



ŻYWNOŚĆ

Nauka Technologia Jakość

FOOD

Science Technology Quality

Nr 4 (89)

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 Naczka (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 Kisza, prof. dr hab. Helena Oberman

WYDAWCA:

POLSKIE TOWARZYSTWO TECHNOLOGÓW ŻYWNOCI, 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 4 (89)

Kraków 2013

Rok 20

SPIS TREŚCI

Od Redakcji.....	3
MONIKA TRZĄSKOWSKA: Probiotyki w produktach pochodzenia roślinnego.....	5
MICHAŁ PAŁYS, ZDZISŁAW TARGOŃSKI: Produkcja kwasu mlekowego przez grzyby z rodzaju <i>Rhizopus</i> ..	21
JAROSŁAW KOWALIK, ADRIANA ŁOBACZ, SYLWIA TARCZYŃSKA: Prognozowanie wzrostu liczby komórek <i>Listeria monocytogenes</i> w serku wiejskim	37
MAREK SZOŁTYSIK, ANNA DĄBROWSKA, KONRAD BABIŃ, MARTA POKORA, ALEKSANDRA ZAMBROWICZ, XYMENA POŁOMSKA, MARIA WOJTATOWICZ, JÓZEFA CHRZANOWSKA: Zmiany biochemiczne i mikrobiologiczne w serze wyprodukowanym przy udziale drożdży <i>Yarrowia lipolytica</i>	49
MARTA LISZKA-SKOCZYŁAS, ANNA PTASZEK, MONIKA HALIK, MIROŚLAW GRZESIK: Zastosowanie pomiarów osmometrycznych do oceny oddziaływań pomiędzy białkami i polisacharydami w wodnych roztworach	65
TOMASZ DASZKIEWICZ, KAROLINA WILGA, PAWEŁ JANISZEWSKI, KATARZYNA ŚMIECIŃSKA, DOROTA KUBIAK: Porównanie jakości mięsa jeleni szlachetnych (<i>Cervus elaphus</i> L.) pozyskanych na terenie Polski i Węgier.....	77
TOMASZ FLOROWSKI, ANNA FLOROWSKA, ANNA KUR, ANDRZEJ PISULA: Porównanie wpływu dodatku białka kolagenowego i sojowego na jakość restrukturyzowanych szynek parzonych wyprodukowanych z mięsa PSE.....	90
ELŻBIETA BILLER: Próba identyfikacji cech sensorycznych mięsa pieczonego związkami lotnymi powstającymi w modelowej reakcji lizyny z rybozą	100
KAROL MIŃKOWSKI, KATARZYNA ZAWADA, STANISŁAW PTASZNIK, ARTUR KALINOWSKI: Wpływ związków fenolowych nasion na stabilność oksydacyjną i aktywność antyrodnikową wyłoczonych z nich olejów bogatych w PUFA n-3.....	118
MAŁGORZATA WRONIAK, ANNA CHLEBOWSKA-ŚMIGIEL: Wpływ czystości nasion rzepaku i sposobu oczyszczania oleju na wybrane właściwości olejów tłoczonych na zimno	133
HANNA M. BARANOWSKA, RYSZARD REZLER: Dynamika molekularna wody w emulsjach typu tłuszcz w wodzie, emulgowanych skrobią ziemniaczaną.....	150
MAGDALENA GRUDZIŃSKA, KAZIMIERA ZGÓRSKA: Wpływ zastosowania S-karwonu jako naturalnego inhibitora wzrostu kiełków ziemniaka na jasność barwy chipsów ziemniaczanych.....	161
WIKTOR OBUCHOWSKI, MATEUSZ GUTSCHE, AGNIESZKA MAKOWSKA: Czynniki kształtujące cechy jakościowe mąki przeznaczonej do produkcji wafli.....	170
KATARZYNA SUJKA, PIOTR KOCZOŃ, AGATA GÓRSKA, MAGDALENA WIRKOWSKA, MAGDALENA REDER: Sensoryczne i spektralne cechy wybranych wyrobów spirytusowych poddanych procesowi liofilizacji	184
BEATA ŚLASKA-GRZYWNA, DARIUSZ ANDREJKO, IZABELA KUNA-BRONIOWSKA, AGNIESZKA SAGAN, AGATA BLICHAZ-KANIA: Kształtowanie wybranych właściwości teksturalnych dyni optymalizowaną obróbką cieplną.....	195
AGATA MARZEC, HANNA KOWALSKA, BEATA OŁDAK: Wpływ techniki suszenia wiśni na właściwości teksturalne suszu oceniane metodą akustyczną i mechaniczną.....	210
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA: Interakcje składników żywności	222
GRAŻYNA MORKIS: Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym	225
MAGDALENA NIEWCZAS: Nowe książki.....	228
Twórcy polskiej nauki o żywności.....	230
XVIII Sesja Naukowa Sekcji Młodej Kadry Naukowej Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności – II Sesja Międzynarodowa - Quo Vadis Alimentum?	233
XLI Sesja Naukowa Komitetu Nauk o Żywności PAN „Innowacyjność w nauce o żywności i żywieniu”	235
Z ŻAŁOBNEJ KARTY: Prof. dr hab. Jacek Kijowski 1948 – 2013	239
Technolog Żywności.....	242

Zamieszczone artykuły są recenzowane

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

FOOD. Science. Technology. Quality

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

No 4 (89)

Kraków 2013

Vol. 20

CONTENTS

From the Editor.....	3
MONIKA TRZĄSKOWSKA: Probiotics in products of plant origin.....	5
MICHAŁ PAŁYS, ZDZISŁAW TARGOŃSKI: Lactic acid production by fungi of <i>Rhizopus</i> genus.....	21
JAROSŁAW KOWALIK, ADRIANA ŁOBACZ, SYLWIA TARCZYŃSKA: Predicting growth of <i>Listeria monocytogenes</i> cell count in cottage cheese.....	37
MAREK SZOŁTYSIK, ANNA DĄBROWSKA, KONRAD BABIŃ, MARTA POKORA, ALEKSANDRA ZAMBROWICZ, XYMENA POŁOMSKA, MARIA WOJTATOWICZ, JÓZEFA CHRZANOWSKA: Biochemical and microbiological changes in cheese inoculated with <i>Yarrowia lipolytica</i> yeast.....	49
MARTA LISZKA-SKOCZYLAŚ, ANNA PTASZEK, MONIKA HALIK, MIROŚLAW GRZESIK: Applying osmometric measurements to assess protein-polysaccharide interactions in water solutions.....	65
TOMASZ DASZKIEWICZ, KAROLINA WILGA, PAWEŁ JANISZEWSKI, KATARZYNA ŚMIECIŃSKA, DOROTA KUBIAK: Quality comparison of meat from red deer (<i>Cervus elaphus</i> L.) harvested in Poland and Hungary.....	77
TOMASZ FLOROWSKI, ANNA FLOROWSKA, ANNA KUR, ANDRZEJ PISULA: Comparing effect of added collagen and soybean proteins on quality of restructured cooked hams made from PSE meat.....	90
ELŻBIETA BILLER: Attempt to identify sensory features of roasted meat using volatile compounds in model reaction between lysine and ribose.....	100
KAROL MIŃKOWSKI, KATARZYNA ZAWADA, STANISŁAW PTASZNIK, ARTUR KALINOWSKI: Effect of phenolic compounds in seeds on oxidative stability and antiradical activity of n-3-PUFA-rich oils pressed from them.....	118
MAŁGORZATA WRONIAK, ANNA CHLEBOWSKA-ŚMIGIEL: Impact of purity of rapeseed and oil purification method on selected properties of cold-pressed oils.....	133
HANNA M. BARANOWSKA, RYSZARD REZLER: Molecular dynamics of water in fat-in-water type of emulsions emulsified with potato starch.....	150
MAGDALENA GRUDZIŃSKA, KAZIMIERA ZGÓRSKA: Effect of S-carvone applied as natural inhibitor of potato sprouts on colour brightness of potato chips.....	161
WIKTOR OBUCHOWSKