reuteri* i *Lactobacillus fermentum* wyselekcjonowane z różnych źródeł, jako potencjalne probiotyki, zastosowane w kielbasach dojrzewających, nie wytwarzają amin biogennych i mają zdolność inaktywacji niektórych patogenów w badaniach *in vitro*.

Sprzyjające warunki do rozwoju probiotyków w surowo dojrzewających wyrobach mięsnych są wynikiem braku obróbki cieplnej, co ma gwarantować przeżywalność tych drobnoustrojów i sprzyjać zachowaniu ich specyficznych właściwości w przewodzie pokarmowym człowieka [22, 43]. Dotychczasowe doświadczenia wskazują, że zastosowanie bakterii probiotycznych do produkcji surowo dojrzewających wyrobów mięsnych napotyka szereg problemów natury technologicznej i mikrobiologicznej. Wiele bakterii probiotycznych nie jest w stanie zasiedlić środowiska, jakie stwarzają kielbasy surowe, a negatywny wpływ środowiska farszu mięsnego na ich żywotność związany jest z wrażliwością wielu z nich na wysokie stężenie soli, które w gotowym produkcie może sięgać 15 % oraz niskie pH (4,6-5,1) i obniżoną aktywność wody (0,85-0,86), wywołane procesami fermentacji i suszenia charakterystycznymi dla tej grupy przetworów mięsnych. W produkcji wyrobów mięsnych nie ma technologicznych możliwości zmniejszenia początkowego poziomu drobnoustrojów naturalnie występujących w surowcu tak, jak jest to możliwe np. w mleku [2, 9, 12].

W Polsce jedynym ośrodkiem zajmującym się tą problematyką jest Katedra Technologii Mięsa i Zarządzania Jakością Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, której pracownicy we współpracy z Zakładem Higieny i Zarządzania Jakością Żywności Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie opracowali technologię produkcji wyrobów dojrzewających z udziałem bakterii probiotycznych. W polędwicach wieprzowych wyprodukowanych z udziałem szczepów bakterii probiotycznych *Lactobacillus casei* LOCK 0900 i *Lactobacillus casei* LOCK 0908 nastąpił pożądaný rozwój bakterii wystarczający do uznania tych produktów za probiotyczne [30]. Otrzymane produkty charakteryzowały się również korzystnymi walorami zapachowo-smakowymi [31]. Nie stwierdzono w nich zawartości histaminy i spermidyny. Zawartość sperminy malała, zaś kadaweryny i tryptaminy zwiększała się wraz z upływem okresu przechowywania. Ich poziom nie przekraczał jednak sugerowanych toksycznych limitów [39].

Podsumowanie

Wykorzystanie probiotycznych szczepów bakterii fermentacji mlekowej do produkcji wyrobów mięsnych surowo dojrzewających może korzystnie wpływać na ich skład i wskaźniki higieniczne i równocześnie nie powodować ujemnego wpływu na cechy sensoryczne wyrobu – bez konieczności zmiany technologii jego produkcji. Hamowanie rozwoju mikroflory niepożądaney i związana z tym redukcja zawartości amin biogennych przyczyniają się do poprawy bezpieczeństwa zdrowotnego produktów mięsnych surowo dojrzewających.

Literatura

- [1] Alberto M.R., Arena M.E., Manca de Nadra M.C.: A comparative survey of two analytical methods for identification and quantification of biogenic amines. *Food Control*, 2002, **13** (2), 125-129.
- [2] Ammor M.S., Mayo B.: Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: An update. *Meat Sci.*, 2007, **76** (1), 138-146.
- [3] Arihara K.: Strategies for designing novel functional meat products. *Meat Sci.*, 2006, **74** (1), 219-229.
- [4] Aro Aro J.M., Nyam-Osor P., Tsuji K., Shimada K., Fukushima M., Sekikawa M.: The effect of starter cultures on proteolytic changes and amino acid content in fermented sausages. *Food Chem.*, 2010, **119** (1), 279-285.
- [5] Bover-Cid S., Miguelez-Arrizado M.J., Latorre Moratalla L.L., Vidal Carou M.C.: Freezing of meat raw materials affects tyramine and diamine accumulation in spontaneously fermented sausages. *Meat Sci.*, 2006, **72** (1), 62-68.
- [6] Bover-Cid S., Hugas M., Izquierdo-Pulido M., Vidal-Carou M.C.: Amino acid-decarboxylase activity of bacteria isolated from fermented pork sausages. *Int. J. Food Microbiol.*, 2001, **66** (3), 185-189.
- [7] Bover-Cid S., Izquierdo-Pulido M., Vidal-Carou M.C.: Effectiveness of a *Lactobacillus sakei* starter culture in the reduction of biogenic amine accumulation as a function of the raw material quality. *J. Food Protect.*, 2001, **64** (3), 367-373.
- [8] Bover-Cid S., Izquierdo-Pulido M., Vidal-Carou M.C.: Changes in biogenic amine and polyamine content in slightly fermented sausages manufactured with and without sugar. *Meat Sci.*, 2001, **57** (2), 215-221.
- [9] Cegiełka A., Masłowska K.A.: Możliwości zastosowania bakterii probiotycznych w przetwórstwie mięsa. *Med. Wet.*, 2009, **65** (11), 735-738.
- [10] De Vuyst L., Falony G., Leroy F.: Probiotics in fermented sausages. *Meat Sci.*, 2008, **80** (1), 75-78.
- [11] Deepika Priyadarshani W.M., Rakshit S.K.: Screening selected strains of probiotic lactic acid bacteria for their ability to produce biogenic amines (histamine and tyramine). *Int. J. Food Sci. Tech.*, 2011, **46** (10), 2062-2069.
- [12] Dolatowski Z.J., Kołożyn-Krajewska D.: Probiotyki w produkcji wyrobów mięsnych. *Gosp. Mięs.*, 2011, **4**, 14-21.
- [13] Fadda S., Vignolo G., Oliver, G.: Tyramine degradation and tyramine/histamine production by lactic acid bacteria and *Kocuria* strains. *Biotechnol. Lett.*, 2001, **23** (24), 2015-2019.
- [14] FAO: Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food, Report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. London, Ontario, Kanada, April 30 and May 1, 2002. [dostęp: 15.02.2012.]. Dostępny w Internecie: http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/probiotics2/en/

- [15] Gardini F., Martuscelli M., Caruso M.C., Galgano F., Crudele M.A., Favati F., Guerzoni M.E., Suzzi G.: Effects of pH, temperature and NaCl concentration on the growth kinetics, proteolytic activity and biogenic amine production of *Enterococcus faecalis*. Int. J. Food Microbiol., 2001, **64** (1-2), 105-117.
- [16] González-Fernández C., Santos E.M., Jaime I., Rovira J.: Influence of starter cultures and sugar concentrations on biogenic amine contents in *chorizo* dry sausage. Food Microbiol., 2003, **20** (3), 275-284.
- [17] Halász A., Baráth A., Simon-Sarkadi L., Holzapfel W.: Biogenic amines and their production by microorganisms in food. Trends Food Sci. Tech., 1994, **5** (2), 42-49.
- [18] Hernández-Jover T., Izquierdo-Pulido M., Veciana-Nogués M.T., Mariné-Font A., Vidal-Carou M.C.: Biogenic amine and polyamine contents in meat and meat products. J. Agric. Food Chem., 1997, **45** (6), 2098-2102.
- [19] Hernández-Jover T., Izquierdo-Pulido M., Veciana-Nogués M.T., Vidal-Crou M.C.: Biogenic amine sources in cooked cured shoulder pork. J. Agric. Food Chem., 1996, **44** (10), 3097-3101.
- [20] Karovičová J., Kohajdová Z.: Biogenic amines in food. Chem. Pap., 2005, **59** (1), 70-79.
- [21] Koessler K.K., Hanke M.T., Sheppard M.S.: Production of histamine, tyramine, brochospartic and arteriospartic substance in blood broth by pure cultures of microorganisms. J. Infec. Dis., 1928, **43** (5), 363-377.
- [22] Kołożyn-Krajewska D., Dolatowski Z.J.: Probiotics in fermented meat products. Acta Sci. Pol., Technol. Aliment., 2009, **8** (2), 61-74.
- [23] Komprda T., Smělá D., Pechová P., Kalhotka L., Štencl J., Klejduš B.: Effect of starter culture, spice mix and storage time and temperature on biogenic amine content of dry fermented sausages. Meat Sci., 2004, **67** (4), 607-616.
- [24] Latorre-Moratalla M.L., Veciana-Nogués T., Bover-Cid S., Garriga M., Aymerich T., Zanardi E., Ianieri A., Fraqueza M.J., Patarata L., Drosinos E.H., Lauková A., Talon R., Vidal-Carou M.C.: Biogenic amines in traditional fermented sausages produced in selected European countries. Food Chem., 2008, **107** (2), 912-921.
- [25] Lu S., Xu X., Zhou G., Zhu Z., Meng Y., Sun Y.: Effect of starter cultures on microbial ecosystem and biogenic amines in fermented sausage. Food Control, 2010, **21** (4), 444-449.
- [26] Lücke F.-K.: Utilization of microbes to process and preserve meat. Meat Sci., 2000, **56** (2), 105-115.
- [27] Maijala R., Nurmi E., Fischer A.: Influence of processing temperature on the formation of biogenic amines in dry sausages. Meat Sci., 1995, **39** (1), 9-22.
- [28] McCabe-Sellers B.J., Staggs C.G., Bogle M.L.: Tyramine in foods and monoamine oxidase inhibitor drugs: A crossroad where medicine, nutrition, pharmacy, and food industry converge. J. Food Compos. Anal., 2006, **19** (suppl), S58-S65.
- [29] Naila A., Flint S., Fletcher G., Bremer P., Meerdink G.: Control of biogenic amines in food-existing and emerging approaches. J. Food Sci., 2010, **75** (7), R139-R150.
- [30] Neffe K., Kołożyn-Krajewska D.: Możliwości zastosowania bakterii probiotycznych w dojrzewających produktach mięsnych. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2010, **5** (72), 167-177.
- [31] Neffe-Skocińska K., Gierekiewicz M., Kołożyn-Krajewska D.: Optymalizacja warunków procesu fermentacji polędwic surowo dojrzewających z dodatkiem bakterii probiotycznych. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2011, **6** (79), 36-46.
- [32] Nowak A., Śliżewska K., Libudzisz Z., Socha J.: Probiotyki – efekty zdrowotne. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2010, **4** (71), 20-36.
- [33] Papamanoli E., Tzanetakis N., Litopoulou-Tzanetaki E., Kotzekidou P.: Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Greek dry-fermented sausage in respect of their technological and probiotic properties. Meat Sci., 2003, **65** (2), 859-867.
- [34] Pennacchia C., Vaughan E.E., Villani F.: Potential probiotic *Lactobacillus* strains from fermented sausages: Further investigations on their probiotic properties. Meat Sci., 2006, **73** (1), 90-101.

- [35] Pereira C.I., Crespo M.T., Romao M.V.: Evidence for proteolytic activity and biogenic amines production in *Lactobacillus curvatus* and *Lactobacillus homohiochii*. Int. J. Food Microbiol., 2001, **68** (3), 211-216.
- [36] Ruiz-Capillas C., Jiménez-Colmenero F.: Biogenic amines in meat and meat products. Crit. Rev. Food Sci., 2004, **44** (7/8), 489-499.
- [37] Ruiz-Moyano S., Martín A., Benito M.J., Casquete R., Serradilla M.J., Córdoba M.G.: Safety and functional aspects of pre-selected lactobacilli for probiotic use in Iberian dry-fermented sausages. Meat Sci., 2009, **83** (3), 460-467.
- [38] Smith T.A.: Amines in food. Food Chem., 1980, **6**, 169-200.
- [39] Stadnik J., Dolatowski Z.J.: Biogenic amines content during extended ageing of dry-cured pork loins inoculated with probiotics. Meat Sci. 2012, doi:10.1016/j.meatsci.2012.02.022.
- [40] Suzzi G., Gardini F.: Biogenic amines in dry fermented sausages: a review. Int. J. Food Microbiol., 2003, **88** (1), 41-54.
- [41] Teodorovic V., Buncic S., Smiljanic D.: A study of factors influencing histamine production in meat. Fleischwirtschaft, 1994, **74** (2), 170-172.
- [42] Tosukhowong A., Visessanguan W., Pumpuang L., Tepkasikul P., Panya A., Valyasevi R.: Biogenic amine formation in Nham, a Thai fermented sausage, and the reduction by commercial starter culture, *Lactobacillus plantarum* BCC 9546. Food Chem., 2011, **129** (3), 846-853.
- [43] Työppönen S., Petaja E., Mattila-Sandholm T.: Bioprotectives and probiotics for dry sausages. Int. J. Food Microbiol., 2003, **83** (3), 233-244.
- [44] Yoshinaga D.H., Frank H.A.: Histamine-producing bacteria in decomposing skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*). Appl. Environ. Microbiol., 1982, **44** (2), 447-452.
- [45] Ziarno M., Zaręba D.: Charakterystyka komercyjnych kultur startowych stosowanych w przetwórstwie mięsa. Med. Wet. 2008, **64** (9), 1078-1082.

BIOGENIC AMINES IN DRY CURED MEAT PRODUCTS

S u m m a r y

Biogenic amines are natural components of animal and plant raw materials where they are present at concentrations appearing non-harmful to human health. Their increased content in foods results from the activity of endogenous enzymes or from the microbial decarboxylation of amino acids during the controlled or spontaneous fermentation, processing, storage, and distribution. The dry cured meat products are characterized by a high variability in the content of biogenic amines. The formation of those compounds is impacted by the following: quality of raw material, hygienic conditions during the processing of raw material, and technological factors such as temperature, pH, water activity, NaCl content, and redox potential. It is possible to prevent the occurrence of biogenic amines in dry cured meat products by the application of starter cultures during the processing, which do not show the ability to form those biogenic amines. Probiotic strains of lactic acid bacteria contribute to the improvement of health safety of dry cured meat products since they inhibit the growth of adverse microflora and the reduction of biogenic amines content associated therewith.

Key words: biogenic amines, dry cured meat products, probiotics ☒

MIROŚLAW GABRYSZUK, TOMASZ SAKOWSKI, EWA METERA,
BEATA KUCZYŃSKA, EWA REMBIAŁKOWSKA

WPLYW ŻYWIENIA NA ZAWARTOŚĆ SKŁADNIKÓW BIOAKTYWNYCH W MLEKU KRÓW Z GOSPODARSTW EKOLOGICZNYCH

Streszczenie

Skład mleka zależy głównie od sposobu żywienia i utrzymania zwierząt, odmiennego w systemie ekologicznym i konwencjonalnym. Mleko ekologiczne zawiera więcej korzystnych białek niż mleko konwencjonalne, takich jak: α -laktoalbumina, β -laktoglobulina i laktoferyna. Mleko od krów wypasanych lub karmionych świeżą paszą, bogatą w różne gatunkowo rośliny, ma znacznie wyższy stosunek nienasyconych (PUFA) do nasyconych kwasów tłuszczowych (SFA) i korzystniejszy stosunek PUFA Ω -6 do Ω -3. Mleko ekologiczne ma większą zawartość PUFA, CLA *cis-9*, *trans-11*, kwasu *t*-waxenowego (TVA) i kwasu α -linolenowego (LNA) w porównaniu z mlekiem konwencjonalnym. Profil kwasów tłuszczowych w mleku krów żywionych kiszoną z traw jest korzystniejszy w porównaniu z pozyskiwanym od zwierząt, którym podawano kiszonkę z kukurydzy. Czerwona koniczyna, siemię lniane, olej rzepakowy i rybny mają korzystny wpływ na skład kwasów tłuszczowych w mleku. Podczas okresu pastwiskowego mleko krów z gospodarstw ekologicznych miało większą zawartość witamin rozpuszczalnych w tłuszczach (A, D, E) od mleka zwierząt niekorzystających z pastwiska. Stężenie składników mineralnych w mleku krów z gospodarstw ekologicznych zależy od ich zawartości w glebie i w zielonce.

Słowa kluczowe: mleko ekologiczne, kwasy tłuszczowe, witaminy, białka, składniki mineralne, żywienie

Wprowadzenie

W Unii Europejskiej produkcja mleka ekologicznego wynosi około 2,5 mld l, co stanowi około 2 % całej produkcji mleka. W Polsce rynek mleczarskich produktów ekologicznych zaczyna dopiero powstawać. Produkcję mleka ekologicznego szacuje się na 26 tys. t, przy średniej wydajności krów w stadach ekologicznych wynoszącej

Dr hab. M. Gabryszuk prof. nadzw., dr hab. T. Sakowski prof. nadzw., mgr inż. E. Metera, Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN, Jastrzębiec, 05-552 Magdalenka, dr hab. B. Kuczyńska, Zakład Hodowli Bydła, Wydz. Nauk o Zwierzętach, SGGW, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa, prof. dr hab. E. Rembiałkowska, Zakład Żywności Ekologicznej, Wydz. Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, SGGW, ul. Nowoursynowska 159 C8, 02-776 Warszawa

około 3500 l rocznie [43], a przeciętna roczna wydajność krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej, objętych kontrolą użytkowości mlecznej, w gospodarstwach konwencjonalnych wynosi 7000 l [20]. Wydajność pozostałych (ok. 2 mln) jest mniejsza i według GUS wynosi ok. 4400 l mleka [17]. Wydaje się jednak, że zarówno ze względu na warunki naturalne, jak i na strukturę gospodarstw utrzymujących krowy, Polska ma znaczne możliwości produkcji mleka w systemach alternatywnych w stosunku do intensywnej produkcji konwencjonalnej. W tym celu konieczne jest opracowanie takich metod żywienia i utrzymania krów, które pozwolą uzyskać mleko o dużej wartości biologicznej w ciągu całego roku i równocześnie zapewnią ekonomiczną efektywność produkcji. Butler i wsp. [8] stwierdzili, że mimo wielu lat badań i znacznej liczby publikacji, aktualna wiedza naukowa na temat wpływu systemu produkcji na skład żywności jest wciąż ograniczona. Modyfikowanie zawartości substancji bioaktywnych w mleku za pomocą doboru odpowiedniego systemu produkcji czy też stosowania odpowiednich dodatków paszowych ma duże znaczenie praktyczne. Skład mleka determinowany jest głównie czynnikami genetycznymi i żywieniowymi. Wpływ czynników genetycznych na skład i wartość odżywczą mleka krów został przedstawiony w wielu opracowaniach [3, 4, 21, 22].

Celem pracy była analiza wpływu żywienia na zawartość składników bioaktywnych w mleku krów użytkowanych w gospodarstwach ekologicznych.

Ekologiczny system produkcji mleka

Głównym aktem prawnym dotyczącym ekologicznej produkcji zwierzęcej jest rozporządzenie Rady (WE) Nr 834/2007 z dnia 28 czerwca 2007 [36] oraz krajowe akty prawne, szczególnie ustawa o rolnictwie ekologicznym z dnia 25 czerwca 2009 r. [40]. Jednym z głównych założeń ekologicznej produkcji mleka jest żywienie zwierząt paszami objętościowymi pochodzącymi z danego gospodarstwa lub ewentualnie z innych gospodarstw stosujących ekologiczne metody produkcji. Pasje powinny pokrywać zarówno potrzeby bytowe, jak i produkcyjne krów. W tym systemie chowu ważniejsza jest jakość produkowanego mleka niż uzyskiwanie maksymalnej wydajności zwierząt [5]. Krowy powinny być wypasane oraz powinno się ograniczyć udział pasz treściwych w ich dawce pokarmowej. W rezultacie tego, krowy utrzymywane w gospodarstwach ekologicznych osiągają mniejszą wydajność od krów z gospodarstw konwencjonalnych w zamian za wyższą wartość biologiczną mleka.

Składniki bioaktywne mleka

Nazwą „składniki bioaktywne” określa się składniki naturalnie występujące w żywności w niewielkich ilościach, które oddziałują na organizm konsumenta na poziomie fizjologicznym, behawioralnym czy odpowiedzi odpornościowej.

Do substancji bioaktywnych białkowej frakcji mleka zalicza się: immunoglobuliny, hormony, cytokiny, czynniki wzrostu, poliamidy, nukleotydy, peptydy, enzymy oraz inne bioaktywne peptydy. Substancje bioaktywne występują także we frakcji tłuszczowej. Należą do nich kwasy tłuszczowe, a wśród nich jedno- i wielonienasycone, witaminy rozpuszczalne w tłuszczach, karotenoidy oraz fosfolipidy i sfingomieliny [37]. Istotne znaczenie dla zdrowia ludzi mają też zawarte w mleku składniki mineralne.

Białka i peptydy oraz czynniki modyfikujące ich zawartość w mleku

Białka i peptydy tworzą znaczną część suchej masy mleka. Największy udział mają kazeiny, które stanowią około 80 % białek mleka. Składają się na nie cztery polipeptydy nazywane kazeinami: α S1 (55 %), α S2 (25 %), β (15 %) i κ (5 %) [25]. Następną co do wielkości frakcją białek mleka są białka serwatkowe: α -laktoalbumina (α -LA), β -laktoglobulina (β -LG) i albumina osocza (serum) oraz immunoglobuliny (IgA, IgM, IgG) i tripeptyd glutationu. Jednym z głównych czynników wpływających na walory zdrowotne mleka jest udział w dawce pokarmowej świeżych zielonek. Mało jest doniesień oceniających wpływ żywienia pastwiskowego na zawartość substancji bioaktywnych o charakterze białkowym. Reklewska i Reklewski [35] oraz Król i wsp. [24] stwierdzili znacząco większą zawartość α -laktoalbuminy, β -laktoglobuliny i laktoferyny w mleku krów wypasanych w porównaniu ze zwierzętami żywionymi paszami konserwowanymi. Stężenia α -LA, β -LG i laktoferyny w mleku krów wypasanych wynosiły odpowiednio: 1,14 g/l, 3,7 g/l, 116,2 mg/l i były istotnie większe od ich zawartości w mleku krów żywionych TMR, odpowiednio: 1,0 g/l, 3,17 g/l i 88,3 mg/l, [24]. Kuczyńska i wsp. [26] stwierdzili podobne zależności (oprócz α -LA) w mleku ekologicznym, porównując je z mlekiem konwencjonalnym. Mleko od krów z gospodarstw ekologicznych zawierało istotnie więcej β -LG, laktoferyny i lizozymu (odpowiednio 4,12 g/l, 334,9 mg/l, 15,68 μ g/l) w porównaniu z ich stężeniem w mleku od krów utrzymywanych konwencjonalnie (2,68 g/l, 188,0 mg/l, 12,56 μ g/l) [26]. Żywienie pastwiskowe sprzyja też wzrostowi zawartości białka ogólnego i białek kazeinowych w mleku krów [2]. Zaobserwowano także korzystny wpływ spasanania roślin motylkowych na zawartość białek kazeinowych w mleku i udział w nich κ -kazeiny [18].

Tłuszcze oraz czynniki modyfikujące ich zawartość w mleku

Zawartość tłuszczu w mleku krowim jest bardzo zmienna i wynosi od 30 do około 50 g/l. Większość frakcji tłuszczowej mleka (około 95 %) stanowią triacyloglicerole, w których skład wchodzi kwasy tłuszczowe o różnej długości łańcucha i różnym stopniu nasycenia. Następne frakcje tłuszczowe mleka to: około 2 % diacylogliceroli, poniżej 0,5 % cholesterolu, około 1 % fosfolipidów i około 0,5 % wolnych kwasów tłuszczowych. Więcej niż połowa kwasów tłuszczowych mleka to kwasy nasycone. Kwasy

tłuszczowe nienasycone dzieli się na jednonienasycone (MUFA) i wielonienasycone (PUFA). Wśród kwasów PUFA wyróżnia się rodziny n-3 i n-6. Istotny dla zdrowia człowieka jest przy tym stosunek ilości kwasów n-6 do n-3. Bergamo i wsp. [6] sugerują, że stosunek n-6/n-3 powinien się mieścić w granicach od 1 do 4. W diecie mieszkańców krajów wysoko rozwiniętych wynosi on zazwyczaj ok. 7 do 10, a czasami znacznie więcej [6]. Spośród MUFA szczególne znaczenie ma kwas oleinowy (C18:1c9), który występuje w mleku w stosunkowo dużej ilości i stanowi około 25 % masy kwasów tłuszczowych. Zawartość PUFA w mleku wynosi ok. 2 g/l, w tym najwięcej jest kwasu linolowego (C18:2 n-6) i α -linolenowego (C18:3 n-3). Najważniejszy izomer sprzężonego kwasu linolowego (CLA, C18:2 9cis, 11trans) nazywany jest też kwasem żwaczowym, gdyż jest syntetyzowany w żwaczu z kwasu linolowego. Mleko krowie jest jednym z bogatszych jego źródeł w diecie człowieka.

Wśród *trans* izomerów kwasów tłuszczowych najważniejszy jest kwas *t*-wakcenowy (C18:1 11*trans*; TVA). Nowe badania [29] nie potwierdzają niekorzystnego działania na zdrowie ludzi TVA, chociaż innym izomerom *trans* przypisuje się negatywny wpływ na zdrowie. TVA jest najczęściej występującym *trans* izomerem kwasów C18:1 i jest głównym prekursorem sprzężonego kwasu linolowego (CLA), który powstaje z TVA poprzez Δ -9-desaturację. Z tego względu stwierdza się wyraźną korelację zawartości tych dwóch kwasów w mleku. Kwasy o 18 atomach węgla mogą być przekształcane w kwasy 20-węglowe tj. arachidonowy (C20:4 n-6) i eikozapentaenowy (C20:5 n-3; EPA). Bardzo korzystny dla zdrowia konsumentów jest również kwas dokozaheksaenowy (C22:6 n-3; DHA).

Świeże zielonki. Żywienie świeżymi zielonkami wpływa szczególnie korzystnie na profil kwasów tłuszczowych mleka, co zostało potwierdzone wieloma badaniami. Kuczyńska [25] wykazała istotny wzrost w mleku krów przebywających na pastwisku zawartości takich bioaktywnych kwasów tłuszczowych, jak: TVA, CLA i α -linolenowego (LNA). Zawartość kwasów TVA, CLA i LNA w mleku krów przebywających na pastwisku wynosiła 4,46, 1,36 i 0,86 g/100 g tłuszczu, a w mleku krów z gospodarstw konwencjonalnych żywionych TMR – 1,34, 0,49 i 0,39 g/100 g tłuszczu. W przypadku żywienia zielonką pastwiskową w mleku wzrastała zawartość kwasu α -linolenowego, co powodowało lepszą proporcję tego kwasu w stosunku do linolowego, a w rezultacie korzystniejszy stosunek kwasów n-6 do n-3 z 4 : 1 do 2 : 1 [28]. Istnieje dodatnia, liniowa zależność między udziałem zielonki z pastwiska w dawce pokarmowej a zawartością w mleku krów kwasu *t*-wakcenowego oraz CLA.

Ekologiczny oraz ekstensywny system produkcji. Ellis i wsp. [13] stwierdzili, że mleko z gospodarstw ekologicznych zawierało o ponad 60 % więcej kwasów wielonienasyconych (PUFA) oraz n-3 w porównaniu z mlekiem konwencjonalnym. W rezultacie mleko ekologiczne charakteryzowało się niższym (korzystniejszym) stosunkiem kwasów n-6 do n-3, a także większą zawartością PUFA w stosunku do MUFA.

Butler i Leifert [8], po przeanalizowaniu wyników obserwacji prowadzonych w kilku krajach zachodnioeuropejskich, doszli do podobnych wniosków. Stwierdzili, że mleko ekologiczne zawiera mniej kwasów n-6, a więcej n-3, co powoduje, że stosunek n-6/n-3 wynosi w mleku konwencjonalnym powyżej 2,5, podczas gdy w mleku ekologicznym – poniżej 1,25. Mleko z gospodarstw ekstensywnych zawierało też wyraźnie więcej kwasu *t*-wakcenenowego i CLA *c9t11* (43,4 i 15,1 mg/g tłuszczu) niż surowiec z gospodarstw intensywnych (18,1 i 6,0 mg/g tłuszczu) [7]. Różnice te wynikały zapewne z szerszego wykorzystania pastwisk w żywieniu krów w gospodarstwach ekstensywnych, podczas gdy żywienie w gospodarstwach intensywnych bazowało na paszach konserwowanych, skarmianych w postaci mieszanek pełnoporcjowych typu TMR [9, 31]. Doniesienia naukowców angielskich [9] wskazują, że zawartość CLA *c9t11* (12,2 g/kg tłuszczu) w mleku ekologicznym w sezonie letnim może być nawet o 60 % większa niż w mleku wyprodukowanym metodami konwencjonalnymi (7,5 g/kg tłuszczu). Wykorzystanie pastwisk w żywieniu krów oraz wysoki udział pasz objętościowych w suchej masie dawki pokarmowej są czynnikami wpływającymi na lepszy skład mleka ekologicznego [10].

Skład porostu pastwiska. Collomb i wsp. [11] stwierdzili wpływ składu florystycznego porostu, na którym wypasano krowy, na profil kwasów tłuszczowych mleka. Steinshamn i Thuen [39] wskazują natomiast, że na profil kwasów tłuszczowych mleka szczególnie korzystny wpływ wywiera koniczyna czerwona, zarówno w porównaniu z trawami, jak i z koniczyną białą. Dawki pokarmowe zawierające koniczynę czerwoną powodowały wzrost zawartości PUFA z 2,84 do 3,09 g/100 g estrów tłuszczu w mleku krów, w tym zwłaszcza kwasu α -linolenowego z 0,87 do 1,04 g/100 g tłuszczu, zarówno w porównaniach z trawami, jak i z koniczyną białą oraz innymi motylkowymi [1, 39].

Rodzaj kiszonki. W przeciwieństwie do kiszonek z traw i roślin motylkowych, kiszonka z kukurydzy ma niekorzystny wpływ na skład kwasów tłuszczowych w mleku krów, które ją spożywają. Semková i wsp. [38] wykazali, że wraz ze wzrostem udziału w dawce pokarmowej kiszonki z kukurydzy wzrastała zawartość kwasów nasyconych w mleku. Przy żywieniu kiszonką z kukurydzy i z traw zawartość nasyconych kwasów tłuszczowych w puli wszystkich kwasów tłuszczowych w mleku wynosiła odpowiednio 67,6 i 62,9 %, a PUFA 3,6 i 4,7 % [38].

Zawartość kwasów tłuszczowych w paszy. Zawartość kwasów tłuszczowych w paszy wpływa bezpośrednio na ich zawartość w mleku krów, które ją spożywają. Odnosi się to szczególnie do tych PUFA, które nie są syntetyzowane przez organizm krowy. Z przeglądu publikacji dokonanego przez Woodsa i wsp. [41] wynika, że wpływ nasion lnu, słonecznika, rzepaku oraz oleju rybnego na poziom pożądanych kwasów tłuszczowych w mleku jest istotny i korzystny. Palmquist i Grinari [33] analizowali wpływ dodatku do paszy różnych proporcji oleju rybnego do oleju słoneczni-

kowego: 0,33, 0,67 i 1,0 na profil kwasów tłuszczowych w mleku. Stwierdzili, że najwięcej CLA $c9t11$ i TVA (114 i 136 mg/g kwasów tłuszczowych) było w mleku krów, które dostawały dodatek oleju rybnego i słonecznikowego w proporcjach 0,33 i 0,67. Zawartość kwasów C20:5 n-3 (EPA, eikozapentaenowy) i C22:6 n-3 (DHA, dokoza-pentaenowy) wzrastała liniowo wraz ze zwiększaniem się proporcji oleju rybnego do słonecznikowego i najwięcej wynosiła 6,8 mg/g i 0,9 mg/g kwasów tłuszczowych po dodatku tylko oleju rybnego. Wynika to z zawartości tych kwasów w oleju rybnym – 120,4 i 101,1 mg/g kwasów tłuszczowych, a w oleju słonecznikowym zawartość tych kwasów była poniżej detekcji. Jednak nadmiar tłuszczu w dawce pokarmowej może spowodować obniżenie aktywności flory bakteryjnej zwacza i w konsekwencji zmniejszenie strawności paszy. W przypadku zastosowania oleju rybnego może nastąpić pogorszenie walorów sensorycznych mleka.

Suplementy mineralne i witaminy. Wpływ stosowania dodatków zawierających związki mineralne i witaminy na poziom tych substancji w mleku wydaje się oczywisty. Zaobserwowano także, że suplementacja dawki pokarmowej niektórymi mikroelementami wykazuje istotny wpływ na profil kwasów tłuszczowych mleka [34].

Witaminy i czynniki wpływające na ich zawartość w mleku

Spośród witamin występujących w mleku wymienić należy: A, D i E. Istotne znaczenie dla człowieka ma obecność witamin A i D oraz β -karotenu, który jest prekursorem witaminy A. Mleko zawiera około 280 $\mu\text{g/l}$ witaminy A. Przeciętna zawartość witaminy E w mleku to około 0,6 mg/l. W mniejszych ilościach w mleku występują także witaminy z grupy B.

Badania zawartości witamin w mleku i produktach mlecznych wskazują na ich sezonową zmienność, spowodowaną głównie rodzajem skarmianych pasz [14]. Wykazano, że żywienie pastwiskowe wpływa korzystnie na zawartość w mleku witamin D i A, β -karotenu oraz witaminy E [35]. Kuczyńska [25] stwierdziła większą zawartość witamin E i D₃, a mniejszą β -karotenu (odpowiednio 1,621 mg/l, 0,461 $\mu\text{g/l}$ i 0,224 mg/l) w mleku krów z gospodarstw ekologicznych w porównaniu z ich zawartością w mleku krów z gospodarstw konwencjonalnych (odpowiednio 1,262 mg/l, 0,377 $\mu\text{g/l}$ i 0,252 mg/l). Główną przyczyną obserwowanych różnic jest duża zawartość odpowiednich witamin lub prowitamin w zielonych paszach objętościowych oraz ekspozycja zwierząt na słońce, sprzyjająca syntezie witaminy D [42]. Jeżeli w gospodarstwach konwencjonalnych stosuje się suplementację wysokimi dawkami syntetycznych witamin, wówczas ich zawartość w mleku może być większa niż w mleku od krów z gospodarstw ekologicznych. Badania przeprowadzone w Szwecji w okresie żywienia zimowego nie wykazały różnic pod względem zawartości witamin w mleku produkowanym w stadach ekologicznych i konwencjonalnych [15]. W obu systemach produkcyjnych podstawę żywienia stanowiła kiszonka z traw z koniczyną, uzupełniana

znaczoną ilością pasz treściwych. Bergamo i wsp. [6] oraz Butler i wsp. [9] wykazali większą zawartość witamin rozpuszczalnych w tłuszczu w mleku i produktach mleczarskich pochodzących od krów wypasanych na pastwiskach, w gospodarstwach ekologicznych i ekstensywnych (odpowiednio α - tokoferol: 28,5 i 32,0 mg/kg tłuszczu; β -karoten: 6,95 i 9,29 mg/kg tłuszczu), w porównaniu z krowami nie korzystającymi z pastwiska (21,4 mg/kg i 5,35 mg/kg tłuszczu, odpowiednio). Nielsen i wsp. [32] stwierdzili, że większy udział kiszonki z kukurydzy w dawkach pokarmowych stosowanych w gospodarstwach konwencjonalnych jest jednym z głównych czynników odpowiedzialnych za mniejszą zawartość witamin i antyoksydantów w produkowanym w nich mleku. Stwierdzono, że podawanie marchwi krowom ma dodatni wpływ na zawartość antyoksydantów w mleku oraz na skład kwasów tłuszczowych [30].

Substancje mineralne oraz czynniki wpływające na ich zawartość w mleku

Mleko krowie jest bogatym źródłem wielu makroelementów i zawiera znacznie więcej wapnia, magnezu oraz fosforu niż mleko ludzkie. To powoduje, że jest ono bardzo dobrym źródłem tych pierwiastków dla osób mających ich niedobory. Należy jednak pamiętać, że proporcje między makroelementami i mikroelementami w mleku przeżuwaczy są inne niż w mleku kobiecym i nie można uważać, że mleko krowie może zastąpić mleko kobiece w żywieniu niemowląt. Niestety, w mleku jest bardzo dużo fosforu (850 mg/l), którego znaczna ilość jest również w zbożach i w żywności przetworzonej, co utrudnia zbilansowanie diety. Mleko zawiera także stosunkowo mało magnezu (ok. 100 mg/l), co powoduje niekorzystny stosunek Ca : Mg wynoszący około 10 : 1. Jest ono również źródłem mikroelementów, takich jak: selen, jod, cynk, miedź, żelazo, ale ich zawartość w porównaniu z innymi produktami spożywczymi jest niska.

Wpływ żywienia pastwiskowego na skład mineralny mleka nie jest jednoznaczny. Badania naukowców norweskich [27] wykazały znacząco niższy poziom jodu i selenu w mleku krów podczas żywienia pastwiskowego. Wydaje się jednak, że w tym przypadku przyczyną zaobserwowanych różnic w stosunku do żywienia zimowego był fakt, że w okresie zimowym krowy otrzymywały większe ilości preparatów mineralno-witaminowych. Z kolei Barłowska [3] stwierdziła, że wypas w okresie wiosenno-letnim wpływa dodatnio na wzrost zawartości wapnia, magnezu, miedzi, potasu i manganu w mleku. Natomiast Gabryszuk i wsp. [16], porównując zawartość Ca, P i Mg w mleku pochodzącym z gospodarstwa o intensywnej produkcji (niestosującego wypasu krów) z mlekiem z gospodarstw ekstensywnych, stosujących taki wypas, stwierdzili znacząco wyższy poziom wspomnianych pierwiastków w mleku z gospodarstwa intensywnego. Rozbieżności te wynikają zapewne z faktu, że w obserwowanym wysoko produkcyjnym stadzie stosowano wyraźnie wyższe dawki mieszanki mineralno-witaminowej niż w stadach ekstensywnych. Zawartość składników mineralnych

w mleku uzależniona jest głównie od ich zawartości w paszy, a ich zawartość w paszy – od lokalnych warunków glebowo-klimatycznych oraz zakresu stosowania dodatków mineralno-witaminowych w żywieniu krów, co potwierdzają też Hermansen i wsp. [19]. Wydaje się, że w wielu przypadkach mleko ekologiczne, w porównaniu z mlekiem pochodzącym z systemu konwencjonalnego, jest uboższe w niektóre mikroelementy. Zawartość Co, Cu, I, Mn, Se, Sr, Zn w mleku z gospodarstw konwencjonalnych była większa i wynosiła odpowiednio: 1,44 µg/l, 0,139 mg/l, 0,384 mg/l, 31,1 µg/l, 19,0 µg/l, 0,202 mg/l, 1,97 mg/l, podczas gdy ich zawartość w mleku krów z gospodarstw ekologicznych wynosiła odpowiednio: 1,15 µg/l, 0,085 mg/l, 0,283 mg/l, 22,0 µg/l, 18,1 µg/l, 0,166 mg/l, 1,49 mg/l [16]. Wskutek ograniczonych możliwości stosowania suplementów mineralnych w żywieniu krów utrzymywanych w gospodarstwach ekologicznych mogą występować braki cynku, molibdenu, selenu, miedzi i jodu [12], co potwierdzają również inne badania [27]. Jako przypuszczalny powód niedoboru niektórych pierwiastków w mleku z gospodarstw ekologicznych wskazują one niską ich zawartość w glebie, co z kolei jest przyczyną niedoboru tych pierwiastków w paszach.

Podsumowanie

Wartość biologiczna mleka od krów z ekologicznych gospodarstw charakteryzuje się większą zawartością korzystnie oddziałujących na zdrowie człowieka kwasów tłuszczowych i witamin. Na skład mleka ekologicznego korzystnie wpływa udział zielonki pastwiskowej w żywieniu krów oraz wysoki udział pasz objętościowych w suchej masie dawki pokarmowej. W okresie zimowym, gdy wypas krów jest niemożliwy, zawartość wielu substancji bioaktywnych w mleku ekologicznym zmniejsza się. Różnice w stosunku do mleka konwencjonalnego stają się mniej wyraźne i wynikają głównie z większego udziału w dawkach pokarmowych kiszonek z traw i roślin motylkowych. Wzrost udziału w dawce pokarmowej pasz bogatych w skrobię, takich jak zboża i kiszonka z kukurydzy, ujemnie wpływa na wartość biologiczną mleka krów.

Na zawartość w mleku ekologicznym składników mineralnych ważnych ze względów zdrowotnych, negatywny wpływ mogą mieć ograniczenia, jakim w rolnictwie ekologicznym podlega stosowanie nawozów mineralnych oraz mineralnych suplementów dawki pokarmowej, zwłaszcza w okolicach, gdzie występuje ich deficyt w glebie.

Istnieje możliwość znacznego wpływania na jakość biologiczną mleka poprzez włączenie do dawki pokarmowej nasion roślin oleistych i tłuszczów paszowych oraz różnego rodzaju dodatków zielonych, mineralnych i witaminowych. Należy jednak pamiętać, że w produkcji ekologicznej wszelkie dodatki można stosować tylko za zgodą organu kontrolnego.

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] Al Mabruk R.M., Beck N.F.G., Dewhurst R.J.: Effects of silage species and supplemental vitamin E on the oxidative stability of milk. *J. Dairy Sci.*, 2004, **87**, 406-412.
- [2] Auldust M.J., Thomson N.A., Mackle T.R., Hill J.P., Prosser C.G.: Effects of pasture allowance on the yield and composition of milk from cows of different β -lactoglobulin phenotypes. *J. Dairy Sci.*, 2000, **83**, 2069-2074.
- [3] Barłowska J.: Wartość odżywcza i przydatność technologiczna mleka krów 7 ras użytkowanych w Polsce. *Rozpr. hab.*, **321**, Wyd. AR w Lublinie, 2007, s.112.
- [4] Barłowska J., Litwińczuk Z.: Genetyczne i środowiskowe uwarunkowania profilu kwasów tłuszczowych mleka. *Med. Wet.* 2009, **65**, 310-314.
- [5] Barth K.: Organic dairy farming and its effect on milk quality and consumption. *Anim. Sci. Pap. Rep.*, 2004, **22**, 361-365.
- [6] Bergamo P., Fedele E., Iannibeli L., Marzillo G.: Fat-soluble vitamins contents and fatty acid composition in organic and conventional Italian dairy products. *Food Chem.*, 2003, **82**, 625-631.
- [7] Butler G., Collomb M., Rehberger B., Sanderson R., Eyre M., Leifert C.: Conjugated linoleic acid isomer concentrations in milk from high- and low-input management dairy systems. *J. Sci. Food Agric.*, 2009, **89**, 697-705.
- [8] Butler G., Leifert C.: Effect of organic production methods on product quality and animal health and welfare; why are there differences? Proceedings of the conference on Improvement of quality of animal products obtained in sustainable production systems with special reference to bioactive components and their benefit for human health, 14-15 May 2009, Jastrzębiec, pp. 88-93.
- [9] Butler G., Nielsen J.H., Slots T., Seal C., Eyre M.D., Sanderson R., 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**, 1431-1441.
- [10] Collomb M., Bisig W., Bütikofer U., Sieber R., Bregy M., Etter L.: Fatty acid composition of mountain milk from Switzerland: Comparison of organic and integrated farming systems. *Intern. Dairy J.*, 2008, **18**, 976-982.
- [11] Collomb M., Bütikofer U., Sieber R., Jeangros B., Bosset J.O.: Correlation between fatty acids in cows' milk fat produced in the Lowlands, Mountains and Highlands of Switzerland and botanical composition of the fodder. *Intern. Dairy J.*, 2002, **12**, 661-666.
- [12] Coonan C., Freestone-Smith C., Allen J., Wilde D.: Determination of the major mineral and trace element balance of dairy cows in organic production systems. In: Kyriazakis, Zervas (Eds.), *Proceeding of Organic Meat and Milk from Ruminants*, Athens, October 4-6, 2002, EAAP Publication, **106**, pp. 181-183.
- [13] Ellis K.A., Innocent G.T., Grove-White D., Cripps P., Mclean W.G., Howard C.V., Mihm M.: Comparing the fatty acid composition of organic and conventional milk. *J. Dairy Sci.*, 2006, **89**, 1938-1950.
- [14] Ellis K.A., Monteiro A., Innocent G.T., Grove-White D., Cripps P., Mclean W.G., Howard C.V., Mihm M.: Investigation of the vitamins A and E and β -carotene content in milk from UK organic and conventional dairy farms. *J. Dairy Res.*, 2007, **74** (4), 484-491.


- [15] Emanuelson U., Fall N.: Vitamins and selenium in bulk tank milk of organic and conventional dairy farms. EAAP, Dublin, Ireland, 2007.
- [16] Gabryszuk M., Słoniewski K., Sakowski T.: Macro- and microelements in milk and hair of cows from conventional vs. organic farms. Anim. Sci. Pap. Rep., 2008, **26** (3), 199-209.
- [17] Główny Urząd Statystyczny.: Rocznik Statystyczny Rzeczypospolitej Polskiej. Zakład Wyd. Statyst. Warszawa 2011.
- [18] Hermansen J.E., Ostersen S., Justesen N.C., Aaes O.: Effects of dietary protein supply on caseins, whey proteins, proteolysis and renneting properties in milk from cows grazing clover or N fertilized grass. J. Dairy Res., 1999, **66**, 193-205.
- [19] Hermansen J.E., Badsbegr J.H., Kristensen T., Gundersen V.: Major and trace elements in organically or conventionally produced milk. J. Dairy Res., 2005, **72**, 362-368.
- [20] Januś E., Borkowska D.: Wpływ wybranych czynników na wartość energetyczną mleka krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej oraz montbeliarde. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2011, **5** (78), 141-149.
- [21] Król J., Brodziak A., Litwińczuk A.: Podstawowy skład chemiczny i zawartość wybranych białek serwatkowych w mleku krów różnych ras i w serwatce podpuszczkowej. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2011, **4** (77), 74-83.
- [22] Król J., Litwińczuk Z., Brodziak A., Sawicka-Zugaj W.: Bioactive protein content in milk from local breeds of cows included In the genetic resources conservation programme. Ann. Anim. Sci., 2010, **10**, 213-221.
- [24] Król J., Litwińczuk Z., Litwińczuk A., Brodziak A.: Content of protein and its fractions in milk of simmental cows with regard to rearing technology. Ann. Anim. Sci., 2008, **1**, 57-61.
- [25] Kuczyńska B.: Składniki bioaktywne i parametry technologiczne mleka produkowanego w gospodarstwach ekologicznych i konwencjonalnych. Rozpr. Nauk. i Monogr. Wyd. SGGW, Warszawa 2011, ss. 1-120.
- [26] Kuczyńska B., Puppel K., Gołębiewski M., Metera E., Sakowski T., Słoniewski K.: Differences whey protein content between cow's milk collected In late pasture and early indoor feeding season from conventional and organic farms in Poland. J. Sci. Food Agric., 2012, **92**, 1-6.
- [27] Kuusela E., Okker L.: Influence of organic practices on selenium concentration of tank milk-a farm study. J. Anim. Feed Sci., 2007, **16**, Suppl. I, 97-101.
- [28] Lock A.L., Garnsworthy P.C.: Seasonal variation in milk conjugated linoleic acid and 9-desaturase activity in dairy cows. Livest. Prod. Sci., 2003, **79**, 47-59.
- [29] Motard-Bélanger A., Charest A., Grenier G., Paquin P., Chouinard Y., Lemieux S., Couture P., Lamarche B.: Study of the effect of *trans* fatty acids from ruminants on blood lipids and other risk factors for cardiovascular disease. Am. J. Clinical Nutr., 2008, **87**, 593-599.
- [30] Nałęcz-Tarwacka T., Karaszewska A., Zdziarski K.: The influence of carrot addition on the level of vitamins and fatty acids in cow milk. Pol. J. Food Nutr. Sci., 2003, **12**, 53-56.
- [31] Nałęcz-Tarwacka T., Kuczyńska B., Grodzki H., Słószarz J.: Wpływ wybranych czynników na zawartość skoniugowanego kwasu linolowego w mleku krów. Med. Wet., 2009, **65** (5), 326-329.
- [32] Nielsen J.H., Lund-Nielsen T., Skibsted L.: Higher antioxidant content in organic milk than in conventional milk due to feeding strategy. DARCOFenews, Newsletter from Danish Research Centre for Organic Farming, 2004, **3**, [dostęp: 05. 04. 2013]. Dostępny w Internecie: <http://www.darcof.dk/enews/sep04/milk.html>.
- [33] Palmquist D.L., Griinari J.M.: Milk fatty acid composition In response to reciprocal combinations of sunflower and fish oils in the diet. Anim. Feed Sci. Technol., 2006, **131**, 358-369.
- [34] Reklewska B., Oprządek A., Reklewski Z., Panicke L., Kuczyńska B., Oprządek J.: Alternative for modifying the fatty acid composition and decreasing the cholesterol level in the milk of cows. Livest. Prod. Sci., 2002, **76** (3), 235-243.

- [35] Reklewska B., Reklewski Z.: Potential for producing milk with elevated content of functional components. *Anim. Sci. Pap. Rep.*, 2004, **22**, 367-374.
- [36] Rozporządzenie Rady WE NR 834/2007, z dnia 28 czerwca 2007 r. w sprawie produkcji ekologicznej i znakowania produktów ekologicznych i uchylające rozporządzenie (EWG) nr 2092/91, Dz. Urz. UE, L 189/1- L 189/23.
- [37] Severin S., Wenshui X.: Milk biologically active components as nutraceuticals: Review. *Critical Rev. Food Sci. Nutr.*, 2005, **45**, 645-656.
- [38] Semková E., Pešek M., Špička J., Pelikánová T., Hanuš O.: The effect of feeding diets markedly differing in the proportion of grass and maize silages on bovine milk fat composition. *Czech J. Anim. Sci.*, **54**, 93-100.
- [39] Steinshamn H., Thuen E.: White and red clover-grass silage in organic dairy milk production: Grassland productivity and milk production responses with different levels of concentrate. *Livest. Sci.*, 2008, **119**, 202-215.
- [40] Ustawa o rolnictwie ekologicznym z dnia 25 czerwca 2009, Dz. U. Nr 116 poz. 975, 8762-8772.
- [41] Woods V.B., Forbes E.G.A., Easson D.L., Feason A.M.: Dietary sources of unsaturated fatty acids for animals and their subsequent availability in milk, meat and eggs. A summary of research findings. Global Research Unit, Agri-Food and Biosciences Institute Hillsborough. 2005, Occasional publication 4.
- [42] Ziajka S.: *Mleczarstwo*. Tom 1. Wyd. UW-M w Olsztynie, Olsztyn 2008.
- [43] Żekało M.: Wybrane zagadnienia produkcji mleka w gospodarstwach ekologicznych. Seminarium IERiGŻ-PIB, Warszawa 1 październik 2010. [dostęp 05.04.2013]. Dostępny w Internecie: http://wwwold.ierigz.waw.pl/documents/Seminarium_Zekalo.pdf

EFFECT OF FEEDING ON CONTENT OF BIOACTIVE SUBSTANCES IN MILK FROM COWS RAISED IN ORGANIC FARMS

S u m m a r y

Milk composition depends mainly on feeding and farming methods of animals; those methods are different in the organic and conventional systems. Organic milk contains more beneficial proteins than conventional milk, i.e. such proteins as α -lactoalbumin, β -lactoglobulin, and lactoferrin. The milk from cows grazed on fresh grasses or fed fresh forage, both of them rich in multifarious plant species, has a considerably higher ratio of unsaturated (PUFA) to saturated (SFA) fatty acids and a better ratio of PUFA Ω -6 to Ω -3. Compared to the conventional milk, the organic milk has a higher content of PUFA, CLA, *cis*-9, *trans*-11 CLA, *trans*-vaccenic acid (TVA), and α -linolenic acid (LNA). The profile of fatty acids in the milk from cows fed grass silage is more beneficial than that in the milk from cows fed maize silage. Red clover, linseed, rape, and fish oil have a beneficial effect on the composition of fatty acids in the cow's milk. During the pasture grazing period, the milk from cows bred in organic farms had a higher content of fat-soluble vitamins (A, D, E) than the milk from animals that were not grazed on pastures. The concentration of mineral elements in the milk from cows raised in organic farms depends on the concentrations thereof in soil and in green forage.

Key words: organic milk, fatty acids, vitamins, proteins, mineral elements, feeding 

BARBARA BUGAJ, TERESA LESZCZYŃSKA, MIROŚLAW PYSZ,
ANETA KOPEĆ, JOANNA PACHOLARZ, KATARZYNA PYSZ-IZDEBSKA

CHARAKTERYSTYKA I PROZDROWOTNE WŁAŚCIWOŚCI *STEVIA REBAUDIANA* BERTONI

Streszczenie

Stevia rebaudiana Bertoni, z rodziny *Asteraceae*, pochodzi z Brazylii i Paragwaju. Wzbudziła zainteresowanie żywieniowców dzięki dwóm związkom: rebaudiozydowi A i stewiozydowi. Wymienione glikozydy mają właściwości słodzące do 300 razy silniejsze od sacharozy. Roślina charakteryzuje się również wysoką aktywnością przeciwutleniającą wynikającą m.in. z dużej zawartości polifenoli. Ekstrakty liści stewii wykazują korzystne działanie prozdrowotne. Wiąże się to ze specyficznym działaniem rośliny, obejmującym właściwości: przeciwzapalne, hipoglikemiczne, hipotensyjne, modulujące procesy immunologiczne, przeciwpróchnicze i przeciwwirusowe.

Słowa kluczowe: *Stevia rebaudiana*, stewiozyd, słodzik niskokaloryczny, właściwości prozdrowotne

Wprowadzenie

Nadmierna konsumpcja cukru może być przyczyną problemów zdrowotnych, dlatego wciąż poszukuje się alternatywnych substancji o dużej mocy słodzącej, a równocześnie o małej kaloryczności. Najbardziej znanymi dodatkami do żywności, umożliwiającymi wyeliminowanie sacharozy, są substancje intensywnie słodzące. Większość z nich należy do związków syntetycznych. Ich często metaliczny posmak nie zapewnia korzystnych wrażeń smakowych, a stosowanie niektórych związków może powodować uboczne skutki zdrowotne.

Stevia rebaudiana, będąca źródłem naturalnych związków słodzących, może być pożądanym zamiennikiem cukru. Zasadność jej stosowania bywa kontrowersyjna, a status prawny rośliny jest niejednakowy w różnych krajach. Opisywane w literaturze właściwości prozdrowotne stewii nie są dostatecznie udowodnione, jednak zainteresowanie tą rośliną i popyt na nią powodują konieczność ich pełnego poznania. Ponadto,

Mgr inż. B. Bugaj, prof. dr hab. inż. T. Leszczyńska, dr inż. A. Kopeć, dr inż. M. Pysz, mgr inż. J. Pacholarz, dr inż. K. Pysz-Izdebska, Katedra Żywnienia Człowieka, Wydz. Technologii Żywności, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków

potrzeba wiarygodnej i rzetelnej informacji, jakiej oczekuje konsument w odniesieniu do nowych produktów, dodatkowo uzasadnia potrzebę prowadzenia badań tej rośliny.

Charakterystyka ogólna

Stewia pochodzi z północno-wschodniego regionu Paragwaju oraz z pogranicza Brazylii, gdzie rośnie na glebach piaszczystych, charakteryzujących się dużą wilgocia i dobrą przepuszczalnością [13, 18].

Stewia jest byliną należącą do rodziny *Asteraceae*, (*Compositae*) – astrowatych (złożonych). Jest jednym ze 154 przedstawicieli rodzaju *Stevia* i jednym z dwóch gatunków, które wytwarzają słodkie glikozydy stewiolowe. Roślina osiąga wysokość 65 - 80 cm. Liście są przeciwstawnie siedzące długości 3 - 4 cm, o kształcie owalnym lancetowatym lub łopatkowatym. Błazka liścia ma zaokrąglony koniec i od połowy do końcówki ząbkowany brzeg. Łodyga jest zdrewniała. Kwiaty złożone, składające się z pięciu płatków, otoczone są okrywą działek kielicha. Charakteryzują się jasnioletową barwą. Owoce to niełupki o kształcie wrzeciona.

Stewia jest wykorzystywana m.in. do produkcji lodów, słodczy, napojów, sosów sojowych, jogurtów czy gum do żucia. Japończycy zaliczani są do największych konsumentów słodziku stewiowego, którego spożycie wynosi w Japonii kilka tysięcy ton rocznie [18, 36].

Przepisy prawne

Stewiozyd, jako słodzik, był poddawany ocenie przez Komitet Naukowy ds. Żywności (Scientific Committee for Food – SCF) w latach: 1984, 1988 i 1999. Uznano wtedy stewiol za związek genotoksyczny. Z powodu ograniczonych danych SCF orzekł, że stewiozyd, ze względów toksykologicznych, nie może być stosowany jako środek spożywczy oraz że dostępne wówczas dane są niewystarczające, aby właściwie określić jego bezpieczeństwo [10]. W latach 2000 - 2009 Komitet Ekspertów FAO/WHO ds. Dodatków do Żywności (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives – JECFA) dokonał rewizji badań dotyczących ustalenia poziomu bezpieczeństwa glikozydów stewiolowych. Na podstawie wyników testów toksykologicznych *in vitro* i *in vivo* dowiedziono, że glikozydy stewiolowe nie są genotoksyczne i rakotwórcze, nie mają też negatywnego wpływu na reprodukcję i rozwój [10].

Obecnie brak jest dowodów stwierdzających, że spożywanie stewii lub stewiozydów powoduje wzrost liczby nowotworów u ludzi. Nie udokumentowano wspomnianych efektów nawet po bardzo długim okresie stosowania preparatów stewiowych w następujących krajach: Paragwaj (ponad 50 lat), Japonia (ponad 25 lat), USA (18 lat), Południowa Korea (15 lat), Brazylia (12 lat) i Chiny (1 rok). Stewia i słodziki stewiolowe oraz rebaudiozyd A są całkowicie bezpieczne [3]. Przeprowadzono badania na zwierzętach i wykazano, że stewiozyd w dawce 15 g/kg m.c. nie jest śmiertelny dla

myszy i szczurów [3]. W 2008 r. ustanowiono ADI (Acceptable Daily Intake – Dopuszczalne Dienne Spożycie) glikozydów stewiolowych (wyrażone jako ekwiwalent stewiolu) na poziomie 0 - 4 mg/kg m.c. [10].

W Unii Europejskiej przepisy dotyczące stewii reguluje Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności. Urząd ocenił bezpieczeństwo glikozydów stewiolowych i 10 marca 2010 r. wydał opinię, na podstawie której ustanowił ADI na poziomie 4 mg/kg m.c. Z kolei 11 listopada 2011 r. Urząd przyjął rozporządzenie, na mocy którego dopuszczono do stosowania glikozydy stewiolowe, oznaczone jako E 960, w 31 kategoriach żywności – m.in. w napojach, słodyczach, słodzikach, gumach do żucia, przetworach owocowo-warzywnych, produktach piekarskich i przetworach rybnych [29].

Skład chemiczny

Ze względów technologicznych najważniejszymi składnikami stewii są glikozydy odpowiedzialne za jej słodki smak. Pozostałe podstawowe składniki chemiczne nie mają praktycznego znaczenia z uwagi na bardzo małe spożycie tej rośliny. Ważną rolę mogą pełnić składniki aktywne biologicznie z uwagi na ich potencjalne właściwości prozdrowotne.

Tabela 1

Podstawowy skład chemiczny suchych liściach stewii.
Basic chemical compositions of dried stevia leaves.

Składniki / Components	Zawartość / Content [g/100 g s.m. / d.m.]
Białko / Protein	9,8 - 12,0
Tłuszcz / Fat	1,9 - 5,6
Węglowodany ogółem / Total Carbohydrates	52,0 - 61,9
Błonnik / Crude fibre	15,0 - 18,5
Składniki mineralne jako popiół / Mineral components in the form of ash	6,3 - 11,0

Opracowanie własne na podstawie: / The authors' own study based on: [13, 17, 22, 30, 36].

Liście *Stevia rebaudiana* są źródłem białka i węglowodanów (tab. 1). Susz z liści stewii zawiera około 4 % tłuszczów, przy czym największy udział w ich strukturze mają: kwas palmitynowy (27,5 %) oraz kwas linolenowy (21,6 %). Składniki mineralne w postaci popiołu stanowią około 13 % s.m. i są to głównie: potas, magnez, fosfor, sód i siarka. Mikroelementy, takie jak: miedź, kobalt, żelazo, mangan, cynk, selen i molibden obecne są w śladowych ilościach [37]. W porównaniu z warzywami liściastymi stewia charakteryzuje się dużą zawartością kwasu szczawowego (2295 mg/100 g),

który zmniejsza biodostępność wapnia, żelaza i innych składników. *Stevia rebaudiana* jest dobrym źródłem kwasu foliowego – 52,18 mg/ 100 g oraz witaminy C – 14,98 mg/100 g. Natomiast do witamin występujących w stewii w niewielkich ilościach należą tiamina i ryboflawina [13, 18, 37].

Substancje biologicznie aktywne

W *Stevia rebaudiana* zidentyfikowano dziewięć słodkich glikozydów stewiowych, które mogą stanowić 4 - 20 % masy świeżych liści, w zależności od uprawy i warunków wzrostu [11]. Wszystkie glikozydy zawarte w liściach stewii zaliczają się do pochodnych entkauronowych, które są przedstawicielami ważnej grupy aromatycznych związków – tetracyklicznych diterpenów. Ugrupowanie aglikonowe w cząsteczce glikozydu zawsze stanowi stewiol, który pod względem chemicznym jest diterpenoidowym alkoholem karboksylowym, glikonem z kolei są różne reszty cukrowe, najczęściej glukoza i ramnoza [32]. Poszczególne organy rośliny różnią się pod względem ich zawartości. Najwięcej glikozydów znajduje się w liściach, mniej w kwiatach, następnie w łodygach i nasionach. W korzeniach związki te nie występują. Poziom glikozydów wzrasta w roślinie do momentu kwitnienia [4, 27]. Głównymi glikozydami stewii są: stewiozyd (4 - 13 % m/m), rebaudiozyd A (2 - 4 % m/m), rebaudiozyd C (1 - 2 % m/m) i dulkozyd A (0,4 - 0,7 % m/m). Pozostałe glikozydy występują w mniejszej ilości [26].

Stewiozyd jest 300 razy słodszy od sacharozy. Jest białym, krystalicznym, bezwonny proszkiem wyekstrahowanym z liści stewii, stanowiącym 6 - 18 % ich świeżej masy [9, 13, 18]. Zawiera trzy cząsteczki glukozy oraz stewiol [21]. Jest odpowiedzialny za gorzkawy posmak stewii. Związek ten jest całkowicie naturalny, nie dostarcza energii, pozostaje stabilny do temp. 198 °C i nie ulega fermentacji. Wykazuje właściwości substancji wzmacniającej zapach oraz działa protekcyjnie na zęby [13].

Rebaudiozyd A jest najbardziej stabilny spośród wymienionych glikozydów, a jego zawartość w świeżych liściach kształtuje się na poziomie 2 - 4 % [18]. Wykazuje najlepsze walory smakowe, gdyż ma najmniej goryczki spośród glikozydów stewiowych [6]. Poziom słodkiego smaku, jaki wykazują poszczególne glikozydy w odniesieniu do sacharozy, przedstawiono w tab. 2.

Oprócz diterpenów glikozydowych w skład stewii wchodzi inne diterpeny – m.in. labdanowe oraz triterpeny, takie jak octan amiryny i trzy estry lupeolu. Liście stewii zawierają sterole: stigmasterol, sitosterol oraz kampesterol. Z ekstrakcji liści wodnym metanolem wyizolowano sześć glikozydów flawonoidowych: apigeninowe, luteolinowe, kampferolowe, kwercetynowe, arabinozyd kwercetyny, kwercetynę oraz trihydroksytrimetoksyflawon.

Tabela 2

Stopień słodkości stewii i jej glikozydów w odniesieniu do sacharozy.
Sweetness level of stevia and its glycosides in relation to sucrose.

Związek Compound	Potencjał słodzący w porównaniu do sacharozy Sweetening potential compared to sucrose
Stewiol	210 - 300
Stewiolbiozyd	114
Stewiozyd	200 - 450
Rebaudiozyd A	150 - 350
Rebaudiozyd B	30 - 120
Rebaudiozyd C	221 - 450
Rebaudiozyd D	150 - 300
Rebaudiozyd E	200
Rebaudiozyd F	30 - 120
Dulkozyd A	90 - 125

Źródło: / Source: [35].

Ważnymi związkami fitochemicznymi stewii są olejki eteryczne będące seskwiterpenami (δ -kariofilen, δ -farnezen, humulen, kandinen, nerolidol) oraz monoterenami (linalol, terpinen-4-ol, terpineol). W liściach oznaczono znaczną ilość tanin i alkaloidów, średnią zawartość glikozydów nasercowych i saponin oraz niewielkie ilości antrachinonów. Suchy ekstrakt z liści stewii zawiera ponadto rozpuszczalne w wodzie chlorofile i ksantofile oraz kwasy hydroksycynamonowe (kawowy i chlorogenowy) [1, 18, 20, 36].

Aktywność przeciwutleniająca

Aktywność przeciwutleniająca roślin uwarunkowana jest obecnością wielu składników, wśród których bardzo efektywnymi przeciwutleniaczami są związki polifenolowe [5, 11, 22, 34].

Według Tadhania i wsp. [36] całkowita zawartość związków polifenolowych w metanolowych ekstraktach liści stewii wynosi 25,18 mg/g, a flawonoidów – 21,73 mg/g. Muanda i wsp. [24] w ekstraktach wodnych i metanolowych stewii oznaczyli odpowiednio 20,85 mg/g polifenoli ogółem, w tym 20,68 mg /g flawonoidów, oraz 25,25 mg/g polifenoli, w tym flawonoidów – 23,46 mg/g. Najwięcej związków polifenolowych ogółem stwierdzili Shukla i wsp. [33] w etanolowym ekstrakcie liści stewii – 61,50 mg/g. Wszyscy wymienieni autorzy oznaczali zawartość polifenoli metodą Folina-Ciocalteu, a wyniki przeliczali na kwas galusowy.

Do oceny aktywności przeciwutleniającej wodnego, metanolowego i etanolowego ekstraktu liści stewii wykorzystano metodę FRAP (Ferrum Reducting Antioxidant Power) z żelazem oraz próbę z DPPH (1,1-dwufenylo-2-pikrylhydrazyl). Inhibicja rodnika DPPH w wodnym ekstrakcie liści stewii wynosiła 39,8 %, w metanolowym – 56,8 %, a w etanolowym – 68,7 %. Aktywność przeciwutleniająca wymienionych ekstraktów, oznaczona metodą FRAP, była zbliżona [33, 36].

Metabolizm stewiozydu

W układzie pokarmowym człowieka stewiozyd oraz rebaudiozyd A nie są hydrolyzowane przez enzymy trawienne. Glikozydy stewiolowe są natomiast hydrolyzowane w jelicie do stewiolu przy udziale mikroflory jelitowej, głównie mikroorganizmów z rodzaju *Bacteroides*. Produkt metabolizmu przedostaje się do krwi drogą dyfuzji prostej i transportu aktywnego. Stewiol nie jest magazynowany w organizmie. Po dostnym podaniu stewiozydu maksymalne stężenie we krwi stwierdzono po 8 h, zaś okres półtrwania wynosił 24 h. Po dożylnym podaniu stewiozydu, po 24 h wykryto znaczące ilości związku w wątrobie i nerkach, zaś niewielkie ilości w sercu, żołądku, jądrach i mięśniach. Akumulacja w jelitach jest największa po 10 min od iniekcji. Zaobserwowano znaczącą obecność (52 % dawki) w żółci po 120 min.

W wątrobie stewiol metabolizowany jest w pierwszej fazie przy udziale enzymów cytochromu P450 do składników, które nie zostały do końca zidentyfikowane. Wiadomo, że w drugiej fazie następuje dalsza koniugacja i sprzęganie do jego metabolitów. Stewiol usuwany jest szybko w postaci glukuronidów, zatem ekspozycja organizmu na ten związek jest krótka. Istnieje różnica w sekrecji metabolitu stewiolu u szczurów i u człowieka. U szczurów glukuronidy stewiolowe usuwane są przede wszystkim drogą żółciową i pojawiają się w kale. U ludzi natomiast dominuje wydalanie z moczem. Różnice spowodowane są wielkością progową masy cząsteczkowej wydzielanych substancji. Aniony organiczne o masie cząsteczkowej poniżej 325 Da w przypadku szczurów i mniejszej niż 500 - 600 Da u człowieka nie są transportowane przez wątrobę, lecz usuwane przez nerki. Glukuronid stewiolowy ma masę cząsteczkową 512,9 Da [6, 8, 28].

Efekty prozdrowotne stosowania stewii

Działanie hipoglikemiczne

W Ameryce Południowej ekstrakt liści stewii był od wieków stosowany w medycynie ludowej jako lek na cukrzycę. W badaniach *in vitro* oraz *in vivo* zarówno u zwierząt, jak i u ludzi wykazano, że stewiozyd i jego pochodne (stewiol i rebaudiozyd A) mają wpływ na zmiany poziomu glukozy w osoczu. W badaniach *in vitro*, z udziałem komórek jelita czczego, wykazano hamowanie wchłaniania glukozy w rąbku szczo-

teczkowym. Warto podkreślić, że działanie takie wykazywał tylko stewiol, będący metabolitem stewiozydu. Sam stewiozyd natomiast nie hamował wchłaniania glukozy do enterocytów [39]. Takie działanie stewioliu naukowcy tłumaczą jego pośrednim oddziaływaniem na enzym odpowiedzialny za transport aktywny cukrów prostych, czyli ATP-azę zależną od jonów sodu i potasu (pompę sodowo-potasową). Działanie Na^+/K^+ ATP-azy wymaga obecności cząsteczek ATP, stewiol natomiast redukuje ich ilość w nabłonku jelita cienkiego, przez co obniża aktywność enzymu na etapie fosforylacji [40].

Poza oddziaływaniem na wchłanianie jelitowe związki zawarte w stewii wpływają na syntezę glukozy w procesie glukoneogenezy. W 6-tygodniowym badaniu z udziałem dwóch grup szczurów, z indukowaną cukrzycą 1. i 2. typu, wykazano znaczny wzrost pierwszej fazy odpowiedzi insuliny, z towarzyszącą supresją sekrecji glukagonu i zmniejszeniem koncentracji glukozy krążącej we krwi. Wzrost wrażliwości na insulinę związany był z hamowaniem wątrobowej ekspresji karbokinazy fosfoenolopirogronianowej (PEPCK – PhosphoEtanolPyruvate Carboxy-Kinase) i glukoneogenezy oraz sprzężony ze stymulacją wątrobowej syntezy glikogenu. Stewiozyd ma zdolność do redukcji ilości wydzielanego glukagonu, prawdopodobnie przez wzmożoną ekspresję mRNA palmitylotransferazy karnityny, PPAR- α (receptor aktywowany proliferatorami peroksosomów) i desaturazy stearylo-CoA [38]. Dodatkowo zaobserwowano, że oprócz stewiozydu i stewioli, także izostewiol reguluje ekspresję genów kluczowych dla β -komórek, w tym czynniki transkrypcyjne regulujące sekrecję insuliny, przez co poprawia on homeostazę glukozową, zwiększa insulinowrażliwość, a nawet zmniejsza masę ciała myszy [25].

Wyniki badań nad wpływem stewiozydu na poziom glukozy we krwi pozwoliły na wysunięcie przypuszczenia o podobnym działaniu rebaudiozydu A, zwłaszcza, że te dwa związki różnią się między sobą tylko obecnością jednej reszty glukozowej. Traktowanie izolowanych komórek z trzustki szczura rebaudiozydem A skutkowało zwiększoną sekrecją insuliny [2]. Dzieje się tak wskutek zamykania kanałów potasowych zależnych od ATP (K_{ATP}), co pozwala komórkom β trzustki depolaryzować i aktywować kanały Ca^{2+} , co z kolei pobudza sekrecję insuliny. Wysoki poziom glukozy w osoczu i zewnątrzkomórkowych jonów wapnia skutkuje inhibicją K_{ATP} [8, 19].

Podobne, korzystne efekty zaobserwowano u ludzi. Przeprowadzono badanie z udziałem 12 kobiet i mężczyzn dotkniętych cukrzycą typu 2. U osób, którym podawano posiłek zawierający 1 g stewiozydu wykazano większe tłumienie poposiłkowego wzrostu stężenia glukozy we krwi i wzrost indeksu insulinowego. Wyniki pozwalają sądzić, że zastąpienie sacharozy liśćmi stewii, zawierającymi w składzie stewiozyd, może pozytywnie oddziaływać na metabolizm glukozy [14].

Działanie na drobnoustroje

Stewia wykazuje właściwości przeciwpróchnicze. Stewiozyd, w przeciwieństwie do sacharozy, nie sprzyja rozwojowi próchnicy u młodych szczurów. Na pożywce zawierającej stewiozyd następuje zahamowanie wzrostu *Streptococcus mutans*, głównego mikroorganizmu odpowiedzialnego za to schorzenie, i równoczesne zmniejszenie produkcji kwasu [38].

Ekstrakty *Stevia rebaudiana* są potencjalnym inhibitorem antyrotawirusów. Hamują replikację wszystkich czterech serotypów HRV (Human Rotavirus) *in vitro*. Wykazano, że blokują ich przyłączanie do komórki [19]. Odkryto silne właściwości bakteriobójcze przeciw szerokiej gamie bakterii chorobotwórczych. Jayaraman i wsp. [16] analizowali właściwości czterech ekstraktów liści stewii. Najbardziej efektywny w przypadku bakterii był ekstrakt acetonowy (zwłaszcza w odniesieniu do bakterii G+), następnie ekstrakt na bazie octanu etylu. Inhibicja dotyczyła *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Aeromonas hydrophila* oraz *Vibrio cholerae*. Ekstrakty: chloroformowy i wodny nie wykazywały właściwości bakteriobójczych. Dodatkowo stwierdzono, że oprócz właściwości antybakteryjnych, ekstrakty stewii wykazują działanie przeciwgrzybicze i hamują wzrost drożdży. Wspomniane efekty wykazywały wszystkie ekstrakty. Badania, w których analizowano ekstrakty stewii, wskazują na największą skuteczność ekstraktu metanolowego przeciw bakteriom i grzybom [1].

Działanie przeciwzapalne i immunologiczne

W etiologii stanów zapalnych i chorób nowotworowych, poza działaniem wolnych rodników, prawidłowe funkcjonowanie układu immunologicznego również ma istotny wpływ. Istnieją dowody, że stewiozyd wykazuje efekty przeciwzapalne *in vivo* i *in vitro*.

Zapalenie skóry zainicjowane lokalnie przez TPA (13-octan-12-O-tetradekanoilforbol), zostało zahamowane przez glikozydy stewiolowe. Jednocześnie stewiozyd zapobiegał rozwojowi nowotworów w komórkach skórnych ssaków. Izostewiol (produkt kwasowej hydrolizy stewiozydu) opóźnia wzrost trzech typów komórek nowotworowych. Odpowiada za inhibicję polimerazy DNA i topoizomerazy II [23, 41]. Boonkaewwan i wsp. [5] analizowali uwalnianie z ludzkiej komórki monocytarnej THP-1 (Human acute monocytic leukemia cell line) cytokin prozapalnych: TNF- α (Tumor Necrosis Factor – α , czynnik martwicy nowotworu) i IL-1 β (*Interleukina-1 β*) oraz tlenu azotu (humoralny mediator aterogenezy) w obecności LPS i stewiozydu. Autorzy ci wykazali, że stewiozyd umiarkowanie stymuluje uwalnianie TNF- α i IL-1 β w komórkach THP-1 hodowanych bez dodatku LPS poprzez interakcję z receptorem toll-like-4 (TLR), zasadniczym receptorem dla lipopolisacharydu (LPS) G-bakterii. Ten poziom stymulacji monocytów, skutkujący wzmocnieniem odporności wrodzonej,

świadczy o korzystnej roli stewiozydu. Z drugiej strony w komórkach THP-1, które hodowano w obecności LPS, ta sama koncentracja stewiozydu powodowała hamowanie wydzielania TNF- α , IL-1 β i tlenku azotu poprzez interakcję ze szlakiem sygnałowym NF- κ B. Czynnikiem jądrowym jest czynnikiem transkrypcyjnym, decydującym o ekspresji zapalnych cytokin. Działaniu stewiozydu nie towarzyszył żaden efekt toksyczny. W ten sposób w przypadku infekcji stewiozyd może być przydatny ze względu na zdolność zapobiegania niepożądanym efektom odpowiedzi zapalnej. Zaś u osób zdrowych korzyści związane z odpornością wynikają z poprawy aktywności monocytów [8]. Wykazano, że stewiol wywiera przeciwzapalny wpływ na komórki nabłonka okrężnicy – tłumi indukowane przez TNF- α uwalnianie IL-8. Redukuje także ekspresję NF- κ B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells), przez co reguluje reakcje zapalne kolonocytów [5].

W badaniach dotyczących działania immunomodulacyjnego wykazano, że stewiozyd stymuluje aktywność fagocytarną komórek B i T limfocytów, dlatego może być przydatny w promowaniu zapalenia przeciwko infekcjom z udziałem mikroorganizmów. Ponadto zwiększa hemaglutynację przeciwciał i opóźnia nadwrażliwość [31].

Działanie hipotensyjne

Badania na zwierzętach wykazują efekt wazorelaksacyjny stewiozydu. Rozszerzenie naczyń krwionośnych zaobserwowano u zwierząt z prawidłowym poziomem ciśnienia. Po dożylnym wprowadzeniu stewiozydu w dawce 100 mg/kg m.c. stężenie dopaniny, norepinefryny i epinefryny nie zmieniło się znacząco w ciągu 60 min. Zaobserwowano redukcję ciśnienia, bez zmian poziomu katecholamin w osoczu. Wstrzyknięcie dootrzewnowe stewiozydu w dawce 25 mg/kg m.c. wykazuje efekt antyhipertensyjny [7, 19].

Zaobserwowano również pozytywne działanie stewiozydu i ekstraktu stewii na regulację ciśnienia u ludzi. Analiza wykazała, że składniki pozyskane ze stewii powodują bradykardię i hipotensję. Wykazują efekt inotropowy i skracają okres skurczowy. Roczne badania 106 osób z nadciśnieniem, przyjmujących stewiozyd (750 mg/dobę) lub placebo, dowiodły, że osoby, które przyjmowały stewiozyd, wykazywały istotnie większy spadek ciśnienia skurczowego i rozkurczowego. Nie wykazano istotnych zmian we wskaźniku masowo-wzrostowym (BMI) oraz we wskaźnikach biochemicznych krwi. Podobne rezultaty otrzymano w dwuletnim badaniu osób ze średnim nadciśnieniem, którym podawano dwukrotnie większe dawki stewiozydu [8, 38].

Działanie hipotensyjne stewiozydu polega na wywołaniu akcji na dwóch ścieżkach: poprzez opory naczyniowe i zmiany w objętości plazmy. Pierwszy mechanizm dotyczy blokowania napływu jonów Ca²⁺ do komórek mięśni gładkich naczyń krwionośnych, co w konsekwencji prowadzi do rozszerzenia naczyń i do redukcji całkowitego oporu obwodowego. Drugi z kolei, poprzez wzmożoną diurezę i natiurezę

(wydalanie sodu z moczem), prowadzi do zmniejszenia objętości płynu zewnątrzkomórkowego. Skutkiem działania wspomnianych mechanizmów jest redukcja dwóch czynników, które determinują średnie ciśnienie tętnicze (MAP - Mean Arterial Pressure) [8].

Jednak znaczące działanie hipotensyjne stewiozydu obserwowane było jedynie u ludzi z nadciśnieniem. Stewiozyd nie wpływa na zmiany ciśnienia krwi u zdrowego człowieka. Długotrwałe doustne stosowanie stewiozydu jest dobrze tolerowane przez organizm i może stanowić alternatywę lub element terapii suplementacyjnej u osób z nadciśnieniem [12, 15].

Podsumowanie

W niniejszej pracy dokonano przeglądu wiedzy na temat prozdrowotnych właściwości *Stevia rebaudiana* Bertoni. Trudności w formułowaniu jednoznacznych wniosków wynikają z tego, że badania omawianej rośliny prowadzone są zarówno na ekstraktach z liści, jak i na suszonych liściach oraz wyizolowanym stewiozydzie (95 %). Wyniki badań dowodzą jednak, że roślina ta może wykazywać właściwości przeciwzapalne, hipoglikemiczne, hipotensyjne, modulujące procesy immunologiczne, przeciwnowotworowe i przeciwwirusowe.

Literatura

- [1] Abou-Arab E.A., Abu-Salem F.M.: Evaluation of bioactive compounds of *Stevia rebaudiana* leaves and callus. *Afr. J. Food Sci.*, 2010, **4** (10), 627-634.
- [2] Abudula R., Jeppesen P., Rolfsen S.: Rebaudioside A potently stimulated insulin secretion from isolated mouse islets: studies on the dose-, glucose – and calcium – dependency. *Metabolism*, 2004, **53** (10), 1378-1381.
- [3] Atta-ur-Rahman: *Studies in Natural Products Chemistry. Bioactive Natural Products (Part H)*. Elsevier, 2002, vol. **XXVII**, pp. 307-308.
- [4] Bondarev N.I., Sukhanova M.A., Reshetnyak O.V., Nosov A.M.: Steviol glycoside content in different organs of *Stevia rebaudiana* and its dynamics during ontogeny. *Biologia Plantarum*, 2003, **XXVII**, **2**, 261-264.
- [5] Boonkaewwan C., Toskulkao C., Vongsakul M.: Anti-inflammatory and immunomodulatory activities of stevioside and its metabolite steviol on THP-1 cells. *J. Agric. Food Chem.*, 2006, **54** (3), 785-789.
- [6] Carakostas M.C., Curry L.L., Boileau A.C., Brusick D.J.: Overview: The history, technical function and safety of rebaudioside A, a naturally occurring steviol glycoside, for use in food and beverages. *Food Chem. Toxicol.*, 2008, **46**, 1-10.
- [7] Chan P., Xu D.Y., Liu J.C., Chen Y.J., Tomlinson B., Huang W.P., Cheng J.T.: The effect of stevioside on blood pressure and plasma catecholamines in spontaneously hypertensive rats. *Life Sci.*, 1998, **63** (19), 1679-84.
- [8] Chatsudthipong V., Muanprasat C.: Stevioside and related compounds: therapeutic benefits beyond sweetness. *Pharmacol. Ther.*, 2009, **121**, 41-54.

- [9] Esmat Abou-Arab A., Azza Abou-Arab A., Ferial Abu-Salem M.: Physicochemical assessment of natural sweeteners steviol glycosides produced from *Stevia rebaudiana* Bert. plant. Afr. J. Food Sci., 2010, **4** (5), 269-281.
- [10] European Food Safety Authority: Scientific opinion on the safety of steviol glycosides for the proposed uses as a food additive. EFSA J., 2010, **8** (4), 1537.
- [11] Geuns, J.M.: Comments to the paper by Nunes et al.: Analysis of genotoxic potentiality of steviol glycosides by comet assay. Food Chem. Toxicol., 2007, **45**, 662-666. Food Chem. Toxicol., **45** (12), 2601-2602; author reply 2603-2604.
- [12] Genus J.: Steviol glycosides. Phytochemistry, 2003, **63**, 913-921.
- [13] Goyal S.K., Samsher, Goyal R.K.: *Stevia (Stevia rebaudiana)* a bio-sweetener: a review. Int. J. Food Sci. Nutr., 2010, **61** (1), 1-10.
- [14] Gregersen S., Jeppesen P.B., Holst J.J., Hermansen K.: Antihyperglycemic effects of steviol glycosides in type 2 diabetic subjects. Metabolism, 2004, **53**, 73-76.
- [15] Hsieh M.H., Chan P., Sue Y.M., Liu J.C., Liang T.H., Huang T.Y.: Efficacy and tolerability of oral steviol glycosides in patients with mild essential hypertension: a two-year, randomized, placebo-controlled study. Clin Ther., 2003, **25** (11), 2797-2808.
- [16] Jayaraman S., Manoharan M.S., Illanchezian S.: In vitro antimicrobial and anti-tumor activities of *Stevia rebaudiana* (Asteraceae) leaf extracts. Trop. J. Pharm. Res., 2008, **7** (4), 1143-1149.
- [17] Kaushik R., Pradeep N., Vamshi V., Geetha M., Usha A.: Nutrient composition of cultivated stevia leaves and the influence of polyphenols and plant pigments on sensory and antioxidant properties of leaf extracts. J. Food Sci. Technol., 2010, **47** (1), 27-33.
- [18] Lemus-Mondaca R., Vega-Galvez A., Zura-Bravo L., Ah-Hen K.: *Stevia rebaudiana* Bertroni, source of a high-potency natural sweetener. A comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. Food Chem., 2012, **132**, 1121-1132.
- [19] Mandan S., Ahmad S., Singh G.N., Kohli K., Kumar Y., Singh R., Garg M.: *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni – a review. Indian J. Nat. Prod. Resour., 2010, **1** (3), 267-286.
- [20] McGarvey Athula B. Attygalle, Alvin N. Starratt, Bosong Xiang, Frank C. Schroeder, James E. Brandle, Jerrold Meinwald: New non-glycosidic diterpenes from leaves of *Stevia rebaudiana*, J. Nat. Prod., 2003, **66**, 1395-1398.
- [21] Melis M.S., Rocha S.T., Augusto A.: Steviol effect, a glycoside of *Stevia rebaudiana* on glucose clearances in rats. Braz. J. Biol., 2009, **69** (2), 371-374.
- [22] Mishra P., Singh R., Kumar U., Prakash V.: *Stevia rebaudiana* – A magical sweetener. Global J. Biotechnol. Biochem., 2010, **5**, 62-74.
- [23] Mizushima Y., Akihisa T., Ukiya M., Hamasaki Y., Murakami-Nakai C., Kuriyama I.: Structural analysis of isosteviol and related compounds as DNA polymerase and DNA topoisomerase inhibitors. Life Sci., 2005, **77** (17), 2127-2140.
- [24] Muanda F.N., Soulimani R., Diop B., Dicko A.: Study on chemical composition and biological activities of essential oil and extracts from *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves. Food Sci. Technol., 2011, **44**, 1865-1872.
- [25] Nordentoft L., Jeppesen P.B., Hong J., Abudula R., Hermansen K.: Isosteviol increases insulin sensitivity and changes gene expression of key insulin regulatory genes and transcription factor in islets of the diabetic KKAY mouse. Diabetes Obes. Metab., 2008, **10**, 939-949.
- [26] Pól J., Hohnová B., Hyötyläinen T.: Characterisation of *Stevia rebaudiana* by comprehensive two-dimensional liquid chromatography time-of-flight mass spectrometry. J. Chromatogr. A, 2007, **1150**, 85-92.
- [27] Ramesh K., Singh V., Megeji N.W.: Cultivation of *Stevia [Stevia rebaudiana (Bert.) Bertroni]*: A comprehensive review. Advances in Agronomy, 2006, **89**, 137-177.

- [28] Roberts A., Renwick A.G.: Comparative toxicokinetics and metabolism of rebaudioside A, stevioside and steviol in rats. *Food Chem. Toxicol.*, 2008, **46**, 31-39.
- [29] Rozporządzenie Komisji (UE) nr 1131/2011 z dnia 11 listopada 2011 r. zmieniające załącznik II do Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1333/2008 w odniesieniu do glikozydów stewiolowych. D. Urz. UE L 295/205 z dnia 12 listopada 2011r.
- [30] Savita S.M., Sheela K., Sunanda S., Shankar A.G., Ramakrishna P.: *Stevia rebaudiana* – A functional component for food industry. *J. Hum. Ecol.*, 2004, **15** (4), 261-264.
- [31] Sehar I., Kaul A., Bani S., Pal H.C., Saxena A.K.: Immune up regulatory response of a non-caloric natural sweetener, stevioside. *Chem. Biol. Interact.*, 2008, **173**, 115-121.
- [32] Sharma N., Mogra R., Upadhyay B.: Effect of stevia extract intervention on lipid profile. *Ethno-Med.*, 2009, **3** (2), 137-140.
- [33] Shukla S., Mehta A., Bajpai V.K., Shukla S.: *In vitro* antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic leaf extract of *Stevia rebaudiana* Bert. *Food Chem. Toxicol.*, 2009, **47**, 2338-2343.
- [34] Stasiak A., Ulanowska A.: Aktywność przeciwutleniająca nowych odmian fasoli (*Phaseolus vulgaris* L.). *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **1** (56), 74-82.
- [35] Świąder K., Waszkiewicz-Robak B., Świdorski F.: Substancje intensywnie słodzące – korzyści i zagrożenia. *Probl. Hig. Epidemiol.*, 2011, **92** (3), 392-396.
- [36] Tachani M.B., Patel V.H., Subhash R.: *In vitro* antioxidant activities of *Stevia rebaudiana* leaves and callus. *J. Food Compost. Anal.*, 2007, **20**, 323-329.
- [37] Tadhani M.B., Subhash R.: Preliminary studies on *Stevia rebaudiana* leaves: proximal composition, mineral analysis and phytochemical screening. *J. Med. Sci.*, 2006, **6** (3), 321-326.
- [38] Thomas J.E., Glade M.J.: Stevia: it's not just about calories. *The Open Obesity Journal*, 2002, **2**, 101-109.
- [39] Toskulkao C., Sutheerwattananom M., Piyachaturawat P.: Inhibitory effect of steviol, a metabolite of stevioside, on glucose absorption in everted hamster intestine *in vitro*. *Toxicol Lett*, 1995, **80** (1-3), 153-159.
- [40] Toskulkao C., Sutheerwattananom M., Piyachaturawat P.: Effect of stevioside and steviol on intestinal glucose absorption in hamsters. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 1995, **41**(1), 105-113.
- [41] Yasukawa K., Kitanaka S., Seo S.: Inhibitory effect of stevioside on tumor promotion by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate in two-stage carcinogenesis in mouse skin. *Biol. Pharm. Bull.*, 2002, **25**, 1488-1490.

PROFILE AND PRO-HEALTH PROPERTIES OF *STEVIA REBAUDIANA* BERTONI

S u m m a r y

Stevia rebaudiana Bertoni of the *Asteraceae* family originates from Brazil and Paraguay. It sparked interest among the nutritionists owing to its two compounds: rebaudioside A and stevioside. The latter glycosides have strong sweetening properties that are up to 300 times stronger than those of sucrose. The plant is also characterized by a high antioxidant activity resulting, among other things, from a high content of poly-phenols. Extracts of the stevia leaves demonstrate beneficial health effects. It is connected with the specific activity of this plant that comprises its following properties: anti-inflammatory, anti-hyperglycaemic, anti-hypertensive, immune system processes modelling ability, anti-cariogenic, and antiviral.

Key words: *Stevia rebaudiana*, stevioside, low-calorie sweeteners, health benefits ☒

KRZYSZTOF KARPIESIUK, WOJCIECH KOZERA, DOROTA BUGNACKA,
JANUSZ FALKOWSKI

WPŁYW WARUNKÓW CHOWU TUCZNIKÓW NA JAKOŚĆ MIĘSA I PROFIL KWASÓW TŁUSZCZOWYCH W MIĘŚNIU NAJDŁUŻSZYM GRZBIETU

Streszczenie

Badano jakość mięsa tuczników utrzymywanych alkierzowo lub na wolnym wybiegu, w kojcach ściółkowych lub bezściółkowych i żywionych w okresie tuczu mieszanką pełnoporcjową lub mieszanką pełnoporcjową i, dodatkowo, zielonką z lucerny. Tuczniaki mieszańce [$\text{♀}(\text{♀polska biała zwisłoucha} \times \text{♂ wielka biała polska}) \times \text{♂}(\text{♀ pietrain} \times \text{♂ duroc})$] podzielono na 6 grup doświadczalnych po 15 sztuk w każdej. Z tusz tuczników pobrano próbki mięśnia najdłuższego grzbietu (*m. Longissimus dorsi*), w których oznaczono podstawowy skład chemiczny, właściwości fizykochemiczne, cechy sensoryczne i profil kwasów tłuszczowych. Najmniejszą zawartość tłuszczu surowego stwierdzono w mięsie pozyskanym z tuczników utrzymywanych na ściółce i żywionych paszą z dodatkiem zielonki z lucerny. Najwyższy poziom kwasów tłuszczowych jednonienasyconych (MUFA) stwierdzono w próbach mięsa pochodzących z tuczników utrzymywanych bezściółkowo i z dostępem do wybiegu, niezależnie od zastosowanego żywienia. Najmniej pożądanym zapachem i największą soczystością charakteryzowało się mięso pozyskane ze świń utrzymywanych na ściółce, żywionych mieszanką pełnoporcjową i dodatkowo zielonką. W warunkach przeprowadzonego i opisanego doświadczenia nie można jednoznacznie stwierdzić, który sposób żywienia i utrzymania tuczników wpłynął na istotną poprawę jakości pochodzącego z nich mięsa.

Słowa kluczowe: tuczniaki, warunki chowu, sposób utrzymania, żywienie, zielonka z lucerny, jakość mięsa, profil kwasów tłuszczowych

Wprowadzenie

W żywieniu świń poszukuje się rozwiązań polegających na wprowadzaniu do pasz dodatków, które mogą wpływać na poprawę cech smakowych i dietetycznych mięsa [5, 10]. Prowadzone prace hodowlane doprowadziły do znaczącego wzrostu mięsności tuczników, ale ze wzrastającą mięsnością świń nastąpiło znaczne pogorsze-

Dr inż. K. Karpiesiuk, dr hab. W. Kozera, dr inż. D. Bugnacka, prof. dr hab. J. Falkowski, Katedra Hodowli Trzody Chlewnej, Wydz. Bioinżynierii Zwierząt, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, ul. Oczapowskiego 5, 10-719 Olsztyn

nie jakości wieprzowiny, co związane jest z częstszym występowaniem wad mięsa po uboju. Migdał i wsp. [17] podają, że selekcja świń w kierunku jak największej mięsności doprowadziła do zmniejszenia zawartości nienasyconych kwasów tłuszczowych w tłuszczu zapasowym. Wiadomo jest też, że opłacalność produkcji świń zależy w głównej mierze od racjonalnego ich żywienia oraz zapewnienia zwierzętom optymalnych warunków utrzymania. Żywienie wpływa na wzrost i rozwój, stan zdrowotny, użytkowość rozrodczą i produkcyjność świń. Organizm obecnie chowanych świń ma zdolność do bardzo efektywnego odkładania białka podczas przyrostu dziennego. Po przekroczeniu 80 - 90 kg masy odkładanie białka w tkankach zmniejsza się, natomiast stopniowo wzrasta otłuszczenie tuszy. Można przeciwdziałać temu procesowi poprzez zastosowanie odpowiedniego sposobu żywienia świń.

Coraz większą wagę przywiązuje się do warunków środowiska, w jakich utrzymywane są zwierzęta. Prace badawcze mają na celu określenie efektywności tuczu świń metodami proekologicznymi z uwzględnieniem dobrostanu zwierząt [8, 9, 14]. W Polsce, ze względu na przyzwyczajenia kulinarne oraz stosunkowo wysoką opłacalność produkcji świń, wieprzowina stanowi podstawowy rodzaj spożywanego mięsa (rocznie ponad 40 kg na 1 mieszkańca przy 62 kg spożywanego mięsa ogółem) w porównaniu z innymi gatunkami zwierząt gospodarskich. Zmieniają się jednak upodobania konsumentów, którzy obecnie poszukują wieprzowiny chudej, delikatnej i coraz częściej pochodzącej z gospodarstw zapewniających zwierzętom warunki utrzymania poprawiające ich komfort bytowania (dobrostan).

Celem niniejszej pracy była ocena wpływu systemu utrzymania i zastosowanego sposobu żywienia na skład fizykochemiczny, właściwości sensoryczne oraz skład kwasów tłuszczowych mięśnia najdłuższego grzbietu świń.

Material i metody badań

Próbki mięsa do badań pobierano z 90 tuczników mieszańców pochodzących z krzyżowania czterorasowego prostego [♀ (♀ polska biała zwisloucha \times ♂ wielka biała polska) \times ♂ (♀ pietrain \times ♂ duroc)]. Zwierzęta do doświadczenia dobierano metodą analogów, biorąc pod uwagę: początkową masę ciała zwierząt, wiek oraz płć. Tuczniki dzielono na 6 grup doświadczalnych, po 15 sztuk w każdej, i umieszczano w kojcach (o wymiarach 7 m \times 4 m) zgodnie z układem:

- grupa 1 (kontrolna) – utrzymanie bezściołowe z dostępem do wybiegu,
- grupa 2 – utrzymanie alkierzowe w kojcu ściółowym,
- grupa 3 – utrzymanie alkierzowe w kojcu bezściołowym,
- grupa 4 – utrzymanie bezściołowe z dostępem do wybiegu, dodatek zielonki z lucerny w żywieniu;

- grupa 5 – utrzymanie alkierzowe w kojcu ściółowym, dodatek zielonki z lucerny w żywieniu,
- grupa 6 – utrzymanie alkierzowe w kojcu bezściółowym, dodatek zielonki z lucerny w żywieniu.

Zwierzęta dwóch grup doświadczalnych utrzymywanych w systemie wolno wybiegowym miały dostęp do wybiegów o powierzchni około 500 m². Świnie żywiono *ad libitum*, z autokarmników, zbożowo-sojową mieszanką pełnoporcjową, bilansowaną zgodnie z zaleceniami Norm żywienia świń [18], dotyczącymi wartości pokarmowej mieszanek przeznaczonych do tuczu jednofazowego. Tuczniki z grup doświadczalnych 4, 5 i 6 otrzymywały dodatkowo zielonkę z lucerny w ilości około 8 kg/dzień, jednorazowo zadawaną rano do koryt kamionkowych.

Ubój zwierząt i ocenę tusz przeprowadzano zgodnie z przepisami obowiązującymi w przemyśle mięsny. Na wiszących ciepłych półtuszach wykonywano pomiary zawartości mięsa za pomocą aparatu ultradźwiękowego SYDEL CGM. Przyjmowano podział tusz na klasy handlowe w zależności od procentowego udziału mięsa w tuszy wg systemu EUROP [26].

Do analizy fizykochemicznej pobierano fragment mięśnia najdłuższego grzbietu (*m. Longissimus dorsi*). Próbkę z mięśnia pobierano na wysokości 1 - 3 kręgu lędźwiowego. Pomiary pH₄₅ i pH₂₄ wykonywano pH-metrem firmy WTW 340, z użyciem elektrody szklanej-kombinowanej Hamilton-Double Pore. Barwę mięsa mierzono w systemie CIE L*a*b*. Pomiarów dokonywano na próbkach świeżych za pomocą spektrofotometru MiniScan XE Plus firmy HunterLab. W próbkach mięsa oznaczano zawartość: suchej masy [22], białka ogólnego – metodą Kjeldahla [20], tłuszczu surowego – metodą Soxhleta [22] i popiołu całkowitego [23]. Wodochłonność mięsa (zdolność utrzymania wody własnej) oznaczano metodą Grau'a i Hamma w modyfikacji Pohji i Niinivaary [24]. Oznaczano również profil kwasów tłuszczowych w lipidach mięśnia najdłuższego grzbietu za pomocą chromatografu gazowego Varian CP-3800. Warunki rozdziału kwasów tłuszczowych były następujące: kolumna kapilarna o długości 50 m, średnica wew. 0,25 mm, faza ciekła, CP-Sil 88, grubość filmu: 0,25 μm, detektor FID płomieniowo-jonizacyjny, temp. detektora: 250 °C, injector: 225 °C, kolumny: 50 °C → 200 °C, gaz nośny: hel o przepływie 1,2 ml/min, dozowanie w trybie split 50 : 1 (z podziałem strumienia gazowego).

Otrzymane wyniki analizowano statystycznie. Wykonywano dwuczynnikową analizę wariancji, a istotność różnic pomiędzy wartościami średnimi w badanych grupach określano za pomocą testu Duncana i weryfikowano na dwóch poziomach istotności: $p \leq 0,05$ i $p \leq 0,01$. Obliczenia wykonywano w programie Statistica PL 10.0.

Wyniki i dyskusja

W tab. 1. zamieszczono wyniki oceny fizykochemicznej mięsa tuczników doświadczalnych. Zawartość suchej masy wahała się od 24,9 % w grupie 2. do 25,9 % w grupie 6. Zaobserwowano statystycznie wysoko istotne ($p \leq 0,01$) różnice pod względem zawartości suchej masy pomiędzy grupą 2. (utrzymanie alkierzowe, w kojcu ściółowym) a grupą 6. (utrzymanie alkierzowe, w kojcu bezściółowym) oraz różnice istotne ($p \leq 0,05$) pomiędzy grupą 1. (kontrolna – utrzymanie bezściółowe, z dostępem do wybiegu) i 3. (utrzymanie alkierzowe, w kojcu bezściółowym) a grupą 2. Oznacza to, że mięso pochodzące z tuczników utrzymywanych ściółowo i żywionych wyłącznie mieszanką pełnoporcjową charakteryzowało się istotnie ($p \leq 0,05$) lub wysoko istotnie ($p \leq 0,01$) mniejszą zawartością suchej masy w porównaniu z mięsem tuczników utrzymywanych bezściółowo, niezależnie od sposobu ich żywienia. Zawartość białka ogólnego nie była zróżnicowana istotnie pomiędzy grupami i mieściła się w zakresie od 23,2 % w grupie 5., do 23,7 % w grupie 3. Poziom tłuszczu w mięsie wahał się od 1,17 % w grupie 5. do 1,82 % w grupie 1. (kontrolnej), a średnie te różniły się statystycznie istotnie na poziomie $p \leq 0,05$. Zależność dotycząca zawartości tłuszczu w mięsie uprawnia do stwierdzenia, że z tuczników utrzymywanych w systemie ściółowym i żywionych paszą z dodatkiem zielonki z lucerny uzyskuje się mięso o najlepszych walorach dietetycznych. Podobne tendencje, tzn. zmniejszanie zawartości tłuszczu w mięsie wraz ze wzrostem poziomu włókna surowego w paszy tuczników utrzymywanych na ściółce stwierdzono we wcześniejszej pracy tego samego zespołu naukowego [10, 15].

Różnice zawartości składników chemicznych w mięsie świń mogą zależeć m.in. od poziomu składników w paszy oraz od rodzaju zastosowanych dodatków np. rodzaju tłuszczu roślinnego lub zwierzęcego [11]. Johansson i wsp. [7], w badaniach nad wpływem genotypu i żywienia z dodatkiem kiszonki z koniczyny czerwonej na zawartość tłuszczu i skład kwasów tłuszczowych mięśnia najdłuższego grzbietu, otrzymali zbliżoną zawartość suchej masy (od 25,9 % w grupie tuczników żywionych kiszonką z koniczyny czerwonej do 26,2 % w grupie świń żywionych mieszanką pełnoporcjową), natomiast mniejszą zawartość białka (20,3 - 20,6 %), w porównaniu z wynikami badań własnych. Autorzy ci otrzymali większą, i potwierdzoną na poziomie wysoko istotnym ($p \leq 0,01$), zawartość tłuszczu (2,2 %) w mięsie pochodzącym ze świń żywionych standardowo, w porównaniu z zawartością tego składnika w mięsie świń żywionych dietą z dodatkiem paszy objętościowej (1,7 %).

Zawartość składników mineralnych oznaczonych w postaci popiołu (tab. 1) była najmniejsza w grupie 5. (0,89 %), największa zaś w grupie 1. (1,01 %). Różnice pomiędzy tymi grupami zostały potwierdzone statystycznie na poziomie wysoko istotnym ($p \leq 0,01$), z kolei różnice na poziomie istotnym ($p \leq 0,05$) stwierdzono pomiędzy grupami 4. i 5. a 1., 2. i 3. Oznacza to, że mięso tuczników żywionych wyłącznie mie-

szanką pełnoporcjową, niezależnie od systemu utrzymania, zawierało istotnie ($p \leq 0,05$) lub wysoko istotnie ($p \leq 0,01$) więcej związków mineralnych niż mięso świń żywno-nych paszą z dodatkiem zielonki. Kozera [14] badał wpływ zastosowanego sposobu utrzymania (alkierzowy lub wolno wybiegowy) i żywienia (mieszką pełnoporcjową

Tabela 1

Skład chemiczny i cechy fizykochemiczne mięsa (*m. Longissimus dorsi*) świń doświadczalnych.
Chemical composition and physicochemical properties of meat (*m. Longissimus dorsi*) of experimental pigs.

Wyszczególnienie Specification	Jednostka Unit of measure	Miara statystyczna Statistical measure	Grupa świń / Group of pigs					
			1	2	3	4	5	6
Sucha masa Dry matter	%	\bar{x} s / SD	25,5 ^a 0,59	24,9 ^{Bb} 0,47	25,6 ^a 0,51	25,4 0,95	25,4 0,38	25,9 ^A 0,42
Białko ogólne Total protein	%	\bar{x} s / SD	23,6 0,35	23,4 0,61	23,7 0,27	23,3 0,77	23,2 0,89	23,4 0,29
Tłuszcz surowy Crude fat	%	\bar{x} s / SD	1,82 ^a 0,83	1,22 0,45	1,69 0,52	1,41 0,56	1,17 ^b 0,46	1,75 0,63
Popiół surowy Crude ash	%	\bar{x} s / SD	1,01 ^{Aa} 0,06	0,97 ^a 0,07	0,98 ^a 0,05	0,96 0,08	0,89 ^{Bb} 0,06	0,92 ^b 0,08
pH ₄₅	1	\bar{x} s / SD	6,26 0,32	6,16 0,19	6,05 ^b 0,31	6,08 0,29	6,41 ^a 0,32	6,29 0,39
pH ₂₄	1	\bar{x} s / SD	5,48 0,06	5,45 0,06	5,46 0,05	5,46 0,04	5,42 0,05	5,45 0,07
Wodochłonność Water-holding capacity	cm ²	\bar{x} s / SD	6,93 0,77	7,11 1,16	7,17 0,88	7,63 0,91	7,34 1,02	7,50 0,84
Jasność barwy L* Colour Lightness L*	1	\bar{x} s / SD	56,9 3,15	55,3 ^b 2,27	58,3 2,23	59,4 ^a 4,82	57,4 3,10	57,7 4,77
Barwa a* Redness	1	\bar{x} s / SD	6,58 1,37	6,81 0,86	7,60 1,28	7,55 1,26	6,78 1,16	7,06 1,27
Barwa b* Yellowness	1	\bar{x} s / SD	14,42 1,19	13,97 0,82	15,17 1,19	15,11 1,25	14,80 1,20	14,71 0,88
Siła cięcia Shear force	N/cm ²	\bar{x} s / SD	33,72 4,33	34,32 6,77	35,29 6,28	34,00 5,82	35,52 8,08	36,44 5,71

Objaśnienia: / Explanatory notes:

a, b ($p \leq 0,05$) – różne litery oznaczają statystycznie istotne różnice / different letters denote statistically significant differences; A, B ($p \leq 0,01$) – różne litery oznaczają statystycznie wysoko istotne różnice / different letters denote statistically highly significant differences; w grupie $n = 15$ / $n = 15$ per group.

lub dodatkowo podawaną kiszonką) na wyniki tuczu, przejawy zachowań świń oraz ocenę poubojową pochodzących z nich tusz. Systemy utrzymania i żywienia zastosowane w badaniach tych autorów nie wpłynęły na zróżnicowanie większości wyników oceny poubojowej. Zaobserwowano jedynie tendencję do mniejszej zawartości tłuszczu w mięsie tuczników utrzymywanych wolno wybiegowo. Zawartość tego składnika w większości grup doświadczalnych była jednak większa, w porównaniu z wynikami uzyskanymi w badaniach własnych. Zawartość białka była natomiast o około 2,0 % mniejsza od wartości uzyskanych w badaniach własnych. We wszystkich grupach doświadczalnych świń, w cytowanych badaniach, uzyskano dobrą mięsność tusz (ok. 54,0 %). W badaniach własnych tusze zwierząt doświadczalnych charakteryzowały się bardzo dobrą mięsnością wynoszącą kolejno w grupach [%]: 55,2, 57,1, 55,6, 55,3, 56,1, 56,3, przy czym nie były one zróżnicowane istotnie statystycznie.

Kwasowość czynna pH_{45} mieściła się w zakresie od 5,80 do 6,70. Zgodnie z klasyfikacją zaproponowaną przez Pospiecha [25], większość badanych prób odpowiadała kwasowości mięsa normalnego (84 szt pH powyżej 5,80), a tylko u 6 sztuk stwierdzono mięso PSE (pH_{45} równe 5,80). W każdej z badanych grup zidentyfikowano zaledwie po jednej tuszy z wadą PSE. Wartości średnie (tab. 1) tego wskaźnika były zbliżone do stwierdzonych przez Śmiecińską i wsp. (6,29 - 6,40) [27] i nieznacznie wyższe od określonych w badaniach Falkowskiej i wsp. (5,94 - 6,03) [3]. Pomiar pH_{24} umożliwia z kolei stwierdzenie w mięsie obecności wady DFD. Jak podaje Kortz [13], mięso przyjmuje wówczas wartości na poziomie powyżej 6,2, a według Pospiecha [25] – powyżej 6,3. Otrzymane wyniki pomiaru pH_{24} wykluczyły występowanie mięsa DFD w tuszach tuczników doświadczalnych (pH_{24} wynosiło od 5,35 do 5,61 w badanych tuszach).

Wodochłonność mięsa (WHC) jest bardzo ważną cechą charakteryzującą przydatność technologiczną mięsa (zdolność tkanki mięśniowej do utrzymania wody własnej). Wskaźnikiem wodochłonności charakteryzującym straty masy mięsa podczas jego przechowywania i dystrybucji jest swobodny wyciek soku komórkowego. Problem mięsa ciekącego ma bardzo duże znaczenie dla przemysłu mięsnego, gdyż niska zdolność utrzymania wody przez mięso ogranicza możliwość uzyskania wysokiej wydajności produktu finalnego [19]. W przeprowadzonych badaniach własnych najwyższą zdolnością utrzymania wody własnej cechowało się mięso pochodzące z tuczników grupy 1. ($6,93 \text{ cm}^2$), natomiast najniższą – mięso z tuczników grupy 4. ($7,63 \text{ cm}^2$), żywionej mieszanką pełnoporcjową i dodatkowo zielonką z lucerny, utrzymywanej w kojcach bezściółowych, z dostępem do wybiegu (tab. 1). Kozera [14] stwierdził mniejszą wartość wskaźnika wodochłonności w mięsie tuczników wszystkich badanych grup doświadczalnych. Wskaźnik ten był najmniejszy w grupie utrzymywanej alkierzowo i otrzymującej dodatkowo sianokiszonkę z lucerny ($8,90 \text{ cm}^2$), największy zaś w grupie utrzymywanej alkierzowo i żywionej dodatkowo CCM (*Corn-Cob-Mix*) –

czyli kiszonką z kolb kukurydzy (8,44 cm²). We wcześniejszych badaniach własnych nad jakością mięsa w zależności od sposobu utrzymania i żywienia tuczników [10] uzyskano wartości wodochłonności na niższym poziomie (od 7,74 do 8,20 cm²).

Istotnym kryterium oceny jakości mięsa jest jego barwa, która z jednej strony decyduje o preferencjach konsumentów, a z drugiej wykazuje istotne korelacje z innymi cechami mięsa [12]. Barwa charakteryzowana jest przez trzy fizyczne parametry: dominującą długość fali, nasycenie oraz jasność. Barwa jest tym jaśniejsza, im mięso jest mniej wodochłonne i bardziej wodniste. Wynika to z jego struktury, która nie pozwala na wnikanie światła do głębszych warstw mięsa, wskutek czego odbicie powierzchniowe światła jest duże, a tym samym jasność barwy jest wysoka. Jasność barwy (L*) mięsa świń badanych w opisywanym doświadczeniu była dość wysoka. Jej wartość wahała się w granicach od 55,3 w grupie 2., do 59,4 w grupie 4., a różnice pomiędzy tymi grupami zostały potwierdzone statystycznie na poziomie istotnym ($p \leq 0,05$). Oznacza to, że mięso pochodzące ze świń żywionych wyłącznie mieszanką i utrzymywanych na ściółce miało istotnie ($p \leq 0,05$) mniejszą jasność barwy w porównaniu z mięsem tuczników utrzymywanych bezściółkowo z dostępem do wybiegu, i żywionych paszą z dodatkiem zielonki. Zbliżone wartości jasności barwy mięsa (L*) przedstawił Kozera [14], z tym że mięso tuczników utrzymywanych z dostępem do wybiegu było ciemniejsze (niższa wartość parametru L*). Wartość tego wskaźnika w cytowanych badaniach wahała się od 55,68 do 56,44 w doświadczeniu 1. i od 55,07 do 56,22 w doświadczeniu 2.

W przeprowadzonych badaniach własnych nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic pomiędzy grupami doświadczalnymi pod względem wielkości siły cięcia. Mięso tuczników utrzymywanych z dostępem do wybiegu okazało się bardziej miękkie. Podawane w różnych pracach eksperymentalnych wielkości i tendencje dotyczące tej cechy są znacznie zróżnicowane. W badaniach Lindhala i wsp. [16] siła cięcia była wyższa (tzn. mięso było twardsze) w przypadku mięsa świń utrzymywanych na wybiegu w porównaniu z utrzymywanymi alkierzowo. Odmienne wyniki przedstawili natomiast Beattie i wsp. [1].

Bardzo ważnym elementem oceny jakości mięsa jest jego ocena sensoryczna. Wyniki oceny cech sensorycznych mięsa tuczników uzyskane w doświadczeniu przedstawiono w tab. 2. Stwierdzono statystycznie potwierdzone różnice na poziomie istotnym ($p \leq 0,05$) i wysoko istotnym ($p \leq 0,01$) pomiędzy średnimi wartościami cech w grupach doświadczalnych, w zakresie pożądalności smaku i zapachu oraz soczystości mięsa. Podsumowując uzyskane wyniki można stwierdzić, że mięso pozyskane ze świń utrzymywanych ściółkowo i żywionych paszą z dodatkiem zielonki charakteryzowało się istotnie mniejszą ($p \leq 0,05$) pożądalnością zapachu w porównaniu z mięsem pochodzącym z tuczników utrzymywanych bezściółkowo i żywionych wyłącznie mieszanką pełnoporcjową lub mieszanką i dodatkowo zielonką. Jednocześnie mięso tych

zwierząt było wysoko istotnie ($p \leq 0,01$) bardziej soczyste, w porównaniu z mięsem pozyskanym z tuczników utrzymywanych ściółowo, i żywionych wyłącznie mieszanką pełnoporcjową. Z kolei z tuczników mających dostęp do wybiegów uzyskiwano mięso o istotnie niższej ($p \leq 0,05$) pożądalności smaku w porównaniu z mięsem uzyskanym ze świń żywionych paszą z dodatkiem zielonki i utrzymywanych bezściółowo. Wpływ systemu utrzymania na soczystość, kruchość i zapach mięsa był badany we wcześniejszych pracach różnych autorów [2, 14, 28]. W badaniach tych nie stwierdzono jednak istotnych różnic pod względem natężenia i pożądalności zapachu, kruchości i smaku mięsa pochodzącego ze świń utrzymywanych alkierzowo lub z dostępem do wybiegu.

Tabela 2

Właściwości sensoryczne mięsa (*m. Longissimus dorsi*) świń doświadczalnych.
Sensory properties of meat (*m. Longissimus dorsi*) of experimental pigs.

Wyszczególnienie Specification	Jednostka Unit of measure	Miara statystyczna Statistical measure	Grupa świń / Group of pigs					
			1	2	3	4	5	6
Zapach: Aroma: – natężenie / intensity – pożądalność / desirability	pkt points	\bar{x}	3,7	3,5	3,5	3,7	4,0	3,8
		s / SD	0,7	0,5	0,7	0,6	0,7	0,7
		\bar{x}	4,7	4,7	4,9 ^a	4,6	4,5 ^b	4,9 ^a
		s / SD	0,4	0,4	0,2	0,5	0,5	0,3
Kruchość Tenderness	Pkt points	\bar{x}	4,3	4,0	4,0	4,2	4,2	4,0
		s / SD	0,4	0,6	0,5	0,5	0,6	0,5
Soczystość Juiciness	Pkt points	\bar{x}	3,7 ^a	3,3 ^{Bb}	3,4	3,6	3,8 ^A	3,6
		s / SD	0,3	0,3	0,3	0,5	0,5	0,3
Smak: Palatability: – natężenie / intensity – pożądalność / desirability	Pkt points	\bar{x}	3,9	3,8	3,8	4,0	4,0	3,9
		s / SD	0,2	0,3	0,3	0,4	0,3	0,4
		\bar{x}	4,8	4,8	4,8	4,6 ^b	4,7	5,0 ^a
		s / SD	0,2	0,2	0,4	0,3	0,4	0,0

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

Zawartość tłuszczu i skład kwasów tłuszczowych zależą od gatunku zwierzęcia, lokalizacji wyrębów oraz żywienia [5]. W tab. 3. przedstawiono procentowy udział poszczególnych kwasów tłuszczowych w tłuszczu mięśnia najdłuższego grzbietu badanych tuczników. W grupie nasyconych kwasów tłuszczowych (SFA) w mięśniach pochodzących ze zwierząt wszystkich badanych grup oznaczono podobny poziom kwasów C10:0, C12:0, C14:0, C15:0, C16:0, C20:0 oraz C24:0. Istotną statystycznie

Tabela 3

Profil kwasów tłuszczowych lipidów mięśnia *m. Longissimus dorsi* świń doświadczalnych.
Fatty acid profile of lipids in *m. Longissimus dorsi* lipids of experimental pigs.

Kwasy tłuszczowe Fatty acids	Jednostka Unit of measure	Miara statystyczna Statistical measure	Grupa świń / Group of pigs					
			1	2	3	4	5	6
C10:0	%	\bar{x}	0,16	0,15	0,16	0,16	0,15	0,16
		s / SD	0,013	0,011	0,014	0,011	0,013	0,016
C12:0	%	\bar{x}	0,11	0,12	0,12	0,11	0,12	0,11
		s / SD	0,012	0,013	0,006	0,007	0,013	0,010
C14:0	%	\bar{x}	1,71	1,74	1,77	1,71	1,66	1,67
		s / SD	0,163	0,178	0,118	0,114	0,163	0,135
C14:1	%	\bar{x}	0,033	0,032	0,035 ^a	0,030	0,027 ^b	0,033
		s / SD	0,006	0,006	0,006	0,002	0,004	0,010
C15:0	%	\bar{x}	0,04	0,06	0,05	0,05	0,06	0,05
		s / SD	0,013	0,009	0,017	0,020	0,022	0,018
C16:0	%	\bar{x}	29,83	29,48	29,88	29,39	28,81	29,85
		s / SD	1,033	1,083	1,253	0,885	1,051	1,461
C16:1	%	\bar{x}	4,66 ^a	4,26	4,59	4,47	4,19 ^b	4,55
		s / SD	0,436	0,643	0,254	0,293	0,307	0,741
C17:0	%	\bar{x}	0,21	0,26	0,25	0,25	0,27	0,22
		s / SD	0,051	0,042	0,077	0,064	0,083	0,048
C17:1	%	\bar{x}	0,25	0,030	0,28	0,29	0,31	0,25
		s / SD	0,065	0,024	0,097	0,081	0,082	0,053
C18:0	%	\bar{x}	13,94	14,99 ^a	14,18	13,85 ^b	14,27	14,22
		s / SD	1,079	1,039	0,842	0,704	0,928	1,441
C18:1	%	\bar{x}	43,14	41,14 ^b	42,19	43,48 ^a	42,54	41,94
		s / SD	1,691	1,886	1,449	1,857	1,484	3,047
C18:2	%	\bar{x}	3,96	5,21	4,43	4,15	5,32	4,60
		s / SD	1,167	1,039	1,094	0,842	1,365	1,274
C18:3	%	\bar{x}	0,16 ^B	0,23	0,17 ^B	0,20 ^b	0,27 ^{Aa}	0,21
		s / SD	0,045	0,112	0,039	0,065	0,081	0,049
C20:0	%	\bar{x}	0,20	0,02	0,19	0,18	0,19	0,02
		s / SD	0,026	0,033	0,022	0,025	0,039	0,022
C20:1	%	\bar{x}	0,83	0,77	0,78	0,82	0,78	0,83
		s / SD	0,095	0,079	0,059	0,086	0,085	0,125
C20:2	%	\bar{x}	0,14 ^b	0,17	0,14 ^b	0,14 ^b	0,18 ^a	0,17
		s / SD	0,038	0,033	0,044	0,029	0,041	0,049
C20:4	%	\bar{x}	0,49 ^b	0,74 ^a	0,65	0,60	0,75 ^a	0,80 ^a
		s / SD	0,179	0,244	0,229	0,190	0,231	0,319
C22:0	%	\bar{x}	0,11	0,12	0,10	0,09	0,13	0,10
		s / SD	0,044	0,040	0,033	0,025	0,055	0,058
SFA SFAs	%	\bar{x}	46,33	47,14	46,71	45,80	45,67	46,59
		s / SD	1,845	2,037	1,958	1,642	1,750	2,457
MUFA MUFAs	%	\bar{x}	48,91 ^a	46,51 ^b	47,88	49,10 ^a	47,79	47,62
		s / SD	1,881	1,953	1,442	1,848	1,595	3,164
PUFA PUFAs	%	\bar{x}	4,76	6,35	5,40	5,09	6,53	5,78
		s / SD	1,396	1,359	1,390	1,075	1,635	1,619

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

różnicę ($p \leq 0,05$) stwierdzono natomiast w odniesieniu do poziomu kwasu stearynowego (C18:0) pomiędzy grupą 2. a grupą 4. Różnice statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) wystąpiły także w zakresie zawartości kwasów jednonienasyconych: tetradecenowego (C14:1), palmitooleinowego (C16:1) i oleinowego (C18:1) oraz kwasów wielonienasyconych: (C18:3), (C20:2), (C20:4). Zaobserwowano wysoko istotną różnicę ($p \leq 0,01$) pod względem zawartości kwasu linolenowego pomiędzy grupą utrzymywaną systemem alkierzowym i żywioną dodatkowo zielonką z lucerny a grupą utrzymywaną alkierzowo w kojcu bezściółowym i żywioną wyłącznie mieszanką pełnoporcjową. Stwierdzono również istotne różnice ($p \leq 0,05$) zawartości jednonienasyconych kwasów tłuszczowych

(MUFA) pomiędzy grupami 1. i 4. a grupą 2. Wyższy poziom kwasów jednonienasyconych (MUFA) i wielonienasyconych (PUFA) oznaczyli Grela i Kowalczyk [5], stosując w żywieniu zwierząt doświadczalnych dwa rodzaje pasz (grupa 1. - żywiona paszami pochodzącymi z produkcji konwencjonalnej, grupa 2. - żywiona paszami pochodzącymi z produkcji ekologicznej). Powszechnie znana jest zależność, że im większa zawartość MUFA w mięsie, tym lepsza jest jego wartość odżywcza w diecie człowieka [dane WHO, cyt. za: Warnants i wsp. [29]. Oprócz genotypu i płci największy wpływ na profil kwasów tłuszczowych w mięśniach tuczników ma żywienie, a w szczególności ilość i rodzaj tłuszczów podawanych w mieszankach paszowych [3, 6, 11]. Wprowadzenie oleju sojowego do diet tuczników w badaniach Falkowskiej i wsp. [3] spowodowało istotne zwiększenie udziału kwasu linolenowego w tłuszczu *m. Longissimus dorsi*.

Wnioski

1. Mięso pochodzące ze świń wszystkich badanych grup charakteryzowało się odpowiednią jakością oraz przydatnością do konsumpcji i przetwórstwa.
2. Mięso pochodzące ze świń żywionych mieszanką pełnoporcjową i dodatkowo zielonką z lucerny oraz utrzymywanych w systemie ściółowym charakteryzowało się mniejszą pożądalnością zapachu, ale jednocześnie większą soczystością.
3. Ze świń utrzymywanych bezściółowo i z dostępem do wybiegu, niezależnie od sposobu żywienia, uzyskiwano mięso o istotnie większej ($p \leq 0,05$) zawartości kwasów tłuszczowych jednonienasyconych (MUFA) w stosunku do mięsa świń żywionych standardową mieszanką pełnoporcjową i utrzymywanych na ściółce.
4. Ze względu na pewną niejednoznaczność wyników, w odniesieniu do oddziaływania zastosowanych czynników doświadczanych na produktywność tuczników, wydaje się konieczne prowadzenie dalszych prac eksperymentalnych nad wpływem systemu utrzymania i zastosowanego żywienia na jakość mięsa.

Praca została wykonana w ramach projektu badawczego nr N N311 2472 33.

Literatura


- [1] Beattie V.E., O'Connel N.E., Moss B.W.: Influence of environmental enrichment on the behavior, performance and meat quality of domestic pigs. *Livest. Prod. Sci.*, 2000, **1 (65)**, 71-79.
- [2] Carrapiso A.I., Bonilla F., Garcia C.: Effect of crossbreeding and rearing system on sensory characteristics of Iberian ham. *Meat Sci.*, 2003, **1 (65)**, 623-629.
- [3] Falkowska A., Bugnacka D., Kozera W., Falkowski J.: Fattening results of finishing pigs fed second-stage diets with a high content of oat bran and soybean oil. *Pol. J. Natur. Sci.*, 2010, **4 (25)**, 341-351.
- [4] Gentry J.G., McGlone J.J., Miller M.F., Blanton Jr. J.R.: Diverse birth and rearing environment effects on pig growth and meat quality. *J. Anim. Sci.*, 2002, **80**, 1707-1715.
- [5] Grela E.R., Kowalczyk E.: Zawartość składników odżywczych i profil kwasów tłuszczowych mięsa i wybranych wędlin z ekologicznej produkcji świń. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, **4 (65)**, 34-40.
- [6] Grześkowiak E., Borzuta K., Borys A., Grześkiewicz S., Strzelecki J.: Skład kwasów tłuszczowych mięśni *longissimus dorsi* i *biceps femoris* świń PUŁ × PBZ oraz NAİMA × P-76 z gospodarstw chłopskich. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **3 (44) Supl.**, 48-52.
- [7] Johansson L., Lundström K., Jonsäll A.: Effects of RN genotype and silage feed on fat content and fatty acid composition of fresh and cooked pork loin. *Meat Sci.*, 2002, **1 (60)**, 17-24.
- [8] Karpiesiuk K., Falkowski J.: Effect of the feeding and housing system on pig fattening results. *Pol. J. Natur. Sci.*, 2008, **4 (23)**, 769-778.
- [9] Karpiesiuk K., Falkowski J.: Reakcja tuczników na zróżnicowane warunki chowu. *Rocz. Nauk. PTZ*, 2008 **4 (4)**, 65-75.
- [10] Karpiesiuk K., Falkowski J.: The effect of feeding and housing conditions of growing-finishing pigs on pork quality. *Pol. J. Natur. Sci.*, 2009, **4 (24)**, 198-206.
- [11] Kołacz R., Korniewicz A., Dobrzański Z., Bykowski P., Kołacz D., Korniewicz D.: Effect of dietary fish and rapeseed oils on sensory and physicochemical characteristics of pigs M. *Longissimus dorsi* and fatty acid composition. *J. Anim. Feed Sci.* 2004, **1 (13)**, 143-152.
- [12] Kortz J., Kapelański W., Grajewska S., Kurył J., Bocian M., Rybarczyk A.: Meat quantity to meat quality relations when the RYR1 gene effect is eliminated. In: *Quality of meat and fat in pigs as affected by genetics and nutrition*. Eds. C. Wenk, J.A. Fernandez, M. Dupuis, 2000, Proc. 51st EAAP (100), pp. 143-146.
- [13] Kortz J.: The chief defects of meat and methods of detection. *Pol. J. Food Nutr. Sc.*, 2001, **10 (51), S, 1(3)**, 5-10.
- [14] Kozera W.: Efektywność tuczu i zachowanie się tuczników w zależności od systemu utrzymania i żywienia. Rozprawa hab. nr 128, Wyd. UWM, Olsztyn 2007, ss. 1-89.
- [15] Kozera W., Falkowski J., Bugnacka D., Falkowska A.: Fattening results of crossbred (Polish Landrace × Pietrain) pigs fed diets with a high whet straw content. *Pol. J. Natur. Sci.*, 2006, **20 (1)**, 193-203.
- [16] Lindhal G., Claudi-Magnussen C., Heyer A., Lundstrom K.: Effects of breed and strategic feeding on pork tenderness evaluated with instrumental and sensory analyses. *Int. Congress of Meat Science and Technology*, Helsinki. 2004. Dostępny w Internecie: <http://www.danskeslaugterier.dk> [Dostęp:16-02-2012].
- [17] Migdał W., Koziec K., Koczanowski J., Tuz R., Borowiec F., Furgał K., Gardzińska A.: Cechy tkankowe tuczników mieszańców. *Med. Wet.*, 1999, **6 (55)**, 403-407.
- [18] Normy Żywienia Świń. Omnitech Press, Warszawa 1993.

- [19] Otto G., Roehe R., Looft H., Thoelking L., Kalm E.: Comparison of different methods for determination of drip loss and their relationships to meat quality and carcass characteristics in pigs. *Meat Sci.*, 2004, **3 (68)**, 401-409.
- [20] PN-75/A-04018/Az3:2002. Produkty rolniczo-żywnościowe. Oznaczanie azotu metodą Kjeldahla i przeliczanie na białko.
- [21] PN-ISO 1442:2000. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczenie zawartości wody (metoda odwoławcza).
- [22] PN-ISO 1444:2000. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczenie zawartości tłuszczu wolnego.
- [23] PN-ISO 936:2000. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczenie popiołu całkowitego.
- [24] Pohja N.S., Niinivaara F.P.: Die Bestimmung der Wasserbindung des Fleisches mittels der Konstantdruckmethode. *Fleischwirtschaft*, 1957, **9**, 193-195.
- [25] Pospiech E.: Diagnostowanie odchyleń jakości mięsa. *Gosp. Mięś.* 2000, **4**, 68-71.
- [26] Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1249/2008 z dnia 10 grudnia 2008 roku ustanawiające szczegółowe zasady wdrażania wspólnotowych skal klasyfikacji tusz wołowych, wieprzowych i baranich oraz raportowania ich cen. *Dz. Urz. UE L 337 z 16.12.2008*.
- [27] Śmiecińska K., Denaburski J., Sobotka W.: Slaughter value, meat quality, creatine kinase activity and cortisol levels in the blood serum of growing-finishing pigs slaughtered immediately after transport and after transport and after a rest period. *Pol. J. Vet. Sci.*, 2011, **1 (14)**, 47-54.
- [28] Ventanas S., Ventanas J., Ruiz J.: Sensory characteristics of Iberian dry-cured loins: Influence of crossbreeding and rearing system. *Meat Sci.*, 2007, **2 (75)**, 211-219.
- [29] Warnants N., van Oeckel M.J., Boucque Ch.: Incorporation of dietary polyunsaturated fatty acid in pork tissues and its implications for the quality of the end products. *Meat Sci.*, 1996, **1-2 (44)**, 125-144.

EFFECT OF REARING SYSTEM CONDITIONS OF FATTENERS ON MEAT QUALITY AND PROFILE OF FATTY ACIDS IN *M. LONGISSIMUS DORSI*

Summary

Analyzed was the meat quality of fatteners, which were reared indoor or outdoor, in bedded or non-bedded pens, and fed a complete feed mixture or a complete feed mixture and, additionally, a green forage of alfalfa. The crossbred fatteners [$\text{♀}(\text{♀ PL} \times \text{♂ PLW}) \times \text{♂}(\text{♀ Pietrain} \times \text{♂ Duroc})$] were divided into six experimental groups, 15 pigs in each group. Samples of *m. Longissimus dorsi* were collected from the fattener carcasses and in the samples determined were the basic chemical composition, physicochemical and sensory properties, and fatty acid profile. The lowest level of crude fat was found in the meat samples derived from the fatteners reared indoor in bedded pens and fed a fodder with green forage of alfalfa added. The highest level of monounsaturated fatty acids (MUFA) was obtained in the meat samples derived from the fatteners kept outdoor, without bedding, regardless of the feeding type applied. The meat derived from the fatteners kept in bedded pens, fed a complete feed mixture and, additionally, green forage of alfalfa was characterized by the least desirable aroma and the best juiciness. Under the particular conditions of the experiment accomplished, it was impossible to clearly and precisely determine what methods of feeding and rearing the fatteners impacted the significant improvement of the quality of meat thereof.

Key words: fatteners, rearing system conditions, housing system, feeding, green forage of alfalfa, meat quality, fatty acid profile 

ZENON NOGALSKI, PAULINA POGORZELSKA-PRZYBYŁEK,
ZOFIA WIELGOSZ-GROTH, MONIKA SOBCZUK-SZUL, CEZARY PURWIN,
RAFAŁ WINARSKI, JACEK NIEDŹWIEŻ

WARTOŚĆ RZEŻNA WOLCÓW MIESZAŃCÓW MIĘSNYCH W ZALEŻNOŚCI OD INTENSYWNOŚCI OPASU I WIEKU ZWIERZĄT W MOMENCIE UBOJU

Streszczenie

Wolce, w porównaniu z buhajkami, wolniej przyrastają i gorzej wykorzystują pasze, ale ich mięso zawiera więcej tłuszczu śródmięśniowego, jest jaśniejsze, bardziej kruche i charakteryzuje się większą wodochłonnością.

Celem podjętych badań było określenie wpływu intensywności opasu oraz wieku zwierząt w momencie uboju na wartość rzeźną wolców mieszańców mięsnych uzyskanych z krzyżowania krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej z buhajami rasy limousine. Wolce opasano intensywnie do wieku 15 lub 18 miesięcy i półintensywnie do wieku 18 lub 21 miesięcy. Najcenniejsze tusze uzyskano z wolców opasanych intensywnie do wieku 18 miesięcy. Charakteryzowały się one najwyższą masą tuszy (321,1 kg) i dobrym jej uformowaniem (klasa R systemu EUROP) oraz największą masą pięciu najcenniejszych wyrębów (104,69 kg). Mięso tych zwierząt zawierało najwięcej tłuszczu śródmięśniowego (4,71 %), co odpowiada zmieniającym się preferencjom konsumentów. Ponadto wykazano, że opas wolców do wieku 21 miesięcy wiąże się ze wzrostem otluszczenia tusz i znaczącym zmniejszeniem udziału najcenniejszych wyrębów w tuszy.

Słowa kluczowe: bydło mięsne, klasyfikacja EUROP, wyręby wartościowe tuszy, dysekcja, jakość mięsa

Wprowadzenie

Spośród różnych ras bydła kierowanych do opasu tylko bydło mięsne i jego mieszańce pozwalają uzyskać zadowalające efekty produkcyjne i wołowinę kulinarną spełniającą wymogi konsumentów [11]. Zwiększenie ilości i poprawę jakości produ-

Dr hab. Z. Nogalski, mgr inż. P. Pogorzelska-Przybyłek, dr hab. Z. Wielgosz-Groth, dr inż. M. Sobczuk-Szul, Katedra Hodowli Bydła i Oceny Mleka, dr hab. C. Purwin, Katedra Żywności Zwierząt i Paszoznawstwa, dr inż. R. Winarski, Katedra Towaroznawstwa i Przetwórstwa Surowców Zwierzęcych, mgr inż. J. Niedźwiedź, Katedra Technologii i Chemii Mięsa, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, ul. M. Oczapowskiego 5, 10-719 Olsztyn

kowanej wołowiny można uzyskać drogą krzyżowania towarowego krów ras mlecznych z buhajami mięsnymi oraz przez tworzenie stad bydła użytkowanego wyłącznie w kierunku mięsnym. Potomstwo otrzymane w wyniku krzyżowania towarowego cechuje się większą zdolnością opasową i wyższą wartością rzeźną [9]. O wartości rzeźnej bydła oraz jakości tuszy świadczy udział elementów o wyższej wartości handlowej [15]. Tusze lepiej ocenione w klasyfikacji EUROP charakteryzują się wyższą masą pięciu podstawowych wyrębów [1]. Udział najcenniejszych wyrębów w tuszy w dużym stopniu decyduje o jej wartości rzeźnej.

W grupie młodego bydła rzeźnego opasowi poddaje się głównie buhajki i jałówki, rzadziej wolce. Kastracja zmniejsza agresywność i aktywność seksualną poprzez obniżenie poziomu testosteronu, co jest szczególnie ważne w okresie przed ubojem, gdyż ogranicza wyczerpanie zasobów energetycznych, niezbędnych do obniżenia pH mięśni [13]. W krajach specjalizujących się w produkcji wołowiny kulinarnej mięso pochodzące z walców jest cenionym produktem sprzedawanym za wysoką cenę na rynkach specjalistycznych oraz do restauracji [17].

Celem przeprowadzonych badań było wskazanie optymalnego w polskich warunkach wieku walców, mieszańców mięsnych uzyskanych z krzyżowania krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej z buhajami rasy limousin, w momencie uboju, z uwzględnieniem różnej intensywności opasu zwierząt.

Material i metody badań

Badania prowadzono w latach 2010 - 2012. Materiał doświadczalny stanowiło 48 walców mieszańców mięsnych, pochodzących z krzyżowania krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej z buhajami rasy limousine. Cielęta o znanym pochodzeniu skupiono w wieku 2 - 3 tygodni i umieszczono w wychowalni cieląt w gospodarstwie doświadczalnym ZPD Bałcyny. Bezpośrednio po zakupie buhajki kastrowano metodą bezkrwawą poprzez założenie gumowej opaski. Zwierzęta karmiono preparatem mlekozastępczym, sianem, mieszanką treściwą i, w późniejszym okresie odchowu, sianokiszonką. W wieku 6 miesięcy wolce kierowano do opasu, który prowadzono na dwóch poziomach intensywności żywienia: system intensywny zakładał przyrosty dobowe na poziomie >1000 g, a półintensywny: 800 - 900 g. W obu systemach stosowano do woli kiszonkę z traw przewiedniętych (I pokos) oraz dodatek mieszanki treściwej (śruta poekstrakcyjna rzepakowa, śruta z pszenżyta i dodatek mineralny). Udział mieszanek w dawkach obliczano na podstawie gęstości energetycznej dawki (GED) zalecanej w systemie wartościowania i żywienia INRA 1993 [4], według modeli przewidzianych dla walców ras mięsnych lub mieszańców towarowych. Średnia wartość pokarmowa 1 kg SM pobieranych dawek wynosiła: w opasie intensywnym 1,05 JPŻ i 166 g białka ogólnego, w opasie półintensywnym: 0,98 JPŻ i 161 g białka ogólnego. W opasie intensywnym wolce kierowano do uboju kontrolnego w wieku 15 i 18 miesięcy, nato-

miast w półintensywnym – w wieku 18 i 21 miesięcy. Po transporcie do oddalonej o 90 km ubojni zwierzęta umieszczano w magazynie żywca z dostępem do wody. Po dobowej głodówce i ważeniu wolce ubijano zgodnie z technologią obowiązującą w przemyśle mięsnym. Określano masę tuszy, pH_{45} (bezpośrednio po uboju), a następnie dzielono na półtusze (cięcie przez środek kręgow, ogon przy prawej półtuszy). Ważono półtusze i obliczano wydajność rzeźną (stosunek masy tuszy do masy zwierzęcia przed ubojem, wyrażony w procentach). Po 48-godzinnym chłodzeniu w temp. 4 °C określano pH_{48} . Tusze pod względem umięśnienia i otluszczenia oceniano metodą EUROP. Po 96 h od uboju z prawych półtuszy pobierano odcinki 3-żebrowe (10 - 12 żebro), wykonując 2 cięcia prostopadłe do kręgosłupa przez całą półtuszę pomiędzy kręgami piersiowymi: 9 - 10 i 12 - 13, a następnie półtusze poddawano rozbirowi na wyręby zgodnie z Polską Normą [10]. Ważono poszczególne elementy i obliczano procentowy udział łopatki, rozbratla, antrykotu, rostbefu i udźca (5 najcenniejszych wyrębów) z prawej półtuszy. Wyręby 3-żebrowe poddawano dysekcji, określając w nich procentowy udział tkanek miękkich (mięso, tłuszcz, ścięgna) i kości. Materiał badawczy do oznaczeń składu podstawowego stanowił mięsień najdłuższy grzbietu odcinka piersiowo-lędźwiowego (*m. Longissimus thoracis et lumborum*). Mięsień wycinano z prawej półtuszy 48 h *post mortem*, pakowano próżniowo i przewożono do laboratorium. Próby o masie 600 g wstępnie rozdrabniano w wilku, stosując siatkę o średnicy oczek równą 3 mm, a następnie homogenizowano. Do analiz podstawowego składu chemicznego używano analizatora podczerwieni „FoodCheck” (22FC906080), wykonując każdorazowo trzy powtórzenia.

Wpływ wieku wolców w momencie uboju w obrębie rodzajów opasu na cechy określające wartość rzeźną oceniono, stosując jednoczynnikową analizę wariancji w układzie nieortogonalnym na poziomie istotności $p = 0,05$ i $p = 0,01$. Wyniki opracowano statystycznie w programie Statistica 10.0 (Statsoft) [12].

Lokalana Komisja Etyczna do spraw doświadczeń na zwierzętach w Olsztynie uchwałą nr 121/2010 wyraziła zgodę na przeprowadzenie ww. doświadczenia.

Wyniki i dyskusja

Zwierzęta ubijane w wieku 18 miesięcy uzyskały średnią masę ciała 586,4 kg (opasane intensywnie) i 492,70 kg (opasane półintensywnie) (tab.1). Zgodnie z oczekiwaniami, w obrębie jednego rodzaju opasu wolce starsze w momencie uboju miały istotnie większą masę ($p \leq 0,01$) od zwierząt młodszych.

Półintensywne żywienie wpłynęło dodatnio na wartość wskaźnika wydajności rzeźnej. Analiza wydajności rzeźnej zwierząt w obrębie rodzajów opasu nie wykazała istotnych różnic pomiędzy zwierzętami ubijanymi w różnym wieku i przy różnej masie ciała. Nie potwierdzono wyników badań Velik i wsp. [16], którzy uzyskiwali istotnie większą wydajność przy wyższej końcowej masie ciała. Wartości wskaźnika wydajno-

ści rzeźnej mieszańców mięsnych w badaniach własnych (54,46 – 55,34 %) były niższe w porównaniu z wynikami badań Młynka i Gulińskiego [7] – 58,3 %.

Tabela 1

Wybrane parametry tusz wołców.
Selected parameters of steer carcasses.

Wyszczególnienie Specification	Rodzaj opasu / Type of fattening					
	intensywny / intensive $\bar{x} \pm s / SD$			półintensywny / semi-intensive $\bar{x} \pm s / SD$		
Wiek wołców w momencie uboju [mies.] Steer age at slaughtering [months]	15	18	Różnica Difference	18	21	Różnica Difference
Liczba [szt] Number [pieces]	14	13		11	10	
Masa ciała przed ubojem [kg] Body weight prior to slaughter [kg]	455,5 $\pm 11,17$	586,4 $\pm 9,58$	**	492,7 $\pm 22,56$	578,7 $\pm 27,97$	**
Masa tuszy [kg] Carcass weight [kg]	247,9 $\pm 6,14$	321,1 $\pm 6,75$	**	267,6 $\pm 12,41$	319,1 $\pm 6,91$	**
Wydajność rzeźna [%] Dressing percentage	54,46 $\pm 0,47$	54,85 $\pm 0,58$	-	55,34 $\pm 0,64$	55,03 $\pm 0,71$	-
Uformowanie tusz [pkt] Carcass conformation score [pts]	9,21 $\pm 0,41$	8,15 $\pm 0,25$	*	9,18 $\pm 0,58$	8,25 $\pm 1,16$	-
Otłuszczenie tusz [pkt] Carcass fatness score [pts]	5,36 $\pm 0,37$	8,15 $\pm 0,27$	**	5,73 $\pm 0,83$	7,95 $\pm 0,86$	-

Objaśnienia: / Explanatory notes:

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

Uformowanie w systemie EUROP: 1 – E+, 15 – P- / EUROP conformation: 1 – E+, 15 – P-; stopień okrywy tłuszczowej w systemie EUROP: 1 – 1- (od braku okrywy do niewielkiej okrywy tłuszczowej), 15 – 5+ (bardzo duża okrywa tłuszczowa) / EUROP degree of fat cover: 1 – 1- (non up to low fat cover), 15 – 5+ (very high)

* – różnica statystycznie istotna na poziomie $p \leq 0,05$ / statistically significant difference at $p \leq 0,05$;

** – różnica statystycznie istotna na poziomie $p \leq 0,01$ / statistically significant difference at $p \leq 0,01$.

Podwyższenie wieku ubijanych wołców korzystnie wpłynęło na wyniki oceny uformowania tusz. Wolce opasane intensywnie, ubijane w wieku 18 miesięcy, uzyskały korzystny wynik oceny uformowania tusz, średnio wynoszący 8,15 pkt (w skali 15-punktowej), co odpowiadało klasie R systemu EUROP. Ocena ta była istotnie ($p \leq 0,05$) wyższa w porównaniu z oceną wołców ubijanych w 15. miesiącu życia. Do wyższych klas uformowania zaliczono tusze wołców o większej masie. Podobne za-

leżności wykazali Młynek i wsp. [6] po stwierdzeniu, że tusze zwierząt ubijanych powyżej 500. dnia życia charakteryzowały się nie tylko wyższą masą (251,8 – 349,5 kg), ale i korzystniejszą oceną EUROP. Wiek uboju zwierząt oraz intensywność ich żywienia różnicowały wyniki klasyfikacji otluszczenia tusz. Starsze wolce w momencie uboju dostarczyły tusz bardziej otluszczonych – w obrębie intensywnego systemu żywienia różnice potwierdzono statystycznie ($p \leq 0,01$). Tusze wolców ubijanych w wieku 21 miesięcy, pochodzących z żywienia półintensywnego, uzyskały 7,95 pkt w ocenie otluszczenia, a z żywienia intensywnego 8,15 pkt, co odpowiada klasie 3- otluszczenia według systemu EUROP.

Wiek w momencie uboju wpłynął istotnie na masę 5 najcenniejszych wyrębów w półtuszy (tab. 2). Wolce żywione intensywnie i ubijane w wieku 18 miesięcy w porównaniu z wolcami żywionymi półintensywnie miały o 15,37 kg większą masę 5 najcenniejszych wyrębów, jednak ich udział procentowy w całej półtuszy był niższy o ponad jedną jednostkę. Na uwagę zasługuje wysoki udział udźca w półtuszy wolców mieszańców mięsnych. Zawierał się on w zakresie od 33,65 % (opas półintensywny do 21 mies.) do 37,44 % (opas półintensywny do 18 mies.). Litwińczuk i wsp. [5] stwierdzili mniejszy jego udział w tuszach czystorasowych buhajków limousin. W badaniach własnych udział udźca w tuszach zwierząt młodszych z opasu półintensywnego był statystycznie istotnie wyższy (o 3,79 %) w porównaniu z tym samym wyrębem zwierząt starszych, opasanych identycznie.

Ważnym czynnikiem decydującym o jakości tuszy wołowej jest jej skład tkankowy (tab. 3). Najbardziej pożądane są tusze o maksymalnym udziale tkanki mięśniowej, minimalnym udziale kości i optymalnym udziale tłuszczu. Wysoko istotne różnice pod względem procentowego udziału mięsa i tłuszczu w odcinku 3-żebrowym wolców opasanych półintensywnie są analogiczne z wynikami oceny poubojowej tuszy w systemie EUROP (tab. 1). Wiek uboju i związana z nim masa ciała wpłynęły głównie na otluszczenie opasanych zwierząt, istotnie w grupie zwierząt opasanych intensywnie i wysoko istotnie w grupie opasanej systemem półintensywnym. W badaniach Stehena i Kilpatricka [14] stwierdzono, że późniejszy termin uboju wpływa na zwiększenie udziału tłuszczu w tuszy, szczególnie jałówek i wolców, natomiast w mniejszym stopniu dotyczy to buhajków. Uzyskane w badaniach własnych zmniejszenie udziału kości w wyrębie 3-żebrowym zwierząt starszych (18 miesięcy w systemie intensywnym i 21 miesięcy w systemie półintensywnym), to głównie wynik zwiększającego się z wiekiem odkładania tkanki tłuszczowej w tuszy.

Tabela 2

Udział poszczególnych wyrębów w prawych półtuszach wołców.
Per cent content of individual cuts from the right half carcasses of steers.

Wyszczególnienie Specification	Rodzaj opasu / Type of fattening					
	intensywny / intensive $\bar{x} \pm s / SD$			półintensywny / semi-intensive $\bar{x} \pm s / SD$		
Wiek wołców w momencie uboju [mies.] Steer age at slaughtering [months]	15	18	Różnica Difference	18	21	Różnica Difference
Masa półtuszy zimnej [kg] Weight of cold half carcass [kg]	120,63 ± 2,98	158,02 ± 3,40	**	132,95 ± 5,89	152,07 ± 7,45	**
Udział w półtuszy: [%] Per cent content in half carcass [%]:						
łopatka shoulder	16,77 ± 0,27	16,17 ± 0,21	-	16,21 ± 0,41	16,91 ± 0,41	-
rozbratel fore ribs	3,15 ± 0,26	4,27 ± 0,30	*	2,92±0,31	3,19 ± 0,25	-
rostbef rump cut	5,59 ± 0,13	5,46 ± 0,18	-	5,45 ± 0,14	5,62 ± 0,13	-
antrykot prime rib	6,02 ± 0,57	5,13 ± 0,44	-	5,26 ± 0,38	5,45 ± 0,04	-
udziec rump	34,92 ± 0,51	34,87 ± 0,73	-	37,44 ± 0,94	33,65 ± 0,76	*
Masa 5 najcenniejszych wyrębów [kg] Weight of 5 most valuable cuts from half carcass [kg]	79,89 ± 1,86	104,69 ± 3,28	**	89,32 ± 3,81	98,42 ± 4,76	*
Udział procentowy 5 najcenniejszych wyrębów w półtuszy [%] Per cent content of 5 most valuable cuts in half carcass [%]	66,20 ± 0,54	66,13 ± 0,82	-	67,27 ± 0,83	64,82 ± 0,95	*

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

Znaczący wpływ na jakość mięsa ma stopień jego zakwaszenia po 48 h od uboju [2]. W badaniach własnych mięso wołców niezależnie od systemu opasu i wieku zwierząt w chwili uboju uzyskało prawidłowe pH_{48} w granicach 5,51 - 5,55 (tab. 4). Jednym z argumentów przemawiających za kastracją buhajków jest występujące słabe zakwaszenie mięsa tych zwierząt. We wcześniejszych badaniach [8] obserwowano wysokie wartości pH mięsa z buhajków ras mięsno-mlecznych, a rzadziej mieszańców mięsnych, charakteryzujące surowiec o cechach DFD (*dark, firm, dry*).

Tabela 3

Skład tkankowy wyrębu 3-żebrowego (10 – 12 żebro).
Tissue composition of 3-rib cut (10th – 12th rib).

Wyszczególnienie Specification	Rodzaj opasu / Type of fattening					
	intensywny / intensive $\bar{x} \pm s / SD$			półintensywny / semi-intensive $\bar{x} \pm s / SD$		
Wiek wołców w momencie uboju [mies.] Steer age at slaughtering [months]	15	18	Różnica Difference	18	21	Różnica Difference
Masa wyrębu 3-żebrowego [kg] Weight of 3-rib cut [kg]	7,11 ± 0,29	9,89 ± 0,29	**	7,49 ± 0,43	9,92 ± 0,65	**
Udział w wyrębie 3-żebrowym [%]: Per cent content in 3-rib cut [%]:						
mięso meat	51,07 ± 1,20	48,42 ± 0,78		50,88 ± 2,03	44,88 ± 1,60	**
tłuszcz fat	24,22 ± 1,39	29,81 ± 1,27	*	24,28 ± 2,24	34,41 ± 1,96	**
ścięgna tendons	5,02 ± 0,51	5,35 ± 0,56		4,48 ± 0,68	3,07 ± 0,33	
kości bones	18,37 ± 0,74	15,52 ± 0,36	*	19,52 ± 0,97	17,03 ± 0,83	*

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

Po analizie wyników oznaczeń składu podstawowego mięśnia najdłuższego grzbietu stwierdzono różnicujący wpływ wieku zwierząt w momencie uboju i w mniejszym stopniu systemu opasu na badane cechy. Mięso wołców ubijanych w późniejszym wieku zawierało więcej tłuszczu niezależnie od intensywności żywienia. W systemie półintensywnym różnice między cechami mięsa były statystycznie istotne ($p \leq 0,05$). Potwierdzono tezę o zazwyczaj większej zawartości białka w wołowinie pozyskiwanej z bydła charakteryzującego się zarówno wyższą masą ciała, jak i tuszy [3]. Litwińczuk i wsp. [5] w mięsie buhajków rasy limousine i holsztyńsko-fryzyjskiej stwierdzili większy udział białka o ponad 1 % i dwukrotnie mniejszy udział tłuszczu w porównaniu z wynikami badań własnych. Mięso wołców w porównaniu z nadmier- nie przetłuszczonym mięsem wcześniej dojrzewających jałówek oraz mięsem buhajków zawierającym zbyt mało tłuszczu [5] charakteryzowało się optymalną jakością.

Tabela 4

Wartość pH i skład chemiczny mięśnia najdłuższego grzbietu wołców.
pH value and chemical composition of *m. Longissimus thoracis et lumborum* in steers.

Wyszczególnienie Specification	Rodzaj opasu Type of fattening					
	intensywny intensive $\bar{x} \pm s / SD$			półintensywny semi-intensive $\bar{x} \pm s / SD$		
Wiek wołców w momencie uboju [mies.] Steer age at slaughtering [months]	15	18	Różnica Difference	18	21	Różnica Difference
pH ₄₅	6,74 ± 0,04	6,64 ± 0,07	-	6,68 ± 0,09	6,87 ± 0,06	-
pH ₄₈	5,55 ± 0,06	5,51 ± 0,02	-	5,53 ± 0,06	5,51 ± 0,10	-
Białko [%] Total protein [%]	21,19 ± 0,41	21,66 ± 0,37	-	21,28 ± 0,34	21,8 ± 0,28	-
Tłuszcz [%] Fat [%]	4,47 ± 0,27	4,71 ± 0,18	-	3,61 ± 0,17	4,33 ± 0,16	*
Sucha masa [%] Dry matter [%]	26,61 ± 0,18	27,41 ± 0,21	**	25,86 ± 0,18	27,20 ± 0,16	**
Popiół [%] Ash [%]	0,95 ± 0,02	1,04 ± 0,02	**	0,97 ± 0,03	1,05 ± 0,02	**

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

Research was realized within the project „Optimizing of beef production in Poland according to fork-to farm strategy” No. PO IG 01.03.01-00-204 co-financed by the European Union from the European Regional Development Fund within the Innovative Economy Operational Programme 2007-2013.

Wnioski

1. Najwyższą wartością rzeźną charakteryzowały się wolce opasane intensywnie do wieku 18 miesięcy. Ich tusze miały największą masę, były najwyższej sklasyfikowane pod względem uformowania, a mięso zawierało najwięcej tłuszczu śródmięśniowego, co odpowiada zmieniającym się preferencjom konsumentów.
2. Prowadzenie opasu wołców do wieku 21 miesięcy wiązało się ze wzrostem otluszczenia tusz oraz znaczącym zmniejszeniem udziału najcenniejszych wyrębów w tuszy.

Literatura


- [1] Choroszy B., Choroszy Z., Topolski P.: Analiza składu tkankowego tusz buhajków rasy simentalskiej w zależności od uzyskanej klasy umięśnienia w systemie EUROP. Roczn. Nauk. Zoot., 2009, **36** (1), 17-23.
- [2] Filipčík R., Šubrt J., Bjelka M.: The factors influencing beef quality in bulls, heifers and steers. Slovak J. Anim. Sci., 2009, **42**, 54-61.
- [3] Hoch T., Jurie C., Pradel P., Cassar-Malek I., Jailler R., Picard B., Agabriel J.: Effects of hay quality on intake, growth path, body composition and muscle characteristics of Salers heifers. Anim. Res., 2005, **54**, 241-257.
- [4] INRA. Normy Żywienia Bydła, Owiec i Kóz – wartość pokarmowa pasz dla przeżuwaczy. Opracowanie według INRA. IZ, Kraków 1993.
- [5] Litwińczuk Z., Chabuz W., Domaradzki P., Jankowski P.: Slaughter value of young polish black-and-white, white-backed, polish Holstein-Friesian and Limousin bulls under semi-intensive fattening. Ann. Anim. Sci., 2012, **12** (2), 159-168.
- [6] Młynek K., Elminowska-Wenda G., Guliński P.: The relationship between microstructure of *Longissimus lumborum* muscle and carcass quality of bulls slaughtered at three ages. Anim. Sci. Pap. Rep., 2006, **24** (1), 57-63.
- [7] Młynek K., Guliński P.: The effect of growth rate and age at slaughter on dressing percentage and colour, pH48 and microstructure of *longissimus dorsi* muscle in Black-and-White (BW) bulls vs. commercial crossbreds of BW with beef breeds. Anim. Sci. Pap. Rep., 2007, **25** (2), 65-71.
- [8] Nogalski Z., Kijak Z.: Wpływ krzyżowania bydła czarno-białego z rasą limousine na zdolność opasową i wartość rzeźną mieszańców. Roczn. Nauk. Zoot., 1998, **25** (3), 23-34.
- [9] Nogalski Z., Kijak Z.: Fattening performance and slaughter value of the offspring of Black and White cows and Welsh Black bulls. Czech J. Anim. Sci., 2001, **46** (2), 68-73.
- [10] PN-88/A-82003. Wołowina. Części zasadnicze.
- [11] Sakowski T., Dasiewicz K., Słowiński M., Oprządek J., Dymnicki E., Wiśnioch A., Słoniewski K.: Jakość mięsa buhajków ras mięsnych. Med. Wet., 2001, **57** (10), 748-757.
- [12] Statsoft Inc. 2010. STATISTICA (data analysis software system), Version 10.0. www.statsoft.com
- [13] Steen R.W.J.: The effect of plane of nutrition and slaughter weight on growth and food efficiency in bulls, steers and heifers of three breed crosses. Livest. Prod. Sci., 1995, **(42)**, 1-11.
- [14] Steen R.W.J., Kilpatrick D.J.: Effects of plane nutrition and slaughter weight on the carcass composition of serially slaughtered bulls, steers and heifers of three breed crosses. Livest. Prod. Sci., 1995, **(43)**, 205-213.
- [15] Śmiecińska K., Wajda S.: Jakość mięsa tusz wołowych zaliczonych w klasyfikacji poubojowej EUROP do różnych klas. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2008, **3** (58), 57-66.
- [16] Velik M., Steinwider A., Frickh J.J., Ibi G., Kolbe-Romer A.: Einfluss von Rationsgestaltung, Geschlecht und Genetik auf Schlachtleistung und Fleischqualität von Jungrindern aus der Mutterkuhhaltung. Züchtungskunde, 2008, **80** (5), 378-388.
- [17] Vieira C., Cerdeño A., Serrano E., Lavín P., Mantecón A.R.: Breed and ageing extent on carcass and meat quality of beef from adult steers (oxen). Livestock Science, 2007, **107**, 62-69.

SLAUGHTER VALUE OF CROSSBRED BEEF STEERS AS DEPENDING ON FATTENING INTENSITY AND SLAUGHTER AGE OF ANIMALS

S u m m a r y

Steers, in comparison with bulls, grow slower and poorer covert feed, but their meat contains more intramuscular fat and its colour is lighter; it is more tender and characterized by a higher water-holding capacity.

The objective of this research study was to determine the effect of fattening system and age at slaughter on the slaughter value of 46 crossbred beef steers produced by mating Polish Holstein-Friesian cows with Limousine bulls. The steers were fattened intensively to the age of 15 or 18 months, and semi-intensively to the age of 18 or 21 months. The most valuable carcasses were produced from steers fattened intensively to the age of 18 months. They were characterized by the highest weight (321.1 kg), the best conformation (R class in the EUROP system), and the highest weight of their five most valuable cuts (104.69 kg). The meat of those animals had the highest intramuscular fat content (4.71%), and this fact meets the changing preferences of consumers. In addition, it was proved that the fattening of the steers to the age of 21 months was associated with an increase in the carcass fatness and with a significant decrease in the per cent content of the most valuable cuts from carcass.

Key words: beef cattle, EUROP classification system, valuable cuts, dissection, meat quality 

PIOTR SZYMAŃSKI, DANUTA KOŁOŻYŃ-KRAJEWSKA

OCENA MOŻLIWOŚCI ZASTOSOWANIA SZCZEPU BAKTERII *STAPHYLOCOCCUS CARNOSUS* ATCC-51365 W PROCESIE PEKLOWANIA MIĘSA

Streszczenie

Celem pracy było zbadanie wpływu wybranych warunków i oddziaływania substancji dodatkowych stosowanych w produkcji farszów mięsnych na aktywność bakterii denitryfikujących *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 oraz określenie możliwości zastosowania tego szczepu do poprawy efektywności peklowania mięsa za pomocą azotanów(III). Badania przeprowadzono w układzie modelowym, który stanowiło płynne podłoże białkowe TSB. Stwierdzono, że szczep bakterii denitryfikujących *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 wykazuje aktywność w szerokim zakresie temperatury (15 - 40 °C) i jest zdolny przeprowadzić redukcję azotanów (V) i (III). Chlorek sodu i wielofosforany działają hamująco na wzrost i aktywność badanego szczepu bakterii oraz wpływają istotnie na obniżenie szybkości redukcji azotanów (V) i (III). Szybkość działania szczepu *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 w zakresie redukcji azotanów(V) wydaje się wystarczająca przy zastosowaniu odpowiednio wysokiej liczby komórek bakterii (10^7 jtk/g). Szczep bakterii *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 charakteryzuje się właściwościami biochemicznymi, które wskazują na możliwość jego zastosowania w procesie peklowania mięsa azotanem(III). Praktyczne zastosowanie bakterii denitryfikujących do produkcji wędlin parzonych wymaga przeprowadzenia dalszych badań, m.in. w zakresie wpływu bakterii na trwałość barwy wyrobu i zdrowotność (pozostałość resztkowych azotanów III i V) produktu gotowego.

Słowa kluczowe: mięso, peklowanie, bakterie denitryfikujące

Wprowadzenie

Podstawową reakcją w procesie peklowania, w wyniku której powstaje charakterystyczna barwa mięsa, jest powstawanie nitrozylomioglobiny. Jednym z etapów jej tworzenia są reakcje prowadzące do powstania tlenku azotu z dodanych azotanów(III) [6]. Podczas peklowania azotany(III) biorą udział w wielu konkurencyjnych reakcjach

Mgr inż. P. Szymański, Oddział Technologii Mięsa i Tłuszczu, Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego, ul. Jubilerska 4, 04-190 Warszawa, prof. dr hab. D. Kołożyn-Krajewska, Katedra Technologii Żywności i Higieny Produkcji, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa

w mięsie [6, 14, 15]. Cassens i wsp. [2, 3] dowiedli, że 1 - 10 % azotanów(III) dodanych do mięsa przekształca się w azotany(V). Honikel [7], na podstawie badań przeprowadzonych przez Dedererra dotyczących pozostałości azotanów (III) i (V) w wybranych produktach mięsnych wyprodukowanych w Niemczech w latach 2003 – 2005, stwierdził, że ilość azotanów(III) przekształcających się w azotany(V) podczas peklowania może być większa i wynosić 10 - 40 %. Nie jest do końca wyjaśnione, w wyniku jakich reakcji chemicznych w produktach peklowanych azotanami(III) tworzą się często znaczne ilości azotanów(V). Wiadomo natomiast, że ogólny bilans azotanów(III) dodanych do mięsa podczas peklowania może być różny i zależny od wielu czynników tj. właściwości biochemicznych poszczególnych mięśni, warunków przeprowadzanego procesu technologicznego, mikroflory mięsa czy zastosowania substancji wspomagających ten proces [1, 2, 3, 6].

W skład mikroflory mięsa mogą wchodzić różne szczepy bakterii, w tym bakterie denitryfikujące, które przedostają się do mięsa podczas uboju zwierząt i rozbioru tusz. Poprawa poziomu higieny w halach produkcyjnych, jak również stosowana w nich niska temperatura, wpływają korzystnie na jakość zdrowotną surowca, ale równocześnie są przyczyną ograniczenia występowania i rozwoju pożytecznej mikroflory występującej w mięsie [13]. Nadmierna „jałowość” surowca mięsnego, a tym samym potencjalnie odmienne właściwości biochemiczne farszów mogą przyczynić się do zmiany przebiegu reakcji chemicznych zachodzących w mięsie podczas peklowania. Sytuacja ta ma miejsce szczególnie w przypadku produktów peklowanych przy użyciu azotanów(III) i poddanych obróbce cieplnej, gdyż proces ich produkcji jest stosunkowo krótki i może być niewystarczający do odpowiedniego namnożenia się mikroflory mięsa. Wskazywać na to może stosunkowo duża zawartość azotanów(V) w rynkowych produktach mięsnych, peklowanych ww. sposobem [16]. W tej grupie wędlin obserwuje się również wzrost częstotliwości występowania niestabilności barwy. Jest to problem sygnalizowany przez technologów z dużych zakładów mięsnych w Polsce. Można przypuszczać, że ograniczenie podczas peklowania mięsa dostępnego azotanu(III), spowodowane utlenianiem go do azotanu(V), może mieć istotny wpływ na efektywność procesu i stabilność barwy produktu mięsnego poddanego obróbce cieplnej.

Staphylococcus należy do grupy bakterii denitryfikujących. Poszczególne gatunki i szczepy tych bakterii należące do tego samego gatunku, ale wyizolowane z różnych środowisk, w których naturalnie występują, mogą charakteryzować się różnymi właściwościami biochemicznymi: różną aktywnością enzymów reduktazy azotanowej(V) i azotanowej(III), zdolnością do fermentowania cukrów i wytwarzania kwasu mlekowego, tolerancją wobec temperatury czy niektórych substancji dodatkowych stosowanych w produkcji żywności [4, 8, 9, 17].

Celem pracy było zbadanie wpływu wybranych warunków i oddziaływania substancji dodatkowych stosowanych w produkcji farszów mięsnych na aktywność bakte-

rii denitryfikujących *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 oraz określenie możliwości zastosowania tego szczepu do poprawy efektywności peklowania mięsa za pomocą azotanów(III).

Material i metody badań

Badania prowadzono w układzie modelowym, który stanowiło płynne podłoże białkowe TSB (Difco, USA, $\text{pH}_{\text{podłoża}} = 7,30 \pm 0,20$). W pracy zastosowano szczep bakterii denitryfikujących *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 (The American Type Culture Collection) wyizolowany z kielbasy suszonej, wytwarzający enzym, reduktazę azotanową(V). Przed każdym doświadczeniem kultura bakteryjna była rozmnażana na płynnym podłożu TSB w ciągu 20 h, w temp. 30 °C. Do poszczególnych doświadczeń pobierano określoną ilość kultury z trzeciego pasażu.

Badano wpływ *S. carnosus* ATCC-51365 na efektywność redukcji azotanu(V) sodu w określonych warunkach (czas, temperatura, liczba początkowa bakterii). Jako substancje dodatkowe zastosowano chlorek sodu i wielofosforany.

Wpływ temperatury określano w doświadczeniu, w którym do probówek z 9 ml podłoża TSB wprowadzano 10^6 jtk/g *S. carnosus* ATCC 51365 oraz azotan(V) sodu w ilości 100 mg/l. Ilość azotanu(V) sodu ustalono na podstawie badań wstępnych [16]. Następnie próbki inkubowano w temp. 4 - 45 °C w ciągu 20 h.

Wpływ czasu inkubacji i początkowej liczby bakterii określano w doświadczeniu, w którym do probówek z 9 ml podłoża TSB wprowadzano 10^6 jtk/g lub 10^7 jtk/g *S. carnosus* ATCC-51365 oraz azotan(V) sodu (100 mg/l), a następnie inkubowano od 0 do 20 h w temp. 30 °C, uznanej we wcześniejszych badaniach za optymalną do redukcji azotanów przez bakterie.

Wpływ chlorku sodu określano w doświadczeniu, w którym użyto podłoża TSB o trzech zawartościach NaCl: 0,5 % (normalna zawartość NaCl w podłożu TSB), 2,0 i 3,0 %. Do probówek z 9 ml każdego podłoża wprowadzano azotan(V) sodu (100 mg/l) oraz bakterie *S. carnosus* ATCC-51365 w ilości 10^7 jtk/g, określonej we wcześniejszych badaniach. Próbki inkubowano od 0 do 20 h w temp. 30 °C.

Wpływ wielofosforanów określano w doświadczeniu, w którym do podłoża TSB o zawartości 2,0 % NaCl (poziom soli normalnie stosowany w produkcji wędlin parzonych) wprowadzano trifosforan sodu (Tari-31) na poziomie odpowiadającym średniej zawartości naturalnego fosforu w mięsie chudym [20] oraz dodatkowo ilość fosforu odpowiadającą fosforowi dodawanemu do wędlin, na trzech różnych poziomach: 0, 1,5, 3,0 g P_2O_5 /l. W efekcie całkowita zawartość fosforu w środowisku modelowym kształtowała się, w zależności od wariantu, na poziomie: 1,2, 4,9, 6,4 g P_2O_5 /l. Do 9 ml takiego podłoża wprowadzano azotan(V) sodu (100 mg/l) oraz bakterie *S. carnosus* ATCC-51365 w ilości 10^7 jtk/g. Probówki inkubowano od 0 do 20 h w temp. 30 °C.

W każdym z wyżej opisanych doświadczeń przed i po inkubacji wykonywano oznaczenia zawartości azotanów(V) i azotanów(III), początkowej liczby bakterii, pH i potencjału redox. Badania wykonano w trzech równoległych powtórzeniach. Warianty kontrolne nie zawierały dodatku bakterii.

W pracy zastosowano następujące metody analityczne: oznaczenie azotanów (III) i (V) zgodnie z PN-EN ISO [11] z modyfikacją [20], oznaczenie liczby bakterii *Staphylococcus carnosus* metodą płytkową, pomiar potencjału redox i pH (aparat Metter Delta 350 z elektrodą InLab Redox Pro i elektrodą szklano-kalomelową do pomiaru pH).

Do statystycznego opracowania wyników użyto programu Statgraphics Plus 4.1. Przeprowadzono jednoczynnikową analizę wariancji, a istotność różnic między wartościami średnimi analizowano testem Fishera na poziomie istotności $p = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Na podstawie badań w układzie modelowym wykazano, że temperatura inkubacji miała wpływ na efektywność redukcji azotanu(V) sodu przez szczep bakterii *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365. Badany szczep bakterii denitryfikujących charakteryzuje się stosunkowo szerokim zakresem temperatury (15 - 40 °C), w którym wykazuje aktywność, a tym samym ma zdolność do redukcji azotanów(V). Zastosowane bakterie redukowały azotany(V) do azotanów(III). Obserwowano również redukcję powstałych azotanów(III) (tab. 1).

Redukcja azotanów(V) przez *Staphylococcus* jest procesem metabolicznym i może mieć dwojaki przebieg. Drobnoustroje asymilują azot azotanowy(V) i wykorzystują go do odbudowy białek ustrojowych albo mogą wykorzystywać azotany w procesie oddychania beztlenowego [10, 12]. Redukcja azotanów(V) przez bakterie zachodzi przy udziale enzymu reduktazy azotanowej(V). Natomiast redukcja azotanów(III) związana jest z produkcją enzymu reduktazy azotanowej(III) przez komórki bakterii. Jak podają Neubauer i Gotz [8], reakcja ta zachodzi wyłącznie w beztlenowym lub słabo zaopatrzonym w tlen środowisku, przy jednoczesnym dostępie azotanu (III) lub (V). Ci sami autorzy twierdzą, że prawdopodobne jest wykorzystywanie azotanów (V) i (III) przez *Staphylococcus* jako akceptorów elektronów w łańcuchu oddechowym, co prowadzić może do generowania tlenu azotu. W przeprowadzonym doświadczeniu najwyższy, całkowity stopień redukcji azotanów(V) przez bakterie obserwowano w zakresie temp. od 20 do 40 °C. Po 20 h inkubacji prowadzonej w temp. 30 °C stwierdzono całkowitą redukcję dodanego azotanu(V) i powstałego azotanu(III), co wskazuje, że takie warunki temperaturowe były optymalne do osiągnięcia wysokiej aktywności kultury bakteryjnej.

Tabela 1

Stopień redukcji azotan(V) sodu przez szczep *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 w ciągu 20 h, determinowany temperaturą inkubacji.

Reduction degree of sodium nitrate (V) by *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 strain during 20 h of incubation determined by incubation temperature.

Próba Sample		* <i>Staphylococcus</i> c. ATCC-51365 [log jtk/g]		NaNO ₃ [mg/l]		NaNO ₂ [mg/l]		SR NaNO ₃ [%]	pH		redox [mv]	
Nr	T [°C]	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD
K0	-	-	-	98,7	1,9	0,0	0,0	0,0	7,50	0,01	363,5	0,7
K20	30	-	-	100,7	1,1	0,0	0,0	0,0	7,50	0,01	363,8	2,7
1	4	6,48	1,00	93,6	1,7	0,0	0,0	5,2	7,51	0,01	370,7	9,6
2	10	6,52	5,18	96,3	0,8	0,0	0,0	2,4	7,50	0,01	359,3	0,5
3	15	7,08	6,75	80,5	2,6	7,8	0,5	18,4	7,45	0,01	355,0	0,5
4	20	8,04	1,00	0,0	0,0	18,7	2,6	100,0	7,26	0,01	300,6	7,5
5	30	8,23	7,51	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0	6,19	0,01	152,3	11,2
6	40	8,00	7,15	0,0	0,0	9,8	2,8	100,0	6,08	0,01	232,3	7,0
7	45	3,73	3,26	91,3	1,5	0,0	0,0	7,5	7,42	0,01	247,1	2,5

Objaśnienia: / Explanatory notes:

K0 – próba kontrolna bez dodatku szczepu *S. carnosus* ATCC-51365 / the control sample without added *S. carnosus* ATCC-51365 strain; K20 – próba kontrolna bez dodatku szczepu *S. carnosus* ATCC-51365 inkubowana w ciągu 20 h / the control sample without added *S. carnosus* ATCC-51365 strain incubated for 20 h; SR – stopień redukcji NaNO₃ liczony w stosunku do ilości NaNO₃ oznaczonego w próbce K0 / NaNO₃ reduction degree is calculated based on the amount of NaNO₃ determined in a sample K0; T – temperatura inkubacji / temperature of incubation;

* dodatek szczepu *S. carnosus* ATCC-51365 na poziomie 6,41 log jtk/g przed inkubacją do próbek 1-7 / *S. carnosus* ATCC-51365 strain added to samples 1-7 at a level of 6.41 log CFU/g prior to incubation.

Efektywność redukcji azotanów(V) przez zastosowaną kulturę była zależna od tempa wzrostu i liczby komórek bakterii mierzonej w próbach po inkubacji. Im wyższa była liczba komórek bakterii, tym stopień redukcji azotanów(V) w próbce był większy (tab. 1). Zależność tę stwierdzili również inni badacze, którzy wskazują, że maksymalną syntezę enzymu reduktazy azotanowej(V) przez stafylokoki obserwuje się w okresie wzrostu wykładniczego bakterii [4, 8, 9]. Nie zaobserwowano natomiast znaczącego wzrostu komórek bakteryjnych w próbach inkubowanych w temp. 4 i 10 °C w stosunku do liczby wprowadzonych bakterii przed inkubacją (6,41 log jtk/g). Nie stwierdzono również znaczącej redukcji azotan(V) sodu w zakresie tych temperatur. W próbach inkubowanych w temp. 45 °C nie obserwowano redukcji azotanów(V). Stwierdzono

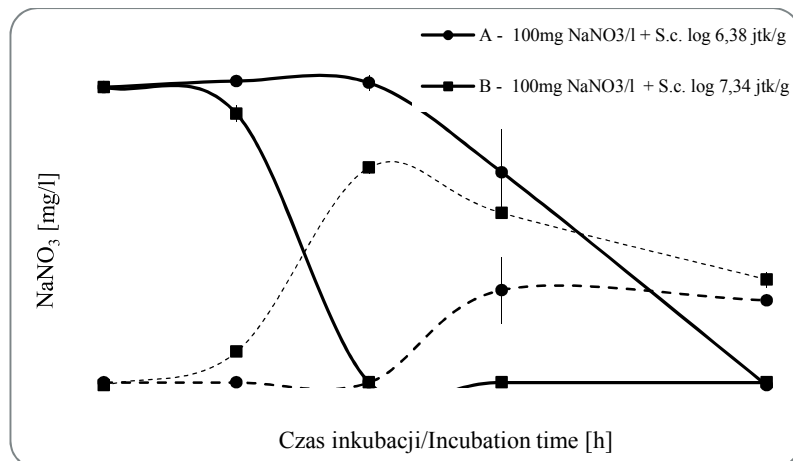
natomiast znaczące obniżenie liczby bakterii po 20 h inkubacji do 3,73 log jtk/g, co wskazuje na destrukcyjne działanie temperatury na komórki bakterii (tab. 1).

W pracy badano również zmiany pH i potencjału redox w próbach inkubowanych w poszczególnych temperaturach. Zaobserwowano wzrost stopnia kwasowości podłoża w czasie namnażania się bakterii, co może wskazywać, że bakterie fermentują glukozę w nim zawartą do kwasu mlekowego. Najniższą wartość pH stwierdzono w próbach inkubowanych w temp. 30 i 40 °C, w których równocześnie obserwowano całkowitą redukcję dodanego azotan(V). Zaobserwowane obniżanie pH środowiska modelowego w okresie namnażania się bakterii może ograniczyć praktyczne zastosowanie badanego szczepu do produkcji wędlin parzonych. Należy zwrócić uwagę, że potencjalny wzrost kwasowości farszu mięsnego, spowodowany aktywnością wprowadzonych komórek bakterii, może naruszać naturalne limity pojemności buforowej mięsa, co w konsekwencji spowoduje zmniejszenie jego wodochłonności. Ma to szczególne znaczenie w przypadku wytwarzania kiełbas wysoko wydajnych. Istnieje potrzeba zweryfikowania tej tezy, przeprowadzając badania w układzie mięsno-tłuszczowym, gdyż aktywność metaboliczna badanych bakterii denitryfikujących może być różna w płynnym podłożu białkowym i w środowisku mięsnym.

Taką samą tendencję stwierdzono w przypadku zmian potencjału oksydacyjno-redukcyjnego. Wraz ze wzrostem liczby bakterii i stopnia redukcji dodanych azotanów(V) obserwowano obniżenie wartości potencjału oksydacyjno-redukcyjnego. układu modelowego. Prawdopodobnie ma to związek z aktywnością enzymatyczną bakterii podczas ich namnażania. Przypuszczać można, że możliwe obniżenie wartości potencjału oksydacyjno-redukcyjnego farszu mięsnego, spowodowane aktywnością wprowadzonych bakterii, będzie miało swój udział w intensyfikacji procesów barwotwórczych zachodzących podczas peklowania mięsa.

Przeprowadzone badania w układzie modelowym wykazały, że liczba komórek dodanego szczepu i czas inkubacji miały istotny wpływ ($p \leq 0,05$) na szybkość redukcji azotan(V) sodu przez szczep *S. carnosus* ATCC-51365. Na podstawie analizy statystycznej wykazano, że w próbkach, w których zastosowano większy dodatek kultury bakteryjnej (10^7 jtk/g) istotnie zmniejsza się zawartość azotan(V) sodu po 2, 4 i 6 h inkubacji ($p \leq 0,05$). Po 20 h inkubacji w próbkach z początkową liczbą bakterii na poziomie 10^6 i 10^7 jtk/g stwierdzono całkowitą redukcję dodanego azotan(V) sodu (rys. 1). Jak wynika z krzywych opisujących przemiany azotanów(V) w próbkach, w poszczególnych godzinach inkubacji czas istotnie wpłynął na szybkość redukcji azotanów(V) i powstałych azotanów(III), co związane jest najprawdopodobniej z procesem produkcji enzymów przez komórki bakterii. Na podstawie zmian zawartości azotanów (V) i (III) w czasie można stwierdzić, że efektywność działania kultury bakteryjnej była większa w stosunku do azotanów(V) niż do azotanów(III) (rys. 1). Po-

twierdzą to badania Gøtterupa i wsp. [4], którzy badali zależność pomiędzy azotanem(V) i azotanem(III) a aktywnością reduktazy różnych szczepów *Staphylococcus*.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

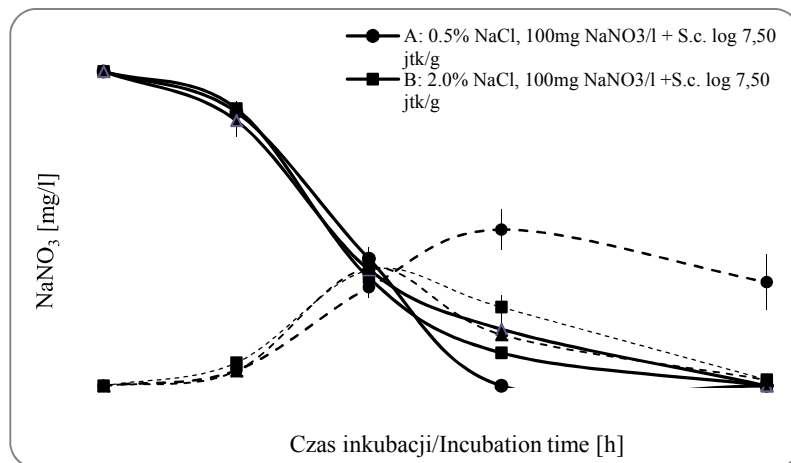
Linie przerywane na wykresie obrazują zmiany zawartości azotanów(III) (wyrażone jako NaNO_2) powstałych ze zredukowanego azotanu(V) sodu przez bakterie / The dashed lines on the graph represent changes in the content of nitrates (III) (calculated as NaNO_2) produced from the reduced nitrate (V) by bacteria.

Na wykresie graficznie naniesiono wartości $\bar{x} \pm s$ / Values plotted on the graph are $\bar{x} \pm \text{SD}$.

Rys. 1. Wpływ czasu inkubacji i początkowej liczby bakterii *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 na szybkość redukcji azotanu(V) sodu w temp. 30 °C.

Fig. 1. Effect of incubation time and initial number of *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 bacteria on reduction rate of nitrate (V) at a temperature of 30 °C.

Badania w układzie modelowym wskazują, że chlorek sodu działał hamująco na komórki bakterii badanego szczepu i wpłynął istotnie na obniżenie szybkości redukcji azotanów(V). Średnia zawartość azotanu(V) sodu w próbkach po 6 h inkubacji w temp. 30 °C, była istotnie zróżnicowana w zależności od zawartości chlorku sodu w podłożu ($p \leq 0,05$). Największą średnią zawartość azotanu(V) sodu (19,4 mg/l) oznaczono w próbkach, w których zawartość chlorku sodu w podłożu była na poziomie 3,0 %, natomiast w wariancie, który zawierał najmniej chlorku sodu (0,5 %), nie wykryto azotanu(V) sodu. W wariancie, który zawierał 2,0 % chlorku sodu oznaczono azotan(V) sodu na średnim poziomie – 11,3 mg/l. W próbkach inkubowanych przez 2, 4 i 20 h nie stwierdzono istotnego wpływu zawartości chlorku sodu na szybkość redukcji azotanu(V) sodu przez zastosowaną kulturę bakteryjną.



Objaśnienia jak na rys. 1. / Explanatory notes as in Fig. 1.

Rys. 2. Wpływ stężenia chlorku sodu na szybkość redukcji azotanu(V) sodu przez *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 podczas inkubacji w temp. 30 °C.

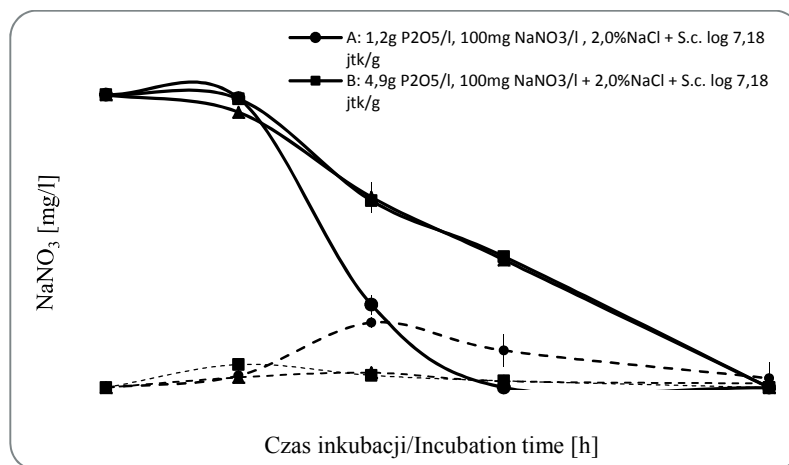
Fig. 2. Effect of sodium chloride concentration on reduction rate of nitrate (V) by *Staphylococcus carnosus* ATCC-51 365 during incubation at a temperature of 30 °C.

Negatywny wpływ chlorku sodu na szybkość redukcji azotanu(V) sodu przez badany szczep może wynikać z hamującego działania tej substancji na komórki bakterii w zastosowanym układzie modelowym. Pomiar liczby bakterii dodanego szczepu w wariantach doświadczalnych, w poszczególnych godzinach inkubacji, wykazał, że średnia liczba komórek bakteryjnych była niższa w wariantach zawierających 2,0 i 3,0 % chlorku sodu niż w próbkach o zawartości 0,5 % NaCl, po 2 i 4 h inkubacji. Średnia liczba komórek bakterii w próbkach zawierających 3,0 % chlorku sodu po 2 i 4 h inkubacji wyniosła kolejno 7,52 log i 7,93 log jtk/g, w próbkach zawierających 2,0 % chlorku sodu – 7,53 log i 7,93 log jtk/g, natomiast w próbkach zawierających 0,5 % chlorku sodu po 2 i 4 h inkubacji oznaczono średnio 8,58 log i 8,08 log jtk/g. We wszystkich badanych próbkach, po 6 i 20 h inkubacji, liczba komórek badanego szczepu kształtowała się na zbliżonym poziomie – 10^8 jtk/g.

Wiadomo, że *Staphylococcus* charakteryzują się wysoką odpornością na sól. Interpretując otrzymane wyniki, należy wziąć pod uwagę, że zastosowany w przeprowadzonych badaniach układ modelowy, zawierał, oprócz soli kuchennej, azotan(V) sodu i azotan(III) powstały w wyniku jego redukcji. Tak więc wysoce prawdopodobne jest, że substancje te, działając synergistycznie, wpływały hamująco na komórki bakterii *Staphylococcus carnosus* ATCC 51365.

Przeprowadzone badania w układzie modelowym wykazały negatywny wpływ wielofosforanów na szybkość redukcji azotanu(V) sodu, co przypuszczalnie spowodowało

wane było ich hamującym działaniem na wzrost bakterii denitryfikujących. W wariantach doświadczalnych, w których zastosowano wyższe dawki wielofosforanów (4,9 i 6,4 g P_2O_5/l) obserwowano, że liczba bakterii po 6 h inkubacji była mniejsza średnio o jeden cykl logarytmiczny od tych, w których fosforan był na poziomie 1,2 P_2O_5 g/l. Stwierdzono, że średnia zawartość azotanu(V) sodu w próbkach inkubowanych przez 4 i 6 h w temp. 30 °C była mniejsza w wariantach, w którym poziom fosforanów był najmniejszy (1,2 P_2O_5 g/l) w porównaniu z próbkami, w których średnia zawartość fosforanów była na wyższym poziomie (4,9 i 6,4 g P_2O_5/l). Analiza statystyczna wykazała istotność tych różnic przy $p \leq 0,05$. Po 2 i 20 h inkubacji zawartość azotanu(V) sodu była we wszystkich próbach na zbliżonym poziomie.



Objaśnienia jak na rys 1. i 2. / Explanatory notes as in Fig. 1. and Fig. 2.

Rys. 3. Wpływ stężenia wielofosforanów na szybkość redukcji azotanu(V) sodu przez *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 podczas inkubacji w temp. 30 °C.

Fig. 3. Effect of concentration of multi-phosphates on reduction rate of nitrate (V) by *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 during incubation at a temperature of 30 °C.

Znane jest działanie bakteriostatyczne wielofosforanów, szczególnie w stosunku do bakterii Gram-dodatnich [7], do grupy której zalicza się stosowany w pracy szczep bakterii denitryfikujących. Uważa się, że wielofosforany tworzą trwałe, nierozpuszczalne kompleksy z kationami dwuwartościowymi, które nie są przyswajane przez bakterie. Jest to działanie bakteriostatyczne, polegające nie na efekcie toksycznym, lecz na rywalizacji o składnik pożywki [7]. Zastosowany w pracy układ modelowy miał na celu stworzenie takich warunków środowiskowych, które m.in. pod względem ilości fosforu byłyby najbardziej zbliżone do środowiska mięsnego. Brakujący w podłożu białkowym fosfor uzupełniono trifosforanem sodu (preparat Tari P 31) ze względu

du na jego dobrą rozpuszczalność w roztworach wodnych i powszechnie zastosowane w przemyśle mięsnym. Fosfor jest pierwiastkiem naturalnie występującym w mięsie, wchodzi m.in. w skład białek i nukleotydów [6, 19]. Zważywszy na formy, w jakich fosfor naturalnie występuje w mięsie, przypuszczać można, że w farszu mięsnym jego wpływ na komórki bakterii będzie mniej hamujący niż ten zaobserwowany w układzie modelowym. Polifosforan, który stosowany jest powszechnie przy produkcji wędlin parzonych, może również wykazywać słabsze działanie hamujące na komórki bakterii, głównie z powodu reagowania ze składnikami mięsa [7].

Tak jak w przypadku pierwszego eksperymentu, w pozostałych badaniach w układzie modelowym obserwowano tendencję polegającą na tym, że wraz ze wzrostem aktywności bakterii następował wzrost kwasowości podłoża i obniżenie wartości potencjału oksydacyjno-redukcyjnego środowiska.

Wnioski

1. Szczep bakterii denitryfikujących *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 charakteryzuje się aktywnością w stosunkowo szerokim zakresie temperatury (15 - 40 °C), w którym jest zdolny przeprowadzać redukcję azotanów (V) i (III).
2. Chlorek sodu i wielofosforany działają hamująco na wzrost i aktywność bakterii szczepu *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 i wpływają istotnie na obniżenie szybkości redukcji azotanów (V) i (III). Szybkość działania szczepu *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 w zakresie redukcji azotanów(V) wydaje się wystarczająca przy zastosowaniu odpowiednio wysokiej liczby komórek bakterii (10^7 jtk/g).
3. Szczep bakterii *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 charakteryzuje się takimi właściwościami biochemicznymi, które wskazują na możliwość zastosowania go w procesie peklowania mięsa azotanem(III). Praktyczne zastosowanie bakterii denitryfikujących w produkcji wędlin parzonych wymaga przeprowadzenia dalszych badań m.in. w zakresie wpływu zastosowania bakterii na cechy jakościowe (trwałość barwy) i zdrowotność (pozostałość resztkowych azotanów (V) i (III)) produktu gotowego.

Badania są realizowane w ramach działalności statutowej Instytutu Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego, Oddziału Technologii Mięsa i Tłuszczu w Warszawie.

Praca jest współfinansowana ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego.

Literatura

- [1] Arneth W.: Chemische Grundlagen der Umrötung. Fleischwirtschaft, 1998, **8**, 868-874.

- [2] Cassens R.G., Ito I., Lee M., Buege D.: The use of nitrite in meat. *Biosci.*, 1978, **28** (10), 633-637.
- [3] Cassens R.G.: Use of sodium nitrite in cured meats today. *Food Technol.*, 1995, **49** (7), 72-80.
- [4] Gøtterup J., Olsen K., Knochel S., Tjener K., Stahnke L.H., Møller J.K.S.: Relationship between nitrate/nitrite reductase activities in meat associated staphylococci and nitrosylmyoglobin formation in a cured meat model system. *Inter. J. Food Microbiol.*, 2007, **120**, 303-310.
- [5] Prost E.: Higiena mięsa. Wyd. II. PWRiL, Warszawa 1985, ss. 192-193.
- [6] Honikel K.O.: The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. *Meat Sci.*, 2008, **78**, 68-76.
- [7] Kitzman P., Tyszkiewicz I.: Przeprowadzenie prac rozwojowych w zakresie stosowania obniżonych dawek azotynów. Centralny Program Badawczo-Rozwojowy Nr. 10.7 IPMiT, 1990, ss. 27-55.
- [8] Neubauer H., Götz F.: Physiology and interaction of nitrate and nitrite reduction in *Staphylococcus carnosus*. *J. Bacteriol.*, 1996, **178**, 2005-2009.
- [9] Pantel I., Lindgren P.E., Neubauer H., Götz F.: Identification and characterization of the *Staphylococcus carnosus* nitrate reductase operon. *Molecular Genetics and Genomics*, 1998, **259**, 105-114.
- [10] Pluta A., Zmarlicki S., Gawel J., Ostrowski S.: Zawartość azotanów i azotynów w dojrzewających serach krajowych. *Przem. Spoż.*, 1998, **7-9**, 166-167.
- [11] PN-EN ISO 12014:2006. Artykuły żywnościowe. Oznaczanie zawartości azotanów i/lub azotynów.
- [12] Przybyłowski P.: Występowanie i przemiany azotanów w produktach spożywczych. *Przeł. Mlecz.*, 1984, **8**, 10-12
- [13] Technologia produkcji wędlin. Kielbasy surowe. Słowiński M., Jankiewicz L. Mięso i Wędliny, Polskie Wydawnictwo Fachowe, Warszawa 2004.
- [14] Słowiński, M.: Czynniki wpływające na efektywność peklowania mięsa. *Mięso i Wędliny*, 2006, **7**, 29-31.
- [15] Słowiński M.: Peklowanie mięsa – technologia, korzyści i zagrożenia. *Mięso i Wędliny*, 1997, **7**, 34-37.
- [16] Szymański P.: Badania dotyczące poziomu występowania azotynów i azotanów w wybranych rynkowych produktach mięsnych poddanych obróbce cieplnej – niepublikowane wyniki badań. Oddział Technologii Mięsa i Tłuszczu IBPRS, Warszawa 2010.
- [17] Talon R., Walter D., Chartier S., Barriere C., Montel M.C.: Effect of nitrate and incubation conditions on the production of catalase and nitrate reductase by staphylococci. *Inter. J. Food Microbiol.*, 1999, **52**, 47-56.
- [18] W. Pezacki (Red.): Technologia mięsa. WNT, Warszawa 1981, ss. 125-126.
- [19] Tyszkiewicz T., Wawrzyniewicz M., Borys A.: Factors influencing physiological phosphorus content in pork meat. *Acta Agrophysica* 2011, **17** (2), 387-393.
- [20] Siu D., Henshall A.: Ion chromatographic determination of nitrate and nitrite in meat products. *J. Chromatography*, 1998, **804**, 156-160.

EVALUATION OF POSSIBILITY TO USE *STAPHYLOCOCCUS CARNOSUS* ATCC-51365 BACTERIAL STRAIN IN MEAT CURING PROCESS

S u m m a r y

The objective of the research study was to study the effect of some selected conditions and the effect of additives used in the production of meat batters on the activity of *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 denitrifying bacteria, as well as to determine the potential possibility of applying the strain discussed to improve the effectiveness of meat curing process by nitrates (III). The study was conducted in

a model system that was a TBS liquid protein medium. It was found that the strain of *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 denitrifying bacteria exhibited activity in a broad range of temperatures (15 - 40°C) and was capable of carrying out the reduction of nitrates (V) and (III). Sodium chloride and polyphosphates have an inhibiting effect on the growth and bacterial activities of the strain studied, and significantly impact the decrease in the reduction rate of nitrates (V) and (III). With the application of a sufficiently high number of bacterial cells (10^7 cells /g), the activity rate of the *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 strain in reducing nitrates seems to be sufficient. The *Staphylococcus carnosus* ATCC - 51365 bacterial strain is characterized by biochemical properties that suggest the possibility of applying this strain in the process of curing meat using a nitrate (III). The practical application of the denitrifying bacteria to manufacture cured meat products requires further analyses, among other things, an analysis of the effect of bacteria on the colour stability and healthiness (in terms of residues of nitrates (V) and nitrites (III)) of the final product.

Key words: meat, curing, denitrifying bacteria ☒

MONIKA SKWAREK, ZBIGNIEW J. DOLATOWSKI

WPLYW BAKTERII PROBIOTYCZNYCH NA WŁAŚCIWOŚCI REOLOGICZNE SZYNEK SUROWO DOJRZEWAJĄCYCH

Streszczenie

Celem badań była ocena właściwości reologicznych szynek surowo dojrzewających z dodatkiem bakterii probiotycznych *Lactobacillus casei* LOCK 0900. Przygotowano cztery warianty prób: kontrolną K – bez dodatku probiotyku, L – z dodatkiem probiotyku, LG – z dodatkiem probiotyku i glukozy oraz próbę LGA – z dodatkiem probiotyku, glukozy i askorbinianu sodu. Proces dojrzewania szynek surowo dojrzewających trwał 28 dni. Oznaczono podstawowy skład chemiczny, wydajność produkcyjną oraz kwasowość. Parametry tekstury określano za pomocą: testu TPA, pomiaru siły i pracy cięcia oraz pomiaru siły penetracji. Badania przeprowadzono bezpośrednio po produkcji i po 5 miesiącach przechowywania w temp. 4 °C, w warunkach beztlenowych.

Dodatek bakterii probiotycznych *Lactobacillus casei* LOCK 0900 do szynek surowo dojrzewających wpłynął na wzrost kwasowości wyrobów w porównaniu z próbą kontrolną. Szynki z dodatkiem probiotyku charakteryzowały się zbliżonymi wartościami parametrów tekstury podczas testu ściskania. Warianty z probiotykami wykazywały wyższe wartości parametru pracy cięcia oraz siły penetracji zarówno po procesie produkcji, jak i po przechowywaniu. Wyniki pomiarów siły penetracji i pracy cięcia mogą świadczyć o wpływie dodanych bakterii probiotycznych na hamowanie proteolizy białek i rozluźnienie struktury szynek.

Słowa kluczowe: bakterie probiotyczne, szynka surowo dojrzewająca, tekstura

Wprowadzenie

Produkcja wędlin surowo dojrzewających polega na kierowaniu przemianami biochemicznymi, mikrobiologicznymi i fizycznymi, które zachodzą zarówno podczas dojrzewania produkcyjnego, jak i w okresie przechowywania. W trakcie procesu dojrzewania hydrolizie ulegają w znacznym stopniu białka sarkoplazmatyczne, częściowo białka miofibrylarne i łącznotkankowe. Tekstura silnie determinuje właściwości sensoryczne, a szczególnie kruchość i soczystość. Kruchość, będąca w ocenie konsumenc-

kiej jedną z najważniejszych cech sensorycznych mięsa, zależna jest od wielu czynników: gatunku, wieku, płci i rasy zwierząt, klasy jakościowej tusz, właściwości fizykochemicznych włókien mięśniowych (grubości, rozciągliwości i składu chemicznego), udziału ilościowego i jakościowego tkanki łącznej, postępowania z mięsem po uboju i zabiegów technologicznych [6, 7, 11].

Główną wadą tekstury występującą w szynkach surowo dojrzewających jest nadmierna miękkość, tzw. ciastowatość. Według Arnau i wsp. [1] obniża ona jakość wyrobu, gdyż stwarza trudności w krojeniu oraz wpływa negatywnie na ocenę sensoryczną. Wada ta związana jest z daleko posuniętą proteolizą białek, na co ma wpływ jakość surowca (pH) [6, 7], zawartość soli, zawartość wody i białka [18] oraz warunki procesu dojrzewania [1, 4]. Producenci szynki parmeńskiej ustalili górne granice zawartości wody i białka (odpowiednio 63,5 i 31 %) w celu uniknięcia niekorzystnej tekstury produktu końcowego [12].

W okresie dojrzewania wyrobów, szczególnie szynek, ważnym czynnikiem wpływającym na ich teksturę jest wewnętrzna aktywność enzymatyczna mięśnia [11, 13]. Parolari i wsp. [11] podkreślają proteolizę i endogenną aktywność proteolityczną szynki dojrzewającej jako główne czynniki wpływające na jej smak i konsystencję. Objawem proteolizy tkanki łącznej są: zwiększająca się rozpuszczalność kolagenu, zmiany właściwości mechanicznych omięsnej wewnętrznej i składu proteoglikanów. Przyczyną zmian struktury tkanki mięśniowej jest prawdopodobnie aktywność kalpain i enzymów katepsynowych, uwalnianych w okresie poubojowym z lizosomów. Schivazappa i wsp. [19] wykazali, że szynki o najwyższej aktywności katepsyny B i najniższych wartościach pH, charakteryzowały się największą utratą masy podczas pierwszego solenia i były bardziej podatne na proteolizę białek, co skutkowało obniżeniem parametrów tekstury, pojawieniem się gorzkiego smaku oraz tworzeniem białej kredowej warstwy powierzchniowej. Z kolei Careri i wsp. [3] oraz Guerrero i wsp. [8] wykazali, że postępujący stopień proteolizy wpływa na tworzenie pożądanej lub niepożądanej tekstury, często gąbczastej.

Celem przeprowadzonych badań była ocena wpływu bakterii probiotycznych *Lactobacillus casei* LOCK 0900 na teksturę potencjalnie probiotycznej szynki surowo dojrzewającej podczas dojrzewania i przechowywania.

Material i metody badań

Do wyrobu szynki użyto mięsa świń rasy wielka biała polska, pochodzących z jednego gospodarstwa z terenu województwa mazowieckiego. Ubój zwierząt o masie przyżyciowej 120 - 140 kg przeprowadzono w Zakładach Mięsnych w Kozienicach. Szynka stanowiła element mięśni zrazowej dolnej, przykrojony do kształtu prostokąta o masie ok. 1,2 - 1,5 kg.

W procesie produkcji wykorzystano probiotyczny szczep bakterii *Lactobacillus casei* ŁOCK 0900 [5]. Szczep pozyskano i przygotowano w Zakładzie Higieny i Zarządzania Jakością SGGW w Warszawie. Liczba bakterii probiotycznych służących do zaszczepienia produktu mięsnego wynosiła 2×10^7 jtk/g produktu.

Wychłodzony surowiec mięsny peklowano 48 h po uboju 3-procentowym dodatkiem mieszanki peklującej o składzie: 0,084 g NaNO₂, 0,15 g NaNO₃, 29,76 g NaCl, w temperaturze 4 °C przez 48 h. Po zakończonym procesie peklowania dodawano glukozę oraz szczep bakterii probiotycznych. Dojrzewanie prowadzono w temp. 18 – 19 °C i wilgotności 70 - 85 % przez 28 dni. Przygotowano cztery warianty wyrobów (tab. 1).

Tabela 1

Warianty doświadczalne szynek surowo dojrzewających.
Experimental variants of raw-ripening hams.

Warianty Variants	Dodatek probiotyku Addition of probiotic	Dodatek glukozy Addition of glucose [%]	Askorbinian sodu Sodium ascorbate [%]
K	0	0	0
L	<i>Lactobacillus casei</i> ŁOCK 0900	0	0
LG	<i>Lactobacillus casei</i> ŁOCK 0900	0,6	0
LGA	<i>Lactobacillus casei</i> ŁOCK 0900	0,6	0,05

Wyroby poddawano ocenie bezpośrednio po procesie dojrzewania oraz po 5 miesiącach chłodniczego przechowywania (4 °C) w warunkach beztlenowych.

Oznaczano zawartość wody, tłuszczu i soli oraz mierzono kwasowość czynną (pH).

Zawartość wody oznaczano metodą suszarkową, poprzez suszenie w temperaturze 103 ± 2 °C do stałej masy [14]. Zawartość tłuszczu oznaczano metodą Soxhleta z zastosowaniem chloroformu jako ekstrahenta [15], zawartość soli – metodą Mohra [16]. Kwasowość czynną (pH) mierzono za pomocą elektrody zespolonej ERH-111 (Elmetron) i cyfrowego pH-metru CPC-501 (Elmetron). Pomiaru kwasowości otrzymanej zawiesiny dokonywano w temp. 20 °C [17].

Analizę profilu tekstury (test TPA) wyrobu wykonywano metodą dwukrotnego ściskania [2]. Próbkę o wymiarach 20 × 20 × 25 mm poddawano podwójnemu ściskaniu osiowemu (prostopadle do kierunku włókien mięśniowych) do połowy wysokości (25 mm) za pomocą teksturometru TA.XT.plus wyposażonego w przystawkę P/10 oraz stolik przedmiotowy HDP/90. Prędkość ruchu głowicy wynosiła 5 mm/s. Do gromadzenia danych oraz obliczeń stosowano program komputerowy TE 32, 4.0.9.0 Stable Micro System. Z ogólnego wykresu zależności między siłą a odkształceniem podczas

dwukrotnego ściskania prób określano następujące parametry tekstury według Bourne'a [2]:

- twardość (z ang. *hardness*) – maksymalna wartość siły F_1 występującej podczas pierwszego ściskania próby, odniesiona do jej przekroju poprzecznego, wyrażona w [N],
- sprężystość (elastyczność, z ang. *springiness*) – wartość, o jaką wzrasta wysokość próbki w czasie pomiędzy zakończeniem pierwszego ściskania a rozpoczęciem drugiego, przypadająca na jednostkę przekroju poprzecznego, wyrażona w [mm],
- spoistość (kohezyjność, z ang. *cohesiveness*) – stosunek wielkości pola (A_{II}) pod krzywą charakteryzującą drugie ściskanie do wielkości pola (A_I) pod krzywą charakteryzującą pierwsze pole ściskania próby (A_{II}/A_I), (bezwymiarowa),
- adhezyjność, przylepność (z ang. *adhesiveness*) – praca potrzebna do oderwania tłoka od próbki po kompresji, wyrażona w [N mm].

Pomiaru siły cięcia dokonywano z użyciem trójkątnego elementu tnącego typu Warnera-Bratzlera. Badaniom poddawano próbki w kształcie prostopadłościanu o wymiarach $20 \times 20 \times 20$ mm. Cięcia dokonywano prostopadle do włókien mięśniowych. Prędkość przesuwu głowicy wynosiła 2 mm/s, odległość cięcia przebyta przez ostrze noża była równa grubości próbki. Z zarejestrowanej wartości sił podczas cięcia odczytywano dwa parametry: siłę maksymalną [N] oraz pracę cięcia, jako pole powierzchni pod krzywą [N mm].

Do pomiaru siły penetracji [N] używano trzpienia cylindrycznego płasko ściętego o średnicy 2 mm. Penetracji dokonywano do głębokości 15 mm wzdłuż włókien, siłę odczytywano przy penetracji na głębokości 10 mm. Prędkość przesuwu głowicy wynosiła 50 mm/min. Zmiany obciążeń penetratora rejestrowano na drodze przemieszczania. Każdy pomiar wykonywano w 5 powtórzeniach i przyjmowano wartość średnią oznaczenia z wszystkich wyników badanej próbki.

Doświadczenie technologiczne wykonano na dwóch partiach wyrobów mięsnych. Oznaczenia poszczególnych wskaźników wykonywano w trzech lub pięciu równoległych powtórzeniach. Obliczono wartości średnie oraz odchylenia standardowe. Określenia zmienności wyników dokonano metodą analizy wariancji – obliczono istotność różnic pomiędzy wartościami średnimi testem T-Tukeya na poziomie istotności $p = 0,05$. Obliczenia wykonywano w programie Microsoft Excel 2007.

Wyniki i dyskusja

Szynki badanych wariantów charakteryzowały się zbliżonym ubytkiem masy (tab. 2) wynoszącym od 29,73 % w próbie L do 31,14 % w wyrobie LG. Najmniej wody (58,49 %) zawierała próba kontrolna, najwięcej – próba LG (62,50 %) z dodatkiem mikroorganizmów. W tej próbie występowało najmniej tłuszczu (4,21 %). Najwięcej tłuszczu (5,33 %) zawierał wyrób kontrolny. Zawartość soli była zbliżona we wszyst-

kich próbach doświadczalnych. Najmniej było jej w próbie LGA (3,13 %), najwięcej – w wyrobie kontrolnym (3,78 %).

Tabela 2

Podstawowy skład chemiczny szyniek surowo dojrzewających.
Basic chemical composition of raw-ripening hams.

Warianty Variants	Ubytek dojrzewalniczy Ripening loss [%]	Zawartość wody Water content [%]		Zawartość tłuszczu Fat content [%]		Zawartość soli Salt content [%]	
		\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD
K	30,37	58,49	3,20	5,33	0,58	3,78	0,11
L	29,73	60,89	2,91	4,55	0,94	3,68	0,06
LG	31,14	62,50	1,10	4,21	0,40	3,29	0,12
LGA	30,28	59,43	1,94	4,37	0,43	3,13	0,08

Objaśnienia: / Explanatory notes:

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

Dodatek bakterii probiotycznych *Lactobacillus casei* ŁOCK 0900 do szyniek surowo dojrzewających wpłynął na wzrost kwasowości wyrobów (tab. 3) w porównaniu z próbą kontrolną, co świadczy o ich rozwoju i przyspieszaniu procesów zakwaszania. Wyniki otrzymane przez Neffe-Skocińską i wsp. [10] oraz Neffe i Kołożyn-Krajewską [9] dowodzą, że szczep bakterii probiotycznych *Lactobacillus casei* ŁOCK 0900 wprowadzony do zapeklowanych poledwic wieprzowych rozmnażał się do liczby 10^7 jtk/g, a w przypadku dodatku 0,2 % glukozy – do 10^8 jtk/g. W niniejszych badaniach najniższymi wartościami pH w szynkach z dodatkiem probiotyku charakteryzowała się próba LGA (bezpośrednio po produkcji pH = 5,10, a po 5 miesiącach przechowywania pH = 5,29). Podczas 5-miesięcznego przechowywania zaobserwowano stabilizację kwasowości w próbach z probiotykiem. Najmniejszymi zmianami pH (o około 0,8 jednostki) charakteryzowała się próba LG. Można przypuszczać, że zahamowany został w niej rozwój mikroflory wytwarzającej enzymy proteolityczne. Najwyższymi wartościami pH, zarówno bezpośrednio po produkcji (pH = 5,59), jak i po 5 miesiącach przechowywania (pH = 6,00), charakteryzowała się próba kontrolna (bez dodatku bakterii probiotycznych).

Tabela 3

Kwasowość czynna szynek surowo dojrzewających.
Active acidity of raw-ripening hams.

Czas przechowywania Storage period	Miara statystyczna Statistical measure	Wartość pH / pH value			
		K	L	LG	LGA
0 mies. / 0 months	\bar{x}	5,59 ^{aA}	5,29 ^{bA}	5,34 ^{abA}	5,10 ^{bA}
	s / SD	0,20	0,09	0,18	0,14
5 mies. / 5 months	\bar{x}	6,00 ^{aB}	5,49 ^{bA}	5,42 ^{bA}	5,29 ^{bB}
	s / SD	0,22	0,21	0,19	0,03

Wartości średnie oznaczone tymi samymi dużymi literami (A, B) w obrębie tej samej próby i małymi literami (a, b) pomiędzy różnymi próbami nie różnią się statystycznie istotnie ($p \geq 0,05$) / Mean values denoted by the same capital letters (A, B) within the same sample and by small letters (a, b) among different samples do not differ statistically significantly ($p \geq 0.05$).

Na podstawie wartości charakteryzujących zmiany sił naprężeń w funkcji czasu podczas ściskania prób bezpośrednio po wyprodukowaniu (tab. 4) nie zaobserwowano istotnych pod względem twardości różnic pomiędzy próbą kontrolną a próbami z dodatkiem probiotyku. Wyniki takie mogą wskazywać, że na twardość produktu po dojrzewaniu wpływa głównie zawartość wody, a w mniejszym zakresie dodatek bakterii probiotycznych i zmiany proteolityczne. Serra i wsp. [20] określali zależności między wynikami instrumentalnej analizy tekstury (TPA) a zawartością wody i dowiedli, że wilgotność próbek od 23,1 do 61,5 % wykazywała nieliniowy związek z twardością. Jednak zależność można uznać za liniową przy zawartości wody powyżej 47,3 %. W niniejszych badaniach istotnie wyższymi wartościami parametru twardości (29,24 N) po produkcji, w porównaniu z pozostałymi próbami, charakteryzowała się próba z dodatkiem probiotyku, glukozy i askorbinianu sodu. Po 5 miesiącach przechowywania różnice twardości pomiędzy wszystkimi próbami nie były statystycznie istotne ($p \leq 0,05$). Największy wzrost twardości (o około 47 N) w całym okresie badawczym (od dojrzewania do pięciu miesięcy przechowywania) stwierdzono w próbie kontrolnej. W próbach z dodatkiem probiotyku twardość wzrosła w mniejszym zakresie.

Stopień powrotu ze stanu zdeformowanego do stanu wyjściowego, charakteryzowany przez parametr sprężystości produktu, po produkcji był zbliżony we wszystkich próbach i kształtował się na poziomie około 0,11 mm. Po 5 miesiącach przechowywania wartości tego parametru nie zmieniły się istotnie z wyjątkiem próby LGA, w przypadku której zaobserwowano istotny spadek tego parametru. Zarówno bezpośrednio po produkcji, jak i po przechowywaniu nie stwierdzono istotnych pod względem spistości różnic pomiędzy próbą kontrolną a próbami z dodatkiem probiotyku (L i LG).

Najniższe wartości adhezyjności, związanej z lepkością produktu, zaobserwowano w próbie kontrolnej (-0,02 N mm), najwyższe: w przypadku próby LGA (-0,15 N mm). Po 5 miesiącach przechowywania pomiędzy próbami nie zaobserwowano istotnych różnic ($p \leq 0,05$) pod względem wartości tego parametru.

Tabela 4

Parametry tekstury (test TPA) szynki surowo dojrzewających.

Texture parameters (TPA test) of raw-ripening hams.

Parametr Parameter	Czas Time	K		L		LG		LGA	
		\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD
Twardość Hardness [N]	0 mies.	11,04 ^{aA}	4,14	16,27 ^{abA}	8,67	12,39 ^{abA}	8,12	29,24 ^{bA}	13,12
	5 mies.	58,76 ^{aB}	32,90	46,20 ^{aB}	9,07	45,12 ^{aB}	24,80	29,24 ^{aA}	14,82
Sprężystość Springiness [mm]	0 mies.	0,11 ^{aA}	0,02	0,11 ^{aA}	0,01	0,11 ^{aA}	0,02	0,11 ^{aA}	0,02
	5 mies.	0,09 ^{aA}	0,01	0,09 ^{aA}	0,01	0,08 ^{aA}	0,02	0,07 ^{bB}	0,00
Spoistość Cohesiveness [-]	0 mies.	0,54 ^{aA}	0,06	0,55 ^{aA}	0,06	0,54 ^{aA}	0,04	0,53 ^{aB}	0,07
	5 mies.	0,51 ^{abA}	0,07	0,51 ^{aA}	0,03	0,51 ^{abA}	0,07	0,43 ^{bA}	0,06
Adhezyjność Adhesiveness [N mm]	0 mies.	-0,02 ^{aA}	0,03	-0,09 ^{abA}	0,10	-0,09 ^{abA}	0,10	-0,15 ^{bA}	0,10
	5 mies.	-0,17 ^{aB}	0,09	-0,13 ^{aA}	0,16	-0,20 ^{aA}	0,16	-0,10 ^{aA}	0,09

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

W badaniach penetrometrycznych wyrobów (tab. 5) bezpośrednio po dojrzewaniu nie zaobserwowano istotnych różnic pomiędzy próbą kontrolną a próbami z dodatkiem probiotyku pod względem siły penetracji. Stwierdzono, że rejestrowane krzywe zależności naprężeń od głębokości penetracji charakteryzowały się podobnymi przebiegami i zakresem zmienności, co może świadczyć o podobnym charakterze zmian fizycznych i reologicznych w mięśniach szynki podczas dojrzewania. Najniższe wartości siły penetracji na głębokości 10 mm, świadczące o osłabieniu sił wiążących występujących pomiędzy włóknkami mięśniowymi w szynkach bezpośrednio po produkcji (7,36 N), oraz najniższe wartości tej siły po 5 miesiącach przechowywania (4,07 N) oznaczono w próbie kontrolnej. Wyniki te mogą być skutkiem zwiększonych zmian proteolitycznych w próbie kontrolnej w wyniku działania naturalnie bytującej mikroflory środowiskowej (o czym świadczy kwasowość tej próby), powodującej rozluźnienie struktury białkowej i powiązań międzywłóknkowych. Największą wartością siły penetracji bezpośrednio po produkcji charakteryzowała się próba LG (11,13 N) zawierająca 0,6 % glukozy i dodatek bakterii probiotycznych *Lactobacillus casei* LOCK 0900.

Wartości siły penetracji mogą świadczyć o wpływie dodanych bakterii probiotycznych na hamowanie bakterii wytwarzających enzymy proteolityczne do rozkładu białek tkanki łącznej i kolagenu, co wpływa na właściwości mechaniczne omięsnej wewnętrznej i oddziaływanie penetratora. Po 5 miesiącach przechowywania zaobserwowano zmniejszenie siły penetracji we wszystkich próbach, co świadczy o zmniejszających się siłach wiążących włókienka mięśniowe. Po tym okresie największą siłą penetracji charakteryzowały się próby LG (10,86 N) i LGA (8,55 N).

Tabela 5

Siła cięcia, praca cięcia oraz siła penetracji szynek surowo dojrzewających.
Cutting force, cutting work, and penetration force of raw-ripening hams.

Parametr Parameter		K		L		LG		LGA	
		\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD
Siła penetracji Penetration force [N]	0 mies.	7,36 ^{aA}	3,89	8,35 ^{aA}	1,98	11,13 ^{aA}	3,47	8,90 ^{aA}	2,29
	5 mies.	4,07 ^{aB}	0,98	6,71 ^{bA}	2,02	10,86 ^{cA}	2,93	8,55 ^{bcA}	2,38
Siła cięcia Cutting force [N]	0 mies.	67,55 ^{aA}	25,18	85,58 ^{aA}	21,60	68,62 ^{aA}	20,35	42,26 ^{aA}	35,94
	5 mies.	88,08 ^{aA}	24,05	100,78 ^{aA}	34,81a	92,82 ^{aA}	13,81	91,52 ^{aB}	17,77
Praca cięcia Cutting work [N mm]	0 mies.	146,22 ^{aA}	23,30	256,62 ^{bA}	25,18	256,62 ^{bA}	22,97	240,86 ^{bA}	21,70
	5 mies.	224,84 ^{aB}	33,17	312,92 ^{bA}	59,90	258,00 ^{abA}	16,81	271,45 ^{bA}	23,35

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

Spośród wszystkich prób największą wartość maksymalnej siły cięcia (tab. 5), świadcząca o oporności włókienek mięśniowych na zniszczenie mechaniczne (cięcie), zarówno bezpośrednio po produkcji (85,58 N), jak i po przechowywaniu (100,78 N), stwierdzono w przypadku próby L. Niższą oporność na cięcie i najniższe wartości tego parametru zarówno bezpośrednio po dojrzewaniu (42,26 N), jak i po 5 miesiącach przechowywania (91,52 N) wykazywała próba LGA. Zaobserwowano wpływ dodatku bakterii probiotycznych na wyższe wartości pracy cięcia, zarówno bezpośrednio po produkcji, jak i po 5 miesiącach przechowywania. Taki wynik może świadczyć o pośrednim udziale szczepu probiotycznego w dojrzewaniu, poprzez wytwarzanie bakteriocyn inaktywujących inną mikroflorę, np. mikroflorę wytwarzającą enzymy proteolityczne oraz o hamowaniu szybkości przemian proteolitycznych. Niższe wartości para-

metru pracy cięcia (146,22 N bezpośrednio po produkcji i 224,84 N po przechowywaniu) w próbie kontrolnej mogą być związane z wpływem mikroflory środowiskowej na uzyskanie wyższych wartości pH i większej podatności na proteolizę. Jak dowodzi Arnau [1], wysokie wartości pH wpływają na wzrost miękkości, pastowatą, i bardziej klejącą teksturę.

Wnioski

1. Dodatek bakterii probiotycznych *Lactobacillus casei* ŁOCK 0900 do szynek surowo dojrzewających wpłynął na wzrost kwasowości wyrobów, co świadczy o rozwoju i metabolizmie bakterii oraz o przyspieszeniu procesów dojrzewania.
2. Szynki ze szczepem bakterii probiotycznych charakteryzowały się zbliżonymi wartościami parametrów tekstury podczas testu ściskania w porównaniu z próbą kontrolną.
3. Zaobserwowano wpływ dodatku probiotyku na wyższe wartości pracy cięcia, zarówno bezpośrednio po produkcji, jak i po 5 miesiącach przechowywania.
4. Najwyższymi wartościami siły penetracji charakteryzowała się próba LG zawierająca 0,6 % glukozy i dodatek bakterii probiotycznych *Lactobacillus casei* ŁOCK 0900.
5. Otrzymane wyniki wskazują na korzystny wpływ dodanych bakterii probiotycznych na hamowanie proteolizy białek i rozluźnianie struktury szynek surowo dojrzewających.

Praca wykonana w ramach projektu badawczego MNiSzW nr NN 312275435.

Literatura

- [1] Arnau J., Guerrero L., Gou P.: Effects of temperature during the last month of ageing and of salting time on dry-cured ham aged for six months. *J. Sci. Food Agric.*, 1997, **74**, 193-198.
- [2] Bourne M.C.: *Food Texture and Viscosity*. Academic Press, New York 1982, p. 330.
- [3] Careri M., Mangia A., Barbieri G., Bolzoni L., Virgili R., Parolari G.: Sensory property relationships to chemical data of Italian-type dry-cured ham. *J. Food Sci.*, 1993, **58**, 968-972.
- [4] Cilla I., Martínez L., Beltrán J.A., Roncalés P.: Factors affecting acceptability of dry-cured ham throughout extended maturation under "bodega" conditions. *Meat Sci.*, 2005, **69**, 789-795.
- [5] Cukrowska B., Motyl I., Kozáková H., Schwarzer M., Górecki R.K., Klewicka E., Slizewska K., Libudzisz Z.: Probiotic *Lactobacillus* strains: *in vitro* and *in vivo* studies. *Folia Microbiol.* 2009, **54**, 533-7.
- [6] García-Rey R.M., García-Garrido J.A., Quiles-Zafra R., Tapiador J., Luque de Castro M.D.: Characterization of defective textures in dry-cured ham by compositional and HPLC analysis of soluble substances of low-molecular weight. *Food Chem.*, 2004, **85**, 617-622.
- [7] García-Rey R., García-Garrido J., Quiles-Zafra R., Tapiador J., Luque de Castro M.: Relationship between pH before salting and dry-cured ham quality. *Meat Sci.*, 2004, **67**, 625-632.
- [8] Guerrero L., Gou P., Alonso P., Arnau J.: Study of the physico-chemical and sensorial characteristics of dry cured hams in three pig genetic types. *J. Sci. Food Agric.*, 1996, **70**, 526-530.

- [9] Neffe K., Kołożyn-Krajewska D.: Możliwości zastosowania bakterii probiotycznych w dojrzewających produktach mięsnych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **5 (72)**, 167-177.
- [10] Neffe-Skocińska K., Gierjekiewicz M., Kołożyn-Krajewska D.: Optymalizacja warunków procesu fermentacji polędwic surowo dojrzewających z dodatkiem bakterii probiotycznych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, **6 (79)**, 36-46.
- [11] Parolari G., Virgili R., Schivazappa C.: Relationship between cathepsin B activity and compositional parameters in dry-cured hams of normal and defective texture. *Meat Sci.*, 1994, **38**, 117-122.
- [12] Parolari G.: Review. Achievements, needs and perspectives in dry-cured ham technology: the example of Parma ham. *Food Sci. Tech. Int.*, 1996, **2**, 69-78.
- [13] Parreño M., Cussó R., Gil M., Sárraga C.: Development of cathepsins B, L and H activities and cystatin-like activity during two different manufacturing processes of Spanish dry-cured ham. *Food Chem.*, 1994, **49**, 15-21.
- [14] PN-ISO 1442:2000. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości wody (metoda odwoławcza).
- [15] PN-ISO 1444:2000. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości tłuszczu wolnego.
- [16] PN-73/A-82112. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości soli kuchennej.
- [17] PN-ISO 2917:2001. Mięso i przetwory mięsne. Pomiar pH. Metoda odwoławcza.
- [18] Ruiz-Ramírez J., Arnau J., Serra X., Gou P.: Effect of pH24, NaCl content and proteolysis index on the relationship between water content and texture parameters in biceps femoris and semimembranous muscles in dry-cured ham. *Meat Sci.*, 2006, **72**, 185-194.
- [19] Schivazappa C., Degni M., Nanni Costa L., Russo V., Buttazzoni L., Virgili R.: Analysis of raw meat to predict proteolysis in Parma ham. *Meat Sci.*, 2002, **60**, 77-83.
- [20] Serra X., Ruiz-Ramírez J., Arnau J., Gou P.: Texture parameters of m. biceps femoris from dry-cured hams as a function of water activity and water content. *Meat Sci.*, 2005, **69**, 249-254.

EFFECT OF PROBIOTIC BACTERIA ON RHEOLOGICAL PROPERTIES OF RAW-RIPENING HAMS

S u m m a r y

The objective of the research study was to assess the rheological properties of raw-ripening hams with the addition of *Lactobacillus casei* LOCK 0900 probiotic bacteria. Four variants of samples were prepared: K control sample (without the probiotic added), L sample (with the probiotic added), LG sample (with the addition of probiotic and glucose), and LGA sample (with the addition of probiotic, glucose, and sodium ascorbate). The ripening process of raw-ripening hams lasted 28 days. The following was determined: basic chemical composition, productivity, and acidity. The texture parameters were determined using a TPA test and by measuring the parameters of cutting force and cutting work as well as the penetration force. The analysis was performed immediately after the production and after the 5 month storage at a temperature of 4° C under the anaerobic conditions.

The addition of *Lactobacillus casei* 0900 LOCK probiotic bacteria to the raw-ripening hams impacted the acidity of the ham products, their acidity increased compared to the control sample. The hams with the probiotic added were characterized by similar values of texture parameters during the compression test. The variants with probiotic bacteria added showed higher values of the cutting work parameters and of the penetration force both after the manufacturing process and the storage. The obtained results of the penetration force and cutting work measurements may prove the impact of the added probiotic bacteria on the inhibition of protein proteolysis and also on the loosening of ham structure.

Key words: probiotic bacteria, raw-ripening ham, texture ☒

JUSTYNA KOZIÓŁ, KATARZYNA SKRZYPCZAK, WALDEMAR GUSTAW,
ADAM WAŚKO

WPLYW PREPARATÓW BIAŁEK MLEKA NA WZROST BAKTERII Z RODZAJU *BIFIDOBACTERIUM*

Streszczenie

Probiotyczne szczepy z rodzaju *Bifidobacterium* słabo namnażają się w mleku. Celem niniejszej pracy była modyfikacja podłoża Garchesa przez zmianę źródła azotu na wybrane preparaty białek mleka oraz sprawdzenie ich zdolności do stymulowania wzrostu bakterii probiotycznych i potencjalnie probiotycznych z rodzaju *Bifidobacterium*. Najwyższą aktywnością proteolityczną charakteryzowały się szczepy Bi30 i KD14, nieznacznie niższe wartości oznaczono w przypadku pozostałych szczepów z rodzaju *Bifidobacterium*. Najkorzystniejszą dla wzrostu szczepu Bb-12 pożywką z dodatkiem preparatów białek serwatkowych było podłoże zawierające izolat białek serwatkowych (WPI) ($1,2 \times 10^8$ jtk/ml). Na podstawie wyników uzyskanych po hodowli szczepu KN29 stwierdzono, że składnikiem podłoża hodowlanego zaprojektowanego przy użyciu modelu Placketta-Burmana, w największym stopniu stymulującym wzrost tego szczepu, były WPI oraz α -laktoalbumina (α -la). Największe zagęszczenia komórek bakterii szczepu Bb-12 i KN29 uzyskano podczas wzrostu na podłożach z dodatkiem kazeinianu sodu (KNa) i kazeinianu wapnia (KCa), a w przypadku preparatów białek serwatkowych – WPI i α -la.

Słowa kluczowe: *Bifidobacterium*, aktywność proteolityczna, plan Placketta-Burmana, WPI, α -laktoalbumina

Wprowadzenie

Wraz z poznaniem pozytywnego wpływu bakterii fermentacji mlekowej na zdrowie człowieka podjęto próby stosowania konkretnych gatunków, a nawet szczepów bakterii do produkcji mlecznych napojów fermentowanych. Probiotyczne szczepy z rodzaju *Bifidobacterium* słabo namnażają się w mleku. Przebadano wiele substancji o właściwościach prebiotycznych, które mogłyby zostać włączone w skład produktów mlecznych [9, 10]. W literaturze publikowane są liczne informacje dotyczące stymulowania wzrostu bakterii z rodzaju *Bifidobacterium* przez oligosacharydy [7, 11, 18,

Dr J. Kozioł, mgr inż. K. Skrzypczak, dr A. Waśko, Katedra Biotechnologii, Żywnienia Człowieka i Towaroznawstwa Żywności; dr hab. W. Gustaw, Katedra Technologii Owoców, Warzyw i Grzybów; Wydż. Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Skromna 8, 20-704 Lublin

26, 28]. Znacznie mniej badań dotyczyło wykorzystania różnych białek mleka jako substancji stymulujących wzrost bakterii probiotycznych.

Białka mleka mają bogaty skład aminokwasowy i zawierają wszystkie niezbędne aminokwasy, które są źródłem azotu organicznego dla bakterii [12, 17]. Kazeinoma-kropeptyd (CMP) wzbudził największe zainteresowanie wśród białek mleka ze względu na jego właściwości stymulujące wzrost bakterii probiotycznych. W badaniach nad wpływem CMP na wzrost bakterii z rodzaju *Bifidobacterium* nie uzyskano jednak jednoznacznych wyników. Azuma i wsp. [1] zaobserwowali stymulujący wpływ CMP wyizolowanego z mleka kobycego na wzrost *B. infantis*. Poch i Bezkorovainy [24] nie stwierdzili podobnej zależności przy wykorzystaniu CMP z mleka krowiego. Natomiast Idota i wsp. [15] z powodzeniem wykorzystali CMP z mleka krowiego jako stymulator wzrostu *Bifidobacterium* spp. Odmiennie wyniki prawdopodobnie były spowodowane różną zawartością aminocukrów w CMP pochodzącym z mleka kobycego i krowiego – ich udział w CMP z mleka krowiego jest trzy razy mniejszy [22]. Udowodniono również wpływ kazeinianu sodu na stymulację wzrostu bakterii probiotycznych. Mleczne napoje fermentowane suplementowane tym dodatkiem charakteryzowały się większą liczbą komórek *B. animalis* ssp. *lactis* niż produkty, w których źródłem białka było tylko odtłuszczone mleko w proszku. Określono również wpływ różnych kombinacji preparatów białkowych, z których najlepszymi stymulatorami wzrostu *B. animalis* ssp. *lactis* okazał się koncentrat białek serwatkowych (WPC), zastosowany wraz z kazeinianem sodu oraz odtłuszczone mlekiem w proszku. Na tym podłożu liczba bakterii z rodzaju *Bifidobacterium* wynosiła 7,8 log jtk/ml w porównaniu z 6,9 log jtk/ml w próbie kontrolnej [21].

Celem niniejszej pracy była modyfikacja podłoża Garchesa przez zmianę źródła azotu na wybrane preparaty białek mleka i określenie ich zdolności do stymulowania wzrostu bakterii probiotycznych i potencjalnie probiotycznych z rodzaju *Bifidobacterium*.

Material i metody badań

W badaniach zastosowano następujące preparaty białek mleka: odtłuszczone mleko w proszku (OMP) (OSM Krasnystaw), koncentraty białek serwatkowych WPC 35 (Laktopol, Warszawa), WPC 65 i WPC 80 (Milei, Leutkirch, Niemcy), izolat białek serwatkowych (WPI) (Milei, Leutkirch, Niemcy), serwatkę w proszku (SP) (OSM Krasnystaw), serwatkę w proszku demineralizowaną (SPD) (Euroserum, Port-sur-Saône, Francja), serwatkę w proszku o obniżonej zawartości laktozy (SPOL) (Foremokus Baraboo, WI, USA), kazeinoglikomakropeptyd (CGMP) i α - laktoalbuminę (α - la) (Arla Food, Dania), kazeinian sodu (KNa) i wapnia (KCa) (Polsero, Sokołów Podlaski). Skład chemiczny preparatów przedstawiono w tab. 1.

W badaniach wykorzystano również ekstrakt drożdżowy, peptobak, i chlorowodorek cysteiny (BTL Polska), laktozę (PARK Scientific Ltd. Northampton, U. K), octan sodu, wodorofosforan sodu i diwodorofosforan potasu (POCH, Gliwice).

W badaniach użyto następujących szczepów bakterii: Bb-12 – *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* (Chr. Hansen, Polska), ATCC1567 – *Bifidobacterium infantis* (American Type Culture Collection), KN29 – *Bifidobacterium longum*, KD14 – *Bifidobacterium catenulatum* i Bi30 – *Bifidobacterium animalis* (PAN, Olsztyn).

Tabela 1

Skład chemiczny preparatów białek mleka (wg producentów) [%].

Chemical composition of milk protein preparations (by manufacturers) [%].

Lp. No.	Preparat Preparate	Białko Protein	Laktoza Lactose	Tłuszcz Fat	Zw. miner. jako popiół Ash	Woda Water
1.	OMP	32,40	51,20	0,75	–	3,35
2.	PMP	26,00	38,00	26,25	–	3,15
3.	WPC 35	35,50	48,50	3,70	7,70	4,50
4.	WPC 65	65,00	20,00	5,00	4,00	5,00
5.	WPC80	80,00	5,00	5,00	3,00	5,00
6.	WPI	90,00	1,00	1,00	2,00	5,00
7.	SP	10,10	69,20	8,50	8,10	3,90
8.	SPD	12,50	79,90	1,30	2,70	3,10
9.	SPOL	23,70	–	–	14,80	2,81
10.	CGMP	85,00	2,00	0,50	6,50	5,00
11.	α-LA	88,00	10,00	2,00	5,00	5,50
12.	KNa	88,20	–	1,50	–	5,80
13.	KCa	88,15	–	1,50	–	5,95

Określenie wpływu składników podłoża na wzrostu szczepów z rodzaju Bifidobacterium z wykorzystaniem planu Placketta-Burmana

Wpływ wybranych preparatów białek mleka na wzrost szczepów z rodzaju *Bifidobacterium* badano, wykorzystując plan Placketta-Burmana. Skład kombinacji podłoży hodowlanych Garchesa wyznaczono za pomocą programu statystycznego Statistica 8.0 (StatSoft, Polska). Obejmował on 12 podłoży bulionu Garchesa o zróżnicowanym składzie (tab. 2).

Tabela 2

Skład podłoży hodowlanych Garchesa po modyfikacjach.
Modification of the Garches media composition.

Nr podłoża Medium No.	Składniki podłoża / Compounds in medium										
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
1.	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-
2.	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-
3.	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-
4.	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+
5.	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	-
6.	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+
7.	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
8.	-	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-
9.	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+
10.	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+
11.	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+

Objaśnienia: / Explanatory notes:

A – ekstrakt drożdżowy/ yeast extract, B – peptobak, C – chlorowodorek cysteiny/ cysteine hydrochloride, D – laktoza/ lactose, E – octan sodu/ sodium acetate, F – Na₂HPO₄, G – KH₂PO₄, H – WPI, I – WPC 80, J – CGMP, K – α-la.

Szczepy *Bifidobacterium* przechowywano w sterylnym roztworze glicerolu w temp. -80 °C. W celu przygotowania inoculum odważano składniki bulionu Garchesa o podstawowym składzie [27]. Zawiesiny komórek bakteryjnych przenoszono po 100 µl do przygotowanego wcześniej bulionu Garchesa. Zaszczepione pożywki inkubowano w cieplarni w temp. 37 °C przez 24 h. Otrzymane inoculum służyło do zaszczepiania właściwych podłoży hodowlanych. Hodowle wszystkich szczepów bakterii z rodzaju *Bifidobacterium* prowadzono w probówkach, w 10 ml jałowego bulionu Garchesa o zmodyfikowanym składzie. Każde z 12 podłoży sporządzano w dwóch powtórzeniach. Podłoża zaszczepiano 100 µl inoculum oraz zatykano watą. Korki nasączano 250 µl 30-procentowego roztworu pirogalolu oraz 250 µl nasyconego roztworu kwasnego węgla sodu. Dodatkowo próbki zamykano gumowymi korkami w celu zapewnienia beztlenowych warunków wzrostu. Hodowle prowadzono w cieplarni w temp. 37 °C przez 72 h. Po inkubacji szczepów bakteryjnych na podłożach z dodatkiem komponentów białkowych wykonywano szereg rozcieńczeń hodowli płynnych w celu przygotowania posiewów płytkowych. Inkubację płytek prowadzono w słojach do hodowli beztlenowych (OXOID, Hampshire, UK) z użyciem wkładów AnaeroGEN

(OXOID, Hampshire, UK). Hodowle prowadzono przez 72 h w temp. 37 °C. Po zakończeniu hodowli bakteryjnych obliczano ogólną liczbę bakterii [20].

Określenie wpływu wybranych preparatów białek mleka na dynamikę wzrostu szczepów z rodzaju Bifidobacterium z wykorzystaniem pomiaru gęstości optycznej hodowli bakteryjnych (OD)

Podłoża hodowlane sterylizowano w autoklawie w temp. 121 °C przez 15 min. Po wystudzeniu każdą z pożywek przenoszono za pomocą pipety automatycznej do dołków na mikropłytkach hodowlanych (każda mikropłytką zawierała 100 ponumerowanych dołków) w ilości 350 µl do każdego dołka. Każdy rodzaj podłoża hodowlanego o zmodyfikowanym składzie przenoszony był do 10 dołków, z czego dwa pierwsze stanowiły próbę kontrolną (do nich przenoszono po 400 µl podłoża hodowlanego), natomiast pozostałe zaszczepiano 50 µl inoculum. Hodowle bakteryjne prowadzono w aparacie Bioscreen C (OY Growth Curves, Finlandia) w temp. 37 °C przez 96 h.

Oznaczanie aktywności proteolitycznej szczepów z rodzaju Bifidobacterium

Aktywność proteolityczną oznaczano metodą OPA [4]. W celu oznaczenia tej aktywności poszczególne szczepy namnażano na podłożu MRS w temp. 37 °C przez 12 h. Do 10-procentowego regenerowanego mleka odtłuszczonego dodawano 1% zawiesiny komórek bakteryjnych. Po dokładnym wymieszaniu próbki inkubowano w temp. 37 °C przez 24 h, łącznie z próbą kontrolną (mleko bez dodatku bakterii). Do 2,5 ml fermentowanego mleka, dokładnie wymieszanego przy użyciu vortexu, dodawano 0,5 ml wody destylowanej i 5 ml 0,75 M TCA (kwas trichlorooctowy) (Sigma-Aldrich, Polska), po czym mieszano do czasu koagulacji mleka. Do odwirowanego (13000 × g przez 15 min.) i przeniesionego do kwarcowej kuwety supernatantu (50 µl) dodawano 1 ml OPA (FLUKA, Buchs, Szwajcaria). Po wymieszaniu roztwór inkubowano przez 2 min. w temp. otoczenia. Następnie mierzono absorbancję ($\lambda = 340$ nm) w stosunku do próby kontrolnej, przy użyciu spektrofotometru BIO-RAD Smart SpecTM Plus (Hercules, USA). Obliczano ilość uwolnionych α -aminokwasów (mM/l). Analizę wykonywano w trzech powtórzeniach.

Analiza statystyczna

Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej przy użyciu programu Statistica 8.0 (StatSoft, Polska). Ocenę istotności różnic pomiędzy wartościami średnimi szacowano testem Tukeya na poziomie istotności $p < 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Bakterie z rodzaju *Bifidobacterium* potrzebują do wzrostu wolnych aminokwasów i peptydów w podłożu. Mleko jest słabą pożywką dla bakterii probiotycznych, co

prawdopodobnie wynika z niewielkiej zawartości wolnych aminokwasów, jak i słabej aktywności proteolitycznej bakterii, szczególnie z rodzaju *Bifidobacterium* [24, 29]. W tab. 3. przedstawiono aktywność proteolityczną badanych szczepów z rodzaju *Bifidobacterium*. Najwyższą aktywnością proteolityczną charakteryzowały się szczepy Bi30 i KD14, nieznacznie niższe wartości oznaczono w przypadku pozostałych szczepów *Bifidobacterium*.

Tabela 3

Aktywność proteolityczna szczepów z rodzaju *Bifidobacterium* [mM/l].

Proteolytic activity of strains of *Bifidobacterium* genus [mM/l].

Bb-12 $\bar{x} \pm s / SD$	ATCC1567 $\bar{x} \pm s / SD$	KN29 $\bar{x} \pm s / SD$	KD14 $\bar{x} \pm s / SD$	Bi30 $\bar{x} \pm s / SD$
991 ^a ± 147	1061 ^a ± 10	907 ^a ± 103	1524 ^b ± 201	1693 ^b ± 80

Objaśnienia: / Explanatory notes:

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

Różnice między wartościami średnimi oznaczonymi różnymi literami są statystycznie istotne ($p < 0,05$) / Differences between mean values denoted by different letters are statistically significant ($p < 0.05$).

Donkor i wsp. [8], po przeanalizowaniu zdolności proteolitycznych *B. lactis* B94 i *B. longum* Bl 536 po 24 h fermentacji, stwierdzili, że były one o około 50 % mniejsze w porównaniu z *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. W badaniach poświęconych określeniu wpływu wybranych bakterii probiotycznych na proteolizę serów podczas dojrzewania stwierdzono, że *B. lactis* nie wykazał żadnej działalności proteolitycznej w przeciwieństwie do *L. acidophilus* [2].

W tab. 4. przedstawiono wyniki badań liczby szczepów *Bifidobacterium* hodowanych na modyfikowanych podłożach Garchesa. Skład podłoży wyliczono, stosując plan Placketta-Burmana zgodnie z wcześniej stosowaną metodyką [25, 30]. Najkorzystniejszym podłożem hodowanym z dodatkiem preparatów białek serwatkowych do wzrostu szczepu Bb-12 okazało się podłoże nr 2, zawierające WPI ($1,2 \times 10^8$ jtk/ml). W przypadku szczepu ATCC1567 najlepszą kombinacją było również podłoże nr 2 zawierające WPI ($4,9 \times 10^7$ jtk/ml). W przypadku szczepu KB14 stwierdzono, że najlepszymi zmodyfikowanymi podłożami hodowanymi były kombinacje nr 4 ($3,1 \times 10^7$ jtk/ml), 5 ($3,1 \times 10^7$ jtk/ml) i 6 ($3,1 \times 10^7$ jtk/ml). W skład tych podłoży wchodziły następujące preparaty białek mleka: CGMP, WPC80 jak i α -la. Szczep KN29 namnażał się najlepiej na podłożu zmodyfikowanym nr 5 ($2,4 \times 10^7$ jtk/ml), zawierającym CGMP oraz WPC80. Natomiast najlepszą pożywką dla szczepu Bi30 było podłoże nr 7 ($6,5 \times 10^7$ jtk/ml), w którym jako komponenty białkowe zastosowano WPC80 oraz α -la.

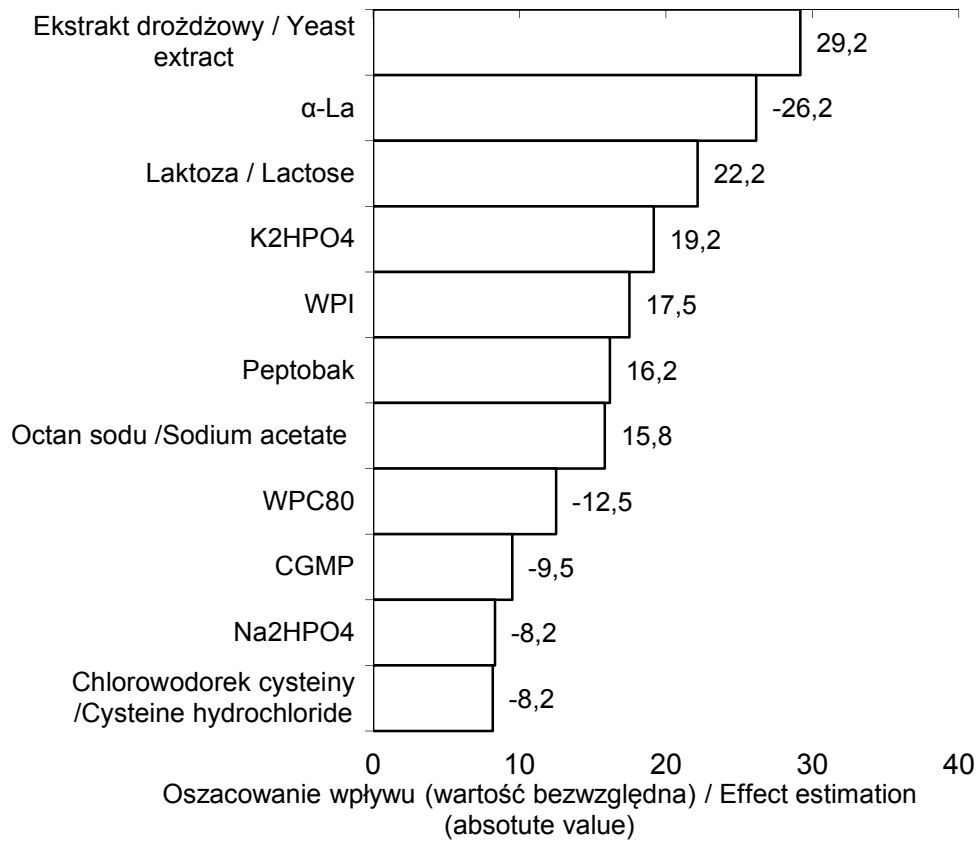
Tabela 4

Liczba bakterii różnych szczepów z rodzaju *Bifidobacterium* na podłożu Garches o zmodyfikowanym składzie wyznaczonym wg planu Placketta-Burmana [jtk/ml].

Bacteria count of different strains of *Bifidobacterium* genus in Garches medium having composition modified according to Plackett-Burman design [cfu/ml].

Nr podłoża Culture medium number	Bb-12	ATCC1567	KB14	Kn29	Bi30
1	$3,3 \times 10^7$	$2,8 \times 10^7$	$1,1 \times 10^7$	$1,1 \times 10^7$	$3,0 \times 10^7$
2	$1,2 \times 10^8$	$4,9 \times 10^7$	$1,6 \times 10^7$	$1,0 \times 10^7$	$3,7 \times 10^6$
3	$8,0 \times 10^6$	$4,9 \times 10^6$	$1,0 \times 10^7$	$6,4 \times 10^6$	$2,2 \times 10^7$
4	$4,4 \times 10^7$	$9,0 \times 10^6$	$3,1 \times 10^7$	$5,6 \times 10^6$	$3,2 \times 10^7$
5	$2,0 \times 10^7$	$3,4 \times 10^7$	$3,1 \times 10^7$	$2,4 \times 10^7$	$2,7 \times 10^7$
6	$1,9 \times 10^7$	$1,4 \times 10^7$	$3,0 \times 10^7$	$9,0 \times 10^6$	$5,0 \times 10^7$
7	$2,4 \times 10^7$	$1,3 \times 10^7$	$2,4 \times 10^6$	$7,6 \times 10^6$	$6,5 \times 10^7$
8	$1,2 \times 10^7$	$1,8 \times 10^7$	$2,3 \times 10^7$	$1,4 \times 10^7$	$2,3 \times 10^7$
9	$1,1 \times 10^7$	$1,1 \times 10^7$	$9,5 \times 10^6$	$9,4 \times 10^6$	$1,9 \times 10^7$
10	$1,6 \times 10^7$	$2,6 \times 10^7$	$1,7 \times 10^7$	$1,7 \times 10^7$	$3,0 \times 10^7$
11	$2,2 \times 10^7$	$3,7 \times 10^6$	$1,2 \times 10^7$	$1,1 \times 10^7$	$3,1 \times 10^6$
12	$3,1 \times 10^1$	$5,0 \times 10^1$	$1,0 \times 10^2$	$8,6 \times 10^1$	$1,5 \times 10^2$

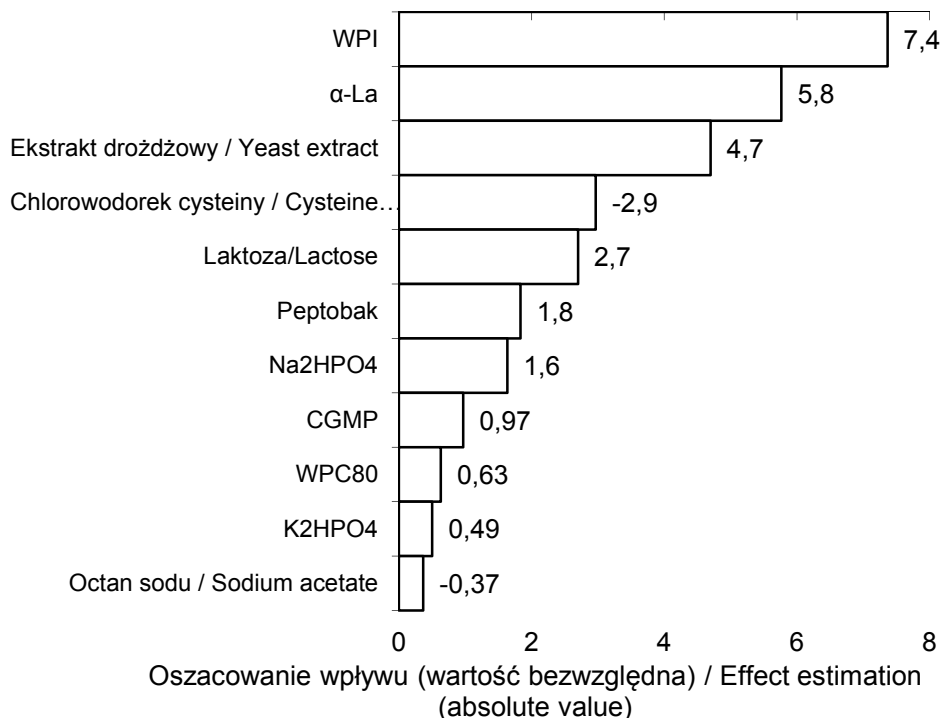
Wyniki badań przedstawione w tab. 4. poddano analizie wariancji z zastosowaniem programu statystycznego Statistica 8.0 (StatSoft, Polska). Poszczególne składniki wchodzące w skład podłoża hodowlanych wpływały w różnym stopniu na wzrost analizowanych szczepów bakterii z rodzaju *Bifidobacterium*. Preparaty białkowe, takie jak: WPI, i α -la stymulowały wzrost badanych szczepów bakteryjnych. Uzyskane wyniki przedstawiono na rysunkach 1 – 3. Najlepszym komponentem wpływającym na wzrost szczepu Bb-12 był ekstrakt drożdżowy oraz α -la (rys. 1). Wartości ujemne widoczne przy niektórych składnikach podłoża wskazywały na zastosowanie ich w maksymalnej ilości w podłożu. Większa ilość danego składnika nie będzie miała dodatkowego wpływu na wzrost badanego szczepu bakterii. Wodorofosforan sodu i chlorowodorek cysteiny nie miały większego wpływu na namnażanie się szczepu Bb-12.



Rys. 1. Wpływ komponentów podłoża na wzrost szczepu *B. animalis* ssp. *lactis* - Bb-12.

Fig. 1. Effect of medium components on growth of *B. animalis* ssp. *lactis* - Bb-12 strain.

Składnikami podłoża hodowlanego w największym stopniu stymulującym wzrost szczepu KN29 były WPI (7,4) oraz α -la (5,8) (rys. 2). Na wzrost badanego szczepu najslabszy wpływ miały K_2HPO_4 (0,49) oraz octan sodu (-0,37). Najlepszym stymulatorem wzrostu szczepu ATCC1567 był ekstrakt drożdżowy (18,2). Udziały laktozy (9,6) oraz α -la (9,5) były na podobnym poziomie. Wpływ CGMP (0,87) był nieistotny w stymulacji wzrostu szczepu ATCC1567.



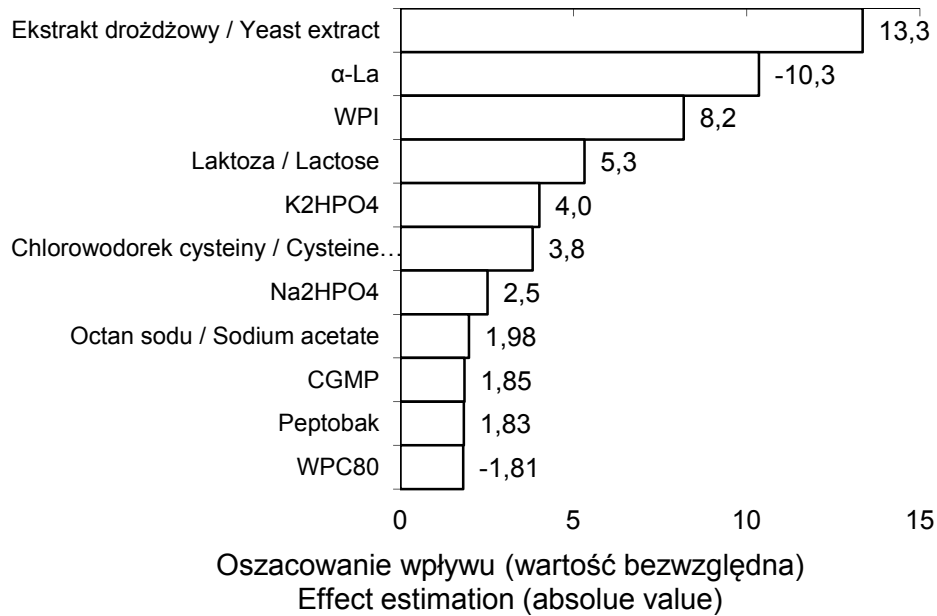
Rys. 2. Wpływ komponentów podłoża na wzrost szczepu *B. longum* -KN29.

Fig. 2. Effect of medium components on growth of *B. longum* -KN29 strain.

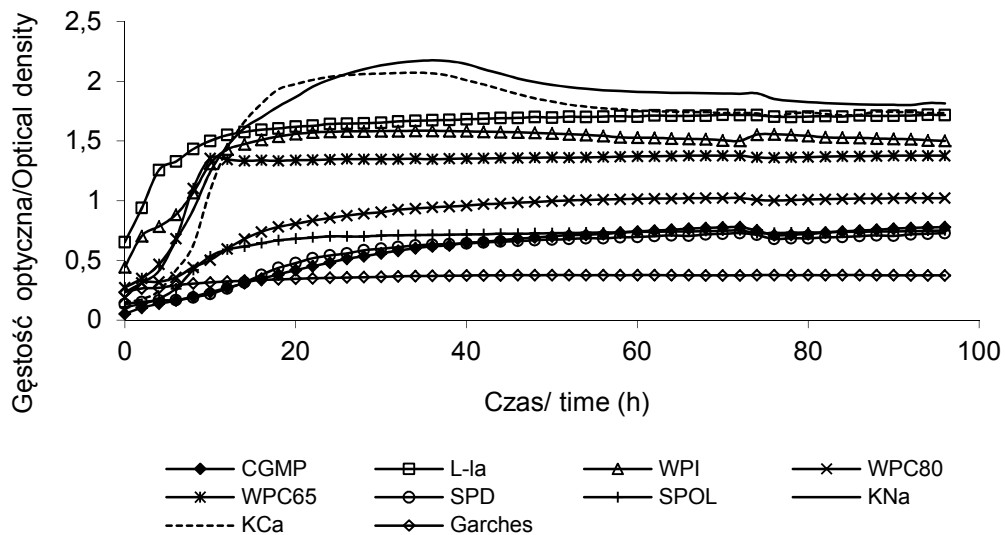
Substancjami, które najlepiej stymulowały wzrost szczepu KD14 okazały się ekstrakt drożdżowy (13,3) oraz α -la (-10,3) (rys. 3). Nieznacznie mniejszy wpływ na wzrost wyżej wymienionego szczepu miał WPI (8,2). Jednak w porównaniu z pozostałymi składnikami podłoża hodowlanego jego udział w stymulacji wzrostu KD14 można określić jako znaczny. Najmniejszy wpływ na namnażanie szczepu KD14 wywierał dodatek WPC80 (-1,81).

Czynnikami promującymi wzrost szczepu BI30 były α -la i WPI. Pozostałe składniki podłoża słabiej wpływały na wzrost szczepu Bi30. Natomiast komponentami podłoża hodowlanego, które wykazały niewielki wpływ na stymulację wzrostu szczepu Bi30 były octan sodu i laktoza (5,8).

Janer i wsp. [16] stwierdzili stymulowanie wzrostu *B. longum*, *B. bifidum*, *B. breve* i *B. infantis* dodatkiem WPI i hydrolizatu pepsynowego WPI [16]. Petschow i Talbott [23] wykazali, że α -la z mleka krowiego stymulowała wzrost *B. breve* i *B. infantis*. Białko to wpływało na poprawę namnażania *Bifidobacterium* spp. już przy stężeniu 3,5 mg/ml [14].

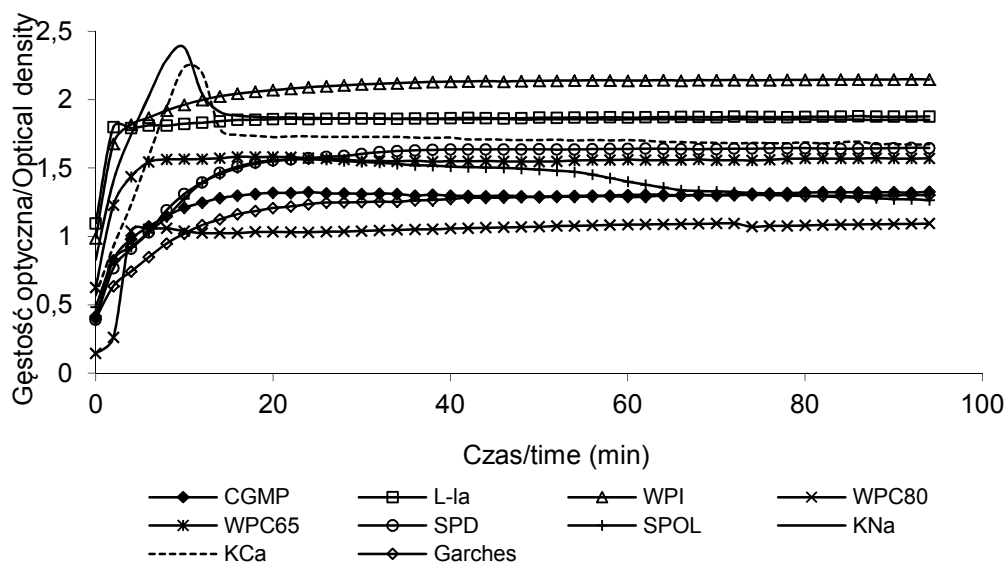


Rys. 3. Wpływ komponentów podłoża na wzrost szczepu *B. catenulatum* -KD14.
Fig. 3. Effect of medium components on growth of *B. catenulatum* -KD14 strain.



Rys. 4. Wpływ białek mleka na wzrost szczepu Bb-12 (*B. animalis* ssp. *lactis*) na podłożu Garchesa podczas 96 h hodowli w temp. 37 °C.
Fig. 4. Effect of milk proteins on growth of *B. animalis* ssp. *lactis* Bb-12 strain on Garches medium during 96 h incubation at a temperature of 37 °C.

W następnym etapie przebadano wpływ szerokiej gamy preparatów białkowych na wzrost bakterii z rodzaju *Bifidobacterium*. Na rys. 4 - 6 przedstawiono zmiany gęstości optycznej (OD) podczas hodowli wybranych szczepów *Bifidobacterium* na zmodyfikowanym podłożu Garchesa w ciągu 96 h. Najwyższe wartości OD zanotowano podczas wzrostu szczepu Bb-12, na podłożach z dodatkiem KNa i KCa, co wskazuje na największe zagęszczenie komórek bakterii na tych podłożach (rys. 4). Hodowle z dodatkiem KNa oraz KCa osiągnęły największą gęstość optyczną pomiędzy 15. a 40. godziną inkubacji. Po 40 h hodowli wartość OD utrzymywała się na podobnym poziomie do końca trwania inkubacji. Otrzymane wyniki potwierdzają obserwacje innych naukowców, którzy wykazali lepszy wzrost *B. animalis* ssp. *lactis* w fermentowanych produktach otrzymywanych z dodatkiem kazeinianu sodu w porównaniu z produktami, w których źródłem białka było tylko odtłuszczone mleko w proszku [21]. Wzbogacenie mleka hydrolizatami kazeiny wpływało na polepszenie właściwości fermentacyjnych *Bifidobacterium* spp. [29].



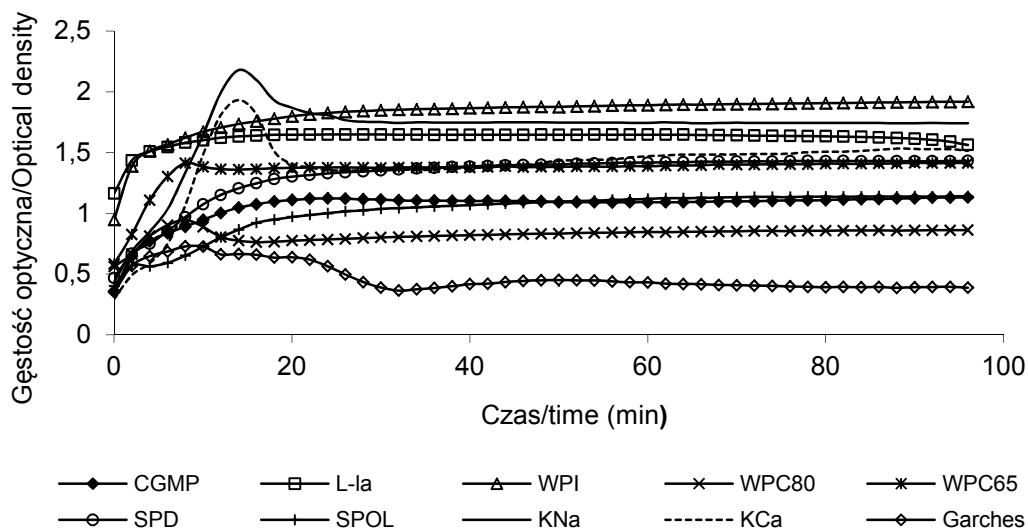
Rys. 5. Wpływ białek mleka na wzrost szczepu *B. longum* - KN29 na podłożu Garchesa podczas 96 h hodowli w temp. 37 °C.

Fig. 5. Effect of milk proteins on growth of *B. longum* - KN29 strain on Garches medium during 96 h incubation at a temperature of 37 °C.

Niższy, jednak również znaczny, wpływ na wzrost Bb-12 miał dodatek α -la oraz WPI. Uzyskane w tym doświadczeniu wyniki potwierdzają, że WPI i α -la stymulują wzrost tego szczepu, co stwierdzono w badaniach z wykorzystaniem planu Placketta-Burmana. Szczep Bb-12 charakteryzował się najslabszym wzrostem na pożywce Gar-

chesa o podstawowym składzie, której gęstość optyczna utrzymywała się na podobnym poziomie przez cały okres hodowli (rys. 4).

Podobnie, jak w przypadku hodowli szczepu Bb-12, również szczep KN29 charakteryzował się największym zagęszczeniem komórek bakteryjnych w hodowlach na podłożach z dodatkiem WPI, KNa, KCa i α -la (rys. 5). Na krzywych obrazujących zależność gęstości optycznej od czasu hodowli w podłożach z dodatkiem KNa i KCa zaobserwowano piki, które osiągnęły maksymalne wartości po 10 h inkubacji. Po tym czasie wartości OD obniżyły się do pewnego poziomu, na którym utrzymały się do czasu zakończenia hodowli. Znaczny wzrost liczby komórek bakterii w pierwszych godzinach i wyraźne zmniejszenie podczas dalszej hodowli można tłumaczyć wykorzystaniem np. wolnych aminokwasów w podłożu. Pozostałe hodowle szczepu KN29 osiągnęły najwyższe wartości OD po 10 h inkubacji, a liczba komórek bakteryjnych utrzymywała się na podobnym poziomie do końca prowadzenia hodowli. Jedynie w przypadku podłoża suplementowanego SPOL nastąpiło nieznaczne zmniejszenie gęstości optycznej hodowli bakteryjnej od 26 h inkubacji i utrzymywało się na tym poziomie do końca trwania hodowli. Szczep KN29 charakteryzował się najsłabszym wzrostem na podłożu z dodatkiem WPC80. Hodowla ta, jako jedyna, charakteryzowała się niższymi wartościami OD w porównaniu z hodowlą na podłożu Garchesa o podstawowym składzie.



Rys. 6. Wpływ białek mleka na wzrost szczepu *B. catenulatum* - KD14 na podłożu Garchesa podczas 96 h hodowli w temp. 37 °C.

Fig. 6. Effect of milk proteins on growth of *B. catenulatum* - KD14 strain on Garches medium during 96 h incubation at a temperature of 37 °C.

W przypadku szczepów KD14 (rys. 6), Bi30 i ATCC1567 (dane niezamieszczone), dodatek WPI, α -la oraz KCa i KNa do podłoża hodowlanego miał największy wpływ na namnażanie się bakterii. Wyraźne stymulowanie wzrostu bakterii z rodzaju *Bifidobacterium* przez WPI i α -la w tych hodowlach potwierdza wyniki uzyskane przy zastosowaniu planu Placketta-Burmana. Hodowle KD14 na podłożach z dodatkiem KCa i KNa znacznie szybciej osiągnęły maksymalne wartości OD, bo już po 14 h inkubacji. Po tym czasie, w obu przypadkach wartość OD zmniejszyła się do pewnego poziomu, który nie zmieniał się do końca trwania hodowli. Wartość gęstości optycznej hodowli na podłożu z KCa po 20 h była niższa w porównaniu z hodowlą z dodatkiem WPI. Hodowle bakteryjne na podłożach z WPI, KNa oraz α -la charakteryzowały się wyższymi wartościami OD w porównaniu z hodowlą na podłożach z dodatkiem KCa do końca trwania inkubacji. Najślabszy wzrost szczepu KD14 zaobserwowano na podłożu Garchesa o podstawowym składzie.

Najślabszy wzrost wszystkich badanych w niniejszej pracy szczepów *Bifidobacterium* obserwowano na pożywkach zawierających dodatek serwatki w proszku, WPC80 i CGMP. Zbliżone wyniki otrzymali Čurda i Cicvárek [6], dodając 1 lub 2 % kazeinomakropeptydu (CMP) do jogurtów, których mikroflorę wzbogacono o *B. animalis* ssp. *lactis* Bb-12 lub *B. bifidum* CCDM 94. Dodatek CMP wywierał nieznaczny wpływ na wzrost Bb-12 oraz CCDM 94. W innych doniesieniach naukowych publikowane są sprzeczne informacje dotyczące wpływu CMP na wzrost bakterii z rodzaju *Bifidobacterium* [15, 16, 24], Idota i wsp. [15] stwierdzili, że dodatek 2 % CMP do mleka powodował wzrost liczby komórek *B. animalis lactis* o 1,5 cyklu logarytmicznego w porównaniu z próbą kontrolną. Cicvárek i wsp. [5], na podstawie badań na podłożach syntetycznych, stwierdzili, że dodatek CMP przyspieszał namnażanie komórek *Bifidobacterium* sp., nawet gdy usunięto z podłoża L-cysteinę. Pozytywny wpływ koncentratu białek serwatkowych na wzrost *B. longum* stwierdzili Kehagias i wsp. [19]. Dodatek 3 % WPC20 lub WPC65 do odtłuszczonego mleka krowiego zwiększał liczbę komórek *B. longum* o jeden cykl logarytmiczny (odpowiednio $2,90 \times 10^8$ i $2,87 \times 10^8$) w porównaniu z próbą kontrolną ($2,35 \times 10^7$) po 24 h inkubacji.

Bakterie z rodzaju *Bifidobacterium* wytwarzają wewnątrz- i zewnątrzkomórkowe enzymy glikolityczne, z których te pierwsze charakteryzują się większą aktywnością enzymatyczną. W grupie biokatalizatorów przemian szlaku glikolitycznego stwierdzono u bifidobakterii występowanie α - i β -galaktozydazy [3]. β -galaktozydazy wyizolowane z bifidobakterii charakteryzowały się różną specyficznością substratową i niektóre nie hydrolizowały laktozy [13]. Bakterie z tego rodzaju wykorzystane w niniejszej pracy nie namnażały się dobrze na pożywkach zawierających duże ilości laktozy, takich jak serwatki w proszku czy koncentraty białek serwatkowych. W przypadku większości badanych szczepów *Bifidobacterium* rosły one lepiej na serwatce o obniżonej zawartości laktozy (SPOL) niż na zwykłej serwatce w proszku.

Wnioski

1. Spośród badanych szczepów bakterii z rodzaju *Bifidobacterium* największą aktywnością proteolityczną charakteryzowały się szczepy KD14, Bi30 i Bb-12.
2. Po zastosowaniu hodowli na podłożach modelowych z wykorzystaniem planu Placketta-Burmana wykazano, że wśród zastosowanych preparatów białkowych decydujący wpływ na wzrost Bb-12 i ATCC 1567 miała α -la, a w przypadku szczepów Bi30, KN29 i KD14 były to WPI oraz α -la.
3. Kazeiniany sodu i wapnia najlepiej stymulowały wzrost szczepów *Bifidobacterium* w modyfikowanym podłożu Garchesa.
4. Izolat białek serwatkowych i α -laktoalbumina, wśród preparatów białek serwatkowych, miały największy wpływ na namażanie szczepów *Bifidobacterium*.

Literatura

- [1] Azuma, N., Yamauchi, K., Mitsuoka, T.: Bifidus growthpromoting activity of a glycomacropeptide derived from human κ -casein. *Agr. Biol., Chem.*, 1984, **48**, 2159-2162.
- [2] Bergamini C.V., Hynes E.R., Palma S.B., Sabbag N.G., Salazar C.A.: Proteolytic activity of three probiotic strains in semi-hard cheese as single and mixed cultures: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus paracasei* and *Bifidobacterium lactis*. *Int. Dairy J.*, 2009, **19**, 467-475.
- [3] Borawska J., Bednarski W., Gołębiewska J.: Charakterystyka sacharydów miodu oraz możliwości zastosowania *Bifidobacterium* do modyfikacji ich składu i właściwości. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, **3 (76)**, 29-39.
- [4] Church F.C., Swaisgood H.E., Porter D.H., Catignani G.L.: Spectrophotometric assay using o-phthalaldehyde for determination of proteolysis in milk and isolated milk proteins. *J. Dairy Sci.* 1983, **66**, 1219-1227.
- [5] Cícvárek J., Čurda L., Elich O., Dvorakova E., Dvorak M.: Effect of caseinomacropeptide concentrate addition on the growth of bifidobacteria. *Czech J. Food Sci.*, 2010, **28(6)**, 485-494.
- [6] Čurda L., Cícvárek J.: Use of caseinomacropeptide concentrate in fermented products containing probiotics. *Proc.Konf., FoodInnova, Walencja 2010*.
- [7] de Castro F.P., Cunha T.M., Ogliari P.J.F., Teofilo R.F., Ferreira M.M.C., Prudencio E.S.: Influence of different content of cheese whey and oligofructose on the properties of fermented lactic beverages: Study using response surface methodology. *Food Sci. Technol.*, 2009, **42**, 993-997.
- [8] Donkor O.N., Henriksson A., Vasiljevic T., Shah N.P.: Proteolytic activity of dairy lactic acid bacteria and probiotics as determinant of growth and in vitro angiotensin-converting enzyme inhibitory activity in fermented milk, *Lait*, 2007, **86**, 21-38.
- [9] Gomes A.M.P., Malcata F.X., Klaver F.A.M.: Growth enhancement of *Bifidobacterium lactis* Bo and *Lactobacillus acidophilus* Ki by milk hydrolyzates. *J. Dairy Sci.*, 1998, **81**, 2817-2825.
- [10] Gomes, A.M.P., Malcata, F.X.: Use of small ruminants' milk supplemented with available nitrogen as growth media for *Bifidobacterium lactis* and *Lactobacillus acidophilus*. *J. Appl. Microbiol.*, 1998, **85**, 839-848.
- [11] Gustaw W., Kordowska-Wiater M., Koziol J.: The influence of selected prebiotics on the growth of lactic acid bacteria for bio-yoghurt production. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.*, 2011, **4**, 455-466.
- [12] Hajirostamloo B.: Comparison of nutritional and chemical parameters of soymilk and cow milk. *World Academy of Science, Eng. Technol.*, 2009, **57**, 436-438.

- [13] Hinz S.W.A., van den Broek L.A.M., Beldman G., Vincken J.-P., Voragen A.G.J.: β -Galactosidase from *Bifidobacterium adolescentis* DSM20083 prefers β -(1,4)-galactosides over lactose. Appl. Microbiol. Biotechnol., 2004, **66** (3), 276-284.
- [14] Ibrahim S.A., Bezkorovainy A.: Growth-promoting factors for *Bifidobacterium longum*. J. Food Sci., 1994, **59**, 189-191.
- [15] Idota T., Kawakami H., Nakajima I.: Growth-promoting effects of N-acetylneuraminic acid-containing substances on bifidobacteria. Biosci. Biotech. Bioch., 1994, **58**, 1720-1722.
- [16] Janer C., Peláez C., Requena T.: Caseinomacropptide and whey protein concentrate enhance *Bifidobacterium lactis* growth in milk. Food Chem., 2004, **86**, 263-267.
- [17] Kafley S., Woan-Sub K.I.M., Kumura H., Shimazaki K.-I.: Growth performance of whey protein hydrolysates in the media on different strains of probiotic bacteria. Milchwissenschaft., 2010, **65** (3), 245-248.
- [18] Kaplan H., Hutkins R.W.: Fermentation of fructooligosaccharides by Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria. Appl Environ. Microbiol., 2000, **66** (6), 2682-2684.
- [19] Kehagias C., Csapó J., Konteles S., Kolokitha E., Koulouris S., Csapó-Kiss Zs.: Support of growth and formation of D-amino acids by *Bifidobacterium longum* in cows', ewes', goats' milk and modified whey powder products. Int. Dairy J. 2008, **18**, 396-402.
- [20] Kisiełowska E., Kordowska-Wiater M.: Ćwiczenia z mikrobiologii ogólnej i mikrobiologii żywności. Wyd. Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, Lublin 2004.
- [21] Marafon A.P., Sumi A., Alcántara M.R., Tamime A.Y., Oliveira M.N.: Optimization of the rheological properties of probiotic yoghurts supplemented with milk proteins. Food Sci. Technol., 2011, **44**, 511-519.
- [22] Modler H.W.: Bifidogenic factors – sources, metabolism and applications. Int. Dairy J. 1994, **4**, 383-407.
- [23] Petschow, B.W., Talbott, R.D.: Response of *Bifidobacterium* species to growth promoters in human and cow milk. Pediatric Res., 1991, **29**, 208-213.
- [24] Poch M., Bezkorovainy A.: Bovine milk κ -casein trypsin digest is a growth enhancer for the genus *Bifidobacterium*. J. Agric. Food Chem., 1991, **39**, 73-77.
- [25] Polak-Berecka M., Waśko A., Kordowska-Wiater M., Podleśny M., Targoński Z., Kubik-Komar A.: Optimization of medium composition for enhancing growth of *Lactobacillus rhamnosus* PEN using response surface methodology. Pol J Microbiol., 2010 **59** (2), 113-118.
- [26] Ramirez-Farias C., Slezak K., Fuller Z., Duncan A., Holtrop G., Louis P.: Effect of inulin on the human gut microbiota: stimulation of *Bifidobacterium adolescentis* and *Faecalibacterium prausnitzii*. Br. J. Nutr., 2009, **101** (4), 541-550.
- [27] Rasic J.L.: Culture media for detection and enumeration of bifidobacteria in fermented dairy products. Bull. IDF, 1990, **252**, 24-34.
- [28] Rossi M., Corradini C., Amaretti A., Nicolini M., Pompei A., Zaroni S., Matteuzzi D.: Fermentation of fructooligosaccharides and inulin by bifidobacteria: a comparative study of pure and fecal cultures. Appl. Environ. Microbiol., 2005, **71** (10), 6150-6158.
- [29] Shihata A., Shah N.P.: Proteolytic profiles of yogurt and probiotic bacteria. Int. Dairy J., 2000, **10**, 401-408.
- [30] Waśko A., Kordowska-Wiater M., Podleśny M., Polak-Berecka M., Targoński Z., Kubik-Komar A.: The plackett-burman design in optimization of media components for biomass production of *Lactobacillus rhamnosus* OXY. Acta Agron. Hung., 2010, **61** (3), 344-355.

EFFECT OF MILK PROTEIN PREPARATIONS ON GROWTH OF *BIFIDOBACTERIUM*

S u m m a r y

Probiotic strains of the *Bifidobacterium* genus multiply poorly in milk. The objective of this study was to modify the Garches medium through replacing a nitrogen source by some selected milk protein preparations and to verify their ability to stimulate the growth of probiotic strains of the *Bifidobacterium* genus. The Bi30 and KD14 strains were characterized by the highest proteolytic activity; slightly lower values were determined for other strains of the *Bifidobacterium* genus. For the growth of Bb-12 (1.2×10^8 cfu/ml), the most favourable medium was that containing a whey protein isolate (WPI). Based on the results obtained after the incubation of KN29, it was found that the WPI and α -lactalbumin (α -la), the compounds of the culture medium that was designed using a Plackett-Burman model, were those to stimulate the growth of that strain to the highest degree. The highest density of cells of Bb-12 and KN29 bacteria was reported during the incubation of those strains on the media supplemented with a sodium caseinate (KNa) and calcium caseinate (KCa), and in the case of the whey protein preparations, this effect was reported for the media with WPI and α -la.

Key words: *Bifidobacterium*, proteolytic activity, Plackett-Burman design, WPI, α -lactalbumin ☒

ANNA MITUNIEWICZ-MAŁEK, IZABELA DMYTRÓW, JERZY BALEJKO,
MAŁGORZATA ZIARNO

**KOMERCYJNE KULTURY PROBIOTYCZNE *LACTOBACILLUS* SP.
(*LB. PARACASEI*, *LB. CASEI* I *LB. ACIDOPHILUS*) W NAPOJACH
FERMENTOWANYCH Z MLEKA KOZIEGO**

Streszczenie

Od kilku lat obserwuje się wzrost spożycia produktów zawierających szczepy o właściwościach probiotycznych. Za mikroorganizmy probiotyczne uznaje się głównie bakterie kwasu mlekowego z rodzaju *Lactobacillus*, ze szczególnym uwzględnieniem *Lb. acidophilus*, *Lb. paracasei*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. casei* oraz *Lb. johnsonie*. Dodatkowo do grupy tej zalicza się niektóre szczepy *Lb. plantarum*, a także *Bifidobacterium bifidum* i *Bifidobacterium longum*.

Celem badań było wyprodukowanie napojów fermentowanych nowej generacji z mleka koziego przy użyciu komercyjnych kultur probiotycznych *Lactobacillus* sp., zawierających pojedyncze szczepy (*Lb. paracasei*, *Lb. casei* i *Lb. acidophilus*) oraz ocena ich cech jakościowych podczas trzytygodniowego przechowywania (5 ± 1 °C). Wyprodukowano trzy warianty wyrobów doświadczalnych: NP-A (z udziałem *Lb. paracasei* AD 400), NP-B (z udziałem *Lb. casei* 01) i NP-C (z udziałem kultury Lyofast La 3 zawierającej szczep *Lb. acidophilus* 3). Napoje doświadczalne oceniono sensorycznie oraz poddano analizie mikrobiologicznej, fizykochemicznej i reologicznej, odpowiednio po 1, 7, 14 i 21 dniach przechowywania w warunkach chłodniczych.

Stwierdzono, że doświadczalne napoje fermentowane z mleka koziego charakteryzowały się bardzo dobrymi i dobrymi cechami sensorycznymi oraz wymaganą liczbą żywych komórek bakterii probiotycznych (co najmniej 10^6 jtk/g) podczas przechowywania. Kwasowość miareczkowa, pH, zawartość aldehydu octowego, lepkość oraz twardość istotnie zależały od rodzaju badanego napoju i czasu chłodniczego przechowywania.

Słowa kluczowe: mleko kozie fermentowane, kultury probiotyczne, cechy jakościowe, tekstura

Dr inż. A. Mituniewicz-Malek, dr inż. I. Dmytrów, Zakład Technologii Mleczarskiej i Przechowalnictwa Żywności, dr hab. J. Balejko, prof. nadzw., Zakład Inżynierii Procesowej i Maszynoznawstwa, Wydz. Nauk o Żywności i Rybactwa, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, ul. Papieża Pawła IV 3, 71-459 Szczecin, dr hab. inż. M. Ziarno, Zakład Biotechnologii Mleka, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa

Wprowadzenie

Mleko kozie jest źródłem cennych składników odżywczych i często może być stosowane jako zamiennik mleka krowiego. Podobnie wartościowe są przetwory z mleka koziego, takie jak: sery podpuszczkowe i twarogowe, masło oraz mleko fermentowane charakteryzujące się podwyższoną wartością odżywczą i dietetyczną. Wzrasta produkcja i spożycie wyrobów zawierających szczepy o właściwościach probiotycznych. Za mikroorganizmy probiotyczne uznaje się głównie bakterie kwasu mlekowego z rodzaju *Lactobacillus*, ze szczególnym uwzględnieniem *Lb. acidophilus*, *Lb. paracasei*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. casei*, *Lb. plantarum* oraz *Lb. johnsonie* [2]. Do grupy tej zalicza się także *Bifidobacterium longum* i *Bifidobacterium bifidum* [8].

Celem badań było wyprodukowanie z mleka koziego napojów fermentowanych nowej generacji przy użyciu komercyjnych kultur probiotycznych *Lactobacillus* sp. zawierających pojedyncze szczepy (*Lb. paracasei*, *Lb. casei* i *Lb. acidophilus*,) oraz ocena ich cech jakościowych podczas trzytygodniowego przechowywania ($5 \pm 1^\circ\text{C}$).

Material i metody badań

Surowcem do produkcji fermentowanych napojów doświadczalnych było zbiorcze mleko kozie, zakupione na początku lipca 2011 roku w indywidualnym gospodarstwie ekologicznym „JASIONEK Hodowla kóz” w Cewlinie k. Koszalina. Mleko pasteryzowano metodą zbiornikową ($85^\circ\text{C}/15 - 20$ min), schładzano do temp. 40°C i normalizowano dodatkiem koziego proszku mlecznego (firmy Danmis, Polska) do 14 % zawartości suchej masy. Następnie mleko dzielono na trzy części i każdą z nich zaszczipiano jedną z trzech, wcześniej uaktywnionych (5 % zakwasu roboczego), komercyjnych kultur bakterii *Lactobacillus* sp. o potencjalnych właściwościach probiotycznych.

Przygotowano trzy warianty prób:

- NP-A – z udziałem monokultury *Lb. paracasei* AD 400 (Kanadyjski Instytut Rosell Inc.),
- NP-B – z udziałem kultury *Lb. casei* 01 (firma Ch. Hansen, Dania),
- NP-C – z udziałem kultury starterowej Lyofast La 3 (Sacco, Polska), zawierającej szczep *Lb. acidophilus* 3.

Inkubację prowadzono w temp. 40°C do uzyskania skrzepu, po czym napoje schładzano do temp. $5 \pm 1^\circ\text{C}$ i w takich warunkach przechowywano przez trzy tygodnie. Łącznie chłodniczemu przechowywaniu poddano 96 próbek.

Próbki do analiz pobierano po 1, 7, 14 i 21 dniach chłodniczego przechowywania. W mleku przerobowym oznaczano zawartość: suchej masy, białka ogółem [40] i tłuszczu [27], określano gęstość, kwasowość miareczkową [5] oraz kwasowość czynną [40]. Napoje doświadczalne oceniano sensorycznie oraz poddawano analizie mikrobio-

logicznej, fizykochemicznej i reologicznej (lepkość i twardość). Ocenę sensoryczną przeprowadzał przeszkolony zespół składający się z pięciu osób. Oceniano wygląd, smak, zapach i konsystencję napojów w skali 5-punktowej [29]. Analiza mikrobiologiczna obejmowała oznaczenie w napojach fermentowanych liczby komórek mikroflory technicznej metodą płytkową wgłębną, w dwóch równoległych powtórzeniach próbek i trzech niezależnych powtórzeniach każdego analizowanego napoju. Do fermentacji mleka koziego wykorzystywano monokulturę bakterii, dlatego do posiewów zastosowano pożywkę MRS Agar [22] sporządzoną z gotowego preparatu podłoża (firmy Merck). Przygotowanie próbek do analiz mikrobiologicznych, jak również przygotowanie rozcieńczeń wykonywano zgodnie z zaleceniami normy [28]. Płytki z posiewami inkubowano w temp. 37 °C przez 72 h w warunkach beztlenowych, korzystając z anaerostatów wyposażonych we wkłady anaerocult A (firmy Merck). Po zakończeniu inkubacji płytek z posiewami wynik przeliczano na liczbę jednostek tworzących kolonię w 1 g produktu (jtk/g). Analiza fizykochemiczna obejmowała oznaczenie: kwasowości miareczkowej w °SH [5], kwasowości czynnej (pH) przy użyciu pehametru (model Q 150) i zawartości aldehydu octowego [20]. Pomiar lepkości wykonywano za pomocą układu współosiowych cylindrów z podwójną szczeliną na reometrze American Instruments AR 2000. Lepkość pozorną prób badawczych określano w zakresie szybkości ścinania od 1 do 400 s⁻¹, utrzymując w trakcie trwania testu stałą temperaturę próbki (moduł Peltiera). Analizę profilu tekstury (TPA) wykonywano przy użyciu analizatora tekstury TA.XT plus firmy Stable Micro System z zestawem komputerowym. Próbkę napoju penetrowano walcem aluminiowym o średnicy 20 mm na głębokości 25 mm z szybkością 5 mm·s⁻¹ i siłą nacisku 1 G [14]. Kierując się dostępną literaturą [31], w pracy ograniczono się do analizy twardości jako głównego parametru tekstury.

Wyniki analiz mikrobiologicznych i fizykochemicznych opracowano statystycznie. Przeprowadzono jedno- lub dwuczynnikową analizę wariancji z powtórzeniami (ANOVA). Do oszacowania różnic między dwoma wartościami średnimi zależnymi i niezależnymi zastosowano testy t-Studenta i Cochrań-Coxa. Testowanie prowadzono na poziomie istotności $p = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Mleko kozie wzbogacone proszkiem mlecznym przeznaczone do produkcji napojów doświadczalnych zawierało średnio 14 % suchej masy, w tym 3,85 % białka ogółem i 3,50 % tłuszczu, a kwasowość miareczkowa oraz czynna (pH) kształtowały się odpowiednio na poziomie 6,95°SH i 6,02. Podobne zawartości składników suchej masy oraz kwasowości mleka koziego wzbogaconego proszkiem mlecznym oznaczyli Domagała i Wszolek [11], a także Abrahamsen i Holmen [1].

W tab. 1. przedstawiono liczbę komórek mikroflory technicznej (starterowej), a w tab. 2. średnie wyniki oceny sensorycznej, cech fizykochemicznych oraz twardości i lepkości wyprodukowanych napojów fermentowanych z mleka koziego w okresie 21-dniowego chłodniczego przechowywania. W tab. 3 zestawiono wyniki dwuczynnikowej analizy wariancji wskaźników fizykochemicznych i reologicznych. Stwierdzono statystycznie istotne ($p = 0,05$) różnice między napojami, jak również istotny wpływ czasu przechowywania na kwasowość miareczkową, pH, zawartość aldehydu octowego oraz lepkość i twardość. Wykazano również istotne interakcje obu badanych czynników w odniesieniu do wszystkich wyróżników jakości (kwasowości miareczkowej, pH, zawartości aldehydu octowego, lepkości i twardości) napojów fermentowanych z mleka koziego.

Tabela 1

Liczba komórek mikroflory starterowej w kozich napojach fermentowanych w czasie 21-dniowego chłodniczego przechowywania [log jtk/g].

Count of cells of starter microflora in goat's fermented milks during 21 day period of cooling storage [log cfu/g].)

Czas przechowywania [dni] Storage time [days]	NP-A	NP-B	NP-C
1	7,7 ± 0,1 ^a	7,9 ± 0,3 ^b	7,5 ± 0,3 ^c
7	7,5 ± 0,2 ^a	7,9 ± 0,4 ^b	7,4 ± 0,3 ^c
14	7,2 ± 0,2 ^a	7,3 ± 0,4 ^b	7,4 ± 0,2 ^c
21	7,5 ± 0,2 ^a	7,4 ± 0,3 ^b	7,3 ± 0,1 ^c

Objaśnienia: / Explanatory notes:

wartość średnia ± odchylenie standardowe / mean value ± standard deviation; n = 6;

NP-A – napój wyprodukowany przy użyciu szczepionki *Lb. paracasei* AD 400 / drink produced with the use of *Lb. paracasei* AD 400; NP-B – napój wyprodukowany przy użyciu szczepionki *Lb. casei* 01 inoculant/ drink produced with the use of *Lb. casei* 01 inoculant; NP-C – napój wyprodukowany przy użyciu szczepionki *Lb. acidophilus* 3 / drink produced with the use of *Lb. acidophilus* 3 inoculant;

a, b, c – różne indeksy przy wartościach średnich w tej samej kolumnie oznaczają statystycznie istotne różnice między tymi średnimi ($p = 0,05$) / different superscripts at mean values in the same column denote statistically significant differences among those mean values ($p = 0.05$).

Mimo rosnącej popularności mleka koziego niewiele jest prac badawczych na temat dynamiki rozwoju i przeżywalności w nim bakterii fermentacji mlekowej, a szczególnie szczepów probiotycznych. Z tego względu wyniki analizy mikrobiologicznej uzyskane w niniejszych badaniach porównano z odnośnymi wynikami mleka krowiego fermentowanego monokulturami bakterii mlekowych. Początkowa średnia liczba komórek mikroflory technicznej (starterowej) w uzyskanych kozich napojach fermento-

wanych zawierała się w zakresie $3,1 \times 10^7$ - $8,5 \times 10^7$ jtk/g. Przez cały okres chłodniczego przechowywania populacja szczepów probiotycznych użytych do produkcji tych napojów nie zmieniła się statystycznie istotnie ($p = 0,05$) i wszystkie napoje doświadczalne charakteryzowały się normatywną liczbą żywych komórek (co najmniej 10^6 jtk/g).

Otrzymane wyniki są zgodne z wynikami uzyskanymi przez Zarebę i wsp. [37] w przypadku mleka krowiego fermentowanego monokulturą *Lb. casei* i przechowywanego w temp. 6 °C przez cztery tygodnie. W całym okresie przechowywania próbek liczba *Lb. casei* nie zmniejszała się poniżej koniecznego minimum, a nawet pozostawała na wysokim poziomie: powyżej 10^8 jtk/cm³. W drugim tygodniu przechowywania liczba *Lb. casei* osiągnęła nawet wartość bliską 10^{10} jtk/cm³. W cytowanych badaniach zaobserwowano natomiast odmienne tendencje przeżywalności bakterii z gatunku *Lb. acidophilus*, w przypadku których liczba żywych komórek uległa silnej redukcji w czasie 4-tygodniowego chłodniczego przechowywania i osiągnęła poziom zaledwie 10^3 jtk/g. Okazuje się, że przeżywalność bakterii mlekowych w mleku fermentowanym i chłodniczo przechowywanym zależy od wielu czynników, m.in. od czasu i temperatury fermentacji, warunków przechowywania produktu finalnego, jego kwasowości, zawartości suchej substancji i cukrów, dostępu bakterii do substancji odżywczych, obecności tlenu, a także od rodzaju, gatunku i szczepu bakterii kwasu mlekowego użytych do fermentacji [16, 38, 39, 25]. Minervini i wsp. [23] badali przeżywalność 4 monokultur pałeczek mlekowych: *Lb. casei* LC01, *Lb. helveticus* PR4, *Lb. acidophilus* 2949 i *Lb. plantarum* 1288 w fermentowanym mleku kozim, przechowywanym następnie w temp. 4 °C przez 45 dni. Bezpośrednio po zakończeniu fermentacji liczba żywych pałeczek mlekowych osiągała 10^7 - 10^8 jtk/g, natomiast po 45 dniach przechowywania fermentowanego mleka w warunkach chłodniczych uległa statystycznie istotnej redukcji (do 7,0 i 7,4 log jtk/g odpowiednio w przypadku *Lb. casei* LC01 oraz *Lb. helveticus* PR4) lub nie zmieniła się (*Lb. plantarum* 1288). Liczba komórek mikroflory starterowej w mlecznych napojach fermentowanych powinna wynosić co najmniej 10^7 jtk/g, co zostało określone w wytycznych FIL/IDF i FAO/WHO [9]. Przy takiej liczbie bakterii konieczne jest spożycie co najmniej 10 g produktu. Kryterium liczby musi być spełnione w całym okresie przydatności do spożycia. W przypadku mikroflory probiotycznej poziom żywych bakterii powinien wynosić co najmniej 10^6 jtk/g i jest określony mianem minimum terapeutycznego [19]. Ziarno i wsp. [41] wykazali, że przeżywalność probiotycznych szczepów bakterii fermentacji mlekowej (w tym *Lb. acidophilus* La-5 i *Lb. casei* subsp. *paracasei* LCP) w modelowych jogurtach borówkowych była na poziomie gwarantującym spełnienie kryterium minimum terapeutycznego przez co najmniej 12 tygodni. W odniesieniu do zacytowanych danych literaturowych można stwierdzić, że kozie napoje fermentowane, uzyskane w niniejszych badaniach, również spełniały kryterium minimum terapeutycznego przez cały czas ich chłodniczego przechowywania.

Wyprodukowane napoje fermentowane z mleka koziego przez 21 dni przechowywania charakteryzowały się bardzo dobrą i dobrą jakością sensoryczną (tab. 2). Najwyżej oceniono napój, do produkcji którego użyto szczepionki *Lb. paracasei* AD 400. Przez cały okres chłodniczego składowania napój ten wyróżniał się jednolitą, zwartą konsystencją, która po wymieszaniu wykazywała tendencję do ciągliwości, co jest typowe dla produktów zawierających potencjalnie probiotyczne szczepionki. Niższe oceny pozostałych dwóch napojów (NP-B i NP-C) wynikały ze stopniowego pogarszania się ich jakości (bardziej wyczuwalnego koziego posmaku, minimalnego podcieku serwatki i rozluźnienia konsystencji). Obniżenie jakości sensorycznej napojów fermentowanych z mleka koziego podczas chłodniczego przechowywania stwierdzili również Borek-Wojciechowska [4] oraz Pieczonka i Pasionek [26].

Kwasowość miareczkowa napojów fermentowanych kształtowała się od 30,4 do 49,0 °SH, przy czym najniższą stwierdzono w produkcie NP-B z udziałem monokultury *L. casei* 01, a najwyższą w produkcie NP-A z monokulturą *L. paracasei* AD 400 odpowiednio po 1 i 21 dniach chłodniczego przechowywania. Kwasowość miareczkowa wszystkich napojów fermentowanych zwiększała się podczas przechowywania (tab. 2). Podczas składowania doświadczalnych napojów fermentowanych stwierdzono dość znaczne wahania kwasowości czynnej (pH). Największe stwierdzono po 7 dniach (NP-B i NP-C), a w próbie NP-A – po 14 dniach. Ostatecznie jednak po 21 dniach chłodniczego przechowywania we wszystkich napojach fermentowanych nowej generacji oznaczono istotny spadek pH w stosunku do wartości po 1 dniu (tab. 2). Danków i wsp. [10] analizowali grupę napojów fermentowanych z mleka koziego i stwierdzili wpływ okresu przechowywania na kwasowość, zarówno miareczkową, jak i czynną. Cais-Sokolińska i Pikul [6], a także Bonczar i Wszolek [3] tłumaczą wahania kwasowości mleka ukwaszonego podczas chłodniczego przechowywania działalnością fermentacyjną drobnoustrojów wchodzących w skład szczepionek, które w temperaturze 4°C rozkładają w dalszym ciągu laktozę, choć znacznie wolniej niż w temperaturach optymalnych dla wzrostu bakterii fermentacji mlekowej.

Związki aromatotwórcze są produktami metabolizmu węglowodanów, tłuszczów, białek i cytrynianów, których przemiany podczas dojrzewania i przechowywania produktów fermentowanych są możliwe dzięki uwalnianym przez bakterie enzymom proteolitycznym i lipolitycznym [15, 36]. Dzwolak i wsp. [15], a także Libudzisz [21] twierdzą, że różnorodność składników wpływających na aromat mleka fermentowanego jest zdeterminowana właściwościami szczepów bakterii stosowanych do jego produkcji. Bakterie fermentacji mlekowej mogą wytwarzać 0,1-10,0 mg·dm⁻³ aldehydu octowego [18, 32]. Zawartość tego związku w napojach fermentowanych stanowiących materiał badań była nieznaczna i kształtowała się w granicach od 0,399 mg·dm⁻³ do 1,779 mg·dm⁻³. Małą zawartość aldehydu octowego w jogurtach z mleka koziego wykazali Cais-Sokolińska i wsp. [7] oraz Mituniewicz-Malek i wsp. [24]. Jak wynika

z ich badań, w napojach fermentowanych z mleka koziego, w porównaniu z mlekiem krowim, trudno o dużą zawartość aldehydu octowego, co warunkowane jest ponad dwudziestokrotnie większą zawartością w nich glicyny działającej inhibicyjnie na aldozę treoninową, przekształcającą treoninę w aldehyd octowy i glicynę [33, 30].

W ciągu trzech tygodni chłodniczego przechowywania twardość napojów fermentowanych mieściła się w zakresie od 0,250 do 0,489 N, przy czym większe jej wartości stwierdzono w napoju z udziałem szczepionki *Lb. paracasei* AD 400 (NP-A), a mniejsze – w napoju wyprodukowanym przy użyciu szczepionki *Lb. casei* 01 (NP-B). Po zakończeniu doświadczenia (po 21 dniach), we wszystkich produktach, stwierdzono wzrost twardości w odniesieniu do wartości po 1 dniu (tab. 2). Również w przypadku lepkości najwyższe oraz najniższe jej wartości zaobserwowano odpowiednio: w napoju NP-A i NP-B. W trzecim badanym produkcie (NP-C), do wyrobu którego wykorzystano kulturę starterową Lyofast La 3, zawierającą szczep *Lb. acidophilus* 3, lepkość osiągnęła wartości w granicach od 0,355 mPa·s do 0,635 mPa·s. Dodatkowo, po trzech tygodniach lepkość wszystkich produktów, podobnie jak twardość, była wyższa niż w pierwszym okresie prowadzonych badań (po 1 dniu). Wpływ rodzaju szczepionki na teksturę napoju fermentowanego (jogurtu i biojogurtu) z mleka koziego badali Domagała i Wszolek [11]. Stwierdzili oni, że rodzaj stosowanej szczepionki wpływa na jakość produktów fermentowanych. Wyniki napojów fermentowanych nowej generacji, produkowanych przy użyciu komercyjnych kultur probiotycznych *Lactobacillus sp.* (*Lb. paracasei*, *Lb. casei*, i *Lb. acidophilus*), uzyskane w wyniku badania będącego przedmiotem niniejszego opracowania, są zgodne z wynikami tych autorów [11]. Warto jednak zaznaczyć, że Domagała [12] oraz Domagała i Juszcak [13], na podstawie wcześniejszego badania wpływu rodzaju szczepionki na teksturę jogurtów i biojogurtów z mleka koziego stwierdzili, że rodzaj szczepionki nie wpływa istotnie na zmiany jakości sensorycznej, lepkości pozornej i parametrów tekstury w grupie samych jogurtów czy biojogurtów. Istotne różnice wartości ww. parametrów stwierdzono jednak między jogurtami i biojogurtami [12, 13]. Z danych literaturowych [11, 34, 35, 17] wynika także, że na właściwości teksturalne napojów fermentowanych, produkowanych z mleka koziego, znaczący wpływ ma czas chłodniczego przechowywania. Domagała [12] stwierdził, że w przypadku jogurtu z mleka koziego po przechowywaniu nastąpiło zwiększenie lepkości pozornej, podczas gdy twardość produktu pozostała na niezmiennym poziomie. Wzrost lepkości pozornej chłodniczo przechowywanych jogurtów z mleka koziego zaobserwowali także Karademir i wsp. [17].

Tabela 2

Wybrane cechy jakościowe napojów fermentowanych z mleka koziego.
Quality properties of fermented drinks of goat's milk.

Cecha / Feature	NP-A									NP-B									NP-C																																
	Czas przechowywania / Storage time [days]																																																		
	1	7	14	21	1	7	14	21	1	7	14	21	1	7	14	21	1	7	14	21	1	7	14	21	1	7	14	21																							
Ocena sensoryczna [pkt] Sensory evaluation [scores]	5,0	5,0	5,0	5,0	4,63	4,63	4,63	4,63	4,63	4,63	4,63	4,63	4,63	4,63	4,63	4,63	4,63	4,63	4,63	4,63	4,63	4,63	4,63	4,63	4,63	4,63	4,63	4,63																							
Kwasowość miareczkowa Titratable acidity [°SH]	35,87	35,20	43,33	49,00	30,40	44,13	43,47	42,93	35,73	44,40	44,93	46,00	5,08	4,84	4,33	4,27	5,33	4,53	4,62	4,41	5,08	4,50	4,51	4,39	0,525	0,776	0,821	0,842	0,489	0,399	0,429	0,747	0,531	0,283	0,415	0,407	0,635	0,355	0,462	0,414	0,302	0,511	0,489	0,25	0,379	0,324	0,351	0,308	0,385	0,417	0,466
pH	5,08	4,84	4,33	4,27	5,33	4,53	4,62	4,41	5,08	4,50	4,51	4,39	0,525	0,776	0,821	0,842	0,489	0,399	0,429	0,747	0,531	0,283	0,415	0,407	0,635	0,355	0,462	0,414	0,302	0,511	0,489	0,25	0,379	0,324	0,351	0,308	0,385	0,417	0,466												
Aldehyd octowy Acetate aldehyde [mg·dm ⁻³]	0,525	0,777	0,404	0,476	1,779	0,747	0,429	0,399	0,489	0,449	0,816	0,575	0,776	0,821	0,462	0,842	0,333	0,531	0,283	0,415	0,407	0,635	0,355	0,462	0,414	0,302	0,511	0,489	0,25	0,379	0,324	0,351	0,308	0,385	0,417	0,466															
Lepkość Viscosity [mPa·s]	0,776	0,821	0,462	0,842	0,333	0,531	0,283	0,415	0,407	0,635	0,355	0,462	0,414	0,302	0,511	0,489	0,25	0,379	0,324	0,351	0,308	0,385	0,417	0,466	0,414	0,302	0,511	0,489	0,25	0,379	0,324	0,351	0,308	0,385	0,417	0,466															
Twardość Hardness [N]	0,414	0,302	0,511	0,489	0,25	0,379	0,324	0,351	0,308	0,385	0,417	0,466	0,414	0,302	0,511	0,489	0,25	0,379	0,324	0,351	0,308	0,385	0,417	0,466	0,414	0,302	0,511	0,489	0,25	0,379	0,324	0,351	0,308	0,385	0,417	0,466															

Objasnienia: / Explanatory notes:

NP-A – napój wyprodukowany przy użyciu szczepionki *Lb. paracasei* AD 400 / drink produced with the use of *Lb. paracasei* AD 400; NP-B – napój wyprodukowany przy użyciu szczepionki *Lb. casei* 01 inoculant / drink produced with the use of *Lb. casei* 01 inoculant; NP-C – napój wyprodukowany przy użyciu szczepionki *Lb. acidophilus* 3 / drink produced with the use of *Lb. acidophilus* 3 inoculant

Tabela 3

Wyniki dwuczynnikowej analizy wariancji wskaźników fizykochemicznych i reologicznych napojów fermentowanych z mleka koziego.

Results of bi-factor analysis of variance of physicochemical indicators and rheological fermented drinks from goat's milk.

Cecha / Feature	Czynnik / Factor	F	P	Test F
Kwasowość miareczkowa Titratable acidity [$^{\circ}\text{SH}$]	Czas przechowywania Storage time	565,403	2,18E-22*	3,008
	Rodzaj napoju Type of drink	43,144	1,13E-08*	3,402
	Interakcje Interactions	93,015	2,03E-15*	2,508
pH / pH	Czas przechowywania Storage time	848,999	1,76E-24*	3,009
	Rodzaj napoju Type of drink	30,267	2,74E-07*	3,403
	Interakcje Interactions	54,491	8,36E-13*	2,508
Aldehyd octowy Acetate aldehyde [$\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$]	Czas przechowywania Storage time	424,944	6,33E-21*	3,009
	Rodzaj napoju Type of drink	371,337	8,86E-19*	3,403
	Interakcje Interactions	645,184	2,69E-25*	2,508
Lepkość Viscosity [$\text{mPa}\cdot\text{s}$]	Czas przechowywania Storage time	43,2120	7,86E-10*	3,009
	Rodzaj napoju Type of drink	114,460	5,33E-13*	3,403
	Interakcje Interactions	5,306	0,001*	2,508
Twardość Hardness [N]	Czas przechowywania Storage time	26,238	9,45E-08*	3,009
	Rodzaj napoju Type of drink	35,287	7,13E-08*	3,403
	Interakcje Interactions	13,188	1,42E-06*	2,508

*różnice statystycznie istotne ($p = 0,05$) / statistically significant differences ($p = 0.05$).

Uysal i wsp. [35] stwierdzili wzrost twardości jogurtów i biojogurtów z tego samego mleka oraz z mieszaniny mleka koziego i krowiego po 14 dniach chłodniczego przechowywania.

Wnioski

1. Wyprodukowane z mleka koziego napoje fermentowane nowej generacji zawierające pojedyncze szczepy probiotyczne *Lactobacillus* sp. (*Lb. paracasei* AD 400, *Lb. casei* 01 oraz *Lb. acidophilus* 3) charakteryzowały się bardzo dobrymi i dobrymi cechami sensorycznymi przez cały okres chłodniczego przechowywania.
2. Populacja szczepów *Lb. paracasei* AD 400, *Lb. casei* 01 oraz *Lb. acidophilus* 3 użytych do produkcji kozich napojów fermentowanych utrzymywała się na zbliżonym poziomie podczas 21-dniowego przechowywania w warunkach chłodniczych.
3. Z udziałem komercyjnych szczepionek probiotycznych *Lactobacillus* sp. (*Lb. paracasei* AD 400, *Lb. casei* 01 oraz *Lb. acidophilus* 3) możliwe jest otrzymanie kozich napojów fermentowanych spełniających kryterium minimum terapeutycznego.
4. Wskaźniki fizykochemiczne i reologiczne istotnie zależały od rodzaju badanego napoju fermentowanego i czasu chłodniczego przechowywania.

Literatura

- [1] Abrahamsen R.K., Holmen T.B.: Yoghurt from hyperfiltrated, ultrafiltrated and evaporated milk and from milk with added milk powder. *Milchwiss.*, 1981, **35** (7), 399-402.
- [2] Avonts L., van Uytven E., de Vuyst L.: Cell growth and bacteriocin production of *Lactobacillus* strains in different media. *Int. Dairy J.*, 2004, **14** (11), 947-955.
- [3] Bonczar G., Wszolek M.: Jakość i trwałość kefiru i jogurtu produkowanego z mleka owczego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 1997, **1** (10), 60-68.
- [4] Borek-Wojciechowska R.: Zmiany cech organoleptycznych jogurtów z mleka koziego podczas przechowywania. *Przegl. Mlecz.*, 2001, **1** (10), 60-61.
- [5] Budślawski J.: Badanie mleka i jego przetworów. PWRiL, Warszawa 1973.
- [6] Cais-Sokolińska D., Pikul J.: Wpływ chłodniczych temperatur przechowywania na jakość i trwałość jogurtu naturalnego. *Chłodnictwo*, 2001, **8-9**, 84-88.
- [7] Cais-Sokolińska D., Danków R., Wojciechowski J.: Preparat skrobi o ustabilizowanej lepkości w technologii produkcji jogurtów z mleka krowiego, koziego i owczego. *Przegl. Mlecz.*, 1996, **11**, 345-347.
- [8] Cebeci A., Gürakan C.: Properties of potential probiotic *Lactobacillus plantarum* strains. *Food Microbiol.*, 2003, **20** (5), 511-518.
- [9] Codex Standard For Fermented Milks 2010. Codex Stan 243-2003. Adopted in 2003. Revision 2008, 2010, http://www.codexalimentarius.net/download/standards/400/CXS_243e.pdf.
- [10] Danków R., Matylla P., Pikul J.: Wpływ przechowywania w warunkach chłodniczych na jakość jogurtów z mleka koziego. *Chłodnictwo*, 2000, XXXV, **9**, 74-76.
- [11] Domagała J., Wszolek M.: Wpływ sposobu zagęszczania oraz rodzaju szczepionki na teksturę i podatność na synerезę jogurtu i biojogurtu z mleka koziego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **6** (61), 118-126.
- [12] Domagała J.: Zmiany tekstury i mikrotekstury jogurtu z mleka koziego pod wpływem wybranych czynników. *Zesz. Nauk. AR*, **425**, Kraków 2005.
- [13] Domagała J., Juszcak L.: Flow behaviour of goat's milk yoghurts and bioyoghurts. *EJPAU, Food Sci. Technol.*, 2003, **7**, 2.
- [14] Domagała J., Wszolek M.: Wpływ sezonowych zmian w składzie mleka koziego na teksturę jogurtu. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2000, **2** (23), 70-77.

- [15] Dzwolak W., Ziajka S., Chmura S., Baranowska M.: Produkcja mlecznych napojów fermentowanych. Wyd. Hoża, Warszawa 2000.
- [16] Kailasapathy K., Harmstorf I., Philips M.: Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis* ssp *lactis* in stirred fruit yoghurts. LWT Food Sci. Technol., 2008, **41** (7), 1317-1322.
- [17] Karademir E., Atamer M., Tamucay B., Yaman S.: Some properties of goat milk yoghurts produced by different fortification methods. Milchwiss., 2002, **57** (5), 261-263.
- [18] Kornacki K.: Mikrobiologia mleka i jego przetworów. W: Mleczarstwo – zagadnienia wybrane. Red. S. Ziajka. T. I. Wyd. ART, Olsztyn 1997, ss. 119-161.
- [19] Lee Y.K., Salminen S.: The coming of age of probiotics. Trends Food Sci. Technol., 1995, **6**, 241-245.
- [20] Lees G.J., Jago G.R.: Methods for the estimation of acetaldehyde in cultured dairy products. Australian J. Dairy Technol., 1969, **24**, 181-185.
- [21] Libudzisz Z.: Fizjologia i modelowanie układów mieszanych paciorkowców fermentacji mlekowej w hodowlach okresowych i ciągłych. Zesz. Nauk. Politech. Łódz. 1990, **595**, 6-99.
- [22] Merck Microbiology Manual 2007. 12th Edition; Merck: Darmstadt, Germany.
- [23] Minervini F., Bilancia M.T., Siragusa S., Gobbetti M., Caponio F.: Fermented goats' milk produced with selected multiple starters as a potentially functional food. Food Microbiol., 2009, **26** (6), 559-564.
- [24] Mituniewicz-Małek A., Dmytrów I., Jasińska M., Balejko J., Szymczak B.: Traditional yoghurt culture vs. selected quality properties of fermented beverages produced from goat's milk. EJPAU, 2011, **14** (3), #7.
- [25] Moneta J.: Fermentowane produkty mleczne suplementowane bakteriami probiotycznymi. Przegl. Mlecz., 2006, **1**, 4-8.
- [26] Pieczonka W., Pasionek B.: Trwałość i akceptacja konsumencka napojów fermentowanych z mleka koziego. Przem. Spoż., 1995, **4**, 128-130.
- [27] PN-ISO 2446:2002. Mleko. Oznaczenie zawartości tłuszczu (metoda rutynowa).
- [28] PN-93 / A-86034-03. Mleko i przetwory mleczarskie. Badania mikrobiologiczne. Przygotowanie próbek i rozcieńczeń.
- [29] PN-EN ISO 6658:1998. Analiza sensoryczna. Metodologia. Wytyczne ogólne.
- [30] Rysstad G., Knutsen W., Abrahamsen R.: Effect of threonine and glycine on acetaldehyde formation in goat's milk yogurt. J. Dairy Res., 1990, **57**, 401-411.
- [31] Salvador A., Fiszman S.M.: Textural and sensory characteristics of whole and skimmed flavoured set-type yoghurt during long storage. J. Dairy Sci., 2004, **87** (12), 4033-4041.
- [32] Stepaniak I., Kornacki K., Habaj B.: Właściwości biochemiczne mikroflory kultur mleczarskich. Przem. Spoż., 1997, **9**, 340-343.
- [33] Szczepaniak A., Libudzisz Z.: Przydatność technologiczna mleka koziego. Przem. Spoż., 2001, **2**, 35-36.
- [34] Tratnik L., Bożanic R., Herceg Z., Draglić I.: The quality of plain and supplemented kefir from goat's and cow's milk. Int. J. Dairy Technol., 2006, **59** (1), 40-46.
- [35] Uysal H., Kilic S., Kavas G., Akbulut N., Kesenkas H.: Production and some properties of Bifighurt de from goat milk and cow-goat milk mixtures by ultrafiltration and addition of skim milk powder. Milchwiss, 2003, **58** (11/12), 636-639.
- [36] Wszolek M.: Przydatność technologiczna mleka koziego. Przegl. Mlecz., 1997, **1**, 12-14.
- [37] Zaręba D., Obiedziński M., Ziarno M.: Porównanie profilu lotnych związków mleka fermentowanego i niefermentowanego przez bakterie jogurtowe i szczepy probiotyczne. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2008, **3** (58), 18-32.
- [38] Zaręba D., Ziarno M., Czapska M., Bednarczyk M.: Czynniki warunkujące przeżywalność mikroflory jogurtów i biojogurtów. Przegl. Mlecz., 2008, **10**, 8-13.

- [39] Zaręba D., Ziarno M., Obiedziński M.: Przeżywalność bakterii jogurtowych i probiotycznych w układach modelowych mleka niefermentowanego i fermentowanego. *Med. Wet.*, 2008, **64 (8)**, 1007-1011.
- [40] Zmarlicki Z.: Ćwiczenia z analizy mleka i produktów mlecznych. Wyd. AR, Warszawa 1981, ss. 11-79.
- [41] Ziarno M., Zaręba D., Ścibisz I.: Przeżywalność probiotycznych bakterii fermentacji mlekowej w modelowych jogurtach owocowych. *Bromatol. i Chemia Toksykol.*, 2011, XLIV, **3**, 645-649.

COMMERCIAL PROBIOTIC LACTOBACILLUS SP. CULTURES (*LB. PARACASEI*, *LB. CASEI* AND *LB. ACIDOPHILUS*) IN FERMENTED DRINKS MADE FROM GOAT'S MILK

S u m m a r y

Over the last few years, an increase has been confirmed in the consumption of food products containing strains showing probiotic features. *Lactobacillus sp.* strains, a major part of the lactic acid bacteria, are considered to be main probiotic micro-organisms, especially *Lb. acidophilus*, *Lb. paracasei*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. casei*, and *Lb. johnsonie*. Additionally, some strains of *Lb. plantarum* are classified into this group as are *Bifidobacterium bifidum* and *Bifidobacterium longum*.

The objective of the research was to produce a new generation of fermented drinks from goat's milk by means of commercial probiotic *Lactobacillus sp.* cultures containing single species (*Lb. Paracasei*, *Lb. casei*, and *Lb. acidophilus*,) and to assess their quality features during a three week storage period (5 ± 1 °C). Three variants of experimental products were produced: NP-A (containing *Lb. Paracasei* AD400), NP-B (containing *Lb. casei* 01), and NP-C (with a Lyofast La 3 culture containing *Lb. acidophilus*). The experimental drinks were sensory assessed and underwent microbiological, physical-chemical, and rheological analyses after the 1st, 7th, 14th, and 21st day of cooling storage.

It was found that the experimental drinks produced from the goat's milk were characterized by very good and good sensory features and a required number of live cells of probiotic bacteria (at least 10^6 cfu/g) during the storage. Their titratable acidity, pH, content of acetaldehyde, viscosity, and hardness depended significantly on the type of drink analyzed and the time of cooling storage.

Key words: fermented goat's milk, probiotic culture, quality features, texture ☒

ANNA CHLEBOWSKA-ŚMIGIEL, MAŁGORZATA GNIEWOSZ

PRÓBA ZASTOSOWANIA PULLULANU JAKO STYMULATORA WZROSTU WYBRANYCH BAKTERII PROBIOTYCZNYCH I POTENCJALNIE PROBIOTYCZNYCH

Streszczenie

Badano wpływ dodatku pullulanu na stymulację wzrostu 12 szczepów bakterii probiotycznych oraz potencjalnie probiotycznych z rodzaju *Lactobacillus*. Hodowle prowadzono przez 48 h, z wykorzystaniem automatycznego analizatora wzrostu Bioscreen C, na podłożach kontrolnych MRS z glukozą (od 0,5 do 2,0 %), doświadczalnych MRS z pullulanem (od 0,5 do 2,0 %) oraz MRS zawierających 2,0 % glukozy i 2,0 % pullulanu. Nie zaobserwowano większego wzrostu bakterii na podłożach zawierających pullulan, natomiast wszystkie badane szczepy wykazywały dużo lepszy wzrost na podłożach z glukozą, suplementowanych 2-procentowym dodatkiem pullulanu. Najlepszy efekt stymulujący uzyskano w stosunku do szczepu *Lactobacillus plantarum* 44. Równolegle prowadzono analizę zmian pH i kwasowości ogólnej po 24 i 48 h hodowli. Nie stwierdzono różnic w wartościach pH oraz kwasowości ogólnej podłoża MRS zawierającego 2,0 % glukozy oraz MRS zawierającego 2,0 % glukozy i 2,0 % pullulanu, zarówno po 24, jak i po 48 h hodowli. Jedynie w hodowli szczepu *L. acidophilus* CH-5 stwierdzono wyższą kwasowość ogólną podłoża MRS suplementowanego pullulanem, zarówno po 24, jak i po 48 h hodowli. Równocześnie dodatek pullulanu stymulował wzrost tego szczepu.

Słowa kluczowe: : pullulan, *Lactobacillus*, stymulacja wzrostu

Wprowadzenie

Pullulan jest polisacharydem (neutralnym α -glukanem) wytwarzanym pozakomórkowo przez grzyby z gatunku *Aureobasidium pullulans* (De Bary) Arnaud. Związek ten zbudowany jest z regularnie powtarzających się trimerów α -(1 \rightarrow 4)Glup- α -(1 \rightarrow 4)Glup- α -(1 \rightarrow 6)Glup, tworzących długie liniowe cząsteczki o dużej masie molekularnej, mieszczącej się w granicach $4,5 \cdot 10^4$ do $6 \cdot 10^5$ Da [2, 17]. Biosynteza pullulanu zaczyna się pod koniec logarytmicznej fazy wzrostu populacji *A. pullulans* i zachodzi głównie w formach przetrwanych tj. chlamydosporach i komórkach wzdętych

Dr inż. A. Chlebowska-Śmigiel, prof. dr hab. M. Gniewosz, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa

grzyba [1, 18, 19]. W formie handlowej pullulan jest białym niehigroskopijnym proszkiem, dobrze rozpuszczalnym w zimnej i gorącej wodzie, bez smaku i zapachu. Wodne roztwory pullulanu są lepkie, ale nie tworzą żelu. Pullulan jest związkami nietoksycznym i niemutagennym, w Japonii jest stosowany jako dodatek do żywności od ponad 30 lat, a w Stanach Zjednoczonych od 2002 r. Powszechnie jest uważany za bezpieczny (ma status GRAS). W 2004 r. EFSA pozytywnie zaopiniowała zastosowanie pullulanu do tworzenia powłok suplementów żywnościowych [4]. W Unii Europejskiej zastosowanie pullulanu jest obecnie ograniczone do produkcji listków odświeżających oddech, w których stanowi ciekłą, dobrze rozpuszczalną w ustach powłokotwórczą bazę. Jednak możliwości zastosowania tego polisacharydu w gospodarce człowieka są znacznie większe, zwłaszcza w farmacji i technologii żywności [4, 8]. W przemyśle farmaceutycznym w USA i Kanadzie pullulan i jego pochodne stosuje się głównie do wytwarzania kapsułek produktów farmaceutycznych i nutraceutycznych oraz do powlekania leków w postaci tabletek [2]. W produkcji żywności pullulan może być użyty m.in. jako stabilizator i spoiwo składników past spożywczych, środek poprawiający lepkość napojów, sosów i majonezów oraz częściowy zamiennik skrobi w makaronach i pieczywie [17].

Pullulan dostarcza tylko 2,05 kcal/g (8,79 kJ/g), ze względu na dużą oporność na enzymy trawienne przewodu pokarmowego ssaków. W badaniach *in vitro* wykazano, że amylazy ślinowe i trzustkowe rozkładają pullulan do mniejszych molekuł. Sugerowano, że mogą być one następnie fermentowane przez mikroflorę okrężnicy do krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych [12]. Jednak wyniki badań przeprowadzonych *in vivo* nie dostarczyły jednoznacznych dowodów na potwierdzenie tej hipotezy. Nieliczne są również badania dotyczące wpływu pullulanu na liczbę mikroflory jelitowej. Pullulan podawany w diecie ośmiu dorosłym wolontariuszom w dawce 10 g/dzień przez 14 dni spowodował przyrost masy kału (ze 129 g/dzień do 188 g/dzień) i przyczynił się do zwiększenia w kale procentowej zawartości bifidobakterii (z 12 do 25 %) w stosunku do próbek kału osób stanowiących grupę kontrolną [11]. Właściwości te mogą wskazywać również na możliwość zastosowania pullulanu jako prebiotyku. Z definicji podanej przez Roberfroida [14] wynika, że prebiotyk to niestrawny składnik żywności, selektywnie fermentowany przez mikroflorę jelitową, który powoduje korzystne zmiany w składzie i/lub aktywności mikroflory przewodu pokarmowego o działaniu korzystnym na stan zdrowia oraz samopoczucia gospodarza. Dobrze scharakteryzowanymi prebiotykami są fruktooligosacharydy (FOS), w tym inulina i oligofruktoza, następnie oligosacharydy sojowe, galaktooligosacharydy, glukozylosacharoza, laktozosacharoza, izomaltooligosacharydy, palatinozooligosacharydy i ksylooligosacharydy [9]. W licznych badaniach wykazano wpływ tych związków na stymulację wzrostu bakterii probiotycznych z rodzajów *Bifidobacterium* i *Lactobacillus* [3, 6, 7,

13]. W dostępnej literaturze światowej dane na temat właściwości prebiotycznych pullulanu są bardzo ograniczone.

Celem pracy było określenie wpływu pullulanu na wzrost wybranych szczepów z rodzaju *Lactobacillus*, hodowanych w zmodyfikowanym podłożu MRS, o właściwościach probiotycznych lub potencjalnie probiotycznych w badaniach modelowych.

Material i metody badań

Materiałem do badań były: handlowy pullulan (Focubase, Chiny) oraz szczepy bakterii probiotycznych lub potencjalnie probiotycznych: *Lactobacillus paracasei* LOCK 0919, *Lactobacillus plantarum* 44, *Lactobacillus plantarum* NCAIM B. 01149, *Lactobacillus plantarum* NCAIM B. 01834, *Lactobacillus plantarum* ATCC 4080, *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469, *Lactobacillus acidophilus* Bauer 1, *Lactobacillus acidophilus* CH-2, *Lactobacillus acidophilus* CH-5, *Lactobacillus acidophilus* Lac 4, *Lactobacillus casei* ATCC 393, *Lactobacillus arabinosus* ATCC 8014. Badane szczepy pochodziły z kolekcji Instytutu Technologii Fermentacji i Mikrobiologii Politechniki Łódzkiej, kolekcji Zakładu Biotechnologii i Mikrobiologii oraz Zakładu Biotechnologii Mleka SGGW w Warszawie. Szczepy przechowywano w 25 % glicerolu w temp. -87 °C.

W celu przygotowania inokulum zamrożone kultury przenoszono jałowo do płynnego podłoża MRS (Biolacta, Polska) i inkubowano w zależności od preferencji temperaturowych szczepu w temp. 30 °C (wszystkie szczepy z gatunku *L. plantarum* i szczep *L. arabinosus*) lub w temp. 37 °C (szczepy z gatunku *L. rhamnosus*, *L. acidophilus*, *L. casei* i *L. paracasei*) przez 24 h. Następnie komórki odwirowywano w wirówce laboratoryjnej (Eppendorf, Francja) przy 11 000×g przez 1 min. Po zdekantowaniu supernatantu biomasę komórkową przemywano jałowym roztworem soli fizjologicznej i powtórnie odwirowywano. Następnie biomasę komórkową zawieszano w roztworze soli fizjologicznej tak, aby stężenie komórek wynosiło 10⁶ jtk/ml. Tak przygotowane zawiesiny szczepów przenoszono do uprzednio przygotowanych podłoży kontrolnych i doświadczalnych.

Jako kontrolne stosowano płynne podłoża MRS, ze zróżnicowaną zawartością glukozy [%]: 0,5, 1,0, 1,5 lub 2,0 oraz pozostałymi składnikami [g/100 ml]: ekstrakt drożdżowy: 0,5, ekstrakt mięsny: 1,0, pepton: 1,0, fosforan potasu: 0,2, cytrynian amonu: 0,2, Tween: 80 0,11, fosforan potasu: 0,2, octan sodowy: 0,50, siarczan magnezu: 0,02, siarczan manganu: 0,005 [15]. Podłoże kontrolne MRS bez glukozy zawierało wszystkie składniki znajdujące się w podłożu MRS, oprócz glukozy.

Jako doświadczalne stosowano płynne podłoża MRS, w których glukozę zastąpiono pullulanem w ilości [%]: 0,5; 1,0; 1,5 lub 2,0. Zastosowano także podłoże MRS zawierające równocześnie 2,0 % glukozy i 2,0 % pullulanu.

Podłoża kontrolne oraz doświadczalne (bez pullulanu) poddawano sterylizacji w autoklawie w temp. 121 °C przez 20 min. Wodny roztwór pullulanu wyjaławiano poprzez filtrację (zastosowano jałowe krążki bibuły filtracyjnej o średnicy porów 0,47 µm firmy Whatman, Niemcy) i dodawano do ostudzonych po sterylizacji podłoży.

Hodowlę szczepów przeprowadzano w zautomatyzowanym analizatorze wzrostu mikroorganizmów Bioscreen C firmy Yo AB Ltd, Growth Curves (Helsinki, Finlandia) przez 48 h w dwóch zakresach temp.: 30 lub 37 °C, w zależności od wymagań temperaturowych badanych szczepów. Hodowle prowadzono w płaskodennych przezroczystych płytkach, zawierających po 100 studzienek o jednakowej roboczej objętości wynoszącej 400 µl. Do każdej studzienki przenoszono po 360 µl podłoża, które inokulowano 40 µl badanego szczepu. Każde doświadczenie wykonano w trzech powtórzeniach. Wzrost szczepów mierzono przy użyciu turbidymetrycznej metody z zastosowaniem filtra szerokopasmowego (420 - 580 nm), który jest mniej wrażliwy na zmianę barwy podłoża. Absorbancję mierzono co 2 h przez 48 h hodowli, po uprzednim automatycznym wytrząsaniu próbek przez 20 s przed każdym odczytem.

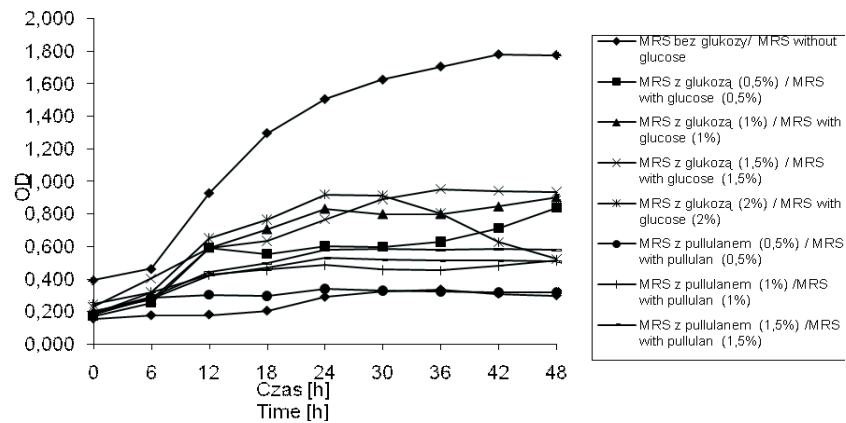
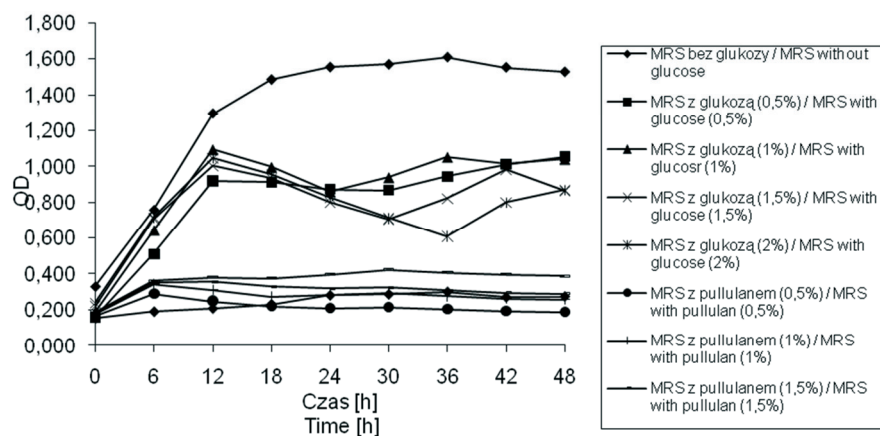
Równolegle prowadzono hodowle badanych bakterii w kolbach, w podłożach kontrolnych i doświadczalnych o objętości 50 ml, z zachowaniem takich samych warunków temperatury i czasu hodowli. Po 24 i 48 h hodowli oznaczano pH oraz kwasowość ogólną.

Pomiar pH wykonywano za pomocą pehametru Elmetron (Polska), po jego wcześniejszym wyskalowaniu z uwzględnieniem temperatury podłoża. Kwasowość ogólną oznaczano metodą miareczkową. W tym celu pobierano jałowo 5 ml hodowli, odwirowywano biomasę komórkową, a płyn pohodowlany miareczkowano przy użyciu 0,1 M NaOH w obecności fenoloftaleiny do pierwszej zmiany barwy na amarantową. Wynik miareczkowania przeliczano na kwas mlekowy, a wynik wyrażano w g kwasu mlekowego w 100 ml płynu pohodowlanego.

Wszystkie doświadczenia wykonywano w minimum trzech powtórzeniach. Wartości średnie oraz odchylenia standardowe obliczono z wykorzystaniem programu Microsoft Excel.

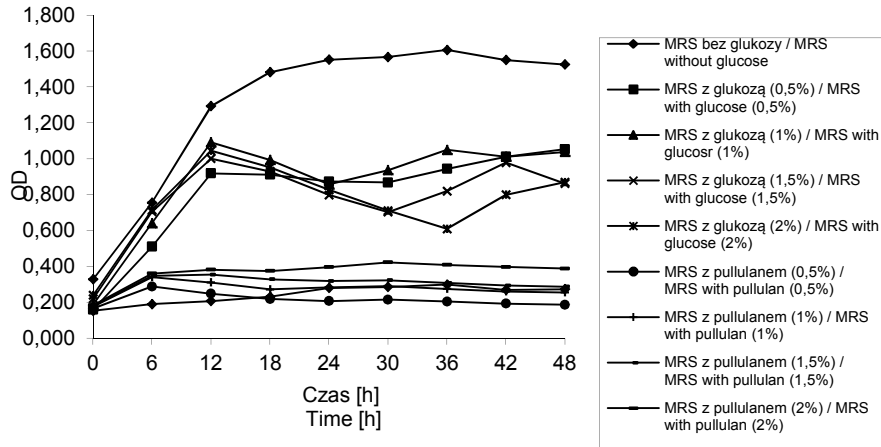
Wyniki i dyskusja

W badaniach wykorzystano 12 szczepów bakterii kwasu mlekowego, które hodowano w podłożach zawierających glukozę i pullulan. Uzyskane wyniki przedstawiono na rys. 1.

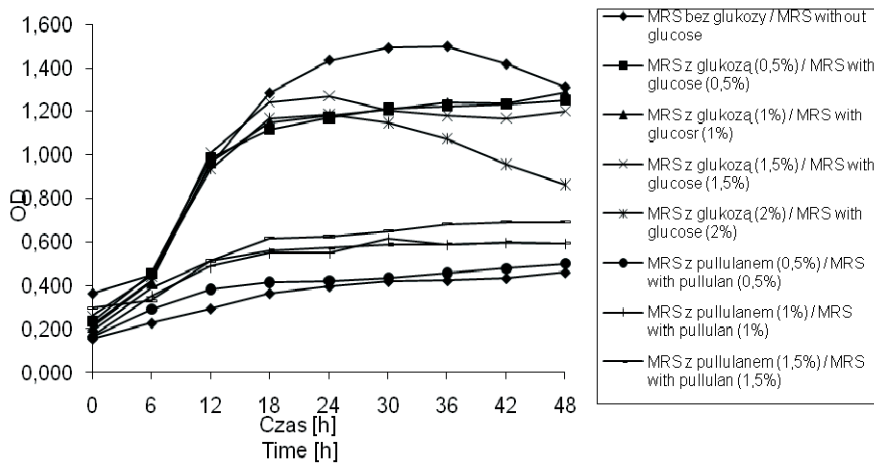
A. *Lactobacillus plantarum* 44.B. *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469.

Rys. 1A, B. Zmiany gęstości optycznej (OD) podłoża hodowlanych podczas 48 h hodowli bakterii *Lactobacillus*.

Fig. 1A, B. Changes in optical density (OD) of culture media during 48 h incubation of bacteria *Lactobacillus*.



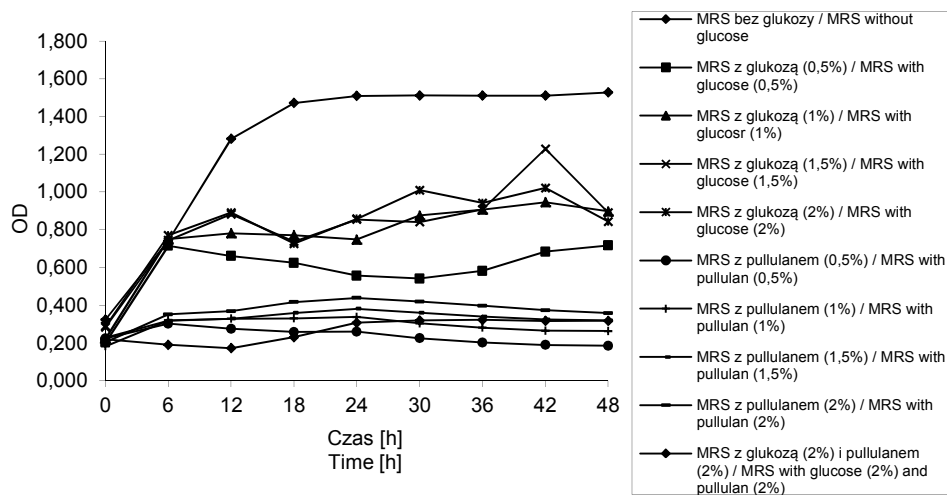
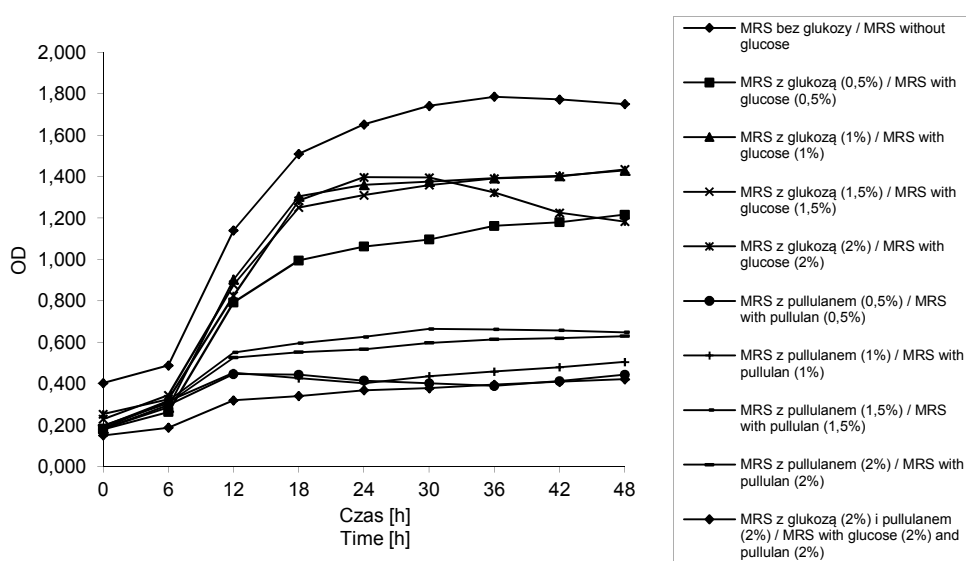
C. *Lactobacillus acidophilus* Lac 4.



D. *Lactobacillus plantarum* NCAIM B.01834.

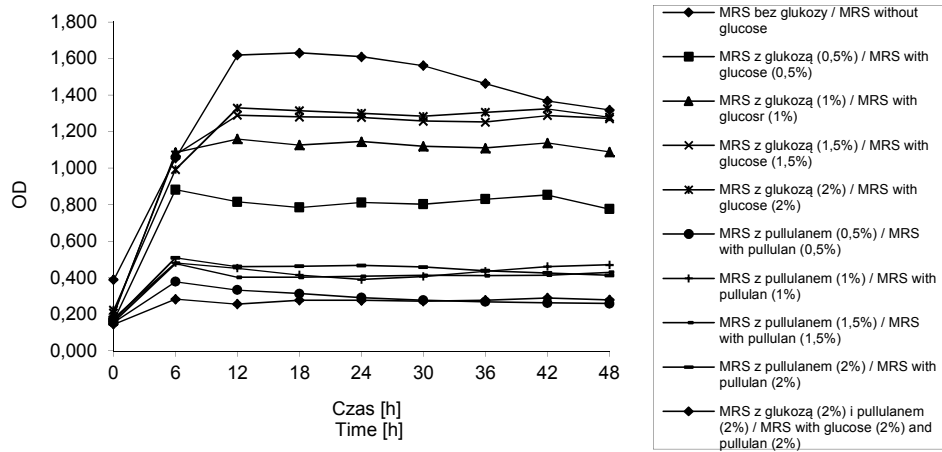
Rys. 1C, D. Zmiany gęstości optycznej (OD) podłoży hodowlanych podczas 48 h hodowli bakterii *Lactobacillus*.

Fig. 1C, D. Changes in optical density (OD) of culture media during 48 h incubation of bacteria *Lactobacillus*.

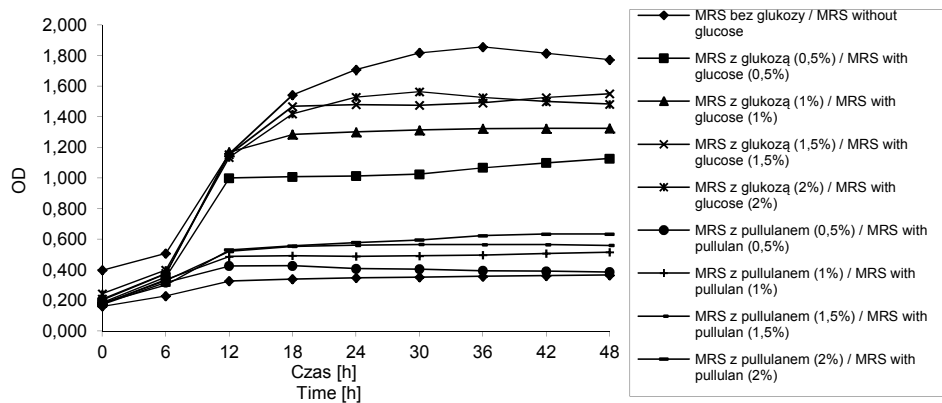
E. *Lactobacillus arabinosus* ATCC 8014.F. *Lactobacillus plantarum* NCAIM B. 01149.

Rys. 1E, F. Zmiany gęstości optycznej (OD) podłoża hodowlanych podczas 48 h hodowli bakterii *Lactobacillus*.

Fig. 1E, F. Changes in optical density (OD) of culture media during 48 h incubation of bacteria *Lactobacillus*.



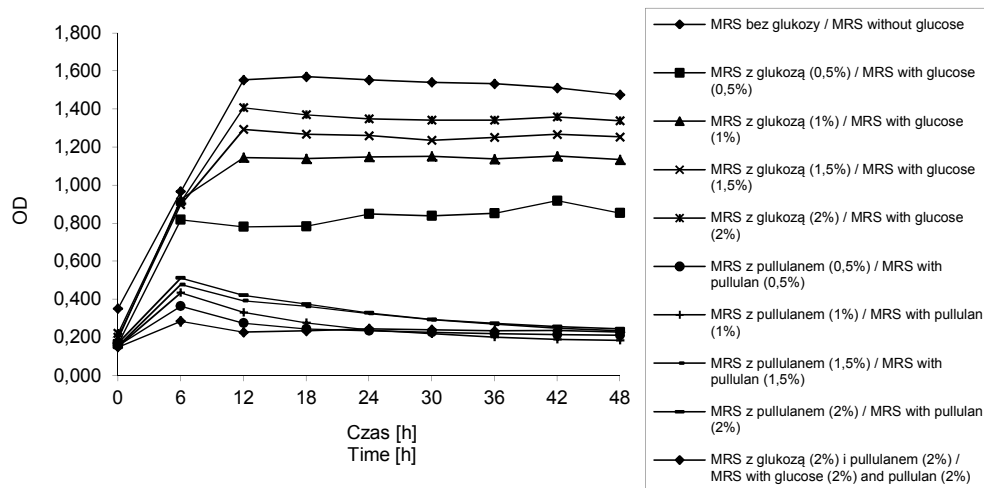
G. *Lactobacillus acidophilus* CH-5.



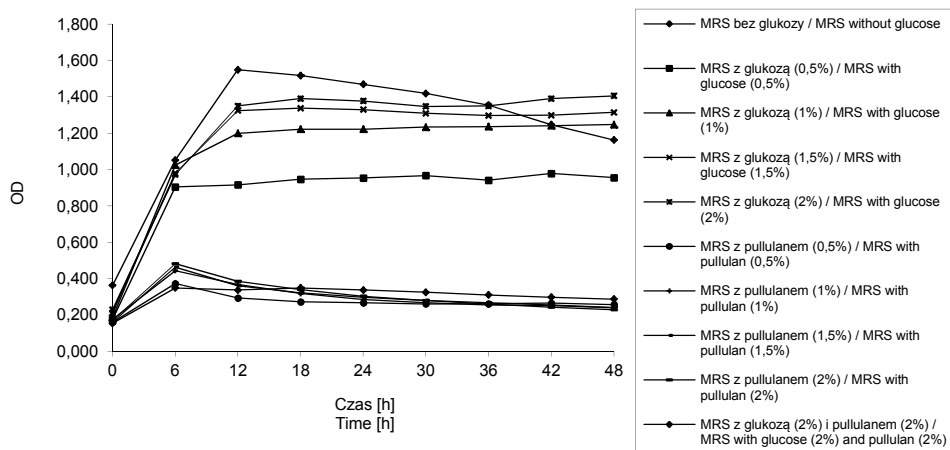
H. *Lactobacillus plantarum* ATCC 4080.

Rys. 1G, H. Zmiany gęstości optycznej (OD) podłoży hodowlanych podczas 48 h hodowli bakterii *Lactobacillus*.

Fig. 1G, H. Changes in optical density (OD) of culture media during 48 h incubation of bacteria *Lactobacillus*.



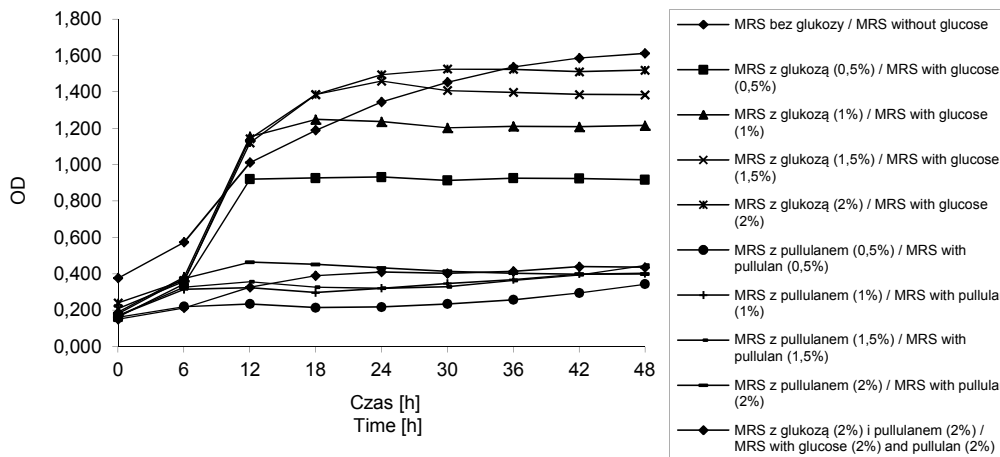
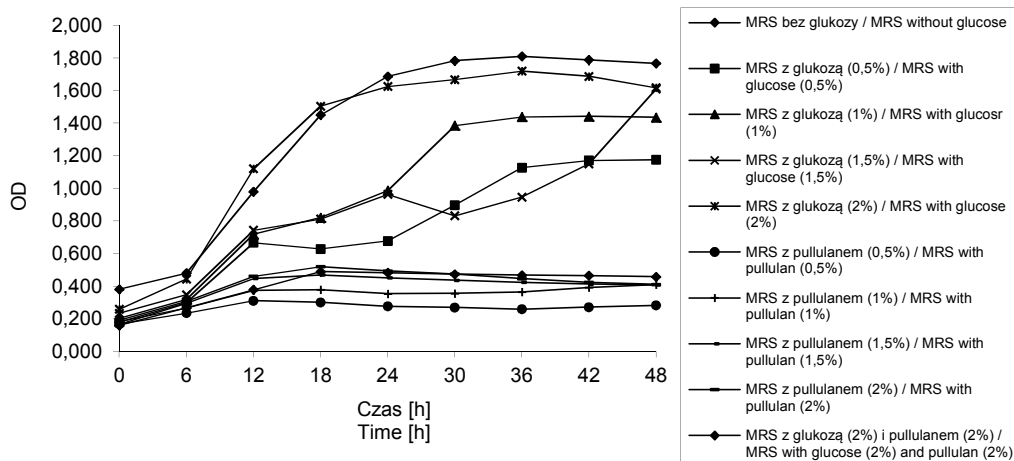
I. *Lactobacillus acidophilus* CH-2.



J. *Lactobacillus acidophilus* Bauer 1.

Rys. 1I, J. Zmiany gęstości optycznej (OD) podłoży hodowlanych podczas 48 h hodowli bakterii *Lactobacillus*.

Fig. 1I, J. Changes in optical density (OD) of culture media during 48 h incubation of bacteria *Lactobacillus*.

K. *Lactobacillus paracasei* ŁOCK 0919.L. *Lactobacillus casei* ATCC 393.

Rys. 1K, L. Zmiany gęstości optycznej (OD) podłoży hodowlanych podczas 48 h hodowli bakterii *Lactobacillus*.

Fig. 1K, L. Changes in optical density (OD) of culture media during 48 h incubation of bacteria *Lactobacillus*.

Analizując przedstawione wykresy zmian gęstości optycznej (OD) podczas 48 h hodowli można zauważyć, że pullulan, jako źródło węgla, dodany w stężeniu 0,5, 1,0, 1,5 lub 2,0 %, powodował niewielki wzrost biomasy badanych szczepów bakterii. Uzyskane wartości OD mieściły się w granicach od 0,4 (szczepy z gatunków *L. casei*, *L. arabinosus*, *L. acidophilus*) do nieznacznie powyżej 0,6 (szczepy *L. plantarum* i *L.*

rhamnosus). Większy wzrost biomasy badanych bakterii obserwowano w pożywkach kontrolnych, tj. MRS z różną zawartością glukozy (0,5 - 2,0 %). Maksymalne wartości OD w tych hodowlach zawierały się w przedziale 0,8 - 1,5 w zależności od szczepu bakterii. Porównując otrzymane wartości OD podłoży kontrolnych i doświadczalnych można wnioskować, że pullulan był w małym stopniu wykorzystany przez badane szczepy bakterii, czego powodem była prawdopodobnie ich słaba zdolność do enzymatycznej hydrolizy pullulanu do glukozy. Potwierdzają to również Ryan i wsp. [16], którzy wykazali, że tylko nieliczne szczepy *Bifidobacterium* wytwarzają pullulanazy rozkładające ten związek. W przeprowadzonych badaniach autorzy wykazali, że spośród 42 szczepów *Bifidobacterium* tylko 11 było zdolnych do wykorzystania pullulanu jako źródła węgla.

Porównując hodowle badanych szczepów bakterii w podłożu MRS, zawierającym równocześnie 2,0 % glukozy i 2,0 % pullulanu, zaobserwowano zdecydowanie wyższe wartości OD w przypadku dziesięciu z nich (rys. 1 A - J). Maksymalne wartości gęstości optycznej były wyższe niż uzyskane w tym samym czasie w podłożu MRS, zawierającym tylko 2,0 % glukozy, i mieściły się w granicach od 1,4 do 1,8 w zależności od szczepu.

Najlepszy efekt stymulujący wzrost stwierdzono w przypadku szczepu *L. plantarum* 44 (rys. 1A). Najwyższą wartość OD uzyskano po 48 h hodowli i była ona 2,5-krotnie wyższa od wartości OD podłoża MRS tylko z 2-procentową zawartością glukozy. Najniższy wynik stymulacji wzrostu uzyskano w stosunku do szczepu *L. casei* ATCC 393 i *L. paracasei* LOCK 0919 (rys. 1 G, H). Po 48 h hodowli wartości OD podłoża z glukozą i pullulanem były wyższe tylko od 6 do 9 % w porównaniu z podłożem z glukozą.

Dodatek pullulanu do podłoża spowodował wydłużenie fazy logarytmicznego wzrostu badanych szczepów już między 12. a 15. godziną hodowli. Efekt stymulacji wzrostu większości badanych bakterii obserwowano maksymalnie do 24. godziny hodowli. Wyjątek stanowiły szczepy *L. plantarum* 44 i *L. plantarum* NCAIM B.01149, w hodowli których log-faza przedłużona była do 36. godziny.

Przeprowadzono także badanie zmian pH oraz kwasowości ogólnej po 24 i 48 h hodowli testowanych bakterii. Wyniki zamieszczone w tab. 1 przedstawiają wartości uzyskane tylko w dwóch podłożach: MRS z 2,0 % zawartością glukozy oraz MRS zawierającym 2,0 % glukozy i 2,0 % pullulanu, ze względu na najlepszy wzrost szczepów w tych podłożach.

Różnice w wartościach pH pomiędzy hodowlami w obu podłożach nie były duże, ale statystycznie istotne. Po 24 h hodowli wartość pH w podłożu z glukozą wynosiła od 3,68 (*L. plantarum* NCAIM B. 01149) do 3,9 (*L. acidophilus* CH-5), a po 48 godzinach od 3,56 (*L. plantarum* ATCC 4080) do 3,79 (*L. casei* ATCC 393). W przypadku podłoża z dodatkiem pullulanu wartość pH po 24 h hodowli wynosiła od 3,8 (*L. plantarum* NCAIM B. 01149) do 4,06 (*L. plantarum* 44) oraz od 3,61 (*L. plantarum*

ATCC 4080) do 3,83 (*L. plantarum* 44). Nie zaobserwowano także większych różnic w kwasowości bez względu na zastosowane podłoże, co może świadczyć o braku fermentacji pullulanu przez badane szczepy bakterii. Jedynie w hodowli szczepu *L. acidophilus* CH-5 stwierdzono wyższą ogólną kwasowość podłoża MRS z zawartością 2,0 % glukozy i 2,0 % pullulanu zarówno po 24, jak i po 48 h hodowli. Równocześnie wzrost tego szczepu był stymulowany przez dodatek pullulanu.

Tabela 1

Wartość pH i kwasowość ogólna badanych podłoży.
Changes in pH and total acidity of media studied.

Szczep bakterii Strain of bacteria	pH $\bar{x} \pm s / SD$				Kwasowość ogólna [g kwasu mlekowego/100 ml] Total acidity [Lactic acid g/100 ml] $\bar{x} \pm s / SD$			
	MRS +2 % glukozy		MRS +2 % glukozy i 2 % pullulanu		MRS +2 % glukozy		MRS +2 % glukozy i 2 % pullulanu	
	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h
<i>Lactobacillus plantarum</i> 44	3,81 ± 0,04	3,63 ± 0,02	4,06 ± 0,01	3,83 ± 0,01	1,10 ± 0,01	1,58 ± 0,01	1,01 ± 0,01	1,49 ± 0,02
<i>Lactobacillus plantarum</i> NCAIM B. 01149	3,68 ± 0,02	3,59 ± 0,01	3,8 ± 0,01	3,68 ± 0,03	0,95 ± 0,01	1,14 ± 0,02	0,92 ± 0,01	1,22 ± 0,01
<i>Lactobacillus plantarum</i> NCAIM B. 01834	3,79 ± 0,03	3,67 ± 0,02	3,95 ± 0,02	3,78 ± 0,02	1,13 ± 0,02	1,64 ± 0,01	0,97 ± 0,01	1,36 ± 0,03
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> ATCC 7469	3,66 ± 0,05	3,58 ± 0,03	3,85 ± 0,02	3,79 ± 0,01	1,03 ± 0,01	1,42 ± 0,01	1,15 ± 0,02	1,46 ± 0,01
<i>Lactobacillus acidophilus</i> Bauer 1	3,9 ± 0,01	3,76 ± 0,01	3,87 ± 0,01	3,78 ± 0,01	1,09 ± 0,01	1,66 ± 0,03	0,95 ± 0,01	1,5 ± 0,01
<i>Lactobacillus plantarum</i> ATCC 4080	3,76 ± 0,01	3,56 ± 0,01	3,9 ± 0,01	3,61 ± 0,02	1,05 ± 0,03	1,41 ± 0,01	0,99 ± 0,01	1,37 ± 0,02
<i>Lactobacillus casei</i> ATCC 393	3,83 ± 0,02	3,79 ± 0,01	3,97 ± 0,01	3,79 ± 0,02	1,16 ± 0,01	1,22 ± 0,01	1,14 ± 0,01	1,26 ± 0,02
<i>Lactobacillus acidophilus</i> CH-5	3,90 ± 0,01	3,59 ± 0,02	3,84 ± 0,03	3,76 ± 0,01	1,05 ± 0,01	1,44 ± 0,02	1,26 ± 0,03	1,53 ± 0,01
<i>Lactobacillus acidophilus</i> CH-2	3,87 ± 0,04	3,76 ± 0,02	3,88 ± 0,02	3,77 ± 0,03	1,09 ± 0,02	1,54 ± 0,01	1,19 ± 0,01	1,41 ± 0,01
<i>Lactobacillus arabinosus</i> ATCC 8014	3,76 ± 0,02	3,62 ± 0,03	3,99 ± 0,02	3,76 ± 0,02	1,08 ± 0,01	1,55 ± 0,01	1,18 ± 0,03	1,45 ± 0,01
<i>Lactobacillus paracasei</i> ŁOCK 0919	3,80 ± 0,02	3,79 ± 0,01	3,97 ± 0,01	3,79 ± 0,01	0,1 ± 0,01	1,42 ± 0,01	0,82 ± 0,01	1,31 ± 0,01
<i>Lactobacillus acidophilus</i> Lac 4	3,70 ± 0,01	3,58 ± 0,01	3,83 ± 0,03	3,76 ± 0,02	1,22 ± 0,02	1,55 ± 0,02	1,19 ± 0,02	1,51 ± 0,21

Objaśnienia: / Explanatory notes:

$\bar{x} \pm s / SD$ – wartość średnia ± odchylenie standardowe / mean value ± standard deviation; n = 6.

Uzyskane wyniki badań wskazują na korzystny wpływ pullulanu na wzrost i metabolizm bakterii z rodzaju *Lactobacillus*, co może sugerować, że związek ten wykazuje właściwości prebiotyczne. Goderska i wsp. [5] oraz Matijević i wsp. [10], po przebadaniu wpływu dobrze zdefiniowanych prebiotyków, jak oligofruktoza, inulina i laktuloza na szczepy probiotyczne, uzyskali nie tylko znaczne zwiększenie liczby komórek tych szczepów w hodowlach, ale także lepsze ich działanie kwasotwórcze. Dlatego też celowe jest podjęcie dalszych badań właściwości prebiotycznych pullulanu.

Wnioski

1. Dodatek pullulanu do podłoża MRS stymulował wzrost większości badanych szczepów z rodzaju *Lactobacillus*.
2. W podłożach MRS zawierających glukozę i pullulan obserwowano wydłużenie fazy logarytmicznego wzrostu tych szczepów w porównaniu z podłożem niesuplementowanym pullulanem.
3. Pullulan dodany w stężeniu 2,0 % do podłoża MRS najlepiej stymulował wzrost i aktywność fermentacyjną szczepu *L. acidophilus* CH-5.

Literatura

- [1] Campbell B.S., Siddique A-B.M., McDougall B.M., Seviour R.J.: Which morphological forms of the fungus *Aureobasidium pullulans* are responsible for pullulan production? FEMS Microbiol. Let., 2004, **232**, 225-228.
- [2] Cheng K.C., Demirci A., Catchmark J.M.: Pullulan: biosynthesis, production, and applications. Appl. Microbiol. Biotechnol., 2011, **92**, 29-44.
- [3] Ghoddusi H.B., Grandison M.A., Grandison A.S., Tuohy K.M.: In vitro study on gas generation and prebiotic effects of some carbohydrates and their mixtures. Anaerobe, 2007, **13**, 193-199.
- [4] Gniewosz M.: Pullulan – nowy dodatek do żywności. Przem. Spoż., 2009, **5 (63)**, 24-27.
- [5] Goderska K., Nowak J., Czarnecki Z.: Comparison of the growth of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* species in media supplemented with selected saccharides including prebiotics. Acta Sci. Pol., Technol. Aliment., 2008, **7 (2)**, 5-20.
- [6] Hernandez-Hernandez O., Muthaiyan A., Moreno F.J., Montilla A., Sanz M.L., Ricke S.C.: Effect of prebiotic carbohydrates on the growth and tolerance of *Lactobacillus*. Food Microbiol., 2012, **30**, 355-361.
- [7] Jałosińska M.: Przeżywalność szczepu probiotycznego w napoju bananowo-mlecznym w zależności od dodatku różnych prebiotyków. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2007, **6 (55)**, 127-137.
- [8] Leathers T.D.: Biotechnological production and applications of pullulan. Appl. Microbiol. Biotechnol., 2003, **62**, 468-473.
- [9] Libudzisz Z.: Probiotyki i prebiotyki w fermentowanych napojach mlecznych. Pediaatria Współczesna, 2002, **1 (4)**, 19-25.
- [10] Matijević B., Božanić R., Tratnik L.: The influence of lactulose on growth and survival of probiotic bacteria *Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 in reconstituted sweet whey. Mijekarstvo, 2009, **1 (59)**, 20-27.
- [11] Mitsuhashi M., Yoneyama M., Sakai S.: Growth promoting agent for bacteria containing pullulan with or without dextran. European Patent Specification 1990, EP 0 382 355 B1.

- [12] Okada K., Yoneyama M., Mandai T., Aga H., Sakai S., Ichikawa T.: Digestion and fermentation of pullulan. *J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.*, 1990, **43**, 23-29.
- [13] Pompei A., Cordisco L., Raimondi S., Amaretti A., Pagnoni U.M., Matteuzzi D., Rossi M.: *In vitro* comparison of the prebiotic effects of two inulin-type fructans. *Anaerobe*, 2008, **14**, 280-286.
- [14] Roberfroid M.B.: Prebiotics: the concept revisited. *J. Nutr.*, 2007, **3 (137)**, 830-837S.
- [15] Rousseau V., Lepargneur J.P., Roques C., Remaud-Simeon M., Paul F.: Prebiotic effect of oligosaccharides on selected vaginal lactobacilli and pathogenic microorganisms. *Anaerobe*, 2005, **11**, 145-153.
- [16] Ryan S.M., Fitzgerald G.F., van Sinderen D.: Screening for and identification of starch-, amylopectin-, and pullulan-degrading activities in bifidobacterial strains. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2006, **72 (80)**, 5289-5296.
- [17] Singh R.S., Saini G.K., Kennedy J.F.: Pullulan: Microbial sources, production and applications. *Carbohydr. Polym.*, 2008, **73**, 515-531.
- [18] Simon I., Bouchet B., Caye-Vaugien C., Gallant D.J.: Pullulan elaboration and differentiation of the resting forms in *Aureobasidium pullulans*. *Can. J. Microbiol.*, 1995, **41**, 35-45.
- [19] Simon I., Caye-Vaugien C., Bouchonneau M.: Relation between pullulan production, morphological state and growth conditions in *Aureobasidium pullulans*: New observations. *J. Gen. Microbiol.*, 1993, **9**, 979-985.

ATTEMPT TO APPLY PULLULAN AS GROWTH STIMULATOR FOR SELECTED PROBIOTIC AND POTENTIALLY PROBIOTIC BACTERIA

S u m m a r y

The effect was studied of the addition of pullulan on the growth stimulation of 12 strains of probiotic and potentially probiotic bacteria of a *Lactobacillus* genus. The cultures were incubated for 48h with the use of an automatic growth analyzer 'Bioscreen C' in MRS control media with glucose (0.5 to 2.0 %), in experimental MRS media with pullulan added (from 0.5 to 2.0 %), and in MRS media containing 2.0 % of glucose and 2.0 % of pullulan. It was found that the bacteria studied did not grow better in the media containing pullulan; however, the strains studied grew much better in the media with glucose and supplemented with 2.0 % of pullulan. The best stimulating effect was achieved for the *L. plantarum* 44 strain. At the same time, changes in pH and total acidity of the culture media were analyzed after a period of 24 and 48 h of incubation. No differences were reported in the values of pH and total acidity as regards the MRS medium with 2.0 % of glucose and the MRS with 2.0 % of glucose and 2.0 % of pullulan, equally after 24 and 48 h of their incubation. A culture of *L. acidophilus* CH-5 was the only one to show a higher acidity of the MRS medium with 2.0 % of glucose and 2.0 % of pullulan, equally after 24 and 48 h of their incubation. At the same time, the addition of pullulan stimulated the growth of the latter bacterial strain.

Key words: pullulan, *Lactobacillus*, stimulation of growth ☒

SŁAWOMIR PIETRZYK, LESŁAW JUSZCZAK, TERESA FORTUNA,
KAROLINA KRÓLIKOWSKA

WPLYW KOMPLEKSOWANIA SKROBI UTLENIONYCH SKŁADNIKAMI MINERALNYMI NA ICH WŁAŚCIWOŚCI REOLOGICZNE

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu kompleksowania skrobi utlenionych składnikami mineralnymi (w postaci jonów metali) na ich właściwości reologiczne. Skrobię ziemniaczaną i orkiszową utleniono chloranem(I) sodu, a następnie poddano kompleksowaniu jonami potasu, magnezu lub żelaza. Badania reologiczne skrobi obejmowały oznaczenie jej lepkości granicznej oraz charakterystyki kleikowania. Ponadto wyznaczono krzywe płynięcia kleików skrobiowych oraz mechaniczne spektra żeli skrobiowych. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że kompleksowanie skrobi utlenionych jonami metali wpłynęło na: zmniejszenie lepkości granicznej skrobi oraz na zmiany właściwości reologicznych kleików i żeli skrobiowych. Właściwości reologiczne kleików i żeli skrobi utlenionych kompleksowanych jonami metali zależały nie tylko od rodzaju modyfikacji, ale również od pochodzenia botanicznego skrobi.

Słowa kluczowe: skrobia utleniona, kompleksowanie, składniki mineralne, właściwości reologiczne

Wprowadzenie

W organizmie człowieka składniki mineralne spełniają funkcje budulcowe, sterują procesami metabolicznymi, regulują równowagę jonową i ciśnienie osmotyczne komórek oraz utrzymują pobudliwość nerwowo-mięśniową. Muszą być dostarczane do organizmu człowieka wraz z pożywieniem ze względu na brak odpowiednich układów enzymatycznych niezbędnych do ich wytwarzania [8, 16]. Źródłem składników mineralnych dla człowieka jest woda i żywność. Jednak w trakcie produkcji żywności ilość składników mineralnych w niej zawartych może ulec zmniejszeniu w wyniku stosowanych procesów, np. płukania, blanszowania, gotowania itp. [23]. Wzbogacanie wody pitnej i żywności w składniki mineralne uważane jest za najprostszy i najskuteczniejszy sposób zapobiegania ich niedoborom w diecie człowieka. Prowadzone są więc

Dr inż. S. Pietrzyk, dr hab. inż. L. Juszcak, prof. dr hab. T. Fortuna, mgr inż. K. Królikowska, Katedra Analizy i Oceny Jakości Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków

badania nad możliwością wprowadzania do żywności substancji deficytowych, w tym składników mineralnych [1, 17].

Skrobia, jako jeden z wielofunkcyjnych polisacharydów, znajduje zastosowanie w produkcji artykułów żywnościowych. Stanowi podstawowy składnik koncentratów deserów i sosów, a w wielu produktach przemysłu owocowo-warzywnego, mięsnego czy cukierniczego występuje przede wszystkim w roli substancji nadającej odpowiednią teksturę [4]. Skrobie naturalne mają ograniczone zastosowanie i często uniemożliwiają otrzymanie określonych cech produktów gotowych. Jednak dzięki specyficznej budowie, łatwo ulegają reakcjom z substancjami chemicznymi, w wyniku których powstają skrobie modyfikowane o pożądanych właściwościach fizykochemicznych i reologicznych [22]. Ponadto skrobia, ze względu na obecność w swojej strukturze grup hydroksylowych, a dodatkowo w skrobi utlenionej grup karbonylowych i karboksylowych, przejawia skłonność do przyłączania jonów metali [2, 3, 5, 11, 13]. Istnieje więc możliwość wykorzystania skrobi jako nośnika mikro- i makroelementów dla organizmu człowieka.

Kompleksowanie skrobi utlenionych składnikami mineralnymi będzie wpływać nie tylko na wzrost ich wartości żywieniowej, ale również na właściwości fizykochemiczne i reologiczne [19, 20 21].

Celem pracy było określenie wpływu kompleksowania skrobi utlenionych składnikami mineralnymi (w postaci jonów metali) na ich właściwości reologiczne.

Materiał i metody badań

Materiał do badań stanowiła skrobia ziemniaczana (PEPEES S.A., Polska) oraz skrobia orkiszowa uzyskana metodą laboratoryjną z mąki orkiszowej ECOO typu 700 (Młyn Gospodarczy, Polska).

Modyfikację chloranem(I) sodu prowadzono wg Forsella i wsp. [6]. Sporządzano 40-procentową zawiesinę wodną skrobi, do której dodawano stopniowo roztwór NaClO, aby osiągnąć jego końcowe stężenie 10 g Cl/kg skrobi. Modyfikację wykonano w temp. $20 \pm 0,5$ °C, mieszając zawiesinę skrobi w środowisku alkalicznym (pH = 10,0) przez 50 min. Następnie mieszaninę reakcyjną neutralizowano 1-molowym roztworem H₂SO₄ do pH = 7,0, przemywano, suszono w temp. 20 ± 2 °C przez 48 h, rozdrabniano i przesiewano przez sита mechaniczne o średnicy oczek 0,20 mm (skrobię ziemniaczaną) i 0,125 mm (skrobię orkiszową).

Utloniona skrobia ziemniaczana zawierała 0,035 % grup karboksylowych i 0,012 % grup karbonylowych, natomiast utleniona skrobia orkiszowa zawierała 0,020 % grup karboksylowych i 0,006 % grup karbonylowych.

Skrobie utlenione poddawano kompleksowaniu jonami potasu, magnezu i żelaza. Zgodnie z wcześniej opracowaną procedurą, 100 g skrobi utlenionej mieszano

z 250 cm³ wody przez 5 min i filtrowano. Następnie skrobie mieszano 5 min z 200 cm³ roztworu odczynników odpowiednich dla jonów:

- potasu – 1-procentowy (m/m) KCl i 0,05-molowy KOH (stosunek objętościowy 1 : 1) o pH = 12,
- magnezu – 1-procentowy (m/m) MgCl₂ i nasycony roztwór Mg(OH)₂ (stosunek objętościowy 1 : 1) o pH 8,5,
- żelaza – 1-procentowy (m/m) FeSO₄.

Filtrowanie skrobi i kompleksowanie powtarzano jeszcze dwukrotnie. Po ich zakończeniu skrobie przemywano, suszono w temp. 20 ± 2 °C przez 48 h, rozdrabniano i przesiewano przez sita mechaniczne, podobnie jak po procesie utleniania.

Po kompleksowaniu utlenione skrobie zawierały następujące ilości metali:

- potas – ziemniaczana 183,1 mg%, orkiszowa 45,5 mg%,
- magnez – ziemniaczana 27,2 mg%, orkiszowa 7,4 mg%,
- żelazo – ziemniaczana 99,9 mg%, orkiszowa 38,4 mg%.

Proces wbudowania składników mineralnych do badanych skrobi został szczegółowo opisany w innej pracy [15].

W skrobiach utlenionych przed i po kompleksowaniu oznaczano:

- 1) lepkość graniczną w temp. 25 °C skrobi rozpuszczonych w 0,5M KOH. Czas swobodnego przepływu roztworu skrobi o stężeniach w zakresie 0,0006 - 0,02 g/cm³ mierzono przy użyciu wiskozymetru kapilarnego Ubbelode ($k = 0,009631 \text{ m}^2/\text{s}^2$) z automatycznym systemem pomiaru czasu ViscoClock (Schott Instruments, Niemcy) Na podstawie zależności η_{sp}/c względem c wyznaczono lepkość graniczną, stosując równanie Hugginsa:

$$\eta_{sp}/c = [\eta] + k' \cdot [\eta]^2 \cdot c$$

gdzie: η_{sp} – lepkość właściwa, c – stężenie [g/cm³], $[\eta]$ – lepkość graniczna [cm³/g], k' – stała Hugginsa;

- 2) charakterystykę kleikowania 10-procentowych (m/m) zawiesin skrobiowych przy użyciu Rapid Visco Analyser (Perten Instruments, Warriewood, Australia). Próbkę ogrzewano od 50 do 95 °C w ciągu 5,5 min, przetrzymywano w temp. 95 °C przez 5 min, chłodzono do 50 °C w ciągu 5 min i na koniec przetrzymywano w temp. 50 °C przez 5 min. Z wiskogramów odczytywano: temperaturę kleikowania (T_p), lepkość maksymalną w czasie ogrzewania (PV), lepkość w temp. 95°C (HPV), lepkość końcową w temp. 50°C (FV), spadek lepkości przy ogrzewaniu wartość: PV-HPV (BD), wzrost lepkości w trakcie chłodzenia wartość: FV-HPV (SB);
- 3) krzywe płynięcia 5-procentowych (m/m) kleików skrobiowych przy użyciu reometru rotacyjnego, Rheolab MC1 (Physica Messtechnik Niemcy), wykorzystując układ współosiowych cylindrów Z3 DIN (średnica zewnętrzna – 27,12 mm, średnica wewnętrzna – 25mm). Kleiki skrobiowe (otrzymane poprzez ogrzewanie wodnej zawiesiny skrobi w ciągu 25 min w temp. 95 °C) umieszczano między cy-

lindrami i termostatowano w temp. 50 °C przez 10 min, a następnie poddawano działaniu zmiennej szybkości ścinania w zakresie 1 – 500 s⁻¹ w ciągu 600 s. Do opisu otrzymanych krzywych płynięcia zastosowano model potęgowy:

$$\tau = K \cdot \dot{\gamma}^n$$

gdzie: τ – naprężenie ścinające [Pa], K – współczynnik konsystencji [Pa·sⁿ], n – wskaźnik płynięcia, $\dot{\gamma}$ – szybkość ścinania [s⁻¹];

- 4) mechaniczne spektra 10-procentowych (m/m) żeli skrobiowych (otrzymanych poprzez ogrzewanie wodnych zawiesin skrobi w ciągu 25 min w temp. 95 °C, a następnie schłodzonych do temperatury oznaczenia) wyznaczano w temp. 25 °C przy użyciu reometru Mars II (Thermo-Haake, Niemcy) z układem stożek/płytką (średnica stożka 60 mm, kąt 1° rozmiar szczeliny 0,052 mm). Pomiarów dokonywano przy stałej amplitudzie odkształcenia 0,01 w zakresie liniowej lepkości i prędkości kątowej od 1 do 100 rad/s. Uzyskane krzywe opisano modelami potęgowymi:

$$G' = K' \cdot \omega^{n'} \text{ i } G'' = K'' \cdot \omega^{n''}$$

gdzie: G' – moduł sprężystości [Pa], G'' – moduł lepkości [Pa], ω – prędkość kątowa [rad/s], K' , K'' – stałe [Pa·(s/rad)ⁿ], n' , n'' – stałe.

W celu określenia istotności różnic między wartościami średnimi badanych parametrów zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji i test Tukeya na poziomie istotności $p = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

W tab. 1. przedstawiono wartości lepkości granicznej roztworów skrobi utlenionych ziemniaczanej i orkiszowej przed oraz po modyfikacji jonami metali. Kompleksowanie spowodowało zmniejszenie lepkości granicznej obu skrobi utlenionych, chociaż w największym stopniu dotyczyło to procesu z użyciem jonów żelaza. W tym przypadku lepkość graniczna zmodyfikowanej skrobi ziemniaczanej zmniejszyła się o ponad 60 %, a orkiszowej o ponad 35 %. Kompleksowanie skrobi utlenionych pozostałymi składnikami mineralnymi wpłynęło w odmienny sposób na zmiany wartości lepkości granicznej. W skrobi ziemniaczanej modyfikacja jonami potasu w większym stopniu zmniejszyła wartość tego parametru w porównaniu z kompleksowaniem magnezem. W skrobi orkiszowej natomiast oba te składniki mineralne zmniejszyły jej lepkość graniczną do wartości nieróżniących się między sobą. Wartość lepkości granicznej uzależniona jest głównie od średniej masy cząsteczkowej oraz oddziaływania polimer – rozpuszczalnik. Na zmiany lepkości granicznej miały więc wpływ nie tylko depolimeryzacja skrobi zachodząca w trakcie procesu kompleksowania, ale również interakcje polimerów skrobiowych z użytym rozpuszczalnikiem.

Tabela 1

Lepkość graniczna skrobi utlenionych przed i po kompleksowaniu jonami metali.
Intrinsic viscosity of starches oxidised prior to and after complexation with metal ions.

Preparaty skrobi zmodyfikowanej Modified starch preparations	Lepkość graniczna / Intrinsic viscosity [cm ³ /g]	
	Skrobia ziemniaczana Potato starch ($\bar{x} \pm s / SD$)	Skrobia orkiszowa Spelt wheat starch ($\bar{x} \pm s / SD$)
Utleniona Oxidised	179,3 ± 0,8	162,3 ± 0,8
Utleniona + K Oxidised + K	106,8 ± 0,7	134,20 ± 1,6
Utleniona + Mg Oxidised + Mg	156,2 ± 2,1	137,4 ± 3,7
Utleniona + Fe Oxidised + Fe	64,3 ± 0,9	103,5 ± 0,5
NIR _{0,05} LSD _{0,05}	3,3	5,4

Objaśnienia: / Explanatory notes:

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

NIR / LSD – najmniejsza istotna różnica / least significant difference.

W tab. 2. przedstawiono charakterystyczne parametry charakterystyki kleikowania skrobi utlenionych przed i po modyfikacji. W przypadku skrobi ziemniaczanej jedynie kompleksowanie jonami potasu spowodowało obniżenie jej temperatury kleikowania (T_p), natomiast pozostałe składniki mineralne nie wpłynęły statystycznie istotnie na zmianę wartości tego parametru. Kleiki utlenionych skrobi ziemniaczanych kompleksowanych składnikami mineralnymi charakteryzowały się mniejszą lepkością niż skrobia wyjściowa w czasie ogrzewania i przetrzymywania w temp 95 °C, niższymi wartościami PV i HPV. Po ochłodzeniu i przetrzymywaniu w temp. 50 °C wyznaczone wartości lepkości (FV) skrobi ziemniaczanej kompleksowanej potasem były niższe niż wartości wyznaczone dla skrobi niezawierającej jonów metali. W przypadku pozostałych składników mineralnych zmiany omawianego parametru były nieistotne statystycznie. Wszystkie użyte składniki mineralne zwiększyły stabilność reologiczną kleików skrobi ziemniaczanej w trakcie ogrzewania i przetrzymywania w temperaturze 95 °C, o czym świadczyła niższa wartość BD, oraz zmniejszyły tę stabilność w trakcie ich chłodzenia i przetrzymywania w temp. 50 °C (wyższe wartości SB). Komplekso-

wanie utlenionej skrobi orkiszowej składnikami mineralnymi generalnie spowodowało obniżenie jej temperatury kleikowania (T_p) i zmniejszenie lepkości kleików w całym zakresie badania (PV; HPV; FV), przy czym najniższymi wartościami temperatury kleikowania i lepkości charakteryzowała się skrobia kompleksowana potasem. Stabilność reologiczna w fazie chłodzenia i przetrzymywania w temperaturze 50 °C kleików skrobi zmodyfikowanych zwiększyła się (niższe wartości SB). Spowodowane to było prawdopodobnie nie tylko depolimeryzacją skrobi, ale również obecnością jonów metali, które utrudniając łączenie polimerów skrobiowych, zapobiegły wzrostowi lepkości układu. Niższymi wartościami BD w porównaniu do skrobi wyjściowej charakteryzowały się kleiki skrobi orkiszowej wzbogaconej w magnez, co świadczyło o ich zwiększonej stabilności reologicznej w trakcie ogrzewania. Pozostałe składniki mineralne nie zmieniły tego parametru skrobi orkiszowej. Odmienny wpływ modyfikacji składnikami

Tabela 2

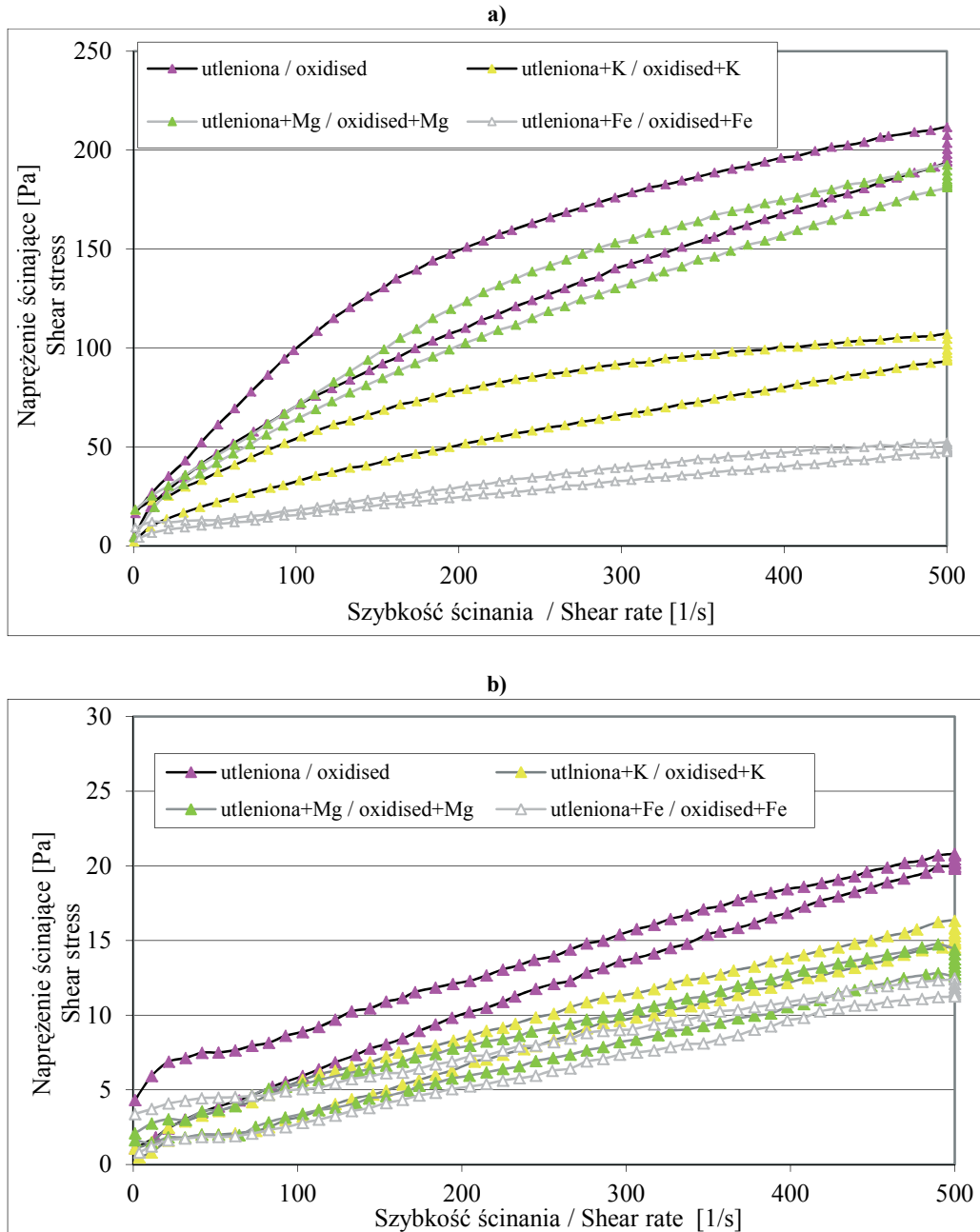
Charakterystyka kleikowania skrobi utlenionych przed i po kompleksowaniu jonami metali.
Pasting profile of oxidised starch prior to and after complexation with metal ions.

Skrobia Starch	Preparaty skrobi zmodyfikowanej Modified starch preparations	T_p [°C]	PV [Pa·s]	HPV [Pa·s]	BD [Pa·s]	FV [Pa·s]	SB [Pa·s]
Ziemniaczana Potato	Utleniona Oxidised	63,9 ± 0,8	7,65 ± 0,05	3,37 ± 0,01	4,28 ± 0,19	3,76 ± 0,08	0,39 ± 0,04
	Utleniona + K Oxidised + K	58,2 ± 0,3	5,64 ± 0,02	1,73 ± 0,03	3,91 ± 0,04	2,50 ± 0,03	0,78 ± 0,01
	Utleniona + Mg Oxidised + Mg	62,9 ± 0,1	6,66 ± 0,05	2,94 ± 0,04	3,65 ± 0,04	3,95 ± 0,13	1,01 ± 0,10
	Utleniona + Fe Oxidised + Fe	64,5 ± 0,3	4,89 ± 0, 10	2,25 ± 0,04	2,65 ± 0,05	3,66 ± 0,05	1,45 ± 0,03
	NIR _{0,05} LSD _{0,05}	1,3	0,16	0,09	0,26	0,21	0,18
Orkiszowa Spelt wheat	Utleniona Oxidised	62,7 ± 0,6	2,77 ± 0,02	1,94 ± 0,02	0,83 ±0,0 2	4,16 ± 0,03	2,23 ± 0,03
	Utleniona + K Oxidised + K	59,1 ± 0,6	1,71 ± 0,02	0,90 ± 0,02	0,81 ± 0,03	2,47 ± 0,03	1,57 ± 0,05
	Utleniona + Mg Oxidised + Mg	60,5 ± 0,5	1,13 ± 0,05	0,74 ± 0,03	0,38 ± 0,02	1,92 ± 0,09	1,18 ± 0,06
	Utleniona + Fe Oxidised + Fe	60,9 ± 0,2	1,59 ± 0,02	0,70 ± 0,02	0,89 ± 0,01	1,87 ± 0,02	1,16 ± 0,03
	NIR _{0,05} LSD _{0,05}	1,2	0,08	0,06	0,06	0,13	0,12

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

mineralnymi na przebieg charakterystyki kleikowania skrobi ziemniaczanej i orkiszowej był prawdopodobnie związany nie tylko z depolimeryzacją łańcuchów skrobiowych, ale również z odmiennym mechanizmem wbudowania składników mineralnych do struktury ziarenek skrobiowych. W skrobi ziemniaczanej utlenionej składniki mineralne są nie tylko przyłączane przez grupy karboksylowe, ale również przez reszty kwasu ortofosforowego. Charakterystykę kleikowania utlenionych skrobi ziemniaczanych wzbogacanych w jony metali badali również Śmigielska i Thanh-Blicharz [21] oraz Śmigielska i wsp. [19]. Stwierdzili oni, że dodatek niewielkich ilości metalu wielowartościowego do skrobi utlenionych wpływa na wzrost lepkości kleików, co jest spowodowane sieciowaniem łańcuchów skrobiowych. Dodatek większych ilości metalu wielowartościowego powoduje natomiast zmniejszenie lepkości skrobi utlenionych. Z wyników badań powyższych autorów wynika ponadto, że na zmiany lepkości wzbogacanych skrobi utlenionych ma wpływ nie tylko rodzaj i ilość przyłączonego składnika mineralnego, ale także stopień utlenienia skrobi poddanej kompleksowaniu.

Z wyznaczonych krzywych płynięcia (rys. 1) wynika, że badane kleiki cechowały właściwości cieczy nienewtonowskich, rozrzedzanych ścinaniem z tendencją do granicy płynięcia, co jest charakterystyczne dla kleików skrobi naturalnych i modyfikowanych [7, 9, 18]. Kompleksowanie zarówno skrobi ziemniaczanej, jak i orkiszowej, spowodowało obniżenie wartości naprężeń ścinających kleików skrobiowych w całym badanym zakresie szybkości ścinania, przy czym modyfikacja jonami żelaza oddziaływała w największym stopniu. Zastosowane metody kompleksowania w odmienny sposób wpłynęły również na zmniejszenie wartości maksymalnych naprężeń ścinających w wyjściowych kleikach skrobi. Jednak obie skrobie wzbogacone w żelazo charakteryzowały się najniższymi wartościami maksymalnych naprężeń ścinających w porównaniu z pozostałymi skrobiami. W skrobi ziemniaczanej ten składnik mineralny obniżył powyższy parametr o ponad 75 % (z 211 do 50 Pa), a w skrobi orkiszowej o ponad 55 % (z 21 do 12 Pa). Wpływ na obniżenie wartości naprężeń maksymalnych w przypadku kleików skrobi modyfikowanych z pozostałymi składnikami mineralnymi był uzależniony głównie od pochodzenia botanicznego skrobi, gdyż kompleksowanie magnezem skrobi ziemniaczanej w niewielkim stopniu obniżyło ten parametr do wartości 192 Pa, natomiast kompleksowanie potasem – do wartości 50 Pa, a w skrobi orkiszowej kompleksowanie, odpowiednio, potasem – do 16 Pa i magnezem – do 14 Pa. Takie zachowanie się kleików podczas ścinania w elemencie pomiarowym związane jest z odmienną odpornością ich struktury na działanie sił ścinających. Wartości współczynnika konsystencji (K) wskazują (tab. 3), że modyfikowanie obu skrobi utlenionych wpłynęło na zmniejszenie lepkości początkowej kleików skrobiowych. Wyjątek stanowiła skrobia ziemniaczana modyfikowana potasem, w której obecność tego składnika mineralnego nie wpłynęła istotnie na zmiany lepkości początkowej. Wartości



Rys. 1. Krzywe płynięcia kleików skrobi utlenionych a) ziemniaczanej, b) orkiszowej przed i po kompleksowaniu jonami metali.

Fig. 1. Flow curves of a) potato starch paste and b) spelt wheat starch paste prior to and after complexation with metal ions.

wskaźnika płynięcia (n) wszystkich badanych kleików skrobiowych były mniejsze od 1, co potwierdza, że są to ciecze rozrzedzane ścinaniem. Jedynie kompleksowanie utlenionej skrobi ziemniaczanej jonami potasu spowodowało obniżenie wartości wskaźnika płynięcia kleiku, co przy uwzględnieniu tej samej wartości współczynnika konsystencji wyznaczonej dla skrobi wyjściowej świadczy o jego większej podatności na zastosowane warunki ścinania. Pozostałe modyfikacje skrobi ziemniaczanej utlenionej nie wpłynęły na istotne zmiany wartości tego parametru. W przypadku skrobi orkiszowej natomiast modyfikacje z jonami potasu i magnezu zwiększyły wartość wskaźnika płynięcia kleików skrobiowych, co świadczy o większej stabilności tych kleików w zastosowanych warunkach ścinania. Spowodowane to mogło być sieciowaniem skrobi metalami dwuwartościowymi, zwiększającym stabilność reologiczną kleików [7, 12, 22].

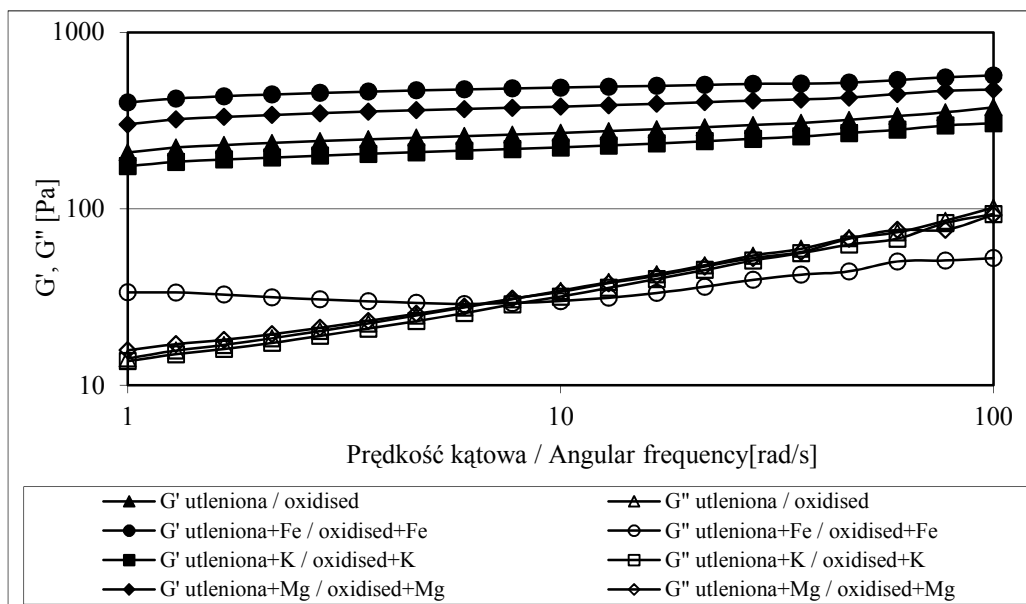
Tabela 3

Parametry reologiczne modelu potęgowego dla kleików skrobi utlenionych przed i po kompleksowaniu jonami metali.

Rheological parameters of power law model for pastes of oxidised starches prior to and after complexation with metal ions.

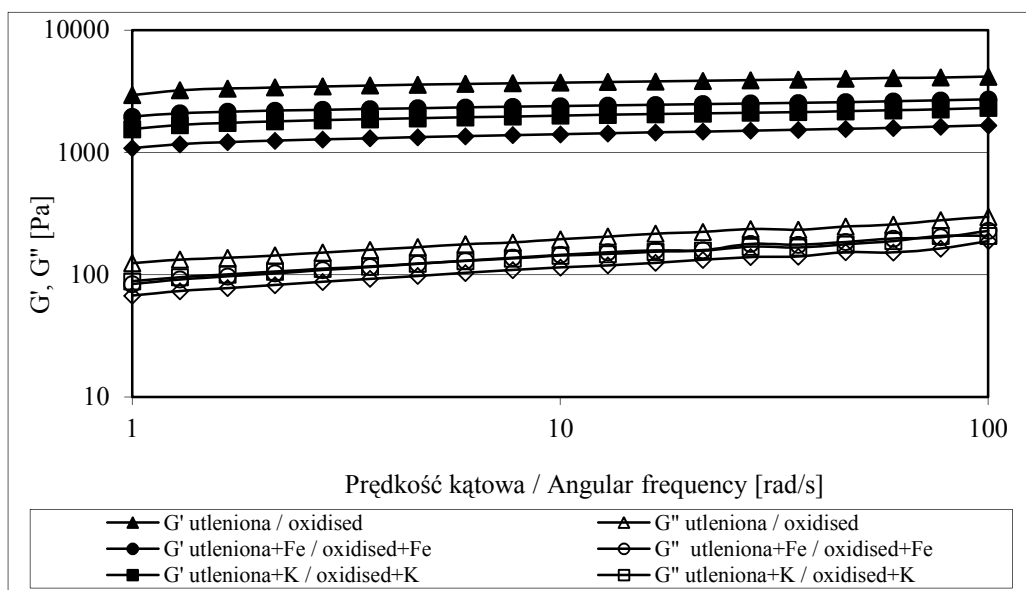
Skrobia Starch	Preparaty skrobi zmodyfikowanej Modified starch preparations	K [Pa·s ⁿ]	n	R ²
Ziemniaczana Potato	Utleniona Oxidised	10,1 ± 0,1	0,50 ± 0,00	0,9919
	Utleniona + K Oxidised + K	10,3 ± 0,2	0,38 ± 0,01	0,9868
	Utleniona + Mg Oxidised + Mg	8,3 ± 0,3	0,50 ± 0,00	0,9838
	Utleniona + Fe Oxidised + Fe	2,4 ± 0,3	0,47 ± 0,02	0,9463
	NIR _{0,05} LSD _{0,05}	0,6	0,04	–
Orkiszowa Spelt wheat	Utleniona Oxidised	2,6 ± 0,2	0,31 ± 0,02	0,9401
	Utleniona + K Oxidised + K	0,6 ± 0,0	0,53 ± 0,01	0,9775
	Utleniona + Mg Oxidised + Mg	1,0 ± 0,1	0,41 ± 0,01	0,9488
	Utleniona + Fe Oxidised + Fe	1,7 ± 0,1	0,30 ± 0,03	0,8991
	NIR _{0,05} LSD _{0,05}	0,3	0,03	–

Na rys. 2. i 3. przedstawiono spektra mechaniczne skrobi utlenionych przed i po kompleksowaniu z poszczególnymi jonami metali. We wszystkich przypadkach wartości modułu zachowawczego G' były większe od modułu stratności G'' , a wartości tangensa kąta przesunięcia fazowego ($\tan \delta = G''/G'$) były mniejsze od jedności, co świadczy o dominacji cech sprężystych nad lepkimi. Żel skrobi ziemniaczanej utlenionej (rys. 2) charakteryzował się istotnie niższymi wartościami modułów G' i G'' w porównaniu z żelem skrobi orkiszowej utlenionej (rys. 3). Ponadto wartości modułów G' i G'' oraz $\tan \delta$ wyznaczone dla żelu skrobi ziemniaczanej utlenionej wykazywały większą zależność od prędkości kątowej niż w przypadku skrobi orkiszowej utlenionej, gdzie $\tan \delta$ przyjmował wartości poniżej 0,1. Wynika stąd, że skrobia ziemniaczana utleniona tworzy słabszy żel w porównaniu ze skrobią orkiszową utlenioną tworzącą w zastosowanym stężeniu mocny i sprężysty żel. Potwierdzają to również wartości parametrów równań potęgowych użytych do opisu spektrów mechanicznych (tab. 5). Wartości parametrów K' i K'' wskazujące na początkowe wartości modułów były istotnie mniejsze w przypadku żelu skrobi ziemniaczanej utlenionej. Natomiast większe wartości n' i n'' żelu skrobi ziemniaczanej utlenionej wskazują na większą zależność wartości modułów G' i G'' od prędkości kątowej. Kompleksowanie poszczególnych skrobi utlenionych metalami miało różny wpływ na właściwości lepkosprężyste ich żeli. W przypadku skrobi ziemniaczanej utlenionej kompleksowanie jonami potasu wpłynęło istotnie na redukcję wartości modułu sprężystości (rys. 2), co koreluje z mniejszymi wartościami lepkości maksymalnej i końcowej podczas kleikowania (tab. 3). W przypadku kompleksowania jonami magnezu lub żelaza wystąpił statystycznie istotny wzrost wartości modułu sprężystości (rys. 2), na co wskazują wartości parametru K' (tab. 5). Kompleksowanie ziemniaczanej skrobi utlenionej jonami potasu lub magnezu nie wpłynęło istotnie na zmiany wartości modułu G'' (rys. 2). Natomiast w przypadku jonów żelaza stwierdzono statystycznie istotny wzrost wartości modułu lepkości G'' , przy jednoczesnym spadku parametru n'' świadczącym o słabszej zależności G'' od prędkości kątowej, co wskazuje na wzmocnienie struktury żelowej. W przypadku skrobi utlenionej orkiszowej jej kompleksowanie poszczególnymi jonami spowodowało statystycznie istotny spadek wartości zarówno modułu sprężystości G' , jak i stratności G'' (rys. 3), co potwierdzają wartości parametrów K' i K'' (tab. 4). To z kolei potwierdza wyniki dotyczące spadku lepkości podczas kleikowania (tab. 3) oraz redukcji wartości współczynnika konsystencji (tab. 4). Najmniejszy spadek wartości modułów stwierdzono w przypadku skrobi kompleksowanej jonami żelaza, co również znajduje odzwierciedlenie w spadku lepkości podczas kleikowania (tab. 3) oraz lepkości pozornej podczas płynięcia (tab. 4). W przypadku skrobi orkiszowej stwierdzono także wzrost wartości $\tan \delta$ na skutek kompleksowania jonami metali, co świadczy o osłabieniu tworzących się struktur żelowych. Różne zachowanie się skrobi utlenionych w trakcie kleikowania, płynięcia i dynamicznego ścinania oscylacyjnego może



Rys. 2. Mechaniczne spektra żeli utlenionej skrobi ziemniaczanej przed i po kompleksowaniu jonami metali.

Fig. 2. Spectra for oxidised potato starch gels prior to and after complexation with metal ions.



Rys. 3. Mechaniczne spektra żeli utlenionej skrobi orkiszowej przed i po kompleksowaniu jonami metali.

Fig. 3. Mechanical spectra for oxidised spelt wheat starch gels prior to and after complexation with metal ions.

Tabela 4

Parametry modelu potęgowego opisujące zależność modułów sprężystości i lepkości od prędkości kątowej żeli skrobi utlenionych przed i po kompleksowaniu jonami metali.

Parameters of power law equations describing dependence between storage and loss moduli on angular frequency of oxidised starch gels prior to and after modification with metal ions.

Skrobia Starch	Preparaty skrobi zmodyfikowanej Modified starch preparations	K'	n'	R ²	K''	n''	R ²
Ziemniaczana Potato	Utleniona Oxidised	212,9 ± 6,5	0,11 ± 0,00	0,9757	13,4 ± 0,1	0,42 ± 0,00	0,9966
	Utleniona + K Oxidised + K	176,3 ± 11,9	0,11 ± 0,01	0,9822	12,7 ± 0,3	0,42 ± 0,01	0,9951
	Utleniona + Mg Oxidised + Mg	313,6 ± 13,2	0,09 ± 0,00	0,9805	14,6 ± 0,3	0,39 ± 0,00	0,9922
	Utleniona + Fe Oxidised + Fe	418,9 ± 22,2	0,06 ± 0,00	0,9637	27,9 ± 2,3	0,10 ± 0,01	0,9821
	NIR _{0,05} LSD _{0,05}	38,3	0,01	-	3,39	0,02	-
Orkiszowa Spelt wheat	Utleniona Oxidised	3197,1 ± 29,9	0,06 ± 0,00	0,9332	126,5 ± 5,4	0,18 ± 0,01	0,9901
	Utleniona + K Oxidised + K	1670,4 ± 79,8	0,07 ± 0,01	0,9585	92,3 ± 4,0	0,18 ± 0,00	0,9867
	Utleniona + Mg Oxidised + Mg	1157,7 ± 25,1	0,08 ± 0,00	0,9719	70,6 ± 4,4	0,20 ± 0,00	0,9908
	Utleniona + Fe Oxidised + Fe	2072,2 ± 155,0	0,06 ± 0,00	0,9669	88,5 ± 3,3	0,20 ± 0,00	0,9852
	NIR _{0,05} LSD _{0,05}	233,7	0,01	-	11,4	0,01	-

wynikać z wielu czynników. Poza botanicznym pochodzeniem skrobi, a więc jej strukturą molekularną i zawartością substancji nieskrobiowych, w tym fosforu związanego estrowo w skrobi ziemniaczanej, istotnym czynnikiem będzie stopień utlenienia i związana z nim degradacja polimerów skrobiowych. Pomimo stosowania identycznych warunków utleniania skrobie różnego pochodzenia wykazują różną podatność na tego typu modyfikacje [10, 14]. Dodatkowym czynnikiem determinującym właściwo-

ści reologiczne utlenionych skrobi kompleksowanych z metalami jest stopień wysycenia poszczególnymi jonami. Pomimo zastosowania tych samych warunków kompleksowania, poddane analizom skrobie wiązały różne ilości poszczególnych jonów. W przypadku skrobi ziemniaczanej utlenionej wiązanie jonów może odbywać się zarówno poprzez grupy karbonylowe i karboksylowe powstające w trakcie utleniania, jak również przez reszty fosforanowe naturalnie występujące w skrobi ziemniaczanej i warunkujące jej zdolność do wymiany jonowej.

Wnioski

1. Wpływ kompleksowania skrobi utlenionych składnikami mineralnymi na właściwości reologiczne był uzależnionych nie tylko od rodzaju użytego składnika mineralnego, ale również od pochodzenia botanicznego skrobi.
2. Skrobie utlenione kompleksowane składnikami mineralnymi w trakcie ogrzewania i przetrzymywania w temperaturze 95 °C charakteryzowały się mniejszą lepkością graniczną i niższymi wartościami lepkości wyznaczonymi za pomocą RVA.
3. Kompleksowanie skrobi utlenionych składnikami mineralnymi spowodowało obniżenie wartości naprężeń ścinających kleików skrobiowych w całym zakresie prędkości ścinania oraz wpłynęło na zmiany w zdolności tworzenia przez nie struktur żelowych i właściwości lepkosprężystych.

Badania finansowane w ramach projektu badawczego MNiSW nr NN 312 438037.

Literatura

- [1] Achanta K., Aryana K.J., Boeneke Ch.: Fat free plain set yogurts fortified with various minerals. *LWT-Food Sci. Technol.*, 2007, **40** (3), 424-429.
- [2] Chen Y., Wang G.: Synthesis of crosslinked oxidised starch and its adsorption behavior for calcium ion. *J. App. Polym. Sci.*, 2006, **102**, 1539-1546.
- [3] Ciesielski W., Tomasik P., Thermal properties of complexes of amaranthus starch with selected metal salts. *Thermochim. Acta*, 2003, **403**, 161-171.
- [4] Copeland L., Błazek J., Salman H., Tang M.Ch.: Form and functionality of starch. *Food Hydrocoll.* 2009, **23** (6), 1527-1534
- [5] Floor M., Kieboom A.P.G., van Bekkum H.: Preparation and calcium complexation of oxidized polysaccharides. Part I: Oxidation of maltodextrins and starch with alkaline sodium hypochlorite. *Starch/Stärke*, 1989, **41** (9), 348-354.
- [6] Forsell P., Hamunen A., Autio K., Suorti T., Poutanen K.: Hypochlorite oxidation of barley and potato starch. *Starch/Stärke*, 1995, **47** (10), 371-377.
- [7] Fortuna T., Gałkowska D., Juszcak L.: Porównanie właściwości reologicznych wybranych preparatów skrobi modyfikowanej. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 2004, **3**, 21-32.
- [8] Frossard E., Bucher M., Machler F., Mozafar A., Hurrell R.: Potential for increasing the content and bioavailability of Fe, Zn and Ca in plants for human nutrition. *J. Sci. Food Agric.*, 2000, **80** (7), 861-879.


- [9] Juszcak L., Witczak M., Zięba T., Fortuna T.: Rheological behaviour heated potato starch dispersions. *Int. Agrophys.*, 2012, **26**, 381-386.
- [10] Kuakpetoon D., Wang Ya-J.: Characterization of different starches oxidised by hypochlorite. *Starch/Stärke*, 2001, **53 (5)**, 211-218.
- [11] Kweon D.-K., Choi J.-K., Kim E.-K., Lim S.-T.: Adsorption of divalent metal ions by succinylated and oxidised corn starches. *Carbohydr. Polym.*, 2001, **46**, 171-177.
- [12] Liu H., Ramsden L., Corke H.: Physical properties of cross-linked and acetylated normal and waxy rice starch. *Starch/Stärke*, 1999, **51 (7)**, 249-252.
- [13] Łabanowska M., Bidzińska E., Pietrzyk S., Juszcak L., Fortuna T., Błoniarczyk K.: Influence of copper catalyst on the mechanism of carbohydrate radicals generation in oxidized potato starch. *Carbohydr. Polym.*, 2011, **85**, 775-785.
- [14] Pietrzyk S., Fortuna T.: Wpływ rodzaju skrobi i warunków jej utleniania na retrogradację. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **2 (43)**, 23-32.
- [15] Pietrzyk S., Fortuna T., Królikowska K., Rogozińska E., Łabanowska M., Kurdziel M.: Effect of mineral elements on physicochemical properties of oxidised starches and generation of free radicals. *Carbohydr. Polym.* DOI: 10.1016/j.carbpol.2013.04.077
- [16] Soetan K.O., Olaiya C.O., Oyewole O.E.: The importance of mineral elements for humans, domestic animals and plants: A review. *Afr. J. Food Sci.*, 2010, **4 (5)**, 200-222.
- [17] Spence J.T.: Challenges related to the composition of functional foods. *J. Food Comp. Analysis* 2006, **19**, 4-6.
- [18] Sun D-S. Yoo B.: Rheological and thermal properties of blend systems of rice flour and potato starch. *Food Sci. Biotechnol.*, 2011, **20 (6)** 1679-1684.
- [19] Śmigielska H., Lewandowicz G., Walkowski A.: Wpływ dodatku mikroelementów na właściwości użytkowe skrobi utlenionych. *Folia Univ. Agric. Stetin. Scientia Alimentaria*, 2005, **246 (4)**, 289-302.
- [20] Śmigielska H., Lewandowicz G.: Właściwości funkcjonalne skrobi modyfikowanych wzbogacanych jonami miedzi. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **6 (55)**, 198-209.
- [21] Śmigielska H., Le Thanh-Blicharz J.: Research on zinc fortified potato starch and on its use in desert production. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* 2010, **9 (2)**, 217-226.
- [22] Tharanathan R.N.: Starch-value addition by modification. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2005, **45**, 371-384.
- [23] Watzke H.J.: Impact of processing on bioavailability examples of minerals in foods. *Trends Food Sci. Technol.*, 1998, **9**, 320-327.

EFFECT OF COMPLEXATION OF STARCHES OXIDISED WITH MINERAL ELEMENTS ON THEIR RHEOLOGICAL PROPERTIES

S u m m a r y

The objective of the research study was to determine the effect of complexation of starches oxidised with mineral elements on their rheological properties. Potato and spelt wheat starches were oxidised using chlorate (I) sodium and, next, they underwent complexation with potassium, magnesium, or iron ions. The rheological analysis of the starches comprised the determination of their intrinsic viscosity and pasting profile. Moreover, the flow curves of starch pastes were determined as were the mechanical spectra of starch gels. Based on the results obtained, it was found that the complexation of starches oxidised with metal ions caused the intrinsic viscosity of the starches to decrease and the rheological properties of the

starch pastes and gels to change. The rheological properties of pastes and gels of starches oxidised with metal ions depended on both the modification type and the botanical origin of the starches.

Key words: oxidised starch, complexation, mineral elements, rheological properties 

ANNA PTASZEK, PAWEŁ PTASZEK, MIROSŁAW GRZESIK

ZASTOSOWANIE WYKŁADNICZYCH REOLOGICZNYCH RÓWNAŃ STANU DO OPISU STRUKTURALNYCH WŁAŚCIWOŚCI HYDROKOLOIDÓW

Streszczenie

W pracy dokonano interpretacji krzywych płynięcia kleików skrobi ziemniaczanej i woskowej. Do danych doświadczalnych, uzyskanych w różnych temperaturach, dopasowano reologiczne wykładnicze równanie stanu układów rozrzedzanych ścinaniem. Metodą regularyzacji Tichonowa obliczono rozkłady reologicznych stałych czasowych. Stwierdzono, że wartości tych stałych oraz ich intensywności są zależne od składu kleiku, natomiast położenie globalnego maksimum rozkładów jest niezależne od temperatury. Czasy charakterystyczne wyznaczone z równania (1) przyjmują wartości z przedziału (0,1 - 1 s), co wskazuje na dominację zjawisk lepkościowych w kształtowaniu właściwości reologicznych kleików. Wraz ze wzrostem temperatury zwiększa się intensywność dużych stałych czasowych opisujących przyczynki lepkościowe. Analiza właściwości reologicznych wskazuje na wytworzenie w kleiku struktury, która w miarę wzrostu temperatury ulega „upłynnieniu”. Kleiki skrobiowe to układy zdolne do magazynowania energii mechanicznej.

Słowa kluczowe: skrobia, regularyzacja, stałe czasowe, reologiczne czasy charakterystyczne, histereza, krzywe płynięcia

Wprowadzenie

Złożone oddziaływania, występujące w roztworach hydrokoloidów, skutkują ich właściwościami reologicznymi, odbiegającymi od prawa Newtona [4, 12, 15, 18]. Jest to problem znany i opisywany w literaturze przedmiotu [5, 9, 13]. Do opisu tych zjawisk najczęściej stosuje się równania potęgowe (Herschela-Bulkleya, Ostwalda de Waele'a), które ułatwiają klasyfikację reologiczną badanych układów. Coraz częściej eksperymantatorzy posługują się jednak równaniami stanu Crossa lub Carreau, w których występują stałe czasowe lub reologiczny czas charakterystyczny [7]. Estymacja parametrów modeli reologicznych zawierających stałe czasowe pozwala na wyznacze-

Dr inż. A. Ptaszek, dr inż. P. Ptaszek, prof. dr hab. M. Grzesik, Katedra Inżynierii i Aparatury Przemysłu Spożywczego, Wydz. Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków

nie najbardziej prawdopodobnego czasu charakterystycznego badanego materiału. Określenie zmian wartości stałych w równaniach Crossa lub Carreau w funkcji temperatury czy stężenia umożliwia ukształtowanie poglądu o strukturze zjawisk reologicznych zachodzących podczas ścinania [9, 13]. Innym typem reologicznych równań stanu, w których występują stałe czasowe, są modele wykładnicze m.in. Papanastasiou [6, 10]. De Kee i wsp. [2] zastosowali do opisu lepkości (η_{poz}) rozrzedzanych ścinaniem produktów spożywczych (puree bananowe, majonez, jogurt) sumę członów wykładniczych:

$$\eta_{poz}(\dot{\gamma}) = \tau_0 \cdot \dot{\gamma}^{-1} + \sum_{p=1}^{\infty} \eta_p \cdot \exp(-t_p \cdot \dot{\gamma}) \quad (1)$$

Autorzy estymowali wartości parametrów trzech pierwszych składników sumy, wyznaczając w ten sposób stałe czasowe t_p (s) oraz ich intensywności η_p (Pas).

Równania te są interesujące ze względu na formalne podobieństwo do fenomenologicznych modeli Maxwella i Burgera. Są one stosowane do opisu właściwości lepko-sprężystych w obszarze liniowym [3, 16]. W przypadku roztworów biopolimerów najczęściej korzysta się z modeli dyskretnych i ciągłych ze względu na złożoną strukturę oddziaływań pomiędzy łańcuchami [11]. Estymacja parametrów modelu Maxwella lub Burgera prowadzi do wyznaczenia czasów relaksacji lub retardacji czyli reologicznych czasów charakterystycznych.

Celem pracy była analiza rozkładów stałych czasowych wyznaczonych na podstawie krzywych płynięcia kleików skrobiowych, przydatnych do opisu właściwości strukturotwórczych skrobi.

Materiały i metody badań

Materiał do badań stanowiły kleiki amylopektyny (Sigma, Steinheim, Niemcy) oraz skrobi ziemniaczanej „Luboń” (WPPZ Luboń S. A., Polska). Badane układy potraktowano jako układy modelowe. Kleiki skrobiowe przygotowywano w taki sposób, że naważkę skrobi (1 g) zalewano wodą destylowaną (99 g) i mieszano przez 1 h w temperaturze otoczenia. Następnie umieszczano ją we wrzącej łaźni wodnej (98 °C) i kleikowano przez 40 min, nieustannie mieszając (350 rpm). Próbkę zabezpieczono przed odparowaniem wody. Tak otrzymany kleik pozostawiano do schłodzenia przez około 2 h i rozpoczynano pomiar właściwości reologicznych.

Badania reologiczne

Pomiary reologiczne przeprowadzano z wykorzystaniem reometru rotacyjnego typu RS-6000 firmy HAAKE (Niemcy), w układzie pomiarowym typu stożek (kąt 2°, $d_{in} = 35$ mm) – płytka. Zastosowano szczelinę pomiarową o wymiarze 1 mm. W pierwszym etapie doświadczenia optymalizowano ustawienie sensora, co zapewniło elimi-

nację efektu jego bezwładności podczas wykonywania właściwych pomiarów lepkości. Następnie dostosowano prędkość wprowadzania sensora do badanej próbki tak, aby uzyskać powtarzalność wyników. Badania wykonywano w temp. 20, 30 i 40 °C. Temperatura kontrolowana była za pomocą ultratermostatu F-6 firmy HAAKE z dokładnością do 0,1 °C. Program pomiarowy realizowano w ciągu 10 min, przy czym poprzedzony był on relaksacją próbki (pod sensorem) przez 10 min. W pierwszym etapie zwiększano szybkość ścinania od 0 do 1000 s⁻¹ (krzywa w górę "up") w ciągu 5 min. Po osiągnięciu żądanej wartości $\dot{\gamma}$ wykonywano pomiary lepkości pozornej w warunkach malejącej do zera szybkości ścinania w tym samym przedziale czasowym (krzywa w dół "down"). W efekcie uzyskano histerezę krzywych płynięcia. Pomiary powtarzano trzykrotnie.

Estymacja rozkładów stałych czasowych

Do estymacji parametrów możliwe jest zastosowanie bezpośredniej minimalizacji nieliniowej funkcji celu w sensie najmniejszych kwadratów. Jednak taka estymacja możliwa jest tylko dla kilkunastu składników sumy, ponieważ wraz ze wzrostem liczby estymowanych parametrów zagadnienie staje się bardzo skomplikowane obliczeniowo (zagadnienie źle uwarunkowane (*ill-posed*)). Zauważyć też należy, że estymacja tylko jednego składnika sumy w równaniu (1) umożliwia oszacowanie tzw. najbardziej prawdopodobnego czasu charakterystycznego. Nie pozwala to jednak na wgląd w strukturę stałych czasowych danego układu, przez co opis zachowań jest niepełny.

Jako metodę estymacji parametrów w równaniu stanu wykorzystano metodę regularyzacji [16]. Stosowana jest ona wszędzie tam, gdzie występuje tzw. złe uwarunkowanie układu. Metoda regularyzacji polega na znalezieniu „złotego środka” pomiędzy błędem otrzymanych estymatorów w sensie najmniejszych kwadratów a kształtem estymowanej funkcji. W takim przypadku funkcja celu (χ_R^2) przyjmuje postać:

$$\chi_R^2 = \sum_{j=1}^M (\eta_j^\sigma - \hat{\eta}_j)^2 + \alpha \cdot \sum_{p=1}^{\infty} \eta_p^2 \rightarrow \min_{\tau_o \geq 0; t_p, \eta_p \geq 0} \quad (2)$$

W równaniu (2) lepkość pozorną $\hat{\eta}_j$ estymowano, korzystając z wyrażenia $\hat{\eta}_j = \eta_{poz}(\dot{\gamma}_j) = \tau_o \cdot \dot{\gamma}_j^{-1} + \sum_{p=1}^{\infty} \eta_p \cdot \exp(-t_p \cdot \dot{\gamma}_j)$, natomiast η_j^σ reprezentuje doświadczalne wartości lepkości.

Ograniczenia nierównościowe dla zagadnienia (2) niezbędne są po to, aby otrzymane estymatory (τ_o , η_p i t_p) miały interpretację fizyczną. Parametr α jest tzw. parametrem regularyzacyjnym i to właśnie jego wartość decyduje o wzajemnych proporcjach pomiędzy dokładnością dopasowania a kształtem funkcji. Jeśli parametr α przyjmuje wartość 0, to metoda regularyzacji staje się klasyczną metodą najmniejszych kwadratów. W pracy posłużono się algorytmem zaproponowanym przez Wesse'a [17].

W wyniku tak przeprowadzonej estymacji parametrów równania (1) otrzymano rozkłady dyskretne $\eta_p(t_p)$ oraz wartość granicy płynięcia τ_0 .

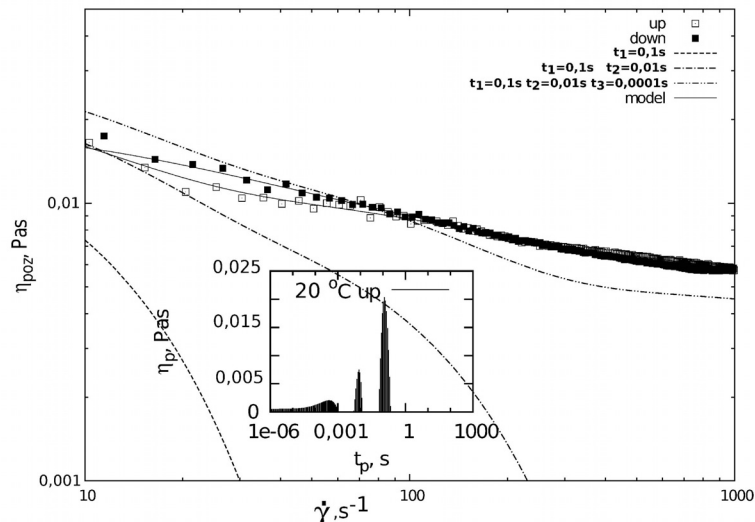
Wyniki i dyskusja

Lepkość pozorna a wartości parametrów równania stanu

W przypadku wielu płynów nienewtonowskich zależność lepkości od szybkości ścinania jest odzwierciedlana w układzie (log-log) za pomocą krzywej sigmoidalnej. W zależności od temperatury, stężenia badanego roztworu, a także zastosowanego zakresu szybkości ścinania, uzyskana krzywa płynięcia może przedstawiać inny fragment sigmoidy (rys. 1). Przedstawione krzywe płynięcia w przypadku 1-procentowego kleiku skrobi ziemniaczanej opisują zachowanie układu rozrzedzanego ścinaniem. Lepkość pozorna kleiku (wyznaczona z krzywych płynięcia realizowanych przy wzrastającej, a następnie malejącej szybkości ścinania) zmieniała się w zakresie od $6 \cdot 10^{-3}$ Pa·s do 0,02 Pa·s. Do takiego zbioru danych dopasowano model opisany równaniem stanu (1), uzyskując ponad sto składników sumy. Wartości parametrów przedstawiono na wykresie w układzie współrzędnych t_p (odcięte) i η_p (rzędne). Rozkład stałych czasowych jest złożony z trzech pików o maksimach w $t_1 = 0,1$ s, $t_2 = 0,01$ s oraz $t_3 = 0,001$ s. Intensywność η_1 pierwszego z czasów t_1 jest największa (globalne maksimum). Podstawienie tych dwóch wartości do modelu wykładniczego (1) czyli uwzględnienie tylko jednego składnika sumy prowadzi do uzyskania krzywej lepkościowej przedstawionej na rys. 1. Krzywa odbiega od wartości doświadczalnych w pełnym zakresie szybkości ścinania.

Uwzględnienie w równaniu (1) drugiego lokalnego maksimum dla $t_2 = 0,01$ s o wartości $\eta_2 = 0,02$ Pa·s umożliwia wykreślenie krzywej płynięcia, która odbiega od lepkości doświadczalnej w przypadku szybkości ścinania większej od 20 s⁻¹. Trzecie lokalne maksimum $t_3 = 0,001$ s o intensywności $\eta_3 = 0,005$ Pa·s umożliwia wykreślenie krzywej płynięcia, która oddaje jakościowo zmiany lepkości podczas ścinania. Trzy wymienione maksima odpowiadają głównym stałym czasowym, które jakościowo opisują właściwości reologiczne badanych układów. Największe wartości t_p opisują przede wszystkim zachowanie reologiczne w zakresie małych szybkości ścinania. Zjawisko płynięcia (nieodwracalnej deformacji) zachodzące w warunkach małych szybkości ścinania jest charakterystyczne dla cieczy lepkich. Oddziaływania pomiędzy molekułami w takiej cieczy są zbyt słabe, aby zakumulować energię mechaniczną. Z kolei małe wartości stałych czasowych odpowiadają za opis właściwości w zakresie dużych szybkości ścinania. Ścinanie materiału z dużą szybkością powoduje znaczne odkształcenie próbki i jednocześnie dostarczenie dużej ilości energii mechanicznej. W takich warunkach ścinania odkształceniu ulegać mogą struktury pseudożelowe, żełe czy też ciecze, których duża lepkość wynika z silnych oddziaływań pomiędzy makromoleku-

łami. Lepkość interpretowana jako opór stawiany przez płyn podczas ścinania jest zatem bardzo duża. Uwzględnienie wszystkich stałych czasowych wraz z ich intensywnością umożliwia pełny opis zmian lepkości w funkcji szybkości ścinania (rys. 1, linia ciągła "model").



Rys. 1. Dopasowanie równania (1) do danych doświadczalnych przy zastosowaniu pojedynczego (t_1), dwóch (t_1, t_2) i trzech (t_1, t_2, t_3) reologicznych czasów charakterystycznych z pełnym modelem reologicznym na przykładzie kleiku 1-procentowej skrobi ziemniaczanej w temp. 20 °C.

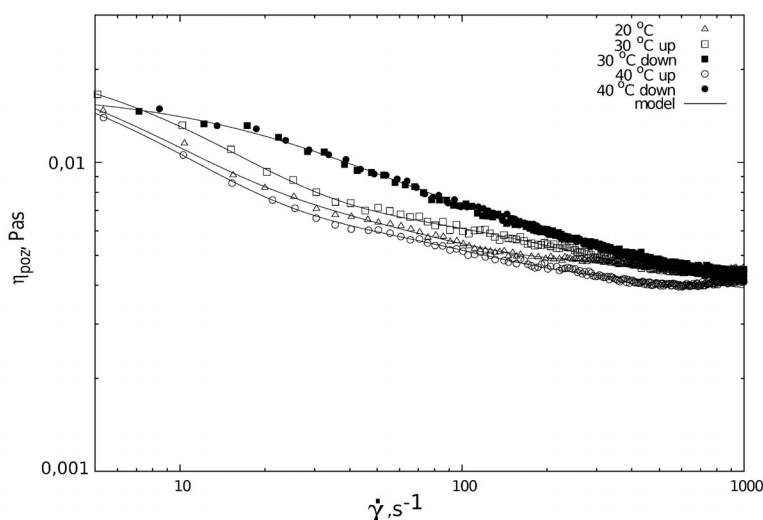
Fig. 1. Adjusting Equation (1) to experimental data using one (t_1), two (t_1, t_2) and three (t_1, t_2, t_3) rheological characteristic times exemplified by paste of 1 % (w/w) starch at a temperature of 20 °C.

Strukturotwórcze właściwości skrobi

Zestawienie krzywych płynięcia realizowanych w warunkach wzrostu i zmniejszania szybkości ścinania w przypadku kleiku skrobi ziemniaczanej w temp. 30 i 40 °C uwidacznia interesujące właściwości reologiczne (rys. 2). W pierwszej kolejności zauważyć można, że przebieg krzywych "w dół" wskazuje na większą lepkość pozorną kleików niż podczas ścinania przy wzrastającej szybkości ścinania. Pod względem poznawczym oznacza to, że kleik skrobiowy jest zdolny do magazynowania energii mechanicznej.

Ścinanie badanego materiału polega na poddawaniu go odkształceniu, a w konsekwencji wykonaniu pracy mechanicznej. Energia ta może zostać rozproszona, co najczęściej ma miejsce w przypadku cieczy lepkich lub może zostać pochłonięta przez ścinany materiał. W kleiku skrobiowym następuje akumulacja energii, wyraźnie widoczny jest też efekt wzmocnienia struktury kleiku. Zjawisko to ulega wzmocnieniu

w temp. 40 °C. Rozbieżność krzywych "up" i "down" jest zdecydowanie bardziej widoczna niż w przypadku danych otrzymanych w temp. 30 °C. Zjawisko histerezy jest widoczne w całym zakresie szybkości ścinania. Warto również zauważyć, że lepkość pozorna tego kleiku w temp. 40 °C (krzywa "w dół") była większa od analogicznej w 30 °C. Oznacza to, że wzrost temperatury pogłębia możliwość pochłaniania energii, najprawdopodobniej na skutek rozluźnienia struktury żelowej kleiku. Łańcuchy skrobiowe są bardziej elastyczne i, w związku z tym, bardziej podatne na odkształcanie w zakresie niższych szybkości ścinania.



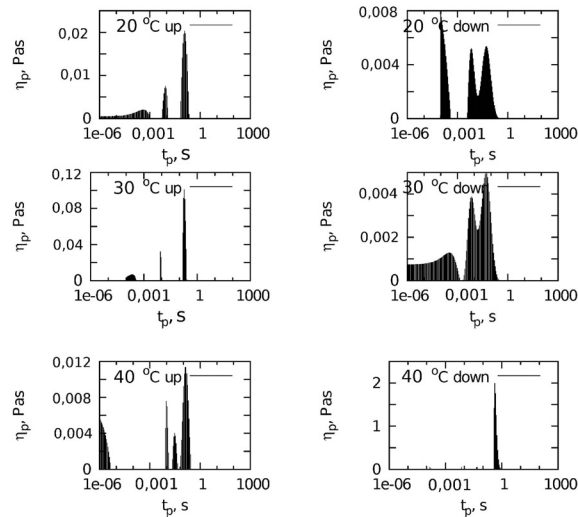
Rys. 2. Krzywe płynięcia 1-procentowych kleików skrobi ziemniaczanej w temp. 30 i 40 °C.

Fig. 2. Flow curves for 1 % (w/w) potato starch pastes at temperatures of 30 and 40 °C.

Zachowania te znajdują odzwierciedlenie w wartościach stałych czasowych równania stanu (1). Na rys. 3. przedstawiono rozkłady stałych czasowych krzywych płynięcia "up" (lewa kolumna) i "down" (prawa kolumna).

W przypadku rozkładów krzywych "w górę" zauważyć można trzy charakterystyczne i odseparowane piki. Położenie globalnego maksimum jest stałe ($t_1 = 0,1$ s) i praktycznie niezależne od temperatury pomiaru. Podobnie niezmienna jest wartość drugiego czasu charakterystycznego ($t_2 = 0,01$ s), a wraz z temperaturą zmieniała się jego intensywność (η_2). Ta grupa stałych czasowych (dwa omawiane piki) opisuje różnice w wartościach lepkości pozornej w zakresie niższych szybkości ścinania w temp. 20, 30 i 40 °C. Mniejsza intensywność (η_p) w przypadku danych uzyskanych w temp. 30 i 40 °C wynika z mniejszej lepkości pozornej w tej temperaturze. W temp. 40 °C, w zakresie stałych czasowych 0,01 - 0,1 s pojawił się dodatkowy pik o maksimum w $t_4 = 5 \cdot 10^{-2}$ s. Ostatni pik obecny w zakresie krótkich stałych czasowych mniej-

szych od 0,001s odpowiada za zachowanie reologiczne w zakresie dużych szybkości ścinania, a jego obecność podkreśla zdolność do akumulacji energii (efekty sprężyste). Wzrost temperatury z 20 do 30 °C powoduje przesunięcie stałej czasowej t_3 w zakres krótkich stałych czasowych aż do jej zaniku w temp. 40 °C.

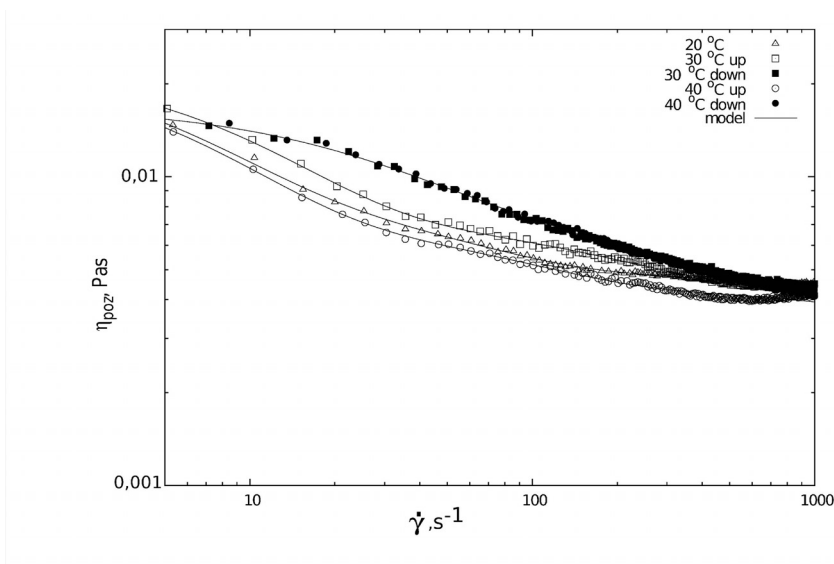


Rys. 3. Rozkłady stałych czasowych (równanie 1) 1-procentowego kleiku skrobi ziemniaczanej.
Fig. 3. Distributions of time constants (Equation 1) for 1% (w/w) potato starch paste.

Analiza wartości stałych czasowych krzywych "w dół" (rys. 3 prawa kolumna) wskazuje na złożoność właściwości reologicznych kleiku. Liczba estymowanych parametrów jest niewspółmiernie większa niż w przypadku krzywych "up" (30 °C). Dotyczy to przede wszystkim krótkich stałych czasowych ($t_p < 0,001$ s) i świadczy o większym udziale efektów sprężystych w kształtowaniu właściwości reologicznych. W przypadku wyników w temp. 40 °C znacząco wzrosła intensywność pików, co rekompensuje zmniejszenie ilości estymowanych parametrów. Warto również zauważyć, że rozkład stałych czasowych złożony jest z jednego pików o maksimum w $t_l = 1$ s. Ten długi czas świadczy o przewadze efektów lepkościowych.

Nieznacznie odmienne właściwości reologiczne wykazywały kleiki amylopektyny (rys. 4). Jest ona rozgałęzionym polisacharydem [8, 18] i stanowi główny składnik skrobi. W przypadku 1-procentowego kleiku w temp. 20 °C nie obserwowano histerezy krzywych płynięcia. W temp. 30 i 40 °C krzywe płynięcia „w górę” i „w dół” rozchodzą się, przy czym przebieg krzywej „down” wskazuje na większą lepkość pozorną układu. Ponadto dane reologiczne uzyskane w 30 i 40 °C są takie same. Warto zwrócić

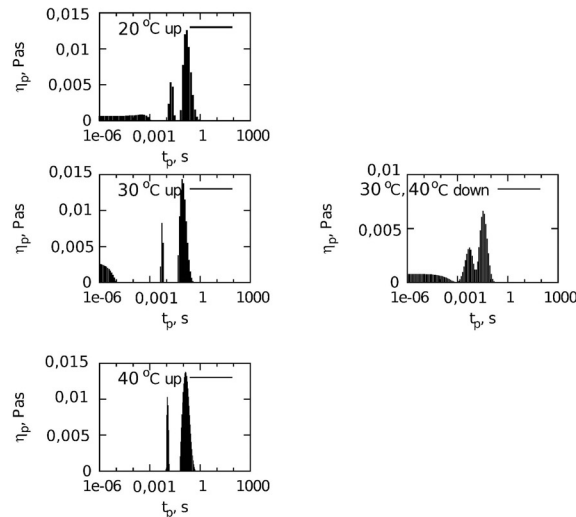
uwagę na to, że wzrost temperatury powodował niewielki wzrost lepkości pozornej (krzywa „up”) w temp. 30 °C, a następnie jej zmniejszenie w 40 °C.



Rys. 4. Krzywe płynięcia 1-procentowych kleików amylopektyny w temp. 30 i 40 °C.

Fig. 4. Flow curves for 1 % (w/w) amylopectin pastes at temperatures of 30 and 40 °C.

Podobnie, jak w przypadku kleiku skrobi ziemniaczanej, wzrost temperatury ułatwia akumulację energii. Struktura rozkładów czasów charakterystycznych (rys. 5) wszystkich krzywych płynięcia jest zbliżona. Wyróżnić można trzy charakterystyczne piki. W przypadku krzywych „up” (lewa kolumna) globalne maksimum odpowiada czasowi $t_l = 0,1$ s i jego położenie jest niezależne od temperatury, podobnie jak i intensywność. Drugie maksimum odpowiada zakresowi stałych czasowych 0,001 - 0,02 s i wzrost temperatury spowodował zmniejszenie jego intensywności. Trzeci pik, leżący w obszarze krótkich stałych czasowych, jest rozmyty i zanikł w temp. 40 °C. Oznacza to zanik efektów sprężystych w wyższych temperaturach i wzrost znaczenia przyczynków lepkościowych. Otrzymane wyniki są zbieżne ze spostrzeżeniami Ptaszek i Ptaszka [11], którzy przedstawili wyniki testów pełzania w przypadku kleików skrobi woskowej oraz ciągle widma retardacji. Ich struktura jest zbliżona do omawianych rozkładów stałych czasowych. Zbudowane są z trzech niezależnych pików o maksimach występujących dla czasów retardacji $\lambda_1=1000$ s, $\lambda_2=10$ s i $\lambda_3=1$ s. Pik o największej intensywności odpowiada najdłuższemu czasowi i jest charakterystyczny dla efektów lepkościowych (tarcia).



Rys. 5. Rozkłady stałych czasowych (równanie 1) 1-procentowego kleiku amylopektyny.
 Fig. 5. Distributions of time constants (Equation 1) for 1% (w/w) amylopectin paste.

Rozkład stałych czasowych krzywych „w dół” wskazuje na zwiększenie udziału przyczynków sprężystych. Jest to najprawdopodobniej efekt zmagazynowania energii w kleiku w czasie ścinania w warunkach malejącej szybkości ścinania. Objawia się obecnością wyraźnego i niegasnącego piku w zakresie krótkich stałych czasowych $t_p < 0,001$ s. Ponadto globalne maksimum ulega przesunięciu w stronę krótszych czasów i wynosi $t_l = 5 \cdot 10^{-2}$ s. Zachowania takiego nie obserwowano w przypadku kleiku skrobi ziemniaczanej. Może to oznaczać, że stabilnym reologicznie składnikiem skrobi jest amylopektyna. Wytworzona przez nią struktura przestrzenna [1, 14] jest zdolna do magazynowania energii i to amylopektyna odpowiada za właściwości sprężyste kleików skrobiowych.

Porównując wyniki w przypadku kleików skrobi ziemniaczanej i amylopektyny można zauważyć pewne różnice wynikające najprawdopodobniej z obecności amylozy. Ten liniowy polisacharyd [18] przyjmuje w temperaturze otoczenia w wodnych roztworach konformację helikalną. Wzrost temperatury powoduje przejście konformacyjne typu helisa-kłębek [18]. Tak więc amyloza przede wszystkim stabilizuje strukturalnie kleik.

Wnioski

1. Zastosowanie wykładniczych równań stanu do opisu lepkości roztworów o charakterze biopolimerów jest zasadne. Równania te wykazują bardzo dużą zgodność

- z danymi reologicznymi uzyskiwanymi w skrajnych szybkościach ścinania. Ponadto, pozwalają na głębszą analizę zjawiska płynięcia.
2. Wartości stałych czasowych i ich intensywność są silnie związane ze składem badanych mieszanin. Wyróżnić można wartości t_p , które są charakterystyczne dla określonych hydrokoloidów i pozostają w ścisłym związku z ich funkcją technologiczną.
 3. Czasy charakterystyczne wyznaczone z równania (1) mogą przyjmować duże wartości (0,1 – 1 s). Może mieć to związek z przewagą zachowań lepkich podczas ścinania. Analiza właściwości reologicznych kleików wskazuje na istnienie struktury, która w miarę wzrostu temperatury ulega „upłynnieniu”. Objawia się to zwiększeniem intensywności długich stałych czasowych, a więc zwiększeniem roli tarcia. Równocześnie kleiki skrobiowe charakteryzują się krótkimi czasami rzędu 0,001 s. Układy te zdolne są do magazynowania energii mechanicznej i w warunkach niskich szybkości ścinania ulegają odwracalnej deformacji.

Badania finansowane przez NCN w ramach projektu N N312 171339

Literatura


- [1] Aberle Th., Burchard W.: Starches in semidilute aqueous solutions. *Starch*, 1997, **49**, 215-224.
- [2] De Kee D., Turcotte G.: Viscosity of biomaterials. *Chem. Eng. Commun.*, 1980, **6**, 273-282.
- [3] Ferry J.D.: *Viscoelastic properties of polymers*. Wiley, New York 1980.
- [4] Kaur A., Singh N., Ezekiel R., Guraya H.S.: Physicochemical, thermal and pasting properties of starches separated from different potato cultivars grown at different locations. *Food Chem.*, 2007, **101**, 643-651.
- [5] Krysińska P., Gałkowska D., Fortuna T.: Charakterystyka układów skrobi modyfikowanych uzyskanych z kukurydzy woskowej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **5 (60)**, 9-23.
- [6] Macosko Ch.W.: *Viscous Liquid in Rheology. Principles, measurements and applications*. VCH Publishers, New York, Ed. Christopher W. Macosko, 1994, pp. 65-106.
- [7] Mannarswamy A., Munson-McGee S.H., Andersen P. K.: D-optimal designs for the Cross viscosity model applied to guar gum mixtures. *J. Food Eng.*, 2010, **97**, 403-409.
- [8] Miles M.J., Morris V.J., Orford P.D., Ring S.G.: The roles of amylose and amylopectin in the gelation and retrogradation of starch. *Carbohydrate Research*, 1985, **135**, 271-281.
- [9] Orczykowska M., Budzyński P., Dziubiński M.: Wpływ gumy Gella na właściwości reologiczne roztworów skrobi o różnym pochodzeniu botanicznym. *Inżynieria i Aparatura Chemiczna*, 2011, **50 (1)**, 31-32.
- [10] Ptaszek A. The role of characteristic times in rheological description of structure forming food additives. *J. Food Eng.*, 2012, **111**, 272-278.
- [11] Ptaszek P. Ptaszek A.: The time evolution of the viscoelastic retardation in starch pastes with guar gum. *J. Food Eng.*, 2011, **104**, 14-22.
- [12] Rinaudo M.: *Advances in characterization of polysaccharides in aqueous solution and gel state*, in *Polysaccharides (2nd Ed.)*, Ed. Severian Dumitriu, Marcel Dekker 2005, pp. 237-252.
- [13] Thanh-Blicharz J., Lubiewski Z., Voelkel E., Lewandowicz G.: Ocena właściwości reologicznych handlowych skrobi naturalnych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, **3 (76)**, 53-65.

- [14] Tester R.F., Morrison W.R.: Swelling and gelatinization of cereal starches. I. Effects of amylopectin, amylose and lipids. *Cereal Chemistry*, 1990, **67**, 551-557.
- [15] Thebaudin J.-Y., Lefebvre A.-C., Doublier J.-L.: Rheology of starch pastes from starches of different origins: applications to starch-based sauces. *LWT*, 1998, **31**, 354-360.
- [16] Tikhonov A.N., Goncharky A.V., Stepanov V.V., Yagola A.G.: *Numerical Methods for the Solution of Ill-Posed Problems*. Kluwer, 1995.
- [17] Weese J.: A reliable and fast method for solution of Fredholm integral equations of the first kind based on Tikhonov regularization. *Computer Physics Communications*, 1992, **69**, 99-111.
- [18] Whistle R.L., Bemiller J.N.: *Starch: Chemistry and Technol.*, Academic Press, 1994.

APPLICATION OF EXPONENTIAL RHEOLOGICAL EQUATIONS OF STATE TO DESCRIBE STRUCTURAL PROPERTIES OF HYDROCOLLOIDS

S u m m a r y

In the study paper, flow curves of potato and waxy starch pastes were interpreted. A rheological exponential equation of state for shear thinning systems was adjusted to the experimental data obtained at different temperatures. Distributions of rheological time constants were computed using a regularization method by Tikhonov. It was found that the values of those constants and their intensities depend on the composition of paste, whereas the position of global maximum of the distributions does not depend on the temperature. The characteristic times were determined using Equation (1) in the range (0.1 to 1 sec), and this fact indicates the predominance of viscous phenomena occurring while rheological features of pastes are in the process of moulding. Along with the raising temperature, the intensity increases of large time constants, which describe viscous contributions. The analysis of rheological properties of pastes indicates that a structure is developed in the paste, that "fluidifies" as the temperature increases. Starch pastes are systems capable of storing mechanical energy.

Key words: starch, regularization, time constants, rheological characteristic times, hysteresis, flow curves 

KATARZYNA MARCINIAK-ŁUKASIAK, ANNA ŻBIKOWSKA

JAKOŚĆ MAKARONÓW INSTANT W ZALEŻNOŚCI OD WARUNKÓW PROCESU SMAŻENIA

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu rodzaju medium smaźalniczego i parametrów smażenia makaronów instant na ich jakość. Zakres pracy obejmował ocenę jakości medium smaźalniczego oraz otrzymanych makaronów instant. Do smażenia zastosowano oleinę palmową oraz mieszaninę oleiny palmowej i oleju rzepakowego w stosunku 1 : 1. W medium smaźalniczym oznaczano liczby tłuszczowe: kwasową, nadtlenkową oraz zawartość związków polarnych. Ponadto zbadano ilościowo i jakościowo skład kwasów tłuszczowych (KT) metodą chromatografii gazowej. W gotowym produkcie oznaczano wilgotność, zawartość tłuszczu oraz parametry barwy i czas hydratacji makaronu. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że na jakość makaronów instant miały wpływ zarówno rodzaj medium smaźalniczego, jak i parametry obróbki termicznej. Temperatura smażenia wpływała na zróżnicowanie wilgotności i zawartość tłuszczu. Jej wzrost powodował zwiększanie zawartości tłuszczu, z jednoczesnym zmniejszaniem wilgotności produktu. Wydłużenie czasu smażenia o 50 % nie wpłynęło na wilgotność, zawartość tłuszczu i jasność badanych makaronów. Tak więc czas smażenia nie miał statystycznie istotnego wpływu na wymienione parametry jakości badanych produktów gotowych ($p = 0,05$).

Słowa kluczowe: makaron instant, medium smaźalnicze, oleina palmowa, kwasy tłuszczowe

Wprowadzenie

Większość makaronów instant po parowaniu i formowaniu jest smażona w głębokim tłuszczu. Ze względu na dobre właściwości smaźalnicze, dostępność oraz niski koszt najczęściej stosowanym medium smaźalniczym jest olej palmowy bądź jego frakcje. W produkcji makaronu instant można stosować również mieszanki oleju palmowego z częściowo uwodornionym olejem sojowym bądź olejem rzepakowym [2, 3]. Unika się olejów nierafinowanych, gdyż są one przyczyną nieakceptowanego smaku oraz ciemnej barwy gotowych wyrobów. Specyfikacja olejów smaźalniczych obejmuje

Dr inż. K. Marciniak-Łukasiak, dr inż. A. Żbikowska, Katedra Technologii Żywności, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa

m.in. określenie: barwy, smaku, ilości wolnych kwasów tłuszczowych i liczby nadtlenkowej [3].

Tłuszcz palmowy i jego frakcje charakteryzują się dużą zawartością nasyconych kwasów tłuszczowych (SFA), a zwłaszcza dużą ilością kwasu palmitynowego (ok. 50 %) i niewielką kwasu stearynowego. W przypadku procesów technologicznych duża zawartość SFA jest korzystna ze względu na bardzo dużą stabilność termooksydacyjną w wysokich temperaturach, co ma miejsce między innymi podczas smażenia [17]. Z kolei ze względów żywieniowych C16:0 jest szczególnie niepożądany w diecie [8, 9]. Tempo degradacji tłuszczów uzależnione jest nie tylko od parametrów procesu i zawartości SFA w medium smaźalniczym, ale także od ilości pozostałych kwasów tłuszczowych. Niekorzystnym zmianom związanym z utlenianiem najszybciej ulegają wielonienasycone kwasy tłuszczowe, których ilość powinna być jak najmniejsza [17]. Dominującym składnikiem oleju rzepakowego jest monoenowy kwas oleinowy (ok. 60 %) [6], który cechuje się zdecydowanie większą odpornością na zmiany oksydacyjne niż kwasy wielonienasycone [8]. Ze względu na dużą zawartość C18: 1 cis i najmniejszą ilość SFA (spośród popularnych tłuszczów roślinnych) olej rzepakowy jest postrzegany jako tłuszcz szczególnie korzystny żywieniowo.

Produkty poddawane procesowi głębokiego smażenia charakteryzują się dużą zawartością tłuszczu i dlatego jakość stosowanego medium smaźalniczego jest bardzo ważna. Duża zawartość tłuszczu w produkcie jest również niekorzystna ze względu na problem otyłości, coraz częściej pojawiający się w społeczeństwach krajów rozwiniętych [27]. W związku z tym dąży się do zmniejszenia zawartości tłuszczu w produktach smażonych poprzez modyfikacje procesu technologicznego bądź składu surowcowego [14, 16, 18, 19, 29].

Celem pracy było określenie wpływu rodzaju medium smaźalniczego i parametrów smażenia na jakość makaronów instant.

Material i metody badań

Zakres pracy obejmował ocenę jakości medium smaźalniczego oraz otrzymanych makaronów instant. W badaniach wykorzystano następujące medium smaźalnicze:

- oleinę palmową „Fettina” firmy Unifet, o zawartości β -karotenu wynoszącej 375 $\mu\text{g/g}$ oleju,
- mieszaninę oleiny palmowej „Fettina” i oleju rzepakowego (ZPT w Warszawie) skomponowaną w stosunku 1 : 1.

Pozostałe surowce wykorzystane w produkcji makaronu instant to: kaszka makaronowa semolina (150 g), woda (33 % w stosunku do masy mąki), sól kuchenna oraz Kansui – równowagowa mieszanina węglanu sodu i potasu (0,3 g).

Sól i Kansui rozpuszczano w wodzie o temp. ok. 30 °C. Kaszkę makaronową łączono z wodą, a następnie zagniatano ręcznie ciasto przez 15 min. Ciasto wielokrotnie

rozwałkowywano w maszynie do makaronu Ampia, firmy Marcato, zmniejszając każdorazowo szczelinę pomiędzy walcami. Płaty ciasta cięto na nitki makaronowe i układano na metalowej, ażurowej przegrodzie nad wrzącą wodą. Proces parowania makaronu prowadzono przez 5 min. Tak przygotowany makaron smażyono we frytkownicy firmy Philips i odsączano na bibule. Po schłodzeniu produkty pakowano w woreczki z folii polietylenowej.

Parametry procesu smażenia:

- temperatura 160 i 180 °C,
- czas 60 oraz 90 s.

W medium smaźalniczym oznaczano liczby tłuszczowe zgodnie z zaleceniami norm: kwasową [24], nadtlenkową [22] oraz zawartość związków polarnych [25]. Ponadto zbadano ilościowo i jakościowo skład kwasów tłuszczowych (KT) metodą chromatografii gazowej (GC), przy użyciu chromatografu gazowego HP 6890. Estrы metylowe przygotowywano, a następnie rozdzielano zgodnie z normami [23, 26] w kolumnie kapilarnej o długości 100 m, pokrytej fazą stacjonarną CPO Sil 88 FAME (Chromapac, Anchem), o średnicy wewnętrznej 0,25 µm. Gaz nośny stanowił hel przepływający z prędkością 20 m/s, temp. dozownika wynosiła 250 °C, a całkowity czas analizy 64 min. Interpretacji jakościowej KT dokonywano, porównując czas retencji poszczególnych estrów metylowych KT badanych próbek z czasem retencji estrów wzorcowych.

W gotowym produkcie oznaczano wilgotność metodą znormalizowaną [21], zawartość tłuszczu metodą Soxhleta [20] oraz parametry barwy i czas hydratacji makaronu.

Oznaczenie barwy wykonywano metodą odbiciową w systemie $L^*a^*b^*$, przy użyciu aparatu Minolta CR-310. System ten umożliwia zdefiniowanie cech związanych zarówno z jasnością, jak i barwą badanych próbek dzięki trzem zmiennym: L^* - jasność próbki, wyrażona w procentach: od 0 % (czerni) do 100 % (biel), a^* - parametr nasycenia barwy: od zielonej („-a”) do czerwonej („+a”), b^* - parametr nasycenia barwy: od niebieskiej („-b”) do żółtej („+b”).

Czas hydratacji makaronu określano w następujący sposób: makaron zalewano wrzątkiem i co minutę sprawdzano sensorycznie jego twardość. Stosowano następujące oznaczenia: „-” – makaron twardy, „-/+” – makaron na wpół miękki, „+” – makaron miękki, „++” – makaron bardzo miękki.

Do statystycznego opracowania wyników zastosowano program StatSoft - Statistica 10. Przeprowadzono jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA. Istotność różnic między wartościami średnimi określano za pomocą testu Duncana na poziomie istotności $p = 0,05$. Przeprowadzono także analizę składowych głównych z klasyfikacją (PCA, ang. „Principal Component Analysis”), pozwalającą na ustalenie zależności

pomiędzy uzyskanymi parametrami procesu smażenia a wybranymi wyróżnikami jakości makaronów.

Wyniki i dyskusja

Charakterystyka medium smaźalniczego

Ilość absorbowanego tłuszczu zmienia się w zależności od właściwościami medium smaźalniczego. Dobarganes i wsp. [5] stwierdzili, że im gorszej jakości jest tłuszcz smaźalniczy (większa zawartość produktów degradacji), tym większą zawartością tłuszczu charakteryzują się smaźone produkty, co jest zjawiskiem niepożądanym. Zastosowane w pracy tłuszcze smaźalnicze były dobrej jakości (tab. 1). Charakteryzowały się niewielkimi wartościami liczb tłuszczowych i małą zawartością związków polarnych [25]. Według Codex Stan 210-19990 [4] tłuszcze rafinowane powinny charakteryzować się liczbą kwasową nie większą niż 0,6 mg KOH/g, zaś liczbą nadtlenną poniżej 10 meqO/kg.

Tabela 1

Charakterystyka medium smaźalniczego.
Profile of frying medium.

Medium smaźalnicze Frying medium	LOO Proxide value [meqO/kg]	LK Acid value [mgKOH]	Związki polarne, Polar com- pounds [%]	Główne grupy kwasów tłuszczowych Main types of fatty acids [g/100 g KT / FA]			
				SFA	MUFA cis	PUFA cis	TFA
Oleina palmowa Palm olein	4,74	0,38	9,77	49,8	39,2	10,4	0,3
Mieszanina oleiny palmowej z olejem rzepakowym Mixture of palm olein and rapeseed oil	4,09	0,22	6,82	28,9	49,9	19,0	0,6

Skład kwasów tłuszczowych jest bardzo pomocny przy określaniu przydatności technologicznej i jakości tłuszczów [30]. Badane próbki medium smaźalniczego były zróżnicowane pod względem zawartości KT. Zdecydowanie większą zawartością nasyconych kwasów tłuszczowych (SFA) charakteryzowała się oleina palmowa (ok. 50 g/100 g KT). SFA są to kwasy tłuszczowe odporne na procesy związane z utlenianiem [17], jednak niepożądane ze względów żywieniowych. W grupie SFA na szczególną uwagę zasługuje kwas palmitynowy (dominujący składnik oleiny palmowej),

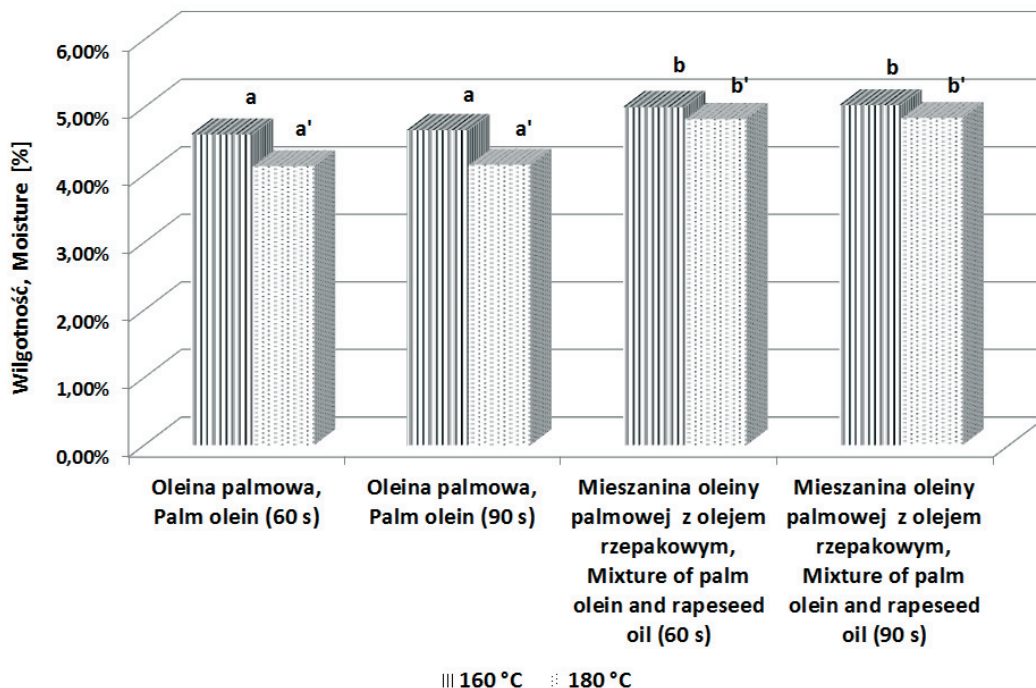
gdyż podnosi on poziom cholesterolu LDL w surowicy krwi i przyczynia się do powstawania chorób układu krążenia [9]. Obydwa media smaźalnicze cechowały się niewielkimi zawartościami izomerów trans KT (TFA). Zgodnie z zaleceniami zawartymi w Raport of Joint WHO/FAO [28] spożycie TFA należy ograniczyć tak, aby dostarczały one poniżej 1 % energii z diety [1].

Medium smaźalnicze będące nośnikiem ciepła w procesie smażenia jednocześnie staje się nowym składnikiem smażonej żywności, w której częściowo zastępuje usuniętą w wyniku parowania wodę. Kontakt z tlenem atmosferycznym, wodą oraz innymi składnikami znajdującymi się w smażonym produkcie, a także wysoka temperatura procesu (średnio 160 - 180 °C) sprawiają, że tłuszcz smaźalniczy ulega degradacji [13]. Dlatego tłuszcze stosowane do smażenia powinny charakteryzować się wysoką odpornością na procesy oksydacyjne, zatem powinny one zawierać niewielkie ilości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA) [16]. W badanych próbkach stwierdzono zawartość PUFA cis na poziomie od 10 - 19 g/100 g KT, a MUFA cis od 39 - 49,9 g/100 g KT. Monoenowe kwasy tłuszczowe (MUFA) charakteryzuje większa odporność na procesy utleniania w wysokiej temperaturze [10]. Produkty utleniania wpływają na właściwości sensoryczne tłuszczu i produktów, czyli na smak, barwę i zapach [7].

Charakterystyka otrzymanych makaronów instant

Otrzymane makarony, niezależnie od warunków prowadzenia procesów smażenia, charakteryzowały się wilgotnością nieprzekraczającą 5 %. Według Kubomura [15] jest to maksymalna zawartość wody świadcząca o dobrej jakości makaronu. Makarony smażone w oleinie palmowej charakteryzowały się mniejszą wilgotnością (max. 4,78 %) niż te smażone w mieszaninie oleiny palmowej i oleju rzepakowego (max. 5,03 %) (rys. 1).

Badane makarony różniły się pod względem zawartości tłuszczu: od 21,65 do 28,97 % (rys. 2). Tak więc zawartość tłuszczu była większa od podawanej w literaturze [12], gdyż wynosiła powyżej 20 %. Niezależnie od rodzaju medium smaźalniczego, mniej tłuszczu chłoneły makarony smażone w niższej temperaturze. Ponadto zaobserwowano, że niezależnie od długości procesu smażenia otrzymane makarony nie różniły się statystycznie istotnie pod względem zawartości tłuszczu (rys. 2).



Objaśnienia: Explanatory notes:

(a – b, a' – b') – wartości średnie przy tym samym parametrze oznaczone różnymi indeksami różnią się między sobą statystycznie istotnie ($p = 0,05$) / mean values accompanying the same parameter and marked with different indexes differ statistically significantly among themselves ($p = 0.05$).

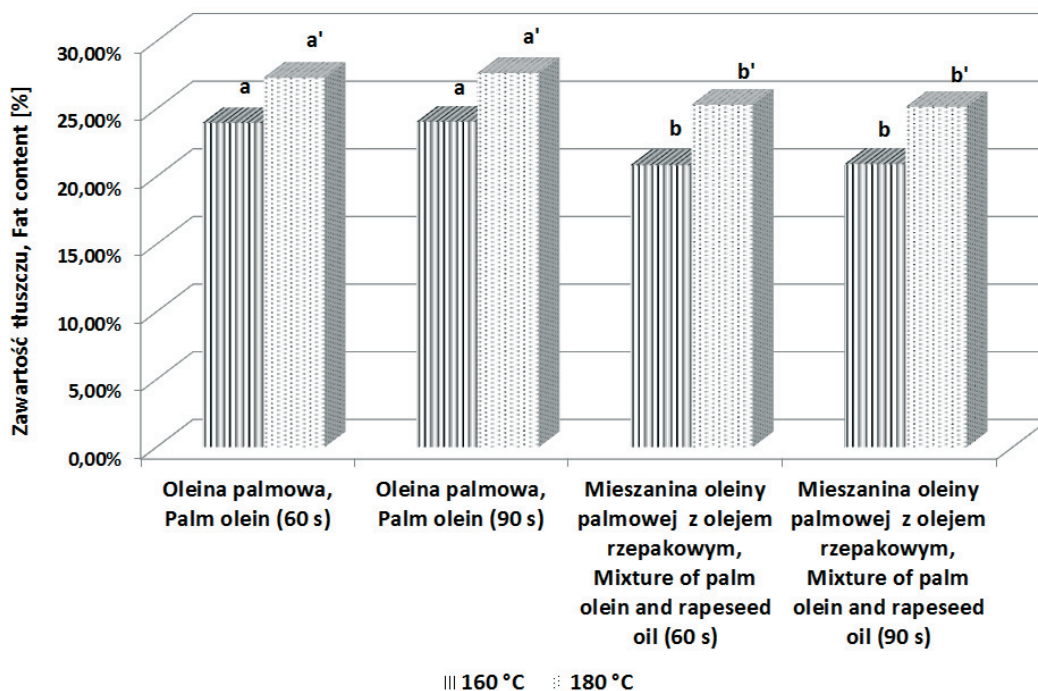
Rys. 1. Wilgotność makaronów instant smażonych w temperaturze 160 i 180 °C, w ciągu 60 i 90 s.

Fig. 1. Moisture of instant noodles fried in a temperature of 160 and 180 °C for 60 and 90 s.

Wchłanianie tłuszczu jest w dużej mierze determinowane mikrostrukturą powierzchni oraz zawartością wody w produkcie. Produkty o nadmiernej utracie wilgoci charakteryzują się skłonnością do gromadzenia większej ilości tłuszczu. Tłumaczy się to tym, że całkowita ilość tłuszczu jest porównywalna do całkowitej utraty wody (tzw. bilans mas). Olej wnika tylko w miejsca, z których uprzednio wyparowała woda, zatem jego penetracja może nastąpić wyłącznie, gdy temperatura smażenia będzie odpowiednio wysoka [18]. Mechanizm gromadzenia się tłuszczu w smażonych produktach może być tłumaczony kondensacją, jak i mechanizmem kapilarnym [18, 19].

Barwa jest jednym z ważniejszych wyróżników jakości sensorycznej produktów, wpływającym na ich akceptowalność przez konsumenta [11]. Najwyższą wartością parametru L^* (tab. 2) charakteryzował się makaron smażony w oleinie palmowej w temp. 160 °C, niezależnie od czasu obróbki termicznej. Natomiast najmniejszą wartością L^* makaron smażony w temp. 180 °C w mieszaninie oleiny palmowej i oleju rze-

pakowego. Zaobserwowano, że wraz ze wzrostem temperatury smażenia poziom jasności makaronu zmniejszał się bez względu na rodzaj zastosowanego medium smażalniczego. Po przeanalizowaniu wyników pomiaru parametru a^* (barwy czerwonej i zielonej) (tab. 2) stwierdzono, że we wszystkich przypadkach badane makarony charakteryzowały się nasyceniem barwy czerwonej. Natomiast w przypadku parametru b^* (barwy żółtej i niebieskiej) zaobserwowano wysycenie barwą żółtą.



Objaśnienia jak pod rys. 1 / Explanatory notes as in Fig. 1.

Rys. 2. Zawartość tłuszczu badanych makaronów instant smażonych w temperaturze 160 i 180 °C oraz w czasie 60 i 90 s.

Fig. 2. Fat content in analyzed instant noodles fried in a temperature of 160 and 180 °C for 60 and 90 s.

Czas hydratacji badanych makaronów w większości przypadków, bez względu na temperaturę i czas smażenia, wynosił 3 min. Jedynie w przypadku zastosowania oleiny palmowej (temperatura 180 °C, czas 60 i 90 s) czas hydratacji uległ wydłużeniu do 4 min.

Tabela 2

Barwa smażonych makaronów instant.
Colour of instant noodles fried.

Medium smaźalnicze Frying medium	Warunki / Conditions		L*	a*	b*
	Temperatura Temperature [°C]	Czas Time [s]			
Oleina palmowa / Palm olein	160	60	74,36	2,61	27,16
	160	90	74,21	2,50	27,06
	180	60	69,06	6,39	29,24
	180	90	69,53	6,58	29,57
Mieszanka oleiny palmowej z olejem rzepakowym / Mixture of palm olein and rapeseed oil	160	60	72,20	0,07	27,12
	160	90	72,04	0,12	27,15
	180	60	69,57	2,51	28,00
	180	90	69,09	2,41	27,95

Tabela 3

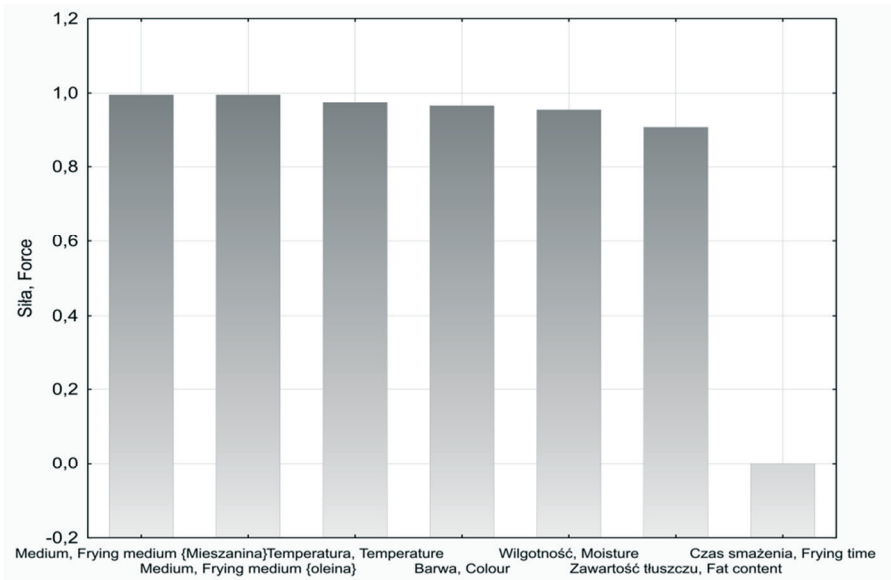
Czas hydratacji makaronów instant.
Hydration time of instant noodles.

Czas hydratacji Hydration time [min]	Mieszanka oleiny palmowej z olejem rzepakowym Mixture of palm olein and rapeseed oil				Oleina palmowa / Palm olein			
	Czas smażenia / Frying time [s]							
	60	90	60	90	60	90	60	90
	Temperatura smażenia / Frying temperature [°C]							
	160		180		160		180	
1	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+
3	+	+	+	+	+	+	-/+	-/+
4	+	+	+	+	+	+	+	+
5	++	++	++	+	++	++	+	+

Objaśnienia: / Explanatory notes:

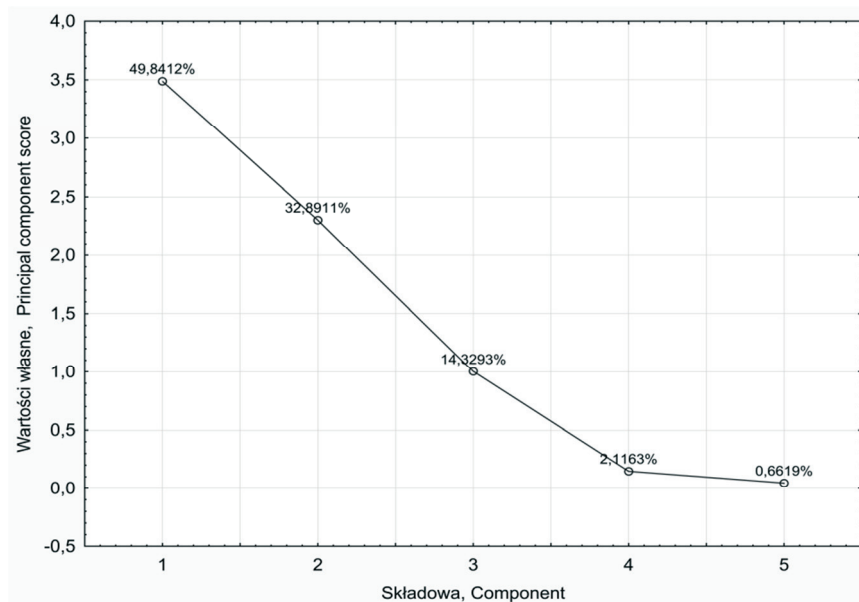
„-” – makaron twardy / hard noodles; „-/+” – makaron na wpół miękki / semi-soft noodles; „+” – makaron miękki / soft noodles; „++” – makaron bardzo miękki / very soft noodles.

Przeprowadzono również analizę składowych głównych z klasyfikacją (PCA) uzyskanych wyników w celu sprawdzenia, które ze zmiennych są najistotniejsze i mogą być odpowiedzialne za przebieg procesu smażenia i jakość otrzymanego produktu (rys. 3).



Rys. 3. Ważność zmiennych wchodzących w skład głównych składowych opisujących proces smażenia makaronu (na podstawie przeprowadzonych analiz).

Fig. 3. Significance of variables included in principal components to describe frying process of noodles (on the basis of analyses performed).

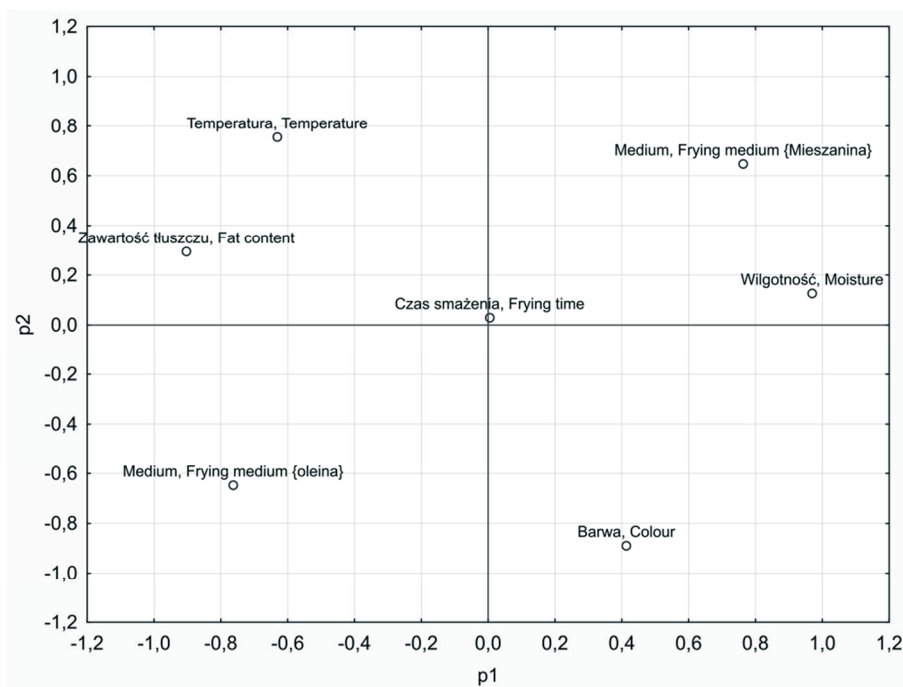


Rys. 4. Wartości własne ukazujące moc predykcyjną kolejnych składowych głównych.

Fig. 4. Principal components score.

Stosując kryterium osypiska Cattella, wybrano do analizy dwie składowe. Udział wariacji wyjaśniany przez pierwszy czynnik wynosił 49,84 %, zaś drugi - 32,89 % (rys. 4). Wynika z tego, że dwie pierwsze składowe przenoszą ponad 80 % zmienności pierwotnych danych, w związku z czym można z dobrym przybliżeniem analizować pierwotny zbiór danych jedynie w dwóch wymiarach.

Analiza PCA wykazała silną dodatnią korelację pomiędzy temperaturą prowadzonego procesu a zawartością tłuszczu w otrzymanych makaronach. Ponadto wystąpiła również dodatnia zależność pomiędzy zastosowanym medium smażalniczym (mieszaniny oleiny palmowej i oleju rzepakowego) a wilgotnością. Stwierdzono ujemną korelację pomiędzy temperaturą procesu a parametrem L^* barwy oraz brak korelacji pomiędzy czasem smażenia a pozostałymi parametrami (rys. 5).



Rys. 5. Wykres rozrzutu ładunków dla dwóch składowych głównych modelu ukazujący relacje zachodzące pomiędzy zmiennymi w analizowanym modelu.

Fig. 5. Scatter plot of loading values of two principal components of model; the scatter plot represents relations among variables in model under analysis.

Wnioski

1. Makarony instant były zróżnicowane pod względem jakości, co świadczy o istotnym wpływie na cechy smażonego produktu zarówno rodzaju medium smażalniczego, jak i parametrów obróbki termicznej.
2. Temperatura smażenia makaronów instant wpływała na zróżnicowanie ich wilgotności i zawartości tłuszczu, przy czym podwyższenie temperatury smażenia powodowało zwiększenie pochłaniania tłuszczu, a tym samym zmniejszenie wilgotności produktów.
3. Wydłużenie czasu smażenia o 50 % nie wpłynęło na wilgotność, zawartość tłuszczu i jasność badanych makaronów. Tak więc czas smażenia nie wpłynął statystycznie istotnie na wymienione parametry jakości badanych produktów gotowych.

Literatura

- [1] American Heart Association: 2006 [dostęp: 19.07.2012.]. Dostępny w Internecie: http://www.heart.org/HEARTORG/GettingHealthy/NutritionCenter/Knowing-Your-Fats_UCM_305976_Article.jsp
- [2] Anonim: Instant Noodles: A potential vehicle for micronutrient fortification. Report on Noodles fortification by USAID and DSM. Euro Monitor Report. 2002, p. 127.
- [3] Bin Xiao Fu: Asian noodles: History, classification, raw materials, and processing. Food Res. Int. 2008, **41**, 888-902.
- [4] Codex Stan 210-1999. Codex standard for named vegetable oils.
- [5] Dobarganes C., Márquez-Ruiz G., Velasco J.: Interaction between fat and food during the frying process. Eur. J. Lipid Sci. Technol., 2000, **102**, 521-528.
- [6] Drozdowski B.: Lipidy. W: Chemia żywności. Sacharydy, lipidy i białka. Red. Z. Sikorski. WNT, Warszawa 2007.
- [7] Drozdowski B., Szukalska E.: Wybrane zagadnienia utleniania tłuszczów. Mat. XI Międzyn. Konf. Nauk. Inst. Przem. Mięś. i Tłuszcz. „Postępy w technologii tłuszczów roślinnych”, Krasnobród/k Zamościa 2003.
- [8] EFSA: Opinion of the Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies on a request from the Commission related to the presence of trans fatty acids in foods and the effect on human health of the consumption of trans fatty acids. Eur. Food Safety Authority J., 2004, **81**, 1-49.
- [9] EFSA: Scientific Opinion on Dietetic the Reference Values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, *trans* fatty acids, and cholesterol. Eur. Food Safety Authority J., 2010, **8 (3)**, 1-107.
- [10] Frankel E.N: Progress in lipid research. ed. Holman R. F. vol 19, Pergamon Press, Oxford, 1982.
- [11] Hou G.: Oriental noodles. Adv. Food Nutr. Res. 2001, **43**, 143-193.
- [12] Kim S.K.: Instant noodles-manufacture, sensory rating, nutritional value. Cereal Foods World. 1993, **40**, 87-102.
- [13] Kita A., Lisińska G., Powolny M.: The influence of frying medium degradation on fat uptake and texture of French fries. J. Sci. Food Agric., 2005, **85 (7)**, 1113-1118.
- [14] Krokida M.K., Oreopoulou V., Maroulis Z.B., Marinos K.D.: Effect of pre-drying on quality of French fries. J. Food Eng. 2001, **4 (49)**, 347-354.
- [15] Kubomura K.: Instant noodle in Japan. Cereal Foods World, 1998, **43 (3)**, 189-192.

- [16] Lujan A.J., Moreira R.G.: Reduction of oil in tortilla chips using impingement drying. *Lebensm. Wiss. Technol.* 1997, **30**, 834-840.
- [17] Matthäus B.: Use of palm oil for frying in comparison with other high-stability oils. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 2007, **109**, 400-409.
- [18] Mellema M.: Mechanism and fat reduction of fat uptake in deep-fat fried foods. *Trends Food Sci. Technol.* 2003, **14**, 364-373.
- [19] Pinthus E.J., Saguy I.S.: Initial interfacial tension and oil uptake by deep-fat fried foods. *J. Food Sci.* 1994, **59**, 804-807.
- [20] PN-73/A-82111. Oznaczenie zawartości tłuszczu.
- [21] PN-91/A-74010. Ziarno zbóż i przetwory zbożowe. Oznaczanie wilgotności (rutynowa metoda odwoławcza).
- [22] PN-EN ISO 3960:1996. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby nadtlenu.
- [23] PN-EN ISO 5508:2000. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Analiza estrów metylowych kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej.
- [24] PN-EN ISO 660:2005. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby kwasowej i kwasowości.
- [25] PN-EN ISO 8420:2002. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie zawartości związków polarnych.
- [26] PN-ISO 5509:2000. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Przygotowanie estrów metylowych kwasów.
- [27] Rankinen T., Zuberi A., Chagnon Y.C., Weisnagel S.J., Argyropoulos G., Walts B., Perusse L., Bouchard C. The Human Obesity Gene Map: The 2005 Update. *Obesity*, 2006, **14** (4), 529-644.
- [28] Raport of Joint WHO/FAO [dostęp: 19.07.2012.]. Dostępny w Internecie: www.who.int/hpr/NPH/docs/who_fao_expert_repo_rpt.pdf. Geneva 2003.
- [29] Wu J., Aluko R.E., Corke H.: Partial least-squares regression study of the effects of wheat flour composition, protein and starch quality characteristics on oil content of steamed-and-fried instant noodles. *J. Cereal Sci.* 2006, **44**, 117-126.
- [30] Żbikowska A., Rutkowska J.: Skład kwasów tłuszczowych a jakość i przydatność technologiczna tłuszczów do pieczenia. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **4** (59), 90-95.

QUALITY OF INSTANT NOODLES DEPENDING ON FRYING PROCESS CONDITIONS

Summary

The objective of the research study was to determine the impact of the type of frying medium and of the frying parameters of instant noodles onto their quality. The scope of the research covered the assessment of the quality of frying medium and instant noodles produced. A mixture of palm olein and rapeseed oil, their proportion being 1:1, was used for frying. In the frying medium, the parameters of fat were measured: acid value, peroxide value, and content of polar compounds. Moreover, the composition of fatty acids (FA) was analyzed quantitatively and qualitatively using a gas chromatography method. In the end product produced, measured were the moisture, fat content, colour, and hydration time of the noodles. Based on the results obtained, it was found that both the type of frying medium and the heat treatment parameters impacted the quality of instant noodles. The frying temperature caused the moisture and fat content to differentiate. Its growth caused the fat content to increase and, at the same time, the moisture of the product to decrease. The increase in the length of frying time by 50 % did not impact the moisture, fat

content, and colour brightness of the end products under analysis. Thus, the frying time had no statistically significant impact on the above named quality parameters of the end products under analysis ($p = 0.05$).

Key words: instant noodles, frying medium, palm olein, fatty acids ☒

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

PRÓBA ZASTOSOWANIA β -LAKTOGLOBULINY JAKO NOŚNIKA PALMITYNIANU RETINYLU W UKŁADACH BEZTŁUSZCZOWYCH

Streszczenie

β -laktoglobulina ma zdolność wiązania hydrofobowych ligandów dzięki obecności w swej strukturze β -baryłki, co może być wykorzystane do tworzenia połączeń z palmitynianem retinyłu. Zakres pracy obejmował syntezę kompleksów β -laktoglobulina – palmitynian retinyłu w roztworach buforów fosforanowych o zróżnicowanym pH. Uzyskane połączenia przeprowadzono w postaci proszków za pomocą suszenia rozpyłowego oraz sublimacyjnego ze względu na uniwersalność ich zastosowania w przemyśle spożywczym. W uzyskanych próbkach określono poziom palmitynianu retinyłu metodą HPLC oraz właściwości fizyczne, tj. zawartość wody, aktywność wody, wymiar cząstek, rozpuszczalność i zwilżalność jako parametry decydujące o jakości gotowych produktów. Badania potwierdziły możliwość utworzenia kompleksów pomiędzy β -laktoglobuliną a palmitynianem retinyłu. Wykazano istotny wpływ pH oraz temperatury suszenia na zdolność wiązania palmitynianu retinyłu przez β -baryłkę. Metoda suszenia kompleksów miała istotny wpływ na wielkość cząstek otrzymanych preparatów w formie proszku. Największym rozmiarem cząstek cechował się kompleks suszony sublimacyjnie. Badane kompleksy β -laktoglobulina – palmitynian retinyłu charakteryzowały się bardzo dobrą rozpuszczalnością niezależnie od metody suszenia i parametrów procesu.

Słowa kluczowe: β -laktoglobulina, palmitynian retinyłu, właściwości wiążące, nośnik

Wprowadzenie

Wzbogacanie żywności w witaminę A, która jest rozpuszczalna w tłuszczach, odbywa się zazwyczaj z zastosowaniem nośników będących pochodnymi tłuszczów. Rosnąca świadomość żywieniowa konsumentów powoduje, że coraz częściej nabywają oni produkty z obniżoną zawartością tłuszczu lub beztłuszczowe. Może być to przyczyną niebezpiecznych dla zdrowia niedoborów witaminy A. Zbyt niski poziom witaminy A w diecie związany jest z ryzykiem wystąpienia niedowidzenia zmierzchowego

Dr A. Górską, dr inż. E. Ostrowska-Ligęza, dr inż. M. Wirkowska, dr inż. J. Bryś, Katedra Chemii; dr inż. K. Szulc, Katedra Inżynierii Żywności i Organizacji Produkcji, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa

(tzw. kurzej ślepoty) oraz z opóźnieniem procesu podziału komórek. Witamina A w postaci wolnej jest nietrwała i wrażliwa na działanie czynników zewnętrznych, takich jak: tlen, światło, kwasy, metale. Z tego powodu procesom technologicznym towarzyszy często izomeryzacja i zmniejszenie zawartości witaminy A w produkcji. Estrы retinyłu, np. palmitynian retinyłu, są mniej podatne na zmiany strukturalne i to one są przede wszystkim stosowane do wzbogacania żywności. Zmniejszenie udziału tłuszczów w diecie związane jest z potrzebą poszukiwania nośników witaminy A innych niż tłuszczowe. Możliwości takie stwarza β -laktoglobulina. Wołowa β -laktoglobulina jest głównym białkiem frakcji serwatkowej mleka krowiego [1]. Białka serwatkowe wzbudzają zainteresowanie konsumentów ze względu na właściwości prozdrowotne [3]. Jako substancje biologicznie aktywne stosowane są do produkcji żywności funkcjonalnej, wpływającej pozytywnie na organizm człowieka [11]. Sekwencja aminokwasów w łańcuchu polipeptydowym oraz wyniki badań struktury przestrzennej pozwalają na zakwalifikowanie wołowej β -laktoglobuliny do rodziny lipokalin [1, 8, 14]. Głównym elementem strukturalnym β -laktoglobuliny jest β -baryłka, zwana również kielichem. Zbudowana jest ona z 8-niciowego, antyrównoległego arkusza β otoczonego przez 4 elastyczne, ruchome pętle, regulujące dostęp ligandów do wnętrza kielicha. Dzięki obecności w swej strukturze β -baryłki, β -laktoglobulina wykazuje zdolność do wiązania w jej wnętrzu hydrofobowych związków, tj. retinolu, kwasów tłuszczowych, witamin rozpuszczalnych w tłuszczach, cholesterolu itp. [14]. Wykazano również obecność drugiego miejsca wiążącego w strukturze białka – w rowku pomiędzy wstęgą I, α -helisą a C-końcowym fragmentem polipeptydu. Opisane właściwości β -laktoglobuliny stwarzają możliwości wykorzystania jej jako nośnika palmitynianu retinyłu w układach o obniżonej zawartości tłuszczu, zwłaszcza w postaci proszków. Cechy produktów spożywczych w formie sypkiej, decydujące o jakości gotowego produktu, związane są z właściwościami fizycznymi proszków. Znajomość tych właściwości pozwala na określenie cech produktów ważnych zarówno dla konsumenta, jak i producenta. W wyborze preparatu konsument zwraca szczególną uwagę na wielkość cząstek oraz ich zdolność do rozpuszczania. Zachowanie się żywności w proszku przy kontakcie z cieczą, np. z wodą, jest związane przede wszystkim z takimi jej właściwościami fizycznymi, jak: zwilżalność, rozpuszczalność, rozkład wielkości cząstek i cechy kształtu pojedynczej cząstki.

Celem pracy było otrzymanie połączeń kompleksowych β -laktoglobulina – palmitynian retinyłu w postaci proszków, a następnie określenie poziomu palmitynianu retinyłu metodą HPLC w uzyskanych połączeniach i ocenienie wpływu pH oraz parametrów suszenia na zawartość witaminy A w produktach. Dodatkowo określono właściwości fizyczne kompleksów.

Material i metody badań

Badania obejmowały syntezę kompleksów β -laktoglobuliny z palmitynianem retinyłu w stosunku molowym 1 : 2. β -laktoglobulinę otrzymano z firmy Daisco Foods International (Le Sueur, Minnesota). Chromatograficznie (HPLC) wykazano brak palmitynianu retinyłu w próbce białka. Palmitynian retinyłu oraz pozostałe odczynniki pochodziły z firmy Sigma – Aldrich (St. Louis, Minnesota). W celu otrzymania połączeń pomiędzy białkiem a ligandem do 2 % homogenicznego roztworu β -laktoglobuliny w roztworze buforu fosforanowego o pH wynoszącym odpowiednio 3,0, 5,0, 6,8 lub 7,4 dodawano stopniowo palmitynian retinyłu (rozpuszczony uprzednio w minimalnej objętości etanolu). Następnie roztwór mieszano przez 2 h w temp. 40 °C. Dodatkowo, wybrane produkty wzbogacano w laktozę w celu ochrony białka przed działaniem wysokiej temperatury podczas suszenia. Stosunek masowy laktozy do białka wynosił 5 : 1.

Połączenia w formie płynnej przeprowadza się do postaci proszku metodą suszenia rozpyłowego i sublimacyjnego. Suszenie rozpyłowe następuje w wysokiej temperaturze, natomiast suszenie sublimacyjne nie wymaga znacznego podwyższania temperatury [12]. Proces ten polega na usunięciu wody z materiału poprzez jej zamrożenie, a następnie sublimację. Zaletą tej metody suszenia jest zachowanie w produkcie pierwotnych biologicznych cech surowca, ze względu na to, że materiał, w odróżnieniu od metody suszenia rozpyłowego, nie jest poddawany działaniu wysokiej temperatury. Wadami są długi czas procesu oraz jego wysokie koszty [15, 22]. Produkty otrzymuje się w postaci proszków ze względu na wygodę, uniwersalność zastosowania w przemyśle spożywczym, stabilność przechowalniczą, łatwość dozowania oraz mniejszą objętość (w odniesieniu do produktu płynnego), co jest szczególnie istotne podczas transportu i przechowywania [5].

Suszenie rozpyłowe przeprowadzano w temp. powietrza wlotowego 120 i 160 °C przy prędkości podawania preparatu w formie płynnej wynoszącej 51,4 i 64,2 ml·min⁻¹ i przy prędkości dysku rozpyłowego 39000 obr·min⁻¹ w laboratoryjnej suszarce rozpyłowej firmy Anhydro. Przed procesem suszenia sublimacyjnego (liofilizacji) kompleks β -laktoglobuliny z palmitynianem retinyłu zamrażano w zamrażarce uderzeniowej (Irinox) w ciągu 4 h, w temp. -40 °C. Proces liofilizacji prowadzono w liofilizatorze **Christ Gamma 1-4** LSC przy stałych parametrach: ciśnienie 63 Pa, czas 24 h, temp. 30 °C. Kontrola temperatury materiału w czasie suszenia odbywała się przy użyciu termopary.

Zawartość palmitynianu retinyłu w próbkach po ekstrakcji heksanem oznaczano metodą HPLC z użyciem chromatografu cieczowego Waters, połączonego z detektorem spektrofotometrycznym UV-Vis. Długość fali w detektorze UV-VIS wynosiła 325 nm. Do analizy stosowano kolumnę RP C18 o wymiarach 150 × 4,6 mm. Temp. kolumny wynosiła 20 °C, objętość próbki nanoszonej wahała się od 10 do 50 μ m,

a czas rozdziału wynosił 10 min. W analizie stosowano przepływ izokratyczny, a fazę ruchomą stanowił układ: heksan : izopropanol (99,6 : 0,4). Prędkość przepływu fazy ruchomej wynosiła 1 ml/min. Analizę każdej próbki powtarzano trzykrotnie. Zawartość wody oznaczano metodą suszenia w temp. 70 °C przez 4 h [21], a aktywność wody – aparatem Rotronic model Hygroscopt DT w temp. 22 ± 1 °C [20, 21]. Wymiar cząstek proszku oznaczano przy użyciu analizatora wielkości cząstek ciał stałych w powietrzu AWK-V 97/Kamika Warszawa [21]. Rozpuszczalność oznaczano jako wysokość osadu w ml po odtworzeniu 6 g proszku w 100 ml wody o temperaturze 21 ± 1 °C [19]. Zwilżalność oznaczano jako czas potrzebny do zwilżenia wszystkich cząstek proszku zawartych w masie 0,1 g [7]. Badania właściwości fizycznych przeprowadzono w trzech powtórzeniach.

Wyniki i dyskusja

Kompleksy β -laktoglobuliny z palmitynianem retinyłu, otrzymane w środowisku o pH: 3,0, 5,0, 6,8, 7,4 i suszone rozpyłowo w temp. powietrza wlotowego 120 °C, przy stosowaniu strumienia podawania surowca: 51,4 cm³/min były zróżnicowane. Badania potwierdziły istotny wpływ pH na właściwości wiążące β -laktoglobuliny (tab. 1). Kompleksy otrzymane w buforach fosforanowych o pH 6,8 oraz 7,4 charakteryzowały się znacznie większą zawartością palmitynianu retinyłu w porównaniu z produktami syntezowanymi w buforach fosforanowych o pH 3,0 oraz 5,0. Wartość pH determinuje konformację elastycznej pętli EF, zamykającej i otwierającej dostęp ligandów do wnętrza β -baryłki. W środowisku o pH 3,0 oraz 5,0 pętla EF znajdująca się w konformacji zamkniętej, stabilizowanej przez wiązanie wodorowe pomiędzy resztą kwasu glutaminowego a resztą seryny, uniemożliwia wnikanie palmitynianu retinyłu do wnętrza β -baryłki. W środowisku o pH 6,8 oraz 7,4 ligandy łączą się z białkiem dzięki otwartej konformacji pętli EF. Dochodzi wówczas do zerwania wiązania wodorowego i cząsteczki mogą wnikać do hydrofobowego wnętrza kielicha. Otrzymane wyniki są zgodne z wynikami doświadczeń Kontopidisa [8]. Wykazał on, że struktury krystaliczne β -laktoglobuliny w środowisku o pH 6,2 oraz 7,1 różnią się konformacją ruchomej pętli [16]. W pH 6,2 pętla występuje w konformacji stabilizowanej poprzez wiązania wodorowe i przez to utrudniającej dostęp do baryłki, natomiast w pH 7,1 konformacja pętli EF umożliwia wnikanie ligandów do wnętrza kielicha.

Kompleksy otrzymane w roztworach buforów fosforanowych o pH 6,8 przeprowadzono w postaci proszków metodą suszenia rozpyłowego w różnych warunkach procesu (temp. powietrza wlotowego – 120 oraz 160 °C, strumień podawania surowca – 51,4 oraz 64,2 ml/min). Wykazano wpływ temperatury na zawartość palmitynianu retinyłu w kompleksach (tab. 2). Poziom palmitynianu retinyłu był wyższy w próbkach suszonych rozpyłowo przy zastosowaniu temperatury powietrza wlotowego wynoszącej 120 °C. Wzrost temperatury powodował zmniejszenie zawartości palmitynianu

retinyłu w kompleksach, co może być spowodowane izomeryzacją prowadzącą do produktów cis (9-cis; 13-cis) o mniejszej aktywności biologicznej oraz degradacją witaminy A w podwyższonej temperaturze [10, 17]. Kompleksy z dodatkiem laktozy zawierały 124 $\mu\text{g/g}$ próbki (751 $\mu\text{g/g}$ białka) oraz 175 $\mu\text{g/g}$ próbki (1060 $\mu\text{g/g}$ białka) palmitynianu retinyłu, odpowiednio w produktach suszonych w temperaturze 120 °C przy strumieniu podawania surowca: 51,4 oraz 64,2 ml/min (tab. 3). Uzyskane wyniki mogą świadczyć o ochronnym działaniu laktozy na β -laktoglobulinę podczas procesu suszenia rozpyłowego [4, 13].

Tabela 1

Zawartość palmitynianu retinyłu w kompleksach β -laktoglobulina - palmitynian retinyłu w zależności od pH roztworu buforu fosforanowego.

Content of retinyl palmitate in β -lactoglobulin - retinyl palmitate complexes depending on pH values of phosphate buffer solution.

Wartość pH roztworu buforu fosforanowego pH value of phosphate buffer solution	Zawartość palmitynianu retinyłu w kompleksach β -laktoglobulina-palmitynian retinyłu Content of retinyl palmitate in β -lactoglobulin-retinyl palmitate complexes [$\mu\text{g/g}$]
3,0	238 \pm 10
5,0	187 \pm 8
6,8	516 \pm 12
7,4	678 \pm 11

Wartość średnia \pm odchylenie standardowe / Mean value \pm standard deviation; n = 3.

Zastosowanie liofilizacji, a zatem wyeliminowanie wysokiej temperatury w procesie suszenia, przyczyniło się do znacznego zwiększenia zawartości palmitynianu retinyłu w próbce.

W tab. 4. przedstawiono wybrane właściwości fizyczne kompleksów β -laktoglobuliny z palmitynianem retinyłu otrzymanych metodą suszenia rozpyłowego i sublimacyjnego. Zawartość wody w analizowanych kompleksach β -laktoglobuliny z palmitynianem retinyłu mieściła się w przedziale od 3,8 % (próbka A6) do 7,8 % (próbki A2 i A4). Proszki bez dodatku laktozy (A1 – A4, A7) charakteryzowały się większą zawartością wody. Podobną tendencję zaobserwowały Jakubczyk i wsp. [6]. Wyższa temperatura powietrza wlotowego, stosowana podczas suszenia rozpyłowego, przyczyniła się do zmniejszenia zawartości wody w materiale. Aktywność wody badanych kompleksów wynosiła około 0,26. Metoda suszenia kompleksów miała istotny wpływ na wielkość cząstek otrzymanych preparatów w formie proszku. Największym rozmiarem cząstek cechował się kompleks suszony sublimacyjnie (A7). Kompleksy

β -laktoglobuliny z palmitynianem retinyłu otrzymane w wyniku suszenia rozpyłowego cechował mniejszy wymiar cząstek o około 25 μm od próbki suszonej sublimacyjnie, co z kolei miało istotny wpływ na ich zwilżalność. Produkty otrzymane metodą suszenia rozpyłowego z dodatkiem laktozy (A5, A6) cechowała bardzo dobra zwilżalność, odpowiednio 17 s oraz 16 s, niezależnie od parametrów suszenia. Tendencję tę potwierdzają badania prowadzone przez Kowalską i Lenarta [9] oraz Shittu i Lawala [18]. Poprzez zmianę warunków suszenia i dodatek węglowodanów można wpływać na zwilżalność proszku. Badane kompleksy β -laktoglobuliny z palmitynianem retinyłu, niezależnie od metody suszenia i parametrów procesu, charakteryzowały się bardzo dobrą rozpuszczalnością.

Tabela 2

Zawartość palmitynianu retinyłu w kompleksach β -laktoglobulina – palmitynian retinyłu, otrzymanych w postaci proszków metodą suszenia rozpyłowego lub sublimacyjnego.

Content of retinyl palmitate in β -lactoglobulin - retinyl palmitate complexes produced in the form of powders, using spray drying or freeze drying methods.

Warunki procesu suszenia Conditions of drying process	Zawartość palmitynianu retinyłu w kompleksach β -laktoglobulina – palmitynian retinyłu Content of retinyl palmitate in β -lactoglobulin-retinyl palmitate complexes [$\mu\text{g/g}$]
Suszenie rozpyłowe, temperatura powietrza wlotowego 120 °C, strumień podawania surowca 51,4 ml/min. Spray drying, inlet air temperature 120 °C, material feed flux 51.4 ml/min.	516 \pm 13
Suszenie rozpyłowe, temperatura powietrza wlotowego 120 °C, strumień podawania surowca 64,2 ml/min. Spray drying, inlet air temperature 120 °C, material feed flux 64.2 ml/min.	373 \pm 9
Suszenie rozpyłowe, temperatura powietrza wlotowego 160 °C, strumień podawania surowca 51,4 ml/min. Spray drying, inlet air temperature 160 °C, material feed flux 51.4 ml/min.	476 \pm 14
Suszenie rozpyłowe, temperatura powietrza wlotowego 160 °C, strumień podawania surowca 64,2 ml/min. Spray drying, inlet air temperature 160 °C, material feed flux 64.2 ml/min.	288 \pm 8
Suszenie sublimacyjne; ciśnienie 63 Pa, temperatura półek grzejnych liofilizatora: 30 °C Freeze drying; pressure 63 Pa, temperature of heating shelves in freeze dryer 30 °C	2180 \pm 102

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

Tabela 3

Zawartość palmitynianu retinyłu w kompleksach β -laktoglobulina – palmitynian retinyłu z dodatkiem laktozy, otrzymanych w postaci proszków metodą suszenia rozpyłowego.

Content of retinyl palmitate in β -lactoglobulin - retinyl palmitate complexes with lactose added, produced in the form of powders, using spray drying method.

Warunki procesu suszenia Conditions of drying process	Zawartość palmitynianu retinyłu w kompleksach β -laktoglobulina – palmitynian retinyłu – laktoza Content of retinyl palmitate in β -lactoglobulin-retinyl palmitate – lactose complexes [$\mu\text{g/g}$]
Suszenie rozpyłowe, temperatura powietrza wlotowego 120 °C, strumień podawania surowca 51,4 ml/min. Spray drying, inlet air temperature 120 °C, material feed flux 51.4 ml/min.	124 \pm 18 (751 $\mu\text{g/g}$ białka / protein)
Suszenie rozpyłowe, temperatura powietrza wlotowego 120 °C, strumień podawania surowca 64,2 ml/min. Spray drying, inlet air temperature 120 °C, material feed flux 64.2 ml/min.	175 \pm 23 (1060 $\mu\text{g/g}$ białka / protein)

* Średnia wartość \pm odchylenie standardowe / Mean value \pm standard deviation; n=3.

Tabela 4

Właściwości fizyczne kompleksów β -laktoglobuliny z palmitynianem retinyłu.

Physical properties of β -lactoglobulin - retinyl palmitate complexes.

Próbka Sample	Zawartość wody Water content [%]	Aktywność wody Water activity	Wymiar cząstek Particle size [μm]	Rozpuszczalność Solubility [ml]	Zwilżalność Wettability [s]
A1	7,4 \pm 0,1	0,263 \pm 0,005	77,1 \pm 2,5	0	57 \pm 1
A2	7,8 \pm 0,0	0,251 \pm 0,008	58,5 \pm 9,7	0	57 \pm 2
A3	5,4 \pm 0,0	0,240 \pm 0,001	58,6 \pm 8,7	0	34 \pm 0
A4	7,8 \pm 0,1	0,283 \pm 0,002	54,5 \pm 3,6	0	34 \pm 1
A5	4,0 \pm 0,1	0,263 \pm 0,003	80,2 \pm 13,1	0	17 \pm 1
A6	3,8 \pm 0,7	0,241 \pm 0,003	86,4 \pm 13,1	0	16 \pm 2
A7	6,4 \pm 0,1	0,248 \pm 0,004	93,5 \pm 3,6	0	90 \pm 7

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Wartość średnia \pm odchylenie standardowe / Mean value \pm standard deviation; n = 3.

A1 – kompleks β -laktoglobulina - palmitynian retinyłu – suszony rozpyłowo: temp. powietrza wlotowego 120 °C, strumień podawania surowca 51,4 ml/min / A-1: spray dried complex of β -lactoglobulin and retinyl palmitate: inlet air temp. 120 °C, material feed flux 51.4 ml/min;

A2 – kompleks β -laktoglobulina - palmitynian retinyłu – suszony rozpyłowo: temp. powietrza wlotowego 120 °C, strumień podawania surowca 64,2 ml/min / A-2: spray dried complex of β -lactoglobulin and retinyl palmitate: inlet air temp. 120 °C, material feed flux 64.2 ml/min;

A3 - kompleks β -laktoglobulina - palmitynian retinyłu – suszony rozpyłowo: temp. powietrza wlotowego 160 °C, strumień podawania surowca 51,4 ml/min / A-3: spray dried complex of β -lactoglobulin and retinyl palmitate: inlet air temp. 160 °C, material feed flux 51.4 ml/min;

A4 - kompleks β -laktoglobulina - palmitynian retinyłu – suszony rozpyłowo: temp. powietrza wlotowego 160 °C, strumień podawania surowca 64,2 ml/min / A-4: spray dried complex of β -lactoglobulin and retinyl palmitate: inlet air temp. 160 °C, material feed flux 64.2 ml/min;

A5 - kompleks β -laktoglobulina - palmitynian retinyłu - laktoza – suszony rozpyłowo: temp. powietrza wlotowego 120 °C, strumień podawania surowca 51,4 ml/min / A-5: A-2: spray dried complex of β -lactoglobulin, retinyl palmitate, and lactose: inlet air temp. 120 °C, material feed flux 51.4 ml/min;

A6 - kompleks β -laktoglobulina - palmitynian retinyłu - laktoza – suszony rozpyłowo: temp. powietrza wlotowego 120 °C, strumień podawania surowca 64,2 ml/min / A-6: spray dried complex of β -lactoglobulin, retinyl palmitate, and lactose: inlet air temp. 120 °C, material feed flux 64.2 ml/min;

A7 - kompleks β -laktoglobulina - palmitynian retinyłu – suszony sublimacyjnie, temp. półek grzejnych liofilizatora: 30 °C / A-7: freeze dried complex of β -lactoglobulin and retinyl palmitate: temperature of heating shelves in freeze dryer: 30 °C.

Wnioski

1. Uzyskane wyniki wskazują na możliwość zastosowania β -laktoglobuliny jako nośnika palmitynianu retinyłu.
2. Stwierdzono istotny wpływ pH na zdolność wiązania palmitynianu retinyłu przez β -laktoglobulinę.
3. Stwierdzono wpływ temperatury procesu suszenia na zawartość palmitynianu retinyłu w produkcie.
4. Szczególnie dużą zawartością palmitynianu retinyłu charakteryzowały się próbki uzyskane metodą suszenia sublimacyjnego.
5. Metoda suszenia kompleksów miała istotny wpływ na wielkość cząstek otrzymanych preparatów w formie proszku. Największym rozmiarem cząstek charakteryzował się kompleks suszony sublimacyjnie.
6. Preparaty z dodatkiem laktozy otrzymane metodą suszenia rozpyłowego cechowała bardzo dobra zwilżalność.

Badania były finansowane ze środków budżetowych na naukę w latach 2010-2012 jako projekt badawczy nr N N312 068639.

Literatura

- [1] Blaner W.S.: Retinol binding protein: the serum transport protein for vitamin A. *Endocr. Rev.*, 1989, **10**, 308-316.
- [2] Bordin G., Cordeiro Raposo F., de la Calle B., Rodriguez A. R.: Identification and quantification of major bovine milk proteins by liquid chromatography. *J. Chrom. A.*, 2001, **928**, **1**, 63-76.
- [3] Chatterton D.E.W., Smithers G., Roupas P., Brodtkorb A.: Bioactivity of β -lactoglobulin and α -lactalbumin. Technological implications for processing. *Intern. Dairy J.*, 2006, **16**, 1229-1240.
- [4] De Wit J.N.: Structure and functional behavior of whey proteins. *Neth. Milk Dairy J.*, 1981, **35**, 47-64.


- [5] Gharsallaoui A., Roudaut G., Chambin O., Voilley A., Saurel R.: Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Res. Int.*, 2007, **40** (9), 1107-1121.
- [6] Jakubczyk E., Gondek E., Głód K.: Charakterystyka właściwości fizycznych proszku jabłkowego otrzymanego metodą suszenia pianowo-sublimacyjnego. *Acta Agrophys.*, 2010, **15** (2), 281-291.
- [7] Jinapong N., Supphantharika M., Jammong P.: Production of instant soymilk powders by ultrafiltration, spray drying and fluidized bed agglomeration. *J. Food Eng.*, 2008, **84**, 194-205.
- [8] Kontopidis G., Holt C., and Sawyer L.: Invited review: β -lactoglobulin: Binding properties, structure, and function. *J. Dairy Sci.*, 2004, **87** (4), 785-796.
- [9] Kowalska J., Lenart A.: The influence of ingredients distribution on properties of agglomerated cocoa products. *J. Food Eng.*, 2005, **68**, 155-161.
- [10] McBee J.K., Kuksa V., Alvarez R., de Lera A.R., Prezdho O., Haeseleer F., Sokal I., Palczewski K.: Isomerisation of all-trans retinol to cis-retinol in bovine retinal pigment epithelial cells: dependence on the specificity of retinoid-binding proteins. *Biochem.*, 2000, **39**, 11370-11380.
- [11] McIntosh G.H., Royle P.J., Le Leu R.K., Regester G.O., Johnson M.A., Grinstead R.L., Kenward R.S., Smithers G.W.: Whey proteins as functional food ingredients. *Int. Dairy J.*, 1998, **8**, 425-434.
- [12] Mellor J.D., Bell G.A.: Freeze-drying. In: *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. Eds. B Caballero, L.C. Trugo, P.M. Finglas. Academic Press Elsevier Science Ltd., Oxford, UK, 2003.
- [13] Murray B.S., Liang H.J.: Evidence for conformational stabilization of β -lactoglobulin when dried with trehalose. *Langmuir.*, 2000, **16**, 6061-6063.
- [14] Perez Dolores M., Calvo M.: Interaction of β -Lactoglobulin with retinol and fatty acids and its role as a possible biological function for this protein: A review. *J. Dairy Sci.*, 1995, **78**, 978-988.
- [15] Pijanowski E., Dłużewski M., Dłużewska A., Jarczyk A.: *Ogólna technologia żywności*. WNT, Warszawa 1996.
- [16] Ragona L., Colombo G., Catalano M., Molinari H.: Determinants of protein stability and folding: Comparative analysis of beta-lactoglobulins and liver basic fatty acid binding protein. *Proteins*, 2005; **61** (2), 366-376.
- [17] Schwartz S.: Cis/trans isomerization of retinyl palmitate in food. *J. Agric. Food Chem.*, 1987, **35**, 748-751.
- [18] Shittu T.A., Lawal M.O.: Factors affecting instant properties of powdered cocoa beverages. *Food Chem.*, 2007, **10**, 91-98.
- [19] Sorensen I., Krag J., Pisecky J., Westergaard V. (Eds.): *Analytical methods for dry milk products*. De Forenede Trykkerier A/S, Copenhagen, Denmark, 1978.
- [20] Sułek A., Domian E.: Wpływ ciśnienia homogenizacji na zawartość tłuszczu powierzchniowego w suszonych rozpyłowo emulsjach stabilizowanych białkami mleka. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **6** (73), 168-176.
- [21] Szulc K., Lenart A.: Water vapour adsorption properties of agglomerated baby food powders. *J. Food Eng.*, 2012, **109**, 135-141.
- [22] Witrowa-Rajchert D., Samborska K.: Metody suszenia mikroorganizmów i produktów syntezy mikrobiologicznej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2002, **2**(31), 5-15.

ATTEMPT TO USE β -LACTOGLOBULIN AS CARRIER FOR RETINYL PALMITATE IN NON-FAT SYSTEMS

Summary

β -lactoglobulin has a capacity to bind hydrophobic ligands owing to the presence of β -barrel in its structure, and this capacity can be utilized to create compounds with retinyl palmitate. The scope of this

research study comprised the synthesis of complexes of β -lactoglobulin and retinyl palmitate in phosphate buffer solutions of various pH values. The products obtained were spray and freeze dried in order to produce powders thereof due to the universality of their applications functionality in food industry. In the samples produced, there were determined the content of retinyl palmitate by a HPLC method and the physical parameters, i.e: water content, water activity, size of particles, solubility, and wettability as the parameters critical to the quality of final products. The research confirmed the possibility of forming complexes between β -lactoglobulin and retinyl palmitate. It was proved that the temperature of drying process and the pH value had a significant impact on the binding capacity of the β -barrel. The drying method had a significant impact on the particle size of the preparations in the form of powders. The complex obtained by freeze drying was characterized by the largest size of the particles. The studied complexes of β -lactoglobulin and retinyl palmitate had a very good solubility regardless of the drying method and process parameters.

Key words: β -lactoglobulin, retinyl palmitate, binding properties, carrier 

EMILIA JANISZEWSKA, MONIKA ARCISZEWSKA,
DOROTA WITROWA-RAJCHERT

ZALEŻNOŚĆ MIĘDZY EFEKTYWNOŚCIĄ MIKROKAPSULKOWANIA AROMATU WANILINOWEGO I WŁAŚCIWOŚCIAMI FIZYCZNYMI UZYSKANYCH PROSZKÓW

Streszczenie

W procesie mikrokapsułkowania aromatów istotnym etapem jest dobranie materiału osłonki, zapewniającego ochronę substancji zamykanej oraz ustalenie optymalnych parametrów procesu. Właściwości emulsji poddawanej suszeniu oraz zależne od nich właściwości uzyskanych proszków mają wpływ na efektywność zamykania. Dlatego celem pracy było określenie zależności pomiędzy udziałem poszczególnych nośników w emulsji aromatu wanilinowego i wybranymi właściwościami fizycznymi uzyskanych mikrokapsulek a efektywnością mikrokapsułkowania. Jako nośnik stosowano mieszaninę maltodekstryny o DE = 10 z gumą arabską. Do badań przygotowano roztwory o stężeniu 20 i 30 % (m/m). Dodatek aromatu wanilinowego wynosił 21,7 % (m/m) w stosunku do całkowitej zawartości suchej substancji w roztworze. Udział gumy arabskiej w roztworach wynosił 11 %, dodatkowo sporządzono roztwory o stężeniu 30 %, w których zawartość gumy arabskiej zmniejszono do 7 %. Roztwory homogenizowano dwustopniowo przy ciśnieniach 20 : 7,5 MPa. Suszenie emulsji prowadzono w suszarce rozpyłowej, przy częstotliwości obrotowej dysku rozpyłowego 650 obr./s i strumieniu surowca $1 \cdot 10^{-6} \text{ m}^3/\text{s}$, w temperaturze powietrza wlotowego 160 °C. Wraz ze zmniejszeniem zawartości suchej substancji z 30 do 20 % emulsje charakteryzowały się mniejszą lepkością (z 11 do 4 mPa·s) i mniejszą gęstością (z 1103 do 1060 kg/m³). Zmniejszenie udziału gumy arabskiej spowodowało obniżenie lepkości z 11 do 8 mPa·s, ale brak było statystycznie istotnych zmian gęstości emulsji. Zmiana stężenia nośników z 20 do 30 % spowodowała statystycznie istotne zmniejszenie: gęstości pozornej i luźnej, porowatości złoża proszku i współczynnika kształtu cząstek oraz wzrost zawartości wody i średnicy cząstek. W proszkach uzyskanych z roztworów o 30-procentowym dodatku nośników ze zmniejszoną zawartością gumy arabskiej (7 %) zaobserwowano statystycznie istotne zmniejszenie średnicy cząstek oraz wzrost gęstości luźnej i porowatości złoża proszku w porównaniu z proszkami z większą zawartością gumy arabskiej. Efektywność mikrokapsułkowania wynosiła od 55 do 75 %. Wykazano istnienie dodatniej korelacji pomiędzy efektywnością mikrokapsułkowania a gęstością pozorną i średnicą cząstek proszków.

Słowa kluczowe: aromat wanilinowy, gęstość, średnica zastępcza, efektywność mikrokapsułkowania

Dr inż. E. Janiszewska, mgr inż. M. Arciszewska, prof. dr hab. D. Witrowa-Rajchert, Katedra Inżynierii Żywności i Organizacji Produkcji, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa

Wprowadzenie

Jednym z aromatów powszechnie stosowanych w przetwórstwie żywności jest aromat wanilinowy, dodawany do różnych produktów spożywczych, m.in. kremów, koktajli mlecznych, koncentratów, masy serowej i naleśników, ciastek i ciast. W aromacie wanilinowym zidentyfikowano ponad sto lotnych związków, w tym: aromatyczne aldehydy, alkohole, kwasy, estry, fenole i eter fenolowe, alkohole alifatyczne, kwasy, estry i laktony [1, 11]. Głównym składnikiem aromatu wanilinowego, stanowiącym o jego niepowtarzalnym słodkim zapachu, jest wanilina. Pozostałe związki nie mają takiego wpływu na oryginalność tej kompozycji zapachowej [1, 15].

W celu zachowania unikatowej kompozycji i wszystkich składników aromatu stosuje się proces mikrokapsułkowania. Jest to skuteczny sposób zabezpieczania substancji aktywnej poprzez wytworzenie ścianki wokół stałego lub płynnego rdzenia za pomocą materiału nośnika [3, 14]. Mikrokapsułkowane aromaty są użyteczne w przetwarzaniu lub przechowywaniu produktów spożywczych oraz w kontrolowaniu uwalniania aromatu. Jako materiał otoczki stosowane są różne substancje, np. białka, węglowodany, lipidy, tłuszcze i woski [22, 24]. Doświadczalnie udowodniono, że najkorzystniejsza ilość substancji nośnika w emulsji zawiera się w przedziale od 20 do 30 % [18]. Do mikrokapsułkowania aromatów najczęściej używa się gumy arabskiej i maltodekstryn [12, 21]. Guma arabska jest stosowana ze względu na dobre właściwości emulgujące, wysoką rozpuszczalność i dość niską lepkość w roztworach wodnych, dzięki czemu ułatwia proces suszenia rozpyłowego [14]. Maltodekstryny z kolei mają niską cenę i właściwości zależne od stopnia hydrolizy skrobi. Ich wadą jest brak zdolności emulgowania oraz niewielka zdolność retencji składników lotnych [13]. Połączenie tych dwóch substancji umożliwia powstanie stabilnych emulsji o dobrych właściwościach emulgujących i odpowiedniej lepkości. Emulsje o znacznej lepkości utrudniają proces suszenia rozpyłowego i przyczyniają się do powstawania dużych kropli, które nie zostają wystarczająco wysuszone. Zbyt mała lepkość może natomiast wywoływać przemieszczanie się olejku aromatycznego w kropli w kierunku powierzchni suszonych cząstek, co może zmniejszać efektywność mikrokapsułkowania [17]. Uwzględniając rodzaj urządzenia rozpylającego i właściwości emulsji, należy tak dobrać lepkość emulsji, aby uzyskać optymalną efektywność kapsułkowania.

Celem przeprowadzonych badań było określenie zależności pomiędzy udziałem nośników, właściwościami fizycznymi emulsji oraz uzyskanych metodą suszenia rozpyłowego proszków a efektywnością mikrokapsułkowania aromatu wanilinowego.

Materialy i metody badań

Surowcem do badań był handlowy aromat wanilinowy, udostępniony przez firmę „Kerotex” Sp. z o. o. (Warszawa, Polska).

Jako nośnik do mikrokapsułkowania aromatu wanilinowego wykorzystano mieszaninę maltodekstryny (DE = 10) (MD) (Pepees S.A., Łomża, Polska) i gumy arabskiej (GA) (Hortimex Sp. z o.o., Warszawa, Polska). Do badań przygotowywano roztwory o 20- i 30-procentowym stężeniu nośników (m/m), dodatek aromatu wynosił 21,7 % (m/m) w stosunku do całkowitej zawartości suchej substancji w roztworze. Udział gumy arabskiej w roztworach wynosił 11 %. Przeprowadzono także doświadczenia, w których w 30-procentowym roztworze nośników zmniejszono zawartość gumy arabskiej do 7 %. Roztwory przygotowywano w temp. ok. 20 - 22 °C. Roztwory homogenizowano metodą ciśnieniową (GEA Niro Soavi – model Panda, Parma, Włochy) dwustopniową przy ciśnieniu 20 : 7,5 MPa.

W otrzymanych emulsjach oznaczano gęstość metodą piknometryczną oraz lepkość. Lepkość pozorną emulsji (η) oznaczano za pomocą wiskozymetru Brookfielda, typ RVDV-III (Middleboro, USA). Badanie wykonywano przy rosnącej szybkości ścinania od 20 do 100 obr./min. Zastosowano głowicę ULA (Ultra Low Adapter, ilość próbki do badań wynosiła 16 cm³).

Suszenie otrzymanych emulsji prowadzono w suszarce rozpyłowej LAB S1 firmy Anhydro (Kopenhaga, Dania), przy częstotliwości obrotów dysku rozpyłowego 650 obr./s i strumieniu surowca 1·10⁻⁶ m³/s. Roztwory podawano do dysku w temp ok. 22 - 25 °C. Suszenie odbywało się współprądowo, temp. powietrza wlotowego wynosiła 160 °C, a wylotowego: 93 ± 2 °C. W otrzymanych proszkach oznaczano zawartość suchej substancji, gęstość pozorną cząstek, gęstość luźną i porowatość złoża oraz określano strukturę i wielkość cząstek oraz efektywność mikrokapsułkowania. Doświadczenia wykonywano w trzech powtórzeniach.

Zawartość suchej substancji w proszkach oznaczano zgodnie z normą [16].

Oznaczanie gęstości pozornej proszku ρ_p wykonywano w piknometrze helowym Stereopycnometr firmy Quantachrome (Boyton Beach, USA). Gęstość nasypową luźną ρ_L oznaczano z wykorzystaniem objętościomierza wstrząsowego STAV 2003 Engelsmann AG (Ludwigshafen, Niemcy) [20].

Porowatość złoża obliczano na podstawie gęstości pozornej proszku i gęstości luźnej złoża [8].

Analizę struktury i wielkości cząstek proszku przeprowadzono na podstawie zdjęć wykonanych przy użyciu mikroskopu skaningowego G2 Pro firmy Phenom (Beaverton, USA), wykorzystując program MultiScan v. 18.13 (Warszawa, Polska). Każdorazowo zaznaczano na zdjęciach 300 szt. cząstek proszku. Określano średnicę osiągniętą przez 50 % cząstek proszków d_{50} [7] oraz grubość ich ściany. Dodatkowo, na podstawie uzyskanych powierzchni (A) i obwodu cząstek proszku (L), wyznaczano ich współczynnik kształtu (W) z równania [2]:

$$W = 2 \frac{\sqrt{\pi A}}{L} \quad (1)$$

Oznaczanie zawartości aromatów wykonywano przy użyciu chromatografu gazowego sprzężonego ze spektrometrem mas GC-MS QP 2010 (Shimadzu, Kyoto, Japonia) według metodyki opisanej przez Janiszewską i Witrową-Rajchert [9]. Do próbek każdorazowo przed umieszczeniem włókna SPME dodawano 1 μ l 0,05-procentowego roztworu dichlorobenzenu jako wzorca.

Związki identyfikowano, porównując widma masowe z biblioteką widm (NIST). W przypadku każdego zidentyfikowanego związku obliczano iloraz powierzchni odpowiadającego mu pikowi chromatograficznemu i powierzchni pikowi wzorca (tzw. względna powierzchnia pików). Zawartość związków wyrażano jako średnie względne powierzchnie pików, tj. średnie arytmetyczne ze zrealizowanej liczby powtórzeń danego pomiaru.

Wszystkie pomiary właściwości fizycznych wykonywano w trzech powtórzeniach.

Analizę statystyczną uzyskanych wyników przeprowadzono przy wykorzystaniu pakietu statystycznego Statgraphics Plus 5.1. Wyniki badań poddano analizie statystycznej przy użyciu jednoczynnikowej analizy wariancji w układzie losowym. Wnioskowanie statystyczne prowadzono na poziomie istotności $p = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Emulsje otrzymane w wyniku homogenizacji były płynami newtonowskimi w całym zakresie szybkości ścinania (tab. 1). Wraz ze wzrostem zawartości suchej substancji z 20 do 30 % emulsje zwiększały swoją lepkość i gęstość. Zmniejszenie procentowego udziału gumy arabskiej w emulsji spowodowało statystycznie istotne ($p = 0,05$) zmniejszenie wartości lepkości, ale brak było zmian gęstości emulsji.

Zmiana stężenia nośnika z 20 do 30 % spowodowała istotne ($p = 0,05$) zmniejszenie gęstości pozornej i współczynnika kształtu cząstek oraz porowatości złoża proszków, a zwiększenie zawartości wody i średnicy cząstek d_{50} (tab. 2). W proszkach otrzymanych z 30-procentowych roztworów z mniejszą zawartością gumy arabskiej (7 %) zaobserwowano statystycznie istotne ($p = 0,05$) zmniejszenie wielkości średnicy d_{50} cząstek i zawartości wody oraz istotny wzrost gęstości luźnej oraz porowatości złoża w porównaniu z proszkami uzyskanymi z 30-procentowych roztworów zawierających większą ilość gumy arabskiej. Najwięcej wody usunięto z proszków otrzymanych z 30-procentowych emulsji ze zmniejszoną zawartością gumy arabskiej, co skutkowało uzyskaniem proszków o najmniejszej zawartości wody i najmniejszej średnicy cząstek (tab. 2). Zbliżoną zawartość wody otrzymały także Janiszewska i wsp. [8] w mikrokapsułkach aromatu cytrynowego, uzyskanego z 30-procentowej emulsji mie-

szaniny gumy arabskiej (udział 4 % w mieszaninie) z maltodekstryną. Fernandes i wsp. [4], Grabowski i wsp. [6] oraz Kha i wsp. [10] stwierdzili, że zawartość wody maleje wraz ze wzrostem udziału nośników w emulsji, a zmniejszenie udziału gumy arabskiej w mieszaninie z maltodekstryną powoduje zwiększenie zawartości wody, co nie zostało potwierdzone w niniejszych badaniach.

Tabela 1

Wybrane właściwości fizyczne emulsji.
Selected physical properties of emulsions.

Zawartość nośnika w emulsji Content of carrier in emulsion [%]	Zawartość gumy arabskiej w nośniku Content of gum arabic in carrier [%]	Gęstość emulsji Emulsion density $\bar{x} \pm s / SD$ [kg/m ³]	Lepkość emulsji Emulsion viscosity $\bar{x} \pm s / SD$ [mPa·s]
20	11	1060,2 ± 0,3 ^a	3,7 ± 0,2 ^a
30	11	1103,4 ± 0,4 ^b	10,6 ± 0,3 ^c
30	7	1103,3 ± 0,4 ^b	8,2 ± 0,1 ^b

Objaśnienia: / Explanatory notes:

$\bar{x} \pm s / SD$ – wartość średnia ± odchylenie standardowe / mean value ± standard deviation; n = 3;

a, b, c – wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy p = 0,05; / mean values in the columns and denoted with different letters differ statistically significantly at p = 0.05.

Tabela 2

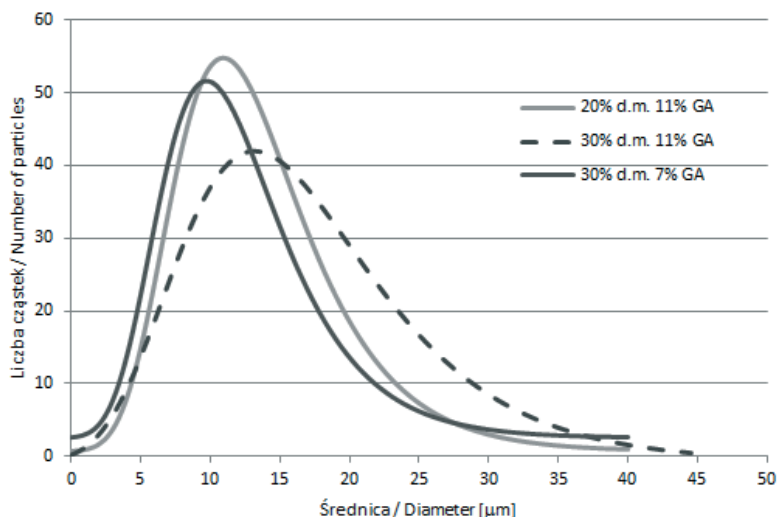
Wybrane właściwości fizyczne mikrokapsulek aromatu wanilinowego.
Selected physical properties of vanillin aroma microcapsules.

Zawartość nośnika Content of carrier [%]	Zawartość gumy arabskiej w emulsji Content of Gum arabic in the carrier [%]	Zawartość wody w proszku Water content $\bar{x} \pm s / SD$ [%]	Gęstość pozorna proszku Apparent density of powder $\bar{x} \pm s / SD$ [kg/m ³]	Gęstość luźna proszku Loose bulk density of powder $\bar{x} \pm s / SD$ [kg/m ³]	Porowatość Porosity $\bar{x} \pm s / SD$ [%]	Średnia średnica cząstek Average diameter of articles d ₅₀ $\bar{x} \pm s / SD$ [μm]	Współczynnik kształtu Shape factor W $\bar{x} \pm s / SD$ [-]
20	11	2,53 ± 0,22 ^b	1261 ± 3 ^b	276 ± 6 ^a	78 ± 1 ^b	11,8 ± 0,5 ^b	0,86 ± 0,00 ^b
30	11	4,28 ± 0,13 ^c	1185 ± 8 ^a	268 ± 9 ^a	71 ± 1 ^a	14,6 ± 0,8 ^c	0,85 ± 0,00 ^a
30	7	1,84 ± 0,31 ^a	1191 ± 3 ^a	346 ± 4 ^b	78 ± 0 ^b	10,9 ± 0,4 ^a	0,86 ± 0,00 ^b

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

Gęstość pozorna proszków zależała istotnie ($p = 0,05$) od stężenia nośnika (tab. 2). Najniższą gęstość pozorną cząstek proszków, a więc najwięcej przestrzeni powietrznych wewnątrz cząstek, uzyskano w przypadku zastosowania 30-procentowej emulsji z większą zawartością gumy arabskiej, co mogło być spowodowane uzyskaną większą średnicą cząstek proszku. Natomiast niska porowatość tego złoża w porównaniu z pozostałymi proszkami świadczy o dobrym upakowaniu cząstek. Gęstość luźna proszków zależała zarówno od stężenia nośnika, jak i od zawartości gumy arabskiej w emulsji. Obliczony współczynnik kształtu wskazuje, że badane cząstki były kształtem zbliżone do kuli (wartość bliska 1), co widoczne jest także na zdjęciach (fot. 1).

Analizując wyniki badań uzyskanych proszków, można stwierdzić istotny ($p = 0,05$) wpływ zarówno zastosowanego stężenia, jak i ilości dodatku gumy arabskiej na większość parametrów fizycznych otrzymanych mikrokapsulek aromatu wanilinowego.



Rys. 1. Krzywa rozkładu wielkości cząstek aromatu wanilinowego.

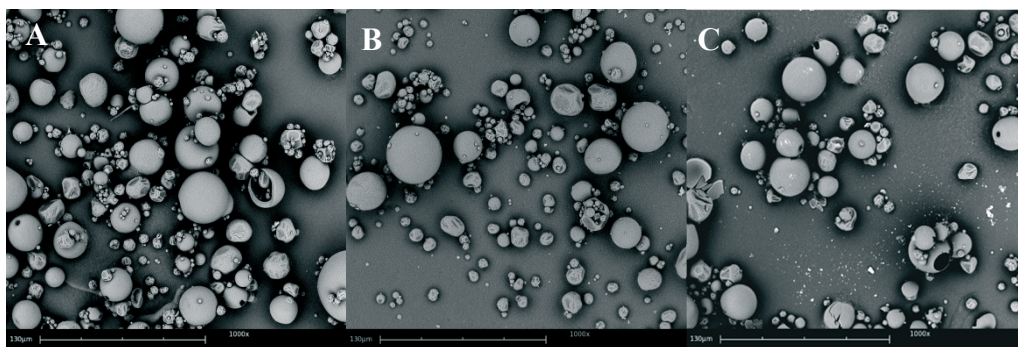
Fig. 1. Distribution curve of vanillin aroma particle sizes.

Na rys. 1. przedstawiono rozkład wielkości cząstek w proszkach. W przypadku 20-procentowej zawartości nośnika najwięcej cząstek osiągnęło średnicę $10,5 \mu\text{m}$. Wzrost zawartości nośnika spowodował zwiększenie tej wielkości do wartości $13,6 \mu\text{m}$. Najczęściej występująca średnica cząstek w proszkach otrzymanych z roztworów zawierających 30 % nośnika, przy mniejszym udziale gumy arabskiej, wynosiła $9,7 \mu\text{m}$.

Proszki o największych cząstkach otrzymano przy zastosowaniu emulsji o 30-procentowej zawartości nośnika zawierającego 11 % gumy arabskiej (tab. 2). Wielkość

cząstek proszku otrzymanych w suszarce rozpyłowej zwiększała się wraz ze wzrostem lepkości i gęstości suszonej emulsji. Im wyższa jest lepkość emulsji, tym większe są krople powstające podczas rozpylania [23], co może prowadzić do uzyskania większych cząstek proszków. Na wielkość cząstek wpływają także właściwości substancji nośnikowej. Maltodekstryna jest materiałem typu „skin-forming” [23], a więc podczas suszenia rozpyłowego, bezpośrednio po rozpyleniu, na powierzchni suszonej kropli szybko tworzy się półprzepuszczalna warstwa, co prowadzi do uzyskania cząstek proszku o mniejszej gęstości pozornej. Uzyskane wyniki potwierdziły, że im większy był udział maltodekstryny w emulsji, tym mniejsza była gęstość pozorna cząstek proszków.

Wszystkie otrzymane proszki, niezależnie od składu emulsji poddanej suszeniu, miały kształt zbliżony do kulistego (fot. 1, tab. 2). Analizując cząstki na zdjęciach, można wyróżnić dwa rodzaje proszków: proszki popękane, ale o gładkiej strukturze lub pofałdowane, bez pęknięć.



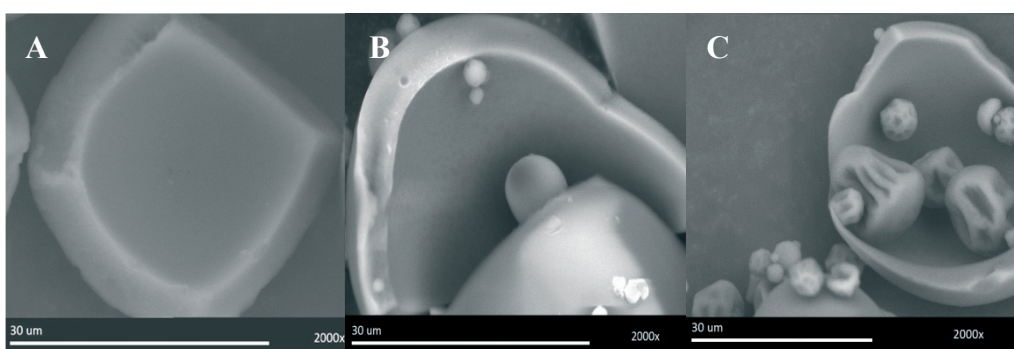
Fot. 1. Morfologia cząstek proszków (powiększenie 1000x): A) 20 % s.s., 11 % GA, B) 30 % s.s., 11 % GA, C) 30 % s.s., 7 % GA.

Fot. 1. Morphology of powder particles (magnification at 1000x): A) 20 % d.m., 11 % GA; B) 30% d.m., 11 % GA; C) 30 % d.m., 7 % GA.

Struktura wewnętrzna cząstek nie była zróżnicowana. Wewnątrz kapsulek znajdowała się duża pusta przestrzeń (fot. 2). Proszki o podobnej strukturze wewnętrznej mikrokapsulek otrzymali także Soottitantawat i wsp. [18, 19] po zamknięciu d-limonenu i l-mentolu.

Grubość ścianki otrzymanych cząstek proszków różniła się statystycznie istotnie ($p = 0,05$), zależnie od zawartości gumy arabskiej oraz zawartości nośników. Najcieńszą ściankę, wynoszącą $1,7 \pm 0,6 \mu\text{m}$, miały cząstki uzyskane z 20-procentowego roztworu nośników. Grubość ścian mikrokapsulek aromatu wanilinowego 30-procentowych roztworów była większa i wynosiła $3,1 \pm 1,1 \mu\text{m}$ w przypadku roztworów z większą zawartością gumy arabskiej oraz $2,3 \pm 0,9 \mu\text{m}$ przy zmniejszonej

zawartości gumy arabskiej. Większa grubość ścianki była powiązana z większą średnicą cząstek proszków aromatu waniliowego. Większa zawartość nośnika w emulsji sprzyjała powstawaniu grubszej ścianki, co mogło być także związane z wyższą lepkością roztworów poddawanych rozpyleniu, która może spowalniać dyfuzję nośnika i olejku aromatycznego w kierunku powierzchni suszonych cząstek i zestalanie się nośnika w formie ścianki [17]. Wytworzenie grubszej ścianki cząstek proszków, przy większej ich średnicy skutkowało także większą zawartością wody w proszkach uzyskanych z 30-procentowych roztworów.



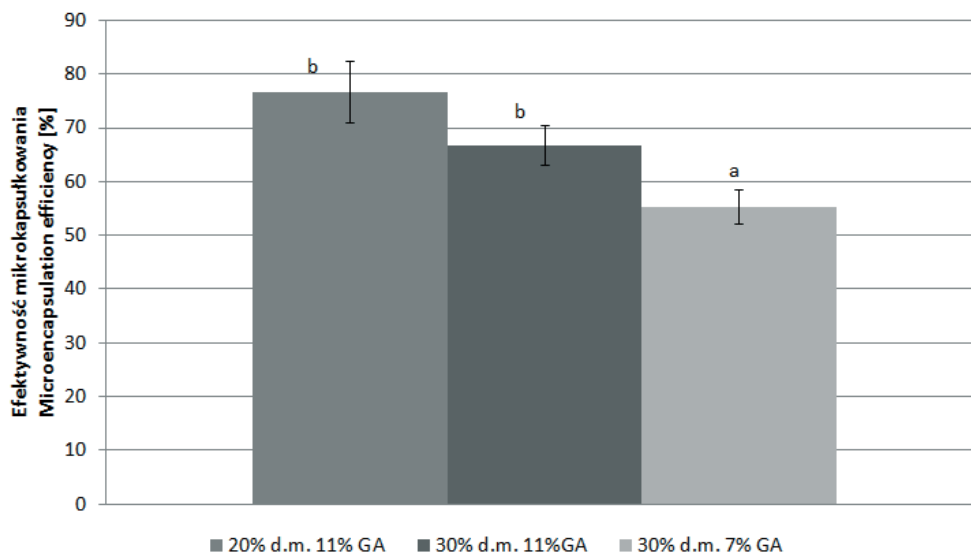
Fot. 2. Wewnętrzna struktura cząstek proszków (powiększenie 2000x): A) 20 % s.s., 11% GA, B) 30 % s.s., 11 % GA, C) 30 % s.s., 7% GA.

Fot. 2. Inner structure of powder particles (magnification at 2000x): A) 20 % d.m., 11 % GA; B) 30 % d.m., 11% GA; C) 30 % d.m., 7 % GA.

Wzrost zawartości nośnika nie wpłynął statystycznie istotnie ($p = 0,05$) na efektywność procesu mikrokapsulkowania aromatu wanilinowego (rys. 2), której wartość wahała się w granicach 68 - 75 %. Podobną zależność wykazały Janiszewska i Witrova-Rajchert [9] w przypadku aromatu rozmarynowego zamykanego w 25 i 30 % roztworach maltodekstryny. Natomiast Fernandes i wsp. [4], po zamknięciu aromatu pomarańczowego w roztworach mieszaniny GA i MD o stężeniu od 30 do 50 %, zaobserwowali zwiększenie ilości tego aromatu ze wzrostem zawartości nośnika w roztworze, co tłumaczyli wzrostem lepkości emulsji z 16 do 50 mPa·s. Jak wynika z doświadczeń, w większości przypadków wzrost lepkości powoduje wzrost ilości zamkniętego aromatu, ale tylko do pewnego optymalnego poziomu lepkości dla danego nośnika [5]. W przypadku wzrostu lepkości z 4 do 11 mPa·s (tab. 1) nie zaobserwowano zależności efektywności mikrokapsulkowania od lepkości roztworów.

Zmniejszenie udziału gumy arabskiej w nośniku spowodowało statystycznie istotne ($p = 0,05$) zmniejszenie ilości zamkniętego wewnątrz aromatu wanilinowego z 68 do 55 %. Podobne zależności uzyskali Fernandes i wsp. [4]. Przy zmniejszeniu

udziału gumy arabskiej ze 100 do 20 % cytowani autorzy wykazali zmniejszenie efektywności zamykania olejku eterycznego z lipy: z 63 do 43 %.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

a, b – Wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy $p = 0,05$; $n = 3$ / mean values denoted with different letters differ statistically significantly at $p = 0.05$; $n = 3$.

Rys. 2. Efektywność mikrokapsułkowania aromatu wanilinowego.

Fig. 2. Micro-encapsulation efficiency of vanillin aroma.

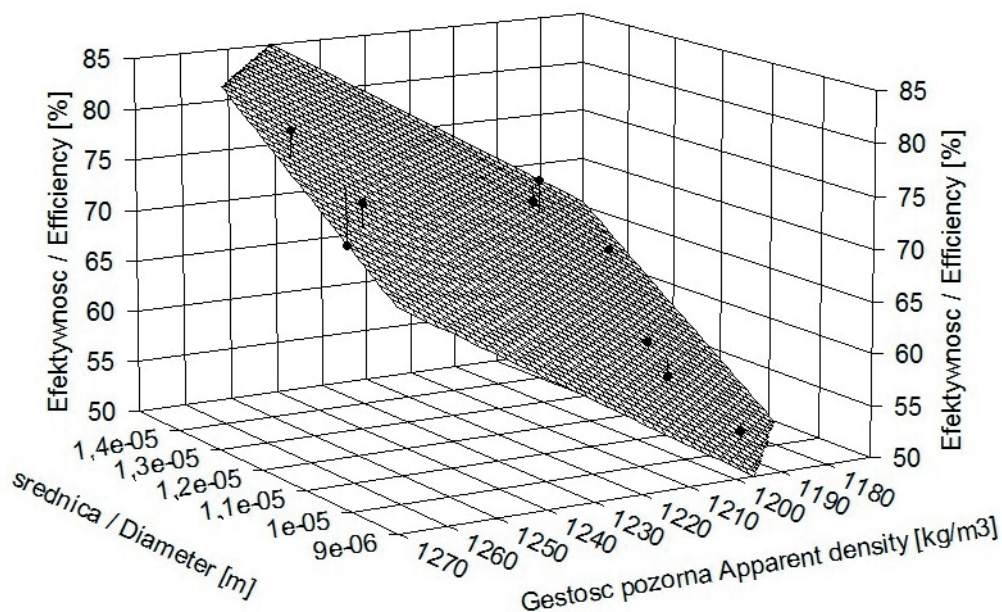
Po przeanalizowaniu wpływu badanych parametrów fizycznych emulsji i proszków na efektywność mikrokapsułkowania aromatu wanilinowego wykazano, że najwyższa korelacja występuje pomiędzy gęstością pozorną proszków a średnicą cząstek proszków d_{50} (rys. 3). Analiza regresji pozwoliła na opisanie tej korelacji następującym równaniem liniowym:

$$E = -314,66 + 3,77 \cdot 10^6 \cdot d_{50} + 0,28\rho_A$$

gdzie: E - efektywność mikrokapsułkowania [%], ρ_A - gęstość pozorną [kg/m^3], d_{50} - średnica [μm].

Współczynnik korelacji tego równania był istotny ($p = 0,05$) i wynosił $R = 0,96$. Wzrost gęstości pozornej proszków oraz średnicy cząstek proszków d_{50} wykazały powiązanie z większą efektywnością kapsułkowania aromatu wanilinowego. W wyniku estymacji wyznaczono wartości średnicy oraz gęstości pozornej, przy których uzyskano by najwyższą efektywność (97 %), a mianowicie odpowiednio 15 μm oraz

1270 kg/m³. Stwierdzono także, że przy spadku średnicy proszki powinny mieć wyższą gęstość pozorną, aby uzyskać bardzo wysoką efektywność.



Rys. 3. Korelacja efektywności mikrokapsulkowania z gęstością pozorną oraz średnicą cząstek.

Fig. 3. Correlation of micro-encapsulation efficiency, apparent density, and diameter of particles.

Wnioski

1. Mniejsza zawartość gumy arabskiej w 30-procentowych emulsjach spowodowała obniżenie lepkości, ale nie wpłynęła na gęstość emulsji.
2. Najwięcej wody zostało usunięte w przypadku proszków otrzymanych z 30-procentowej emulsji ze zmniejszoną zawartością gumy arabskiej, co skutkowało uzyskaniem najmniejszej zawartości wody w proszku, a jednocześnie uzyskaniem proszków o najmniejszej średnicy.
3. Gęstość pozorną proszków oraz porowatość złoża istotnie zależały od stężenia nośnika. Proszki otrzymane z 30-procentowej emulsji z 11-procentowym dodatkiem gumy arabskiej charakteryzowały się najniższą porowatością i gęstością pozorną oraz największą zawartością wody i średnicą zastępczą cząstek proszku.
4. Większa zawartość nośnika w emulsji sprzyjała powstawaniu grubszej ścianki, co było także połączone z wyższą lepkością oraz większą zawartością wody.
5. Mniejszy dodatek gumy arabskiej w roztworach 30-procentowych spowodował istotne statystycznie zmniejszenie efektywności procesu mikrokapsulkowania.

Wzrost stężenia nośnika z 20 do 30 % nie spowodował zmian efektywności zamknięcia składników aromatu wanilinowego.

6. Wykazano istnienie dodatniej liniowej korelacji pomiędzy efektywnością mikroenkapsulowania a gęstością pozorną proszków i średnią średnicą cząstek.

Autorzy dziękują firmie „Karotex” Sp. z o.o. za udostępnienie materiału do badań oraz prof. dr hab. M. Obiedzińskiemu za pomoc przy analizie chromatograficznej.

Literatura

- [1] Adedeji J., Hartman T.G., Ho C.: Flavor characterization of different varieties of vanilla beans. *Perfumer and Flavors*, 1993, **18**, 115-133.
- [2] Dajnowiec F., Kubiak A., Zander L. Banaszczyk P.: Struktura mikrokapsulek estrów etylowych oleju roślinnego. *Acta Agrophysica*, 2011, **17 (1)**, 33-41.
- [3] de Roos, K.B.: Effect of texture and microstructure on flavour retention and release. *Inter. Dairy J.*, 2003, **13**, 593-605.
- [4] Fernandes L.P., Turatti I.C.C., Lopes N.P., Ferreira J.C, Candido R.C., Oliveira W.P.: Volatile retention and antifungal properties of spray-dried microparticles of Lippia sidoides essential oil. *Drying Technol.*, 2008, **26**, 1534-1542.
- [5] Flores-Martinez H., Osorio-Revilla G., Gallardo-Velazquez T.: Optimal spray-drier encapsulation process of orange oil. *Proc. 14th Int. Drying Symp., Sao-Paulo Brazil, vol. A, 2004*, pp. 621-627.
- [6] Grabowski J.A., Truong V.-D., Daubert C.R.: Spray-drying of amylase hydrolyzed sweet potato puree and physicochemical properties of powder. *J. Food Sci.*, 2006, **71 (5)**, E209-E217.
- [7] Janiszewska E., Krupa K., Witrowa-Rajchert D.: Wpływ sposobu homogenizacji na wybrane właściwości fizyczne otrzymanych metodą suszenia rozpyłowego mikrokapsulek aromatu cytrynowego. *Acta Agrophysica*, 2011, **18 (2)**, 287-296.
- [8] Janiszewska E., Śliwińska D., Witrowa-Rajchert D.: Wpływ zawartości aromatu cytrynowego na wybrane właściwości fizyczne mikrokapsulek. *Acta Agrophysica*, 2010, **16 (1)**, 59-68.
- [9] Janiszewska E., Witrowa-Rajchert D.: The influence of morphology of powders on the effect of microencapsulation of rosemary aroma during spray-drying. *International J. Food Sci. Technol.*, 2009, **44**, 2438-2444.
- [10] Kha T.C., Nguyen M.H., Roach P.D.: Effects of spray drying conditions on the physicochemical and antioxidant properties of the Gac (*Momordica cochinchinensis*) fruit aril powder. *J. Food Eng.*, 2010, **98**, 385-392.
- [11] Klimeš I., Lamparsky D.: Vanilla volatiles – a comprehensive analysis. *Int. Flavours and Food Additives*, 1976, **7**, 272-291.
- [12] Krishnan S., Kshirsagar A.C., Singhal R.S.: The use of gum Arabic and modified starch in the microencapsulation of a food flavoring agent. *Carbohydr. Polym.*, 2005, **62 (4)**, 309-315.
- [13] 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.
- [14] Madene A., Jacquot M., Scher J., Desobry S.: Aroma encapsulation and controlled release - A review. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2006, **41**, 1-21.
- [15] Pérez-Silva A., Odoux E., Brat P., Ribeyre F., Rodriguez-Jimenes G., Robles-Olvera V., García-Alvarado M.A., Günata Z.: GC-MS and GC-olfactometry analysis of aroma compounds in a representative organic aroma extract from cured vanilla (*Vanilla planifolia* G. Jackson) beans. *Food Chem.*, 2006, **99**, 728-735.

- [16] PN-A-79011/3:1998. Koncentraty żywnościowe. Metody badawcze. Zawartość wody.
- [17] Rosenberg M., Kopelman I.J., Talmon Y.: Factors affecting retention in spray drying microencapsulation of volatile materials. *J. Agric. Food. Chem.*, 1990, **38** (5), 1288-1294.
- [18] Soottitantawat A., Biegeard F., Yoshii H., Furuta T., Ohkawara M., Linko P.: Influence of emulsion and powder size on the stability of encapsulated D-limonene by spray drying. *Innovative Food Sci. Emerg. Technol.*, 2005, **6**, 107-114.
- [19] Soottitantawat A., Takayam K., Okamura K., Muranaka D., Yoshii H., Furuta T., Ohkawara M., Linko P.: Microencapsulation of l-menthol by spray drying and its release characteristics. *Innovative Food Sci. Emerg. Technol.*, 2005, **6**, 163-170.
- [20] Sułek A., Domian E.: Wpływ ciśnienia homogenizacji na zawartość tłuszczu powierzchniowego w suszonych rozpyłowo emulsjach stabilizowanych białkami mleka. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **6** (73), 168-176.
- [21] Tonon R.V., Grosso C.R.F., Hubinger M.D.: Influence of emulsion composition and inlet air temperature on the microencapsulation of flaxseed oil by spray drying, *Food Res. Int.* 2011, **44**, 282-289.
- [22] Tonon R., Brabet C., Hubinger M.D.: Influence of process conditions on the physicochemical properties of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) powder produced by spray drying. *J. Food Eng.*, 2008, **88**, 411-418.
- [23] Walton D.E., Mumford C.J.: The Morphology of spray-dried particles a quantitative view. *Drying Technol.*, 2000, **18** (9), 1945-1986.
- [24] Zbiciński I., Kwapińska M.: Physical properties – formed during spray drying – of materials with the properties of an agglomerate. *Acta Agrophysica*, 2003, **2** (2), 443-455.

CORRELATION BETWEEN EFFICIENCY OF VANILLIN AROMA MICRO-ENCAPSULATION AND PHYSICAL PROPERTIES OF POWDERS OBTAINED

S u m m a r y

During the aroma micro-encapsulation process, a significant phase is to choose a suitable carrier material that provides protection for the substance being encapsulated and to determine the optimal process parameters. The properties of spray dried emulsion as well as the emulsion properties-dependent attributes of powders obtained impact the efficiency of the micro-encapsulation process. Therefore, the objective of this study was to determine the correlation between the per cent content of individual carriers in the emulsion of vanillin aroma and some selected physical properties of microcapsules obtained, and the efficiency of micro-encapsulation. A mixture of maltodextrin DE = 10 and gum arabic was used as a carrier for the vanillin aroma micro-encapsulation. The solutions prepared for the experiment had levels of concentration of 20 and 30 % (m/m) of the above named substances. The flavour addition was 21.7 % (m/m) in proportion to the total dry matter content in the solution. The content of gum arabic in the solutions was 11 %; additionally, the solutions of 30 % concentration level were made with a reduced content of gum arabic of 7 %. The solutions were homogenized using a two-stage homogenization at pressure values of 20 : 7.5 MPa. The emulsion was dried in a spray dryer with a rotational speed of the disc being 650 RPS and a feed rate of raw material being $1 \cdot 10^{-6} \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$, at an inlet air temperature of 160 °C. The reduction from 30 to 20 % of dry matter content in the emulsions resulted in the decrease in their viscosity (from 11 to 4 mPa·s) and density (from 1103 to 1060 kg/m³). The reduction of the per cent content of gum arabic caused the viscosity to decrease from 11 to 8 mPa·s; however, there were no statistically significant changes in the density of emulsions. Changing the concentration of the carriers from 20 to 30 % caused a statistically

significant decrease in the apparent and loose bulk density, porosity of the powder bed, and in the shape factor of the particles as well as an increase in the content of water and diameter of particles. As for the powders produced from solutions having 30 % of the added carriers with a lower content of gum arabic (7 %) and compared to the powders with a higher amount of gum arabic, a statistically significant decrease in the particle diameters was found as was an increase in the loose bed density and bed porosity. The efficiency of micro-encapsulation was between 55 and 75 %. A positive correlation was confirmed to exist between the encapsulation efficiency and apparent density, and the average particle diameter of powders.

Key words: vanillin aroma, density, equivalent diameter, micro-encapsulation efficiency ☒

ANNA S. TARCZYŃSKA

PROJEKTOWANIE ŻYWNOŚCI WYGODNEJ Z WYKORZYSTANIEM METODY QFD

Streszczenie

Celem pracy było określenie preferencji konsumentów dotyczących smaków spożywanych przekąsek, a następnie zaprojektowanie przekąski, która spełniałaby ich oczekiwania. Przeprowadzone badania ankietowe dostarczyły informacji o preferowanych smakach i okolicznościach spożywania różnego rodzaju przekąsek oraz warunkach ich wytwarzania i dystrybucji. Ankietowani zwracali uwagę na takie cechy jak: nowe smaki, cena oraz reklama. Zastosowanie metody QFD umożliwiło przełożenie wymagań konsumenta na parametry technologiczne. Parametrami o największym znaczeniu były: substancje smakowe, koszt promocji i reklamy, specyficzne dodatki oraz stosowane przyprawy. Główne kierunki rozwoju projektowanej przekąski serowej to wydłużenie terminu przydatności do spożycia i zamiana sera twarogowego na inny rodzaj sera.

Słowa kluczowe: żywność wygodna, QFD, projektowanie nowych wyrobów

Wprowadzenie

Zaspokajanie obecnych i przewidywanych potrzeb klientów wiąże się ściśle z innowacyjnymi rozwiązaniami wprowadzanymi w sferach: organizacji przedsiębiorstwa, doskonalenia wyrobów istniejących i projektowania nowych artykułów spożywczych. Innowacje produktowe to nowe wyroby oferowane klientom w celu spełnienia ich potrzeb i zmieniających się oczekiwań. Aby produkt był uznany za nowy, wystarczą niekiedy zmiany jego funkcji podstawowych czy w innych przypadkach – zmiany niektórych elementów, np. opakowania [1, 8]. Kształtowanie nowego produktu wymaga znajomości znaczenia przypisywanego przez konsumenta różnym właściwościom produktu. Dla wielu firm źródłem pomysłów jest m.in. analiza produktów oferowanych przez konkurentów, jak i produktów dostępnych na rynkach innych krajów [7].

Nowe produkty odgrywają ważną rolę w procesie określania istniejących potrzeb konsumenta oraz w kształtowaniu nowych. Dla wielu przedsiębiorstw sektora spożyw-

czego satysfakcja klienta stanowi miarę sukcesu, dlatego też stała się celem ich działania. Coraz więcej różnego typu organizacji uwzględnia wymagania klienta na etapie projektowania wyrobów i profilowania produkcji [3, 5].

Potrzeby konsumentów ulegają dynamicznym zmianom w wyniku zmieniającego się otoczenia. Praca zawodowa kobiet, zwiększająca się liczba gospodarstw jedno- i dwuosobowych, zwiększenie zamożności społeczeństwa, jak również wzrost popularności artykułów żywnościowych przeznaczonych do spożycia pomiędzy posiłkami sprzyja rozwojowi żywności wygodnej (ang. *convenience food*) [9].

Celem niniejszej pracy było poznanie preferencji konsumentów dotyczących smaków spożywanych przekąsek, a następnie zaprojektowanie przekąski, która spełniałaby ich oczekiwania. Przyjęto założenie, że podstawowym składnikiem projektowanego wyrobu będzie produkt mleczarski z różnymi dodatkami.

Material i metody badań

Badania ankietowe przeprowadzono w 2011 r. na 200-osobowej grupie konsumentów. Próba konsumentów została dobrana metodą nielosowego doboru (tzw. próba wygodna). Zastosowano metodę ankiety bezpośredniej. Ankieter rozdawał kwestionariusze wybranym osobom, w razie potrzeby wyjaśniał wypełniającemu treść pytania i odbierał wypełniony formularz. Ankieta zawierała 6 pytań metryczkowych oraz 29 pytań zamkniętych dotyczących: rodzaju i częstotliwości spożywania artykułów mleczarskich, częstotliwości i okoliczności spożywania różnego rodzaju przekąsek, w tym również przekąsek serowych, preferowanych smaków, postrzegania ważności cech sensorycznych produktów oraz preferencji zakupowych (wielkość jednostkowa, sklep, reklama).

W badaniu ankietowym udział wzięło 200 osób, w tym 63,5% stanowiły kobiety, a 36,5% mężczyźni. Struktura wiekowa respondentów kształtowała się następująco: osoby do 25 lat – 28,5%, 26÷35 lat – 27,5%, 36÷50 lat – 30%, oraz powyżej 50 lat – 14%. Największą grupę stanowili respondenci z wykształceniem średnim – 53,0%. Wykształcenie wyższe posiadało 33,5% badanych, zawodowe – 10,5%, a podstawowe – 3,0%. Mieszkańcy wsi stanowili 31% ankietowanych, 30,5% badanych pochodziło z miast do 100 tys. mieszkańców, a 38,5% zamieszkiwało w miastach liczących powyżej 100 tys. obywateli.

Uzyskane wyniki zostały zakodowane w programie Statistica 9.0. Pytania, na które respondenci mogli udzielić jednej odpowiedzi zostały zakodowane metodą arytmetyczną, natomiast pytania, na które można było udzielić kilku odpowiedzi zakodowano metodą binarną. Analiza ankiet pozwoliła uzyskać dane wejściowe do opracowania Domu Jakości, w tym: do określenia szczegółowych preferencji konsumenckich, analizy sektorów składających się na macierz Domu Jakości, wskazania kierunków projek-

towania wyrobu. Do analizy danych ankietowych, które posłużyły do budowy pierwszego sektora macierzy Domu Jakości zastosowano analizę czynnikową. Ważność cech w sektorze II została oceniona na podstawie statystyk opisowych.

W skład zespołu projektowego, odpowiedzialnego za opracowanie przekąski serowej, wchodziło 5 osób: dwóch technologów żywności, mikrobiolog, przedstawiciel działu marketingu i sprzedaży, przewodniczący zespołu HACCP. Wymagania dotyczące poszczególnych cech wyrobu zespół projektowy oceniał w skali 5-punktowej (gdzie: 5 oznaczało, że cecha jest bardzo ważna dla klienta, 4 – ważna, 3 – ani ważna, ani nieważna, 2 – mało ważna, 1 - nieważna).

Po utworzeniu i przeanalizowaniu Domu Jakości zaprojektowano przekąskę serową w postaci koreczków. Podstawowym składnikiem wyprodukowanej przekąski był ser twarogowy połączony z naturalnymi przyprawami: sól, kolorowy pieprz, papryka, bazylija, oregano, tymianek, rozmaryn oraz specyficznymi dodatkami, takimi jak: salami, łosoś wędzony, szynka parmeńska, kabanos. W celu uformowania w koreczek masa twarogowa zawijana była w naleśnik wykonany z mąki gryczanej. Przekąska została przygotowana do serwowana na zimno, bezpośrednio po wyjęciu z opakowania jednostkowego.

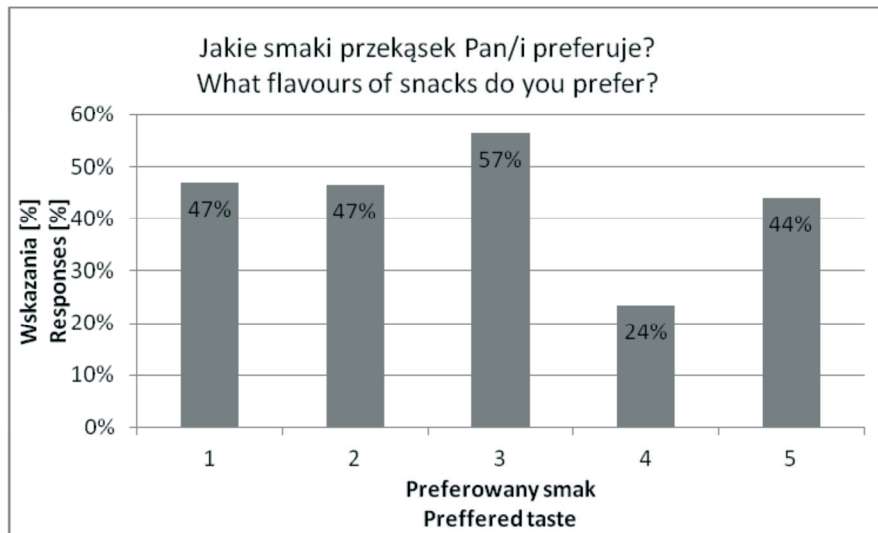
Powołany został także zespół oceniający w celu przeprowadzenia analizy porównawczej projektowanej przekąski z wyrobami konkurencyjnymi. Składał się on z 15 osób, w tym: dwóch pracowników działu produkcji, dwóch laborantów, trzech przedstawicieli działu marketingu i sprzedaży oraz ośmiu potencjalnych konsumentów. Wyroby były oceniane przez członków zespołu metodą szeregowania przy zastosowaniu skali 5-punktowej, gdzie cyfra 1 oznaczała cechę nieważną, a 5 bardzo ważną [2]. Ocena odbyła się w zakładzie produkcyjnym, wszystkie wyroby zostały zakodowane.

Dom Jakości zbudowano z 9 sektorów w kolejności podanej przez Jazdona [4].

Wyniki i dyskusja

Pierwszy sektor Domu Jakości obejmował identyfikację wymagań konsumentów, której dokonano na podstawie przeprowadzonej ankiety.

Respondenci zostali poproszeni o wskazanie maksymalnie trzech preferowanych smaków spożywanych przekąsek. Najczęściej wskazywali oni smak pikantny (56,5 %), łagodny (47 %) i słodko-kwaśny (46,5 %). Tylko 23,5 % ankietowanych zadeklarowało smak słodki (rys. 1). Pytanie dotyczące spożywania przekąsek serowych połączono z pytaniem dotyczącym spożycia różnych serów (rys. 2) i preferowanym smakiem przekąsek (rys. 3). Wszyscy ankietowani zadeklarowali spożywanie przynajmniej jednego rodzaju sera. Najwięcej osób spożywało sery dojrzewające twarde (91 %) i twarogowe (82 %). Natomiast konsumpcję przekąsek zadeklarowało 82 % badanych.

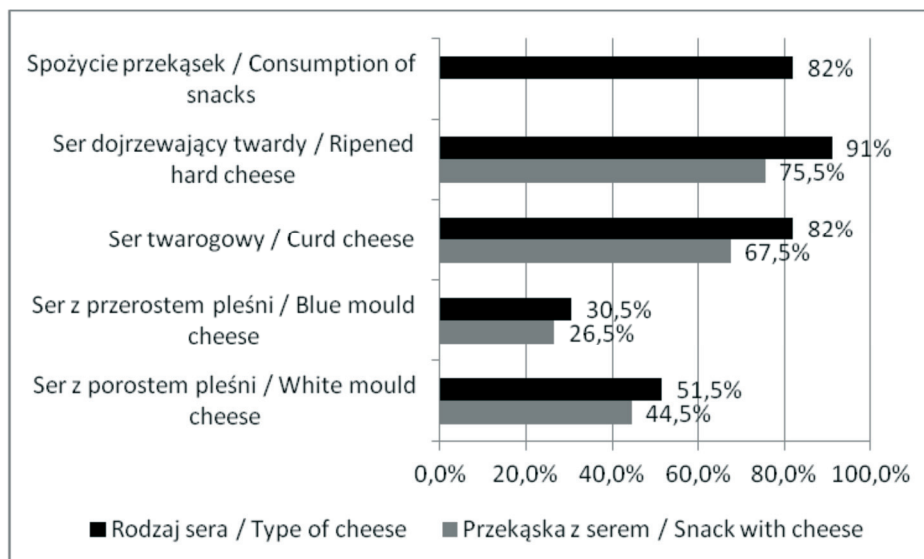


Objaśnienia: / Explanatory notes:

1 – łagodny / mild, 2 – słodko-kwaśny /sweet and sour, 3 – pikantny / spicy, 4 – słodki / sweet; 5 – słony / salty.

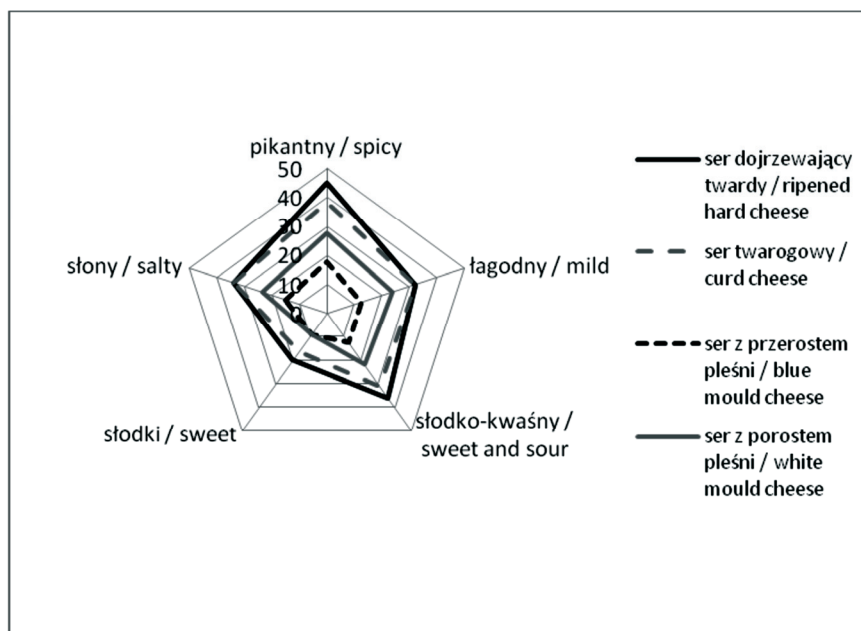
Rys. 1. Wskazania ankietowanych dotyczące preferowanego smaku przekąsek.

Fig. 1. Respondents' indications of preferred taste of snacks.



Rys. 2. Zadeklarowane spożycie serów i przekąsek z serami [% odpowiedzi].

Fig. 2. Declared consumption of cheeses and cheese snacks [% of responses].



Rys. 3. Deklarowany preferowany smak różnych przekąsek w odniesieniu do rodzaju spożywanego sera [% odpowiedzi].

Fig. 3. Declared preferred flavour of different snacks in relation to consumed cheese type [% of responses].

Najwięcej osób spożywających przekąski zadeklarowało konsumpcję serów dojrzewających twardych (75,5 %) oraz serów twarogowych (67,5 %). Wśród ankietowanych dominowali konsumenci preferujący sery twarde i pikantne smaki przekąsek (45 %) oraz sery twarogowe i pikantne smaki przekąsek (38,5%). Smak słodko-kwaśny wskazały osoby spożywające sery twarde (36 %), twarogowe (31 %), z porostem pleśni (22 %) oraz najmniejszy odsetek sery z przerostem pleśni (12,5 %). Wśród osób deklarujących spożycie serów z przerostem pleśni najmniej wskazań respondentów odnotowano w przypadku smaku słodkiego (6,5 %).

W wyniku przeprowadzonej analizy czynnikowej, na podstawie testu osypiska Cattela [6], wyodrębniono trzy czynniki, które wyjaśniały 65 % ogółu wariacji.

W celu opisania czynników posłużono się metodą składowych głównych, wyznaczając ładunki czynnikowe. Czynniki pierwsze określony przez zmienne: smak, zapach, barwa, jednolita konsystencja wyjaśniał 34 % ogólnej wariacji. Drugi czynnik miał najwyższe ładunki czynnikowe w odniesieniu do nowych smaków oraz wydłużonego terminu do spożycia i wyjaśniał 17 % ogólnej wariacji. Czynniki trzeci określony był przez: odpowiednią masę, przystępną cenę, dostępność w sklepach oraz reklamę i wyjaśniał 14 % ogólnej wariacji (Sektor I).

Drugi sektor Domu Jakości wskazuje na ważność poszczególnych wymagań. Na podstawie wyników uzyskanych w badaniu ankietowym obliczono statystyki opisowe, które posłużyły do oceny ważności wymagań. Najistotniejszymi wymaganiami według respondentów były: smak ($\bar{x} = 4,8$; $s = 0,41$), możliwość zakupu przekąsek o nowych smakach ($\bar{x} = 4,4$; $s = 0,53$), przystępna cena ($\bar{x} = 4,4$; $s = 0,38$) oraz reklama ($\bar{x} = 4,1$; $s = 1,06$). Za mniej ważne uznano wymaganie dotyczące długiego terminu przydatności do spożycia ($\bar{x} = 3,6$; $s = 0,67$). Umiarkowana wartość została przypisana jednolitej konsystencji ($\bar{x} = 3,2$; $s = 0,96$) oraz zapachowi ($\bar{x} = 3,2$; $s = 0,63$). Najmniej punktów przypisano wymaganiom dotyczącym barwy ($\bar{x} = 2,4$; $s = 0,49$) – ta cecha okazała się najmniej ważna dla respondentów.

Trzeci sektor obejmuje wyznaczenie parametrów technicznych wyrobu. Każdemu określone wymaganiu klienta (sektor I) przyporządkowano jeden lub więcej parametrów technicznych wyrobu (sektor III). Sektor ten charakteryzuje każde wymaganie klienta w odniesieniu do wymagań technologicznych. Jest to bardzo istotny element, ponieważ na tym etapie należy określić zabiegi technologiczne i ich parametry niezbędne do zapewnienia bezpieczeństwa wyrobu oraz spełnienia oczekiwań klienta. Spełnienie potrzeby klienta dotyczącej nowych, pożądanых smaków przekąsek jest możliwe dzięki zastosowaniu specyficznych dodatków (wędzony łosoś, szynka parmeńska, kabanos hiszpański, salami itd.), przypraw oraz substancji smakowych.

Czwarty sektor to wskazanie zależności pomiędzy wymaganiami klienta i parametrami wyrobu. W sektorze tym przeanalizowano zależności zachodzące między każdym wymaganiem klienta (sektor I) i każdą cechą techniczną produktu (sektor III). Cecha techniczna – dodatek przypraw – odpowiada w dużym stopniu na wymagania klienta dotyczące nowych smaków, dlatego przyporządkowano jej wartość 9. W stopniu umiarkowanym cecha ta zaspokaja wymagania dotyczące smaku czy barwy, stąd przypisano jej ocenę 3. Ta sama cecha, w małym stopniu, spełnia oczekiwania klienta związane z zapachem, jak również przystępną ceną. Stopień zależności oceniono na 1. Brak wypełnienia w poszczególnych komórkach macierzy oznaczał, że nie występuje zależność pomiędzy wymaganiami klienta a parametrami technicznymi. Oceny stopnia zależności, w jakim cecha techniczna spełnia wymaganie klienta, dokonano przy użyciu skali liczbowej i symboli graficznych. Analogiczne postępowanie przeprowadzono względem pozostałych wymagań klienta oraz cech technicznych wyrobu (tab. 1). Analiza trzeciego sektora Domu Jakości dowodzi, że niektóre cechy tego sektora są skorelowane z kilkoma cechami sektora pierwszego. Oznacza to, że dany parametr techniczny może zapewnić jednocześnie spełnienie kilku cech produktu, od których zależy jego bezpieczeństwo i zadowolenie klienta.

Tabela 1

Sektory I - IV Domu Jakości.
House of Quality: Sectors I – IV.

Sektor Sector I	Sektor Sector II	Sektor / Sector III											
	Ważność / Significance	1.Substancje smakowe / Flavour substances	2.Pasteryzacja / Pasteurization	3.Higiena / Hygiene	4.Naturalne barwniki / Natural colouring substances	5.Homogenizacja / Homogenisation	6.Przyprawy / Spices and herbs	7.Zawartość suchej masy Dry matter content	8.Specyficzne dodatki Specific additives	9.Gramatura / Weight	10.Koszt wytwarzania / Production costs	11.Sieć sklepów / Chain of stores	12.Koszt promocji i reklamy Cost of promotion and advertising
Smak / Flavour	5	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				
Termin przydatności do spożycia Shelf live	4		<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>				<input type="checkbox"/>					
Zapach / Smell	3							<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				
Barwa / Colour	2	<input type="checkbox"/>			<input checked="" type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>				
Jednolita konsystencja Homogeneous consistency	3		<input checked="" type="checkbox"/>			<input checked="" type="checkbox"/>		<input checked="" type="checkbox"/>					
Nowe smaki New tastes	5	<input checked="" type="checkbox"/>					<input checked="" type="checkbox"/>		<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
Waga / Weight	4								<input checked="" type="checkbox"/>				
Cena / Price	5	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>			<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>			<input checked="" type="checkbox"/>
Dostępność w sklepach Availability in stores	4										<input checked="" type="checkbox"/>		
Reklama Advertising	5												<input checked="" type="checkbox"/>

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Zależność: / Correlation:

- silna (9 pkt) / strong (9 points); - umiarkowana (3 pkt) / moderate (3 points); - słaba (1 pkt) / weak (1 point).

Piąty sektor ma na celu ocenę ważności parametrów technicznych. Ustalenie znaczenia poszczególnych parametrów wykonano, obliczając parametr P_j z równania:

$$P_j = \sum_{i=1}^n W_i Z_{ij}$$

gdzie: W_i – współczynnik ważności wymagania (ustalony w sektorze II),
 Z_{ij} – współczynnik zależności pomiędzy i-tym wymaganiem a j-tym parametrem technicznym (ustalony w sektorze IV).

Tabela 2

Sektor V Domu Jakości – Wyniki oceny ważności parametrów technicznych.

Sector V of House of Quality: Results of significance evaluation of technical parameters.

Parametr techniczny Technical parameters	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Znaczenie parametrów technicznych -wartość P_j Significance of technical parameters - P_j value	97	68	41	18	32	74	39	86	51	50	36	90
Znaczenie parametrów technicznych [%] Significance of technical parameters [%]	14,2	10,0	6,0	2,6	4,7	10,9	5,7	12,6	7,5	7,3	5,3	13,2
Cechy krytyczne Critical factors	I					IV		III				II

Objaśnienia: / Explanatory notes:

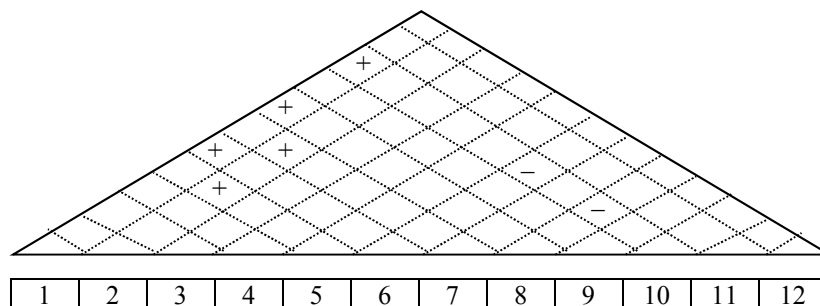
Numery kolumn (1-12) oznaczają parametry techniczne opisane w sektorze III.

Numbers of columns (1-12) denote technical parameters as described in Sector III.

Otrzymane wartości wskazywały na cechy wyspecyfikowane w sektorze III, które miały największe znaczenie w procesie doskonalenia jakości wyrobu. Cechy, na których należało skupić największą uwagę, charakteryzowały się najwyższą wartością parametru P_j . Procentowa wartość poszczególnych cech technologicznych odpowiadała ich znaczeniu w odniesieniu do całego procesu. Wskazano 4 cechy krytyczne, które zakwalifikowano jako najważniejsze do osiągnięcia sukcesu przy projektowaniu no-

wego produktu. Parametrem technologicznym o największym znaczeniu dla procesu okazał się dodatek substancji smakowych (14,2 %) – cecha krytyczna I. Kolejny ważny parametr stanowił koszt promocji i reklamy (13,2 %) – cecha krytyczna II, dodatki (12,6 %) – cecha krytyczna III oraz parametr techniczny: przyprawy (10,9 %) – cecha krytyczna IV (tab. 2).

Sektor szósty określa, czy i w jakim stopniu parametry technologiczne wyrobu oddziałują na siebie. Zespół projektowy skupił się w ocenie na zależności pomiędzy aspektami technologicznymi a dyspozycyjnością wyrobu. Zaobserwowano silną ujemną zależność pomiędzy poziomem kosztów produkcji a walorami smakowymi. Jest to związane z dodatkiem odpowiedniej jakości przypraw naturalnych oraz dodatków smakowych, takich jak: łosoś, szynka parmeńska czy kabanos hiszpański, które powodują wzrost kosztów produkcji przekąsek. Przewaga zależności dodatnich parametru – substancje smakowe w odniesieniu do przypraw oraz dodatków smakowych wskazuje, że możliwe jest projektowanie nowych przekąsek z dodatkiem tych substancji. Dodatek substancji smakowych sprawiłby, że planowany produkt miałby bardziej intensywny smak, na czym zależy potencjalnym klientom. Zmniejszenie ilości specyficznych dodatków, a wprowadzenie w ich miejsce substancji smakowych obniżyłoby koszty produkcji, ale jednocześnie przyczyniłoby się do zmniejszenia atrakcyjności projektowanej przekąski serowej. Dodatnia korelacja występuje również pomiędzy pasteryzacją i homogenizacją a zawartością suchej masy (rys. 4).



Objaśnienia: / Explanatory notes:

1 – Substancje smakowe / Flavour substances; 2 - Pasteryzacja / Pasteurization; 3 - Higiena / Hygiene; 4 – Naturalne barwniki / Natural colouring substances; 5 - Homogenizacja / Homogenisation; 6 - Przyprawy / Spices and herbs; 7 – Zawartość suchej masy / Dry matter content; 8 – Specyficzne dodatki / Specific additives; 9 - Gramatura / Weight; 10 – Koszt wytwarzania / Production costs; 11 – Sieć sklepów / Chain of stores; 12 – Koszt promocji i reklamy / Cost of promotion and advertising.

Rys. 4. Dach Domu Jakości – zależność pomiędzy parametrami.

Fig. 4. Roof of House of Quality: correlations among parameters.

W siódmym sektorze Domu Jakości przeprowadzono analizę porównawczą projektowanego wyrobu z produktami konkurencyjnymi. Oceniano, który z produktów ma preferowaną (pod względem masy i kompozycji smakowej) ilość specyficznych dodatków i przypraw oraz co decydowało o zaspokojeniu potrzeb klienta związanych ze smakowitością. Projektowana przekąska została oceniona jako najlepsza pod względem przypraw i dodatków.

Wszystkie trzy produkty: zaprojektowany oraz dwa konkurencyjne (co wynika z tab. 4) w taki sam sposób spełniały wymaganie dotyczące konsystencji, na co m.in. mają wpływ procesy homogenizacji (ocena 3) i pasteryzacji (ocena 4), a także gramatura (ocena 4) – produkty miały jednakową masę opakowania jednostkowego.

Projektowana przekąska w najmniejszym stopniu spełniała wymaganie parametru „substancje smakowe”. Spowodowane to było przyjętym założeniem, że nowy produkt będzie wytwarzany bez dodatku substancji chemicznych wzmacniających smak. Ograniczenie ilości specyficznych dodatków i częściowe zastąpienie ich substancjami wzmacniającymi smak powoduje obniżenie kosztów produkcji.

Tabela 3

Sektor VII Domu Jakości – Porównanie z wyrobami konkurencyjnymi.
House of Quality: Sector VII - Comparison with competitive products.

Sektor I / Sector I	Sektor / Sector VII				
	1	2	3	4	5
Smak / Flavour				B	A C
Długi termin przydatności do spożycia / Long shelf live			A	B	C
Zapach / Smell				A C	B
Barwa / Colour				A B C	
Jednolita konsystencja / Homogeneous consistency			B	A	C
Nowe smaki / New tastes		A B			C
Odpowiednia masa / Suitable weight					A B C
Przystępna cena / Reasonable price			B	A C	
Dostępność w sklepach / Availability in stores		B	A	C	
Reklama / Advertising			A B		C

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Skala do oceny ważności cech przekąski: / Scale to evaluate significance of snack properties: 1 – nieważna / unimportant; 2 – mało ważna / slightly important; 3 – dość ważna / quite important; 4 - ważna / important; 5 – bardzo ważna / very important; A – produkt konkurencyjny A / A competitive product; B - produkt konkurencyjny B / B competitive product; C – projektowany wyrób / C - product being developed.

Główny kierunek rozwoju projektowanej przekąski to zamiana sera twarogowego na inny rodzaj, np. sery dojrzewające. Wpłyne to na wydłużenie terminu przydatności

do spożycia i umożliwi serwowanie przekąski „na ciepło”, po krótkim poddaniu obróbce termicznej, w zależności od upodobań konsumentów.

Analizowane wyroby zostały ocenione tak samo pod względem barwy (4) oraz masy opakowania jednostkowego (5). Konkurencyjne produkty zostały ocenione najniżej w zakresie nowych smaków. Spowodowane to było faktem, że produkty konkurencyjne charakteryzowały się smakami powszechnie spotykanymi, znanymi konsumentom (tab. 3).

W sektorze ósmym zespół projektowy określił mierzalne jednostki wartości docelowych poszczególnych parametrów technicznych. Zaproponowane wartości liczbowe pozwalały stwierdzić, czy poszczególne wymagania były odpowiednio realizowane przez parametry techniczne.

Tabela 4

Sektor IX Domu Jakości – Trudność wykonania.

House of Quality: Sector IX –Difficulty of implementing.

Parametr / Parameter	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Skala / Scale			C			C		C				B
1			C			C		C				B
2	B	A B C	A B	A C			B		A B C	B C		
3					A B C		A C	B		A	A C	
4	A			B		A					B	A
5	C					B		A				C
Stopień trudności Level of difficulty	1	1	2	1	1	1	2	2	3	5	4	4

Objaśnienia: / Explanatory notes:

A – produkt konkurencyjny A / A competitive product; B – produkt konkurencyjny B / B competitive product; C – projektowany wyrób / product being developed;

Numery kolumn (1-12) oznaczają parametry techniczne opisane w sektorze III / Numbers of columns (1-12) denote technical parameters as described in Sector III.

W sektorze dziewiątym, ostatnim, oceniono w skali 5-punktowej trudności związane z wytworzeniem projektowanego wyrobu (tab. 4). Spełnienie parametrów technicznych, takich jak: substancje smakowe, pasteryzacja, homogenizacja, naturalne barwniki organiczne i przyprawy – w stosunku do całego projektu oceniono jako łatwe do realizacji i przypisano ocenę 1. Do łatwych w realizacji, choć obciążonych pewnym

stopniem trudności, zaliczono parametry: higiena produkcji, pakowanie, przechowywanie i dystrybucja, zawartość suchej masy oraz specyficzne dodatki. Zapewnienie odpowiedniej gramatury uznano za umiarkowanie trudne. Do istotnie trudnych w realizacji parametrów zaliczono dystrybucję oraz koszty promocji i reklamy. Największe trudności łączono z kosztami wytwarzania.

Wnioski

1. Poznanie oczekiwań klientów jest kluczowym elementem w projektowaniu nowych wyrobów. Badanie ankietowe dostarczyło niezbędnych informacji o preferowanych smakach i okolicznościach spożywania przekąsek. Ankietowani zwracali szczególną uwagę na takie cechy produktu, jak: nowe smaki, cena oraz reklama.
2. Parametrami o największym znaczeniu w procesie opracowania przekąsek serowych były: substancje smakowe, koszt promocji i reklamy, specyficzne dodatki oraz stosowane przyprawy. Zdefiniowane oczekiwania klientów pozwoliły na zaprojektowanie przekąski serowej o smakach pożądanym przez klientów.
3. Metoda QFD umożliwiła zaprojektowanie przekąsek serowych odpowiadających wymaganiom klientów. Pozwoliła ona „przetłumaczyć” wymagania konsumentów na konkretne parametry technologiczne.
4. Oczekiwaniem najtrudniejszym do zrealizowania jest wydłużenie okresu przydatności przekąski do spożycia. Proponowany termin w dużym stopniu ogranicza możliwość dystrybucji wyrobu, zwłaszcza w sieciach handlowych. Wydłużenie terminu przydatności do spożycia wiąże się w dużej mierze ze zmianą sposobu pakowania.
5. Połączenie badań ankietowych z metodą QFD umożliwia opracowanie wyrobu zgodnie z oczekiwaniami konsumentów, jak również wskazanie kierunków rozwoju tego produktu.

Literatura

- [1] Benner M., Zinnemann A.R., Jongen W.M.F.: Quality Function Deployment (QFD) – can it be used to develop food products? *Food Quality and Preference*, 2003, **14** (4), 327-339.
- [2] Czernyszewicz E.: Jakość owoców w ocenie konsumenckiej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, **5** (78), 173-187.
- [3] Hamrol A., Mantura W.: *Zarządzanie jakością – teoria i praktyka*, Wyd. PWN, Warszawa 2005.
- [4] Jazdon A.: *Doskonalenie zarządzania jakością*. Oficyna Wyd. Ośrodka Postępu Organizacyjnego, Bydgoszcz 2001.
- [5] Maleszka A., Gałka K.: Zastosowanie metody QFD do wspomagania zarządzania w przemyśle mleczarskim. *Towaroznawcze Problemy Jakości*, 2005, **3** (4), 29-37.
- [6] Stanisław A.: *Przystępny kurs statystyki z zastosowaniem STATISTICA PL na przykładach z medycyny*. Tom 3. *Analizy wielowymiarowe*. StatSoft, Kraków 2007.

- [7] Tarczyńska A.S., Korękwicz J.: Zastosowanie metody QFD w procesie doskonalenia jogurtów smakowych. W: *Innowacyjność w kształtowaniu jakości wyrobów i usług*. Red. J. Zuchowski. Wyd. Politechniki Radomskiej, Radom 2006, ss. 244-252.
- [8] Żulewska J., Ziajka S.: Nowe produkty szansą na sukces. *Przegl. Mlecz.*, 2007, 7, 14-17.
- [9] *Żywność wygodna i żywność funkcjonalna*. Red. F. Świderski. Wyd. 3. WNT, Warszawa 2003.

DEVELOPING CONVENIENT FOOD PRODUCTS USING QFD METHOD

S u m m a r y

The objective of the study was to identify consumer preferences for flavours of snacks consumed by them and to design a snack to meet their expectations. The survey research accomplished provided information on preferred tastes and circumstances of consuming various kinds of snacks as well as on the manufacturing and distribution conditions thereof. The respondents pointed to the following features: new taste, price, and advertising. By applying a QFD method, it was possible to translate the consumer requirements into technological parameters. The most important parameters were: flavour substances, cost of promotion and advertising, specific additives, and spices used. Main trends in developing cheese snacks are extending shelf life and replacing curd cheese with a different cheese type.

Key words: convenience food, QFD, developing new products 

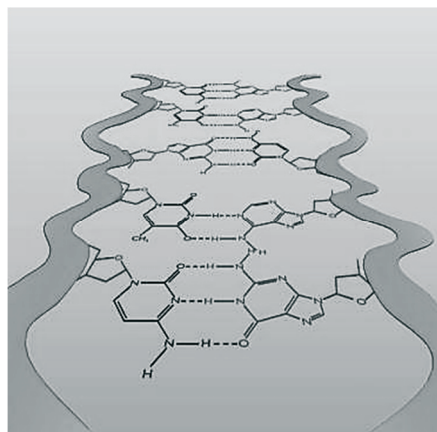
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA

INTERAKCJE SKŁADNIKÓW ŻYWNOŚCI

Prezentujemy 15. część cyklu nt.: „Interakcje składników żywności”. Druk materiałów z tego cyklu rozpoczęliśmy w *Żywności* nr 1 (74), 2011.

Pytanie: Jaka jest rola wiązań wodorowych w kształtowaniu struktury kwasów nukleinowych?

Znaczenie wiązań wodorowych w kształtowaniu konformacji kwasów nukleinowych, z konieczności, ograniczone zostało do budowy cząsteczki DNA. W cząsteczce DNA zasady purynowe i pirymidynowe łączą się ze sobą wiązaniami wodorowymi zgodnie z regułą komplementarności, tzn. adenina łączy się z tyminą, a guanina z cytozyną (rys. 1).

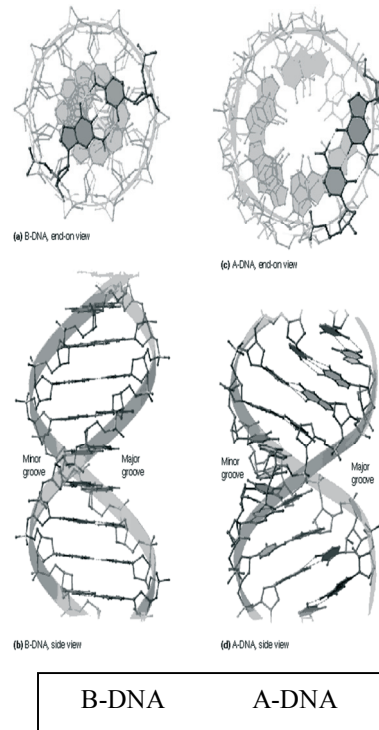


Rys. 1. Łączenie dwóch łańcuchów nukleotydowych w DNA za pomocą wiązań wodorowych z uwzględnieniem reguły komplementarności.

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

Powstaje pytanie, dlaczego adenina musi połączyć się z tyminą, a guanina z cytozyną, nie odwrotnie? Uzasadnieniem jest budowa konformacyjna cząsteczki DNA, która składa się z dwóch łańcuchów nukleotydowych biegnących w przeciwnych kierunkach i skręconych jeden wokół drugiego, tworząc podwójną helisę. Nie jest to jednak w pełni wyjaśniająca odpowiedź, ponieważ powstanie takiej regularnej struktury wymaga połączenia się par zasad purynowych i pirymidynowych w ten sposób, by tworzyły one układy o tym samym kształcie. Spełnienie tego warunku jest tylko możliwe, gdy adenina połączy się z tyminą, a guanina z cytozyną. I dopiero ten fakt całkowicie uzasadnia istotę funkcjonowania reguły komplementarności, czyli utworzenie par zasad za pomocą wiązań wodorowych pomiędzy adeniną i tyminą oraz guaniną i cytozyną. Stabilizacja cząsteczki DNA nie zależy wyłącznie od wiązań wodorowych pomiędzy zasadami purynowymi i pirymidynowymi. Znaczącą rolę w tej stabilizacji odgrywają również oddziaływania hydrofobowe. Wewnątrz helisy DNA zasady są ułożone w stos, jedna nad drugą, co umożliwia występowanie pomiędzy nimi oddziaływań hydrofobowych. Ta warstwowa asocjacja zasad powoduje zwrócenie powierzchni o charakterze polarnym, czyli rdzenia cukrowo-fosforanowego w kierunku środowiska wodnego. To z kolei sprzyja asocjacji cząsteczek DNA z cząsteczkami wody. Dodatkowo w stabilizacji helisy DNA bierze udział konformacja dość sztywnych pięciowęglowych pierścieni deoksyrybozy. Udział wiązań wodorowych w strukturze DNA ułatwia rozdzielenie obu nici i ponowne ich połączenie w tym samym układzie. W warunkach laboratoryjnych czynnikami powodującymi rozplecenie obu nici jest odpowiednia temperatura bądź zmiana środowiska na kwaśne lub zasadowe. W żywym organizmie proces ten odbywa się z udziałem enzymu – helikazy. A co się dzieje, gdy wiązania wodorowe w cząsteczkach zasocjowanej przez DNA wody zostaną całkowicie zerwane, np. za pomocą formidu (H_2NCONH_2) lub mocznika (H_2NCONH_2). Efektem tego jest uniemożliwienie cząsteczkom wody ulokowanie się pomiędzy zasocjowanymi warstwowo hydrofobowymi zasadami purynowymi i pirymidynowymi DNA, co powoduje jego denaturację. Na zakończenie trzeba wspomnieć, że DNA może występować w różnych formach w zależności od środowiska zewnętrznego (rys. 2).

Najczęściej występującą formą DNA jest postać B-DNA. Występuje ona przy 92 % wilgotności względnej, a w obecności jonów litu nawet przy 66 %. Natomiast postać A-DNA występuje w obecności jonów sodowych i przy wilgotności względnej wynoszącej 75 %.



Rys. 2. Widok z góry i z boku struktury B-DNA i A-DNA.

Zjawisko to jest spowodowane jonizacją zasad purynowych i pirymidynowych. Są jeszcze inne formy DNA, które w tym artykule nie są omawiane. Powyższe fakty jednoznacznie wskazują, że konformacje biomolekuł zależą w znacznym stopniu od warunków środowiska zewnętrznego.

Opracowanie graficzne rysunków: mgr Mirosław Obrębski ☒

GRAŻYNA MORKIS

PROBLEMATYKA ŻYWNOŚCIOWA W USTAWODAWSTWIE POLSKIM I UNIJNYM

Publikujemy kolejny przegląd aktów prawnych, które ukazały się w Dzienniku Ustaw RP. Poniższe zestawienie zawiera akty prawne dotyczące szeroko omawianej problematyki żywnościowej wg stanu na dzień 30 czerwca 2013 r.

Polskie akty prawne

1. Obwieszczenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 19 lutego 2013 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi w sprawie warunków i wysokości wynagrodzenia za wykonywanie czynności przez lekarzy weterynarii i inne osoby wyznaczone przez powiatowego lekarza weterynarii (Dz. U. 2013 r., poz. 424).
Stosownie do ustawy z dnia 20 lipca 2000 r. o ogłaszaniu aktów normatywnych i niektórych innych aktów prawnych Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi w załączniku do niniejszego rozporządzenia obwieścił jednolity tekst rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 2 sierpnia 2004 r. w sprawie warunków i wysokości wynagrodzenia za wykonywanie czynności przez lekarzy weterynarii i inne osoby wyznaczone przez powiatowego lekarza weterynarii (Dz. U. Nr 178, poz. 1837), z uwzględnieniem zmian wprowadzonych po 2 sierpnia 2004 r.
2. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 18 marca 2013 r. w sprawie wymagań, jakie powinien spełniać projekt technologiczny zakładu, w którym ma być prowadzona działalność w zakresie produkcji produktów pochodzenia zwierzęcego (Dz. U. 2013 r., poz. 434).
Zgodnie z niniejszym rozporządzeniem projekt technologiczny zakładu, w którym ma być prowadzona działalność w zakresie produkcji produktów pochodzenia zwierzęcego, powinien składać się z części opisowej oraz części graficznej, zawierającej plany wykonane techniką trwałą.

3. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 15 marca 2013 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie znakowania środków spożywczych (Dz. U. 2013 r., poz. 443).

W rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 10 lipca 2007 r. w sprawie znakowania środków spożywczych (Dz. U. Nr 137, poz. 966, z późn. zm.) wprowadzono zmiany dotyczące m.in. nazw następujących środków spożywczych: sok owocowy, sok owocowy z zagęszczonego soku owocowego, zagęszczony sok owocowy (koncentrat owocowy, koncentrat soku owocowego), sok owocowy w proszku, sok owocowy wyprodukowany z użyciem ekstrakcji wodnej (sok owocowy wyekstrahowany wodą) i nektar owocowy.

4. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 22 maja 2013 r. w sprawie rodzajów fermentowanych napojów winiarskich oraz szczegółowych wymagań organoleptycznych, fizycznych i chemicznych, jakie powinny spełniać te napoje (Dz. U. 2013 r., poz. 633).

Rodzaje fermentowanych napojów winiarskich w zależności od zawartości dwutlenku węgla i jego pochodzenia: spokojne, półmusujące, musujące, półmusujące gazowane, musujące gazowane.

Miody pitne markowe, wina owocowe markowe, nalewki na winie owocowym, aromatyzowane nalewki na winie owocowym, nalewki na winie z soku winogronowego oraz aromatyzowane nalewki na winie z soku winogronowego zalicza się wyłącznie do fermentowanych napojów winiarskich spokojnych. Rodzaje fermentowanych napojów winiarskich w zależności od poziomu słodkości na podstawie zawartości cukrów redukujących po inwersji: wytrawne, półwytrawne, półsłodkie, słodkie i bardzo słodkie.

W przypadku miódów pitnych oraz miódów pitnych markowych określono następujące rodzaje tych napojów w zależności od:

- dodanego soku owocowego: owocowe, winogronowe;
- dodanych ziół i przypraw korzennych: ziołowe, korzenne, ziołowo-korzenne;
- sposobu przygotowania brzezki miodowej do fermentacji: sycone, niesycone.

W rozporządzeniu zostały także określone szczegółowe wymagania organoleptyczne, fizyczne i chemiczne, jakie powinny spełniać ww. napoje.

5. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 21 maja 2013 r. w sprawie szczegółowego sposobu wyrobu fermentowanych napojów winiarskich oraz metod analiz tych napojów do celów urzędowej kontroli w zakresie jakości handlowej (Dz. U. 2013 r., poz. 624).

W rozporządzeniu i w załącznikach do rozporządzenia zostały szczegółowo określone:

- sposoby wyrobu fermentowanych napojów winiarskich,
- metod analiz tych napojów do celów urzędowej kontroli w zakresie jakości handlowej. ☒

NOWE KSIĄŻKI

Bezpieczeństwo żywności i żywienia. Komentarz

Szymecka-Wesołowka A. (red.), Balicki A., Opoka F., Syska M., Szostek D., Wojciechowski P.

Wydawnictwo: Wolters Kluwer Polska Sp. z o.o., Warszawa 2013, ISBN 9788326441257, stron 1216, cena 138,58 zł.

Zamówienia: www.naukowa.pl

Książka stanowi pierwszy polski systemowy komentarz do ustawy o bezpieczeństwie żywności i żywienia oraz wydanych na jej podstawie aktów prawnych. W publikacji uwzględniono również zagadnienia regulowane w aktach prawa unijnego, które są implementowane bądź wykonywane przez przepisy komentowanej ustawy. W książce opisano m.in. takie zagadnienia, jak: wprowadzanie na rynek szczególnych rodzajów produktów, wymogi bezpieczeństwa żywności, rejestracja i zatwierdzanie zakładów spożywczych, znakowanie żywności, przebieg urzędowej kontroli żywności, odpowiedzialność i sankcje za nieprzestrzeganie wymagań prawa żywnościowego (wg stanu prawnego na dzień 31.12.2012 r.). W komentarzu zawarto objaśnienia i interpretacje przepisów prawnych zilustrowane praktycznymi przykładami, orzecnictwem sądów krajowych i europejskich, w tym Trybunału Sprawiedliwości Unii Europejskiej oraz literaturą przedmiotu.

Książka będzie przydatna dla każdego podmiotu działającego na rynku spożywczym, producentów, dystrybutorów żywności, jak również dla instytucji odpowiedzialnych za nadzór i kontrolę żywności, organizacji zajmujących się ochroną konsumenta, prawników zajmujących się zagadnieniami prawa żywnościowego, naukowców i studentów.

Zastosowanie wybranych drobnoustrojów w biotechnologii żywności

Gniewosz M., Lipińska E. (red.)

Wydawnictwo: Wyd. SGGW, Warszawa 2013, ISBN 978-83-7583-420-8, stron 352, cena 40 zł.

Zamówienia www.wydawnictwosggw.pl

Książka składa się z sześciu rozdziałów: 1) metody hodowli i stabilizacji drobnoustrojów oraz izolacji i charakterystyki wewnątrzkomórkowych składników, 2) zastosowanie pleśni w wybranych procesach biotechnologicznych, 3) zastosowanie drożdży w wybranych procesach biotechnologicznych, 4) zastosowanie bakterii w wybranych procesach biotechnologicznych, 5) identyfikacja i różnicowanie wybranych szczepów przemysłowych, 6) doskonalenie szczepów przemysłowych.

W rozdziale 1. podjęto następujące zagadnienia: dynamika wzrostu drobnoustrojów i metody ich hodowli, metody dezintegracji komórek mikroorganizmów, elektroforeza białek, immobilizacja drobnoustrojów. Drugi rozdział książki stanowią podrozdziały dotyczące: wykorzystania pleśni *Aureobasidium pullulans* do otrzymywania pullulanu, biosyntezy enzymów amylolitycznych i cytolitycznych, biosyntezy kwasu cytrynowego. W rozdziale 3. scharakteryzowano zastosowanie drożdży w fermentacji winiarskiej, drożdże gorzelnicze i biosyntezę etanolu, zastosowanie drożdży w przemyśle drożdżowym i piekarskim, drożdże jako naturalny biosorbent magnezu. W 4. rozdziale książki opisano zastosowanie bakterii kwasów: mlekowego, octowego i propionowego oraz kierunki ich wykorzystania w biotechnologii, jak również bakterie z rodzaju *Bacillus* i kierunki ich wykorzystania w biosyntezie enzymów proteolitycznych. W rozdziale 5. zawarto tradycyjne metody identyfikacji pleśni i drożdży, różnicowanie fenotypowe przemysłowych szczepów drożdży, różnicowanie genetyczne przemysłowych szczepów drożdży. W rozdziale 6. scharakteryzowano mutagenizację szczepów przemysłowych, protoplastyzację wybranych szczepów drożdży przemysłowych *Saccharomyces cerevisiae*, elektrofuzję drożdży *Saccharomyces cerevisiae*.

Analiza żywności. Wybrane metody oznaczeń jakościowych i ilościowych składników żywności

Nogala-Kałucka M. (red.)

Wydawnictwo: Wyd. Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, wyd. II poprawione, Poznań 2013, ISBN 978-83-7160-575-8, stron 128, cena 29,50 zł.

Zamówienia: www.larix.lublin.pl

W książce przedstawiono nie tylko metody konwencjonalne najczęściej wykorzystywane w analizie jakościowo-ilościowej składników żywności, ale również nowoczesne metody z wykorzystaniem najnowszej aparatury pomiarowej. Scharakteryzowano metody oznaczania: gęstości roztworów stosowanych w przemyśle spożywczym, zawartości wody i suchej masy w surowcach i produktach w przemyśle spożywczym, kwasowości wybranych surowców i produktów spożywczych, stężeń związków barwnych metodami spektrofotometrycznymi, zawartości związków flawinowych w ziarnie i produktach zbożowych, zawartości białka w surowcach i produktach stosowanych

w przemyśle spożywczym, zawartości substancji tłuszczowych w surowcach i produktach stosowanych w przemyśle spożywczym, wybranych witamin hydrofilnych i lipofilnych metodami chromatograficznymi, zawartości błonnika pokarmowego w produktach spożywczych, zawartości tokochromanoli w produktach spożywczych metodą chromatografii cieczowej, aktywności antyrodnikowej produktów spożywczych z wykorzystaniem DPPH, całkowitej zdolności antyoksydacyjnej produktów spożywczych. Ponadto dokonano charakterystyki metod ilościowych oznaczania sacharydów w surowcach i produktach spożywczych, zastosowania: metod instrumentalnych do analizy związków fenolowych, spektrofotometrii UV do wykrywania zafałszowań oliwy extra virgin, widm synchronicznych fluorescencji do analizy olejów roślinnych. Książka adresowana jest do pracowników laboratoriów przemysłu spożywczego, studentów i pracowników naukowych.

Practical Ethics for the Food Professional: Ethics in Research, Education and the Workplace

[Etyka specjalistów z dziedziny żywności: etyka w badaniach, edukacji i w pracy – ujęcie praktyczne]

Clark J.P., Ritson Ch. (Eds.)

Wydawnictwo: Wiley-Blackwell, 2013, ISBN 978-0-470-67343-0, stron 298, cena 199,99 \$.

Zamówienia: www.viley.com

Autorzy podjęli problematykę etyki osób pracujących w przemyśle spożywczym i sektorach z nim związanych. W początkowych rozdziałach zajęto się sposobami myślenia etycznego oraz tym, jak doświadczenia z zakresu etyki w medycynie można przenieść do przemysłu spożywczego. W następnej kolejności podjęto tematy, takie jak: traktowanie zwierząt, wykorzystanie organizmów genetycznie zmodyfikowanych, reklama żywności, oświadczenia zdrowotne, zrównoważona produkcja żywności. Końcowe rozdziały stanowią studium przypadku – jak zastosować myślenie etyczne w codziennym życiu.

Książka polecana jest dla specjalistów z przemysłu spożywczego, a zwłaszcza dla tych, którzy są odpowiedzialni za decyzje o: nauce, marketingu, zasobach, zrównoważonej produkcji, oddziaływaniu na środowisko i ludzi.

Opracowała: Magdalena Niewczas

TWÓRCY POLSKIEJ NAUKI O ŻYWNOSCI

POLSCY UCZENI PO II WOJNIE ŚWIATOWEJ PROF. DR HAB. FRANCISZEK NOWOTNY (1904 – 1972)



Profesor Franciszek Nowotny urodził się 30 kwietnia 1904 r. w Nowym Targu. Tam też uczęszczał do szkoły podstawowej i gimnazjum, zdając maturę w 1922 r. W tym samym roku rozpoczął studia na Wydziale Filozoficznym Uniwersytetu Jagiellońskiego (kierunek chemia). Po pierwszym roku studiów przeniósł się na Wydział Chemiczny Politechniki Lwowskiej, który ukończył w 1928 r., uzyskując stopień inżyniera chemika.

W 1938 r. otrzymał stopień doktora nauk technicznych na Wydziale Chemicznym Politechniki Lwowskiej na podstawie rozprawy „Wpływ słodowej i jęczmiennej amylazy na surową nieskleikowaną skrobię”. Habilitował się w 1946 r. na Wydziale Chemicznym Politechniki Śląskiej (z siedzibą Krakowie) na podstawie wykonanej jeszcze we Lwowie pracy „Kwas fosforowy w skrobi ziemniaczanej o różnym nawożeniu fosforowym”. Profesorem nadzwyczajnym został w 1946 r., profesorem zwyczajnym w 1955 r.

Jeszcze w czasie studiów na Politechnice Lwowskiej (1927 r.) został zatrudniony w Katedrze Chemii Rolnej Wydziału Rolno-Leśnego Politechniki Lwowskiej w charakterze asystenta, a następnie w okresie 1929 – 1930 r. odbył praktykę zawodową w Małopolskich Zakładach Chemicznych w Alwerni (koło Krakowa), pracując jako inżynier ruchu w dziale produkcji kwasu mlekowego i octowego. W 1930 r. powrócił na Politechnikę Lwowską, gdzie powierzono mu stanowisko asystenta w Katedrze Technologii Rolnej Wydziału Rolniczo-Lasowego w Dublanach. Następnie w okresie 1934 – 1941 pracował początkowo jako starszy asystent, a następnie adiunkt w Katedrze Technologii Chemicznej Przemysłu Rolnego Politechniki Lwowskiej.

Po zajęciu Lwowa przez wojska niemieckie przeniósł się do Krakowa (1941 r.), gdzie pracował początkowo w drogerii, a następnie w Związku Mleczarskim jako kierownik kontroli jakości.

W 1945 r. podjął pracę na Politechnice Śląskiej (z siedzibą w Krakowie) na stanowisku adiunkta w Katedrze Technologii Chemicznej Przemysłu Rolnego na Wydziale Chemicznym. Tam habilitował się w 1946 r., równocześnie pracując w Zjednoczeniu Gorzełń Rolniczych (1945 - 1947) jako inspektor techniczny. Po przeniesieniu Politechniki Śląskiej do Gliwic podjął pracę (1947) na Politechnice Wrocławskiej jako kierownik Katedry Technologii Przemysłów Rolnych na Wydziale Chemii Technicznej, gdzie zorganizował działalność dydaktyczną i naukową po zniszczeniach wojennych. Ponadto wspólnie z Aleksandrem Tychowskim (swoim Profesorem z okresu lwowskiego) zorganizował na Wydziale Rolniczym Uniwersytetu i Politechniki Wrocławskiej Katedrę Technologii Rolnej i Przetwórstwa Owocowo-Warzywnego. Na uczelni wrocławskiej pełnił ponadto funkcję dziekana Wydziału Chemii Technicznej (1946 -1947).

W 1949 r. Rada Wydziału Rolniczego Uniwersytetu Jagiellońskiego powierzyła Mu prowadzenie wykładów z technologii rolnej, a następnie powołała Go na stanowisko kierownika Katedry Chemii Ogólnej (1949), a w 1953 r. na kierownika nowo utworzonej Katedry Technologii Rolnej (1953) i w końcu dyrektora Instytutu Chemii Ogólnej i Technologii Rolnej (1970). Na krakowskiej uczelni rolniczej pełnił funkcję prodziekana Wydziału Rolniczego UJ w okresie 1951/52, a następnie dziekana Wydziału Rolniczego Wyższej Szkoły Rolniczej w Krakowie (1962/63) oraz prorektora ds. nauczania tej uczelni (1964).

Swą działalność naukowo-badawczą prof. F. Nowotny rozpoczął jeszcze we Lwowie, gdzie opublikował pracę doktorską i wykonał pracę habilitacyjną (opublikowaną dopiero po II wojnie światowej). Kontynuował ją zaraz po przeniesieniu się do Wrocławia, a rozwinął w Krakowie. Dotyczyła ona początkowo poznania takich właściwości bulw ziemniaka, które są ważne ze względu na ich przemysłowe przetwarzanie, a szczególnie dotyczyły fizykochemicznych właściwości zawartej w nich skrobi. Już podczas krótkiej działalności we Wrocławiu pod kierunkiem Profesora wykonano dwie prace doktorskie. (T. Skawina i A. Sroczyński), ale dopiero w Krakowie nastąpił najbardziej twórczy okres Jego działalności.

Kontynuując tradycje Lwowskiej Szkoły Skrobiowej, zapoczątkowanej w XIX w. przez Wiktora Sypniewskiego, znacznie rozszerzył i pogłębił badania w zakresie:

- poznania fizykochemicznych właściwości skrobi ziemniaczanej w aspekcie przemysłowego wykorzystania bulw ziemniaka,
- poznania właściwości i mechanizmu działania enzymów amylolitycznych na skrobię.

Badania nad skrobią pozwoliły na wyjaśnienia roli i znaczenia zawartości w skrobi chemicznie związanego kwasu fosforowego oraz ilości i rodzaju związanych z nim kationów, a w szczególności – przebadanie zjawiska autohydrolizy skrobi wodorowej. Ponadto dokonano szeroko zakrojonych prac nad wielkością ziaren skrobi ziemniaczanej, ważnego wskaźnika przydatności bulw ziemniaka jako surowca krochmalniczego. W innych badaniach nad skrobią ziemniaczaną zespół Franciszka Nowotnego zajmował się poznaniem funkcjonalnych właściwości skrobi zawartej w niektórych dzikich i nieuprawnych formach *Solanum*.

Wyniesione jeszcze ze Lwowa zainteresowania prof. Nowotnego biochemią roślin przyczyniły się do rozwinięcia w Krakowie szerokich badań nad przemianami węglowodanów w bulwach ziemniaka, zarówno w okresie wegetacji roślin, jak i przechowywania bulw w różnych warunkach fizjologicznych. Prace te kontynuował współpracownik Franciszka Nowotnego – Bogusław Samotus.

Zapoczątkowane jeszcze we Lwowie zainteresowania enzymami rozkładającymi skrobię stanowiły podstawę do podjęcia badań nad otrzymywaniem i zastosowaniem preparatów enzymatycznych w przemyśle spożywczym. Punktem wyjścia było opracowanie wspólnie z ówczesnym Głównym Instytutem Przemysłu Rolnego i Spożywczego (którego wówczas był doradcą naukowym) enzymatycznego preparatu do klarowania win i soków. Rozwinięciem tych prac było opracowanie laboratoryjnej metody otrzymywania enzymatycznego preparatu amylolitycznego dla browarnictwa oraz rozpoczęcie badań nad opracowaniem preparatu enzymatycznego glukoamylazy, enzymu hydrolizującego skrobię do glukozy. Niestety przedwczesna śmierć uniemożliwiła prof. Nowotnemu dokończenie badań, które kontynuowali Jego współpracownicy: Krystyna Piller i Maciej Kujawski.

Franciszek Nowotny kontynuując tradycję Lwowskiej Szkoły Skrobiowej swe zainteresowania naukowo-badawcze znacznie pogłębił i rozszerzył tematycznie do tego stopnia, że kierowany przez Niego zespół badawczy określono jako „Krakowska szkoła skrobiowa”.

Pozostawił po sobie bogatą spuściznę edytorską, którą publikował przeważnie wraz ze swoimi współpracownikami. Z ważniejszych należy wymienić pierwszą polską monografię „Skrobia” (WNT, Warszawa 1969), podręczniki akademickie: „Technologia przemysłów ziemniaczanych” t. I (PWT, Warszawa 1952), „Chemia i technologia przemysłów rolnych” (PWRiL, Warszawa 1961), „Biochemia węglowodanów” (PWRiL, Warszawa 1968), „Technologia przetwórstwa ziemniaczanego” (WNT, Warszawa 1972).

W ciągu swego długiego okresu działalności jako nauczyciela akademickiego opracował autorskie wykłady z biochemii ogólnej, biochemii roślin, technologii rolnej, technologii przemysłów ziemniaczanych, które stały się podstawą napisania podręczników akademickich. Ponadto zorganizował na uczelni krakowskiej specjalizację dla

studentów IV r. kierunku Rolnictwo z zakresu „Technologii rolnej” oraz „Przechowywania i oceny surowców rolnych”.

Jako wybitny nauczyciel akademicki wzorowo prowadził zajęcia dydaktyczne: wykłady, seminaria, kierowanie specjalizacjami oraz pracami magisterskimi. Wypromował ok. 100 magistrów i 10 doktorów, z których prawie wszyscy zostali tytułarnymi profesorami. Cieszył się opinią wymagającego, ale sprawiedliwego nauczyciela.

Duże zasługi wniósł w upowszechnianie nauki. Zorganizował wiele regionalnych i ogólnopolskich konferencji naukowych, na których prezentowane były osiągnięcia „Krakowskiej szkoły skrobiowej”. Na szczególne wyróżnienie zasługuje zainaugurowanie w Krakowie I Sesji Naukowej Komitetu Technologii i Chemii Żywności PAN (1970) oraz zainicjowanie międzynarodowych konferencji naukowych „Chemia i technologia skrobi”, z których pierwszą zorganizował w Krakowie (1972), a które nadal kontynuują Jego następcy.

Franciszek Nowotny był bardzo aktywny w krakowskim i ogólnopolskim środowisku naukowym. W Komitecie Technologii i Chemii Żywności PAN był wieloletnim członkiem prezydium, działał aktywnie w Komisji Nauk Rolniczych i Leśnych Oddziału Krakowskiego PAN, w Polskim Towarzystwie Biochemicznym był przewodniczącym Oddziału Krakowskiego. Zasiadał w sześciu radach naukowych centralnych jednostek organizacyjnych, w tym w Radzie Naukowej przy Ministrze Przemysłu Spożywczego i Skupu.

Jego owocna i szeroko rozbudowana działalność jako nauczyciela akademickiego została wyróżniona nadaniem Mu Krzyża Kawalerskiego Orderu Odrodzenia Polski oraz Złotego Krzyża Zasługi, jak również kilkukrotnymi nagrodami Ministra Szkolnictwa Wyższego za działalność naukową. Polska Akademia Nauk powołała Go w poczet członków korespondentów (1969).

Franciszek Nowotny był wybitnym i zasłużonym nauczycielem akademickim. Aktywny, precyzyjny w podejmowaniu i realizowaniu podjętych zamierzeń, roztropny w kształceniu młodej kadry naukowej, wymagający w swej działalności dydaktycznej i uczciwy w postępowaniu.

Wykształcił swoich następców, którzy realizowali Jego twórcze zamierzenia.

Profesor Franciszek Nowotny zmarł 6 października 1972 r.

TECHNOLOG ŻYWNOŚCI

INFORMATOR POLSKIEGO TOWARZYSTWA TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI

Rok 23 Nr 3

czerwiec 2013

DZIAŁALNOŚĆ TOWARZYSTWA

Zarząd Główny

W dniu 14.05.2013 r. w Poznaniu odbyło się posiedzenie Zarządu Głównego PTTŻ, na którym przyjęto sprawozdania merytoryczne i finansowe za rok 2012. Przedstawiony został plan działania Towarzystwa w 2013 r. Podjęto uchwałę o powołaniu Oddziału Podkarpackiego z siedzibą w Rzeszowie.

Zarząd Główny podjął uchwałę rozwiązaniu Sekcji Analizy i Oceny Żywności w związku z zaprzestaniem działalności.

Oddział Lubelski

W dniu 27 maja 2013 r. w auli Wydziału Nauk o Żywności i Biotechnologii Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie odbyło się seminarium naukowe nt. „Pomiar i kontrola barwy”. Seminarium zostało zorganizowane przez Oddział Lubelski PTTŻ przy współpracy z władzami Wydziału. Celem seminarium było przybliżenie kadrze dydaktycznej i studentom podstaw teoretycznych i metodologicznych pomiaru barwy żywności. Zaproponowana tematyka spotkała się z bardzo dużym zainteresowaniem. W seminarium wzięło udział ok. 100 osób, w tym członkowie PTTŻ, pracownicy i studenci Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie oraz przedstawiciele firm z terenu woj. lubelskiego zainteresowani tą tematyką. Problematykę pomiaru i kontroli barwy przybliżyli uczestnikom pracownicy Konica Minolta Sensing Europe B.V. Sp. z o.o. Oddział w Polsce. Szczególne zainteresowanie wzbudziły warsztaty kolorymetryczne, w trakcie których uczestnicy mieli możliwość dokonania pomiaru barwy przyniesionych próbek oraz dopasowania najlepszych rozwiązań pomiarowych do swoich potrzeb i konkretnych produktów.

Oddział Podkarpacki

Uchwałą ZG PTTŻ w dniu 14.05.2013 r. został powołany Oddział Podkarpacki PTTŻ. Prezesem Oddziału jest prof. dr hab. Małgorzata Dżugan.

Sekcja Młodej Kadry Naukowej

W dniach 15 - 16.05. br. odbyła się w Puszczykowie k. Poznania XVIII Sesja Naukowa Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ i II Międzynarodowa, której tematem było: „Quo vadis alimentum?”.

Sesja została zorganizowana przez sekcję Młodej Kadry Naukowej PTTŻ przy współudziale Oddziału Wielkopolskiego PTTŻ, Wydziału Nauk o Żywności i Żywieniu UP w Poznaniu. Sesję objęli patronatem: Marszałek Województwa Wielkopolskiego, Pan Marek Woźniak, JM Pan Rektor Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, prof. Grzegorz Skrzypczak, Dziekan Wydziału Nauk o Żywności i Żywieniu, prof. Jan Michniewicz i przewodniczący Komitetu Nauk o Żywności PAN, prof. Andrzej Lenart.

Przewodniczącym Komitetu Organizacyjnego był dr Tomasz Szablewski.

WAŻNIEJSZE MIĘDZYKRAJOWE I KRAJOWE
KONFERENCJE NAUKOWE W 2013 r.

Lipiec

1 - 3 KRAKÓW = XLI Sesja Komitetu Nauk o Żywności PAN nt. „Innowacyjność w nauce o żywności i żywieniu”.

Organizatorzy: Komitet Nauk o Żywności PAN, Wydział Technologii Żywności Uniwersytetu Rolniczego im. H. Kołłątaja w Krakowie, Oddział Małopolski PTTŻ

Informacje: dr inż. D. Gałkowska

Kontakt: sesjapan@ur.krakow.pl

18 – 20 SYDNEY, Australia = WineHealth 2013 International Wine and Health Conference

Kontakt: <http://www.winehealth.com.au/registration.php>

Sierpień

25 – 28 PERTH, Australia = ICC Conference 2013 in Association with the 63rd Australian Cereal Chemistry Conference

Kontakt: http://www.icc.or.at/events/icc_conference_2013

18 – 23 IZMIR, Turcja = 59th International Congress of Meat Science and Technology "The Power of Meat in 21st Century"

Kontakt: <http://www.icomst2013.org/t/index.php/home>

Październik

15 – 17 ZAKOPANE = IX Międzynarodowej Konferencji Naukowej pt.: „Rozwój aparatury i prac naukowo-badawczych w przetwórstwie rolno-spożywczym, gospodarce rolnej i leśnej w zakresie automatyzacji procesów oraz w analityce”

Kontakt: www.cobrabid.pl

16 – 19 BUENOS AIRES, Argentina = VI International Conference on Polyphenols and Health Kontakt: <http://www.oxyclubcalifornia.org/ICPH6/index.php>

Listopad

3 – 7 GUANGZHOU, China = 8th CIGR International Technical Symposium, Advanced Food Processing and Quality Management, 1st International Congress on Contemporary Food Science and Engineering
Kontakt: <http://www2.scut.edu.cn/CIGR2013/>

12 – 15 BOLOGNA, Italy = 2013 EFFoST Annual Meeting: Bio-based Technologies in the Context of European Food Innovation Systems
Kontakt: <http://www.effostconference.com/>

5 – 8 PRAGUE, Czech Republic = 6th International Symposium on Recent Advances in Food Analysis
Kontakt: <http://www.rafa2013.eu/>

8 – 11 **KRAKÓW = 5th Central European Congress of Life Sciences EUROBIOTECH 2013**
Kontakt: <http://eurobiotech.krakow.pl/gb/d-20/welcome.html>

CZŁONKOWIE WSPIERAJĄCY POLSKIEGO TOWARZYSTWA
TECHNOLOGÓW ŻYWNOSCI

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-Biala.**

Material zawarty w Nr 3 (88)/2013 Biuletynu podano według stanu informacji do 15 czerwca 2013 r. Materiały do Nr 4 (89)/2013 prosimy nadsyłać do 1 sierpnia 2013r. na adres Redakcji Czasopisma.

KOMUNIKAT

Informujemy P.T. Autorów, że *Informacje dla Autorów oraz wymagania redakcyjne* publikujemy na stronie <http://www.pttz.org/zyw/index.html>

**Adresy Zarządu Głównego, Oddziałów i Sekcji
Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności**

PREZES / ODDZIAŁ	ADRES
Prof. dr hab. Edward Pospiech Prezes PTTŻ	UP, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ Tel.: 61 848 72 60; e-mail: pospiech@up.poznan.pl
Prof. dr hab. Dorota Piasecka- Kwiatkowska Sekretarz PTTŻ	UP, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ e-mail: dorotapk@up.poznan.pl
Dr hab. Maria Śmiechowska, prof. nadz. Oddział Gdański	AM, ul. Morska 81-87, 81-225 GDYNIA Tel.: 58 690 15 62; e-mail: smiemari@am.gdynia.pl
Dr inż. Joanna Stadnik Oddział Lubelski	UP, ul. Skromna 8, 20-704 LUBLIN Tel.: 81 462 33 41; e-mail: joanna.stadnik@up.lublin.pl
Prof. dr hab. Joanna Leszczyńska Oddział Łódzki	PL, ul. Stefanowskiego 4/10, 90-924 ŁÓDŹ e-mail: joanna.leszczynska@p.lodz.pl
Dr hab. inż. Lesław Juszcak Oddział Małopolski	UR, ul. Balicka 122, 30-149 KRAKÓW Tel. 12 662 47 78; e-mail: rrjuszcz@cyf-kr.edu.pl
Dr inż. Janusz Pomianowski Oddział Olsztyński	UWM, Pl. Cieszyński 1, 10-957 OLSZTYN Tel.: 89 523 36 17; e-mail: Pomian@uwm.edu.pl
Prof. Dr hab. Małgorzata Dżugan Oddział Rzeszowski	UR w Rzeszowie, ul. M. Ćwiklińskiej 2, 35-601 RZESZÓW
Dr inż. Arkadiusz Żych Oddział Szczeciński	ZUT, ul. Kazimierza Królewicza 3, 71-550 SZCZECIN Tel.: 91 449 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.: 22 593 75 62; e-mail: dorota_nowak@sggw.pl
Prof. dr hab. Dorota Piasecka- Kwiatkowska Oddział Wielkopolski	UP, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ e-mail: dorotapk@up.poznan.pl
Dr hab. inż. Agnieszka Kita, prof. nadz. Oddział Wrocławski	UP, ul. Chełmońskiego 37/41, 51-630 WROCŁAW Tel.: 71 320 50 38; e-mail: agnieszka.kita@wnoz.up.wroc.pl
SEKCJE	
Dr Karol Krajewski Ekonomiczna	WSIiZ, ul. Rakowiecka 32, 02-532 WARSZAWA Tel.: 22 646 20 60; e-mail: krajewski@wsiiz.pl
Prof. dr hab. Edward Pospiech Technologii Mięsa	UP, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ Tel.: 61 848 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.: 22 847 58 17; e-mail: krzysztof_krygier@sggw.pl
Prof. dr hab. Waław Leszczyński Technologii Węglowodanów	UP, ul. Chełmońskiego 37/41, 51-630 WROCŁAW Tel.: 71 320 52 21; Fax: 71 320 52 21
Dr hab. inż. Piotr Gębczyński Technologii Prod. Poch. Roślinnego	UR, ul. Balicka 122, 30-149 KRAKÓW e-mail: rrgebczy@cyf-kr.edu.pl
Mgr inż. Patrycja Komolka Młodej Kadry Naukowej	UP, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ e-mail: pkomolka@au.poznan.pl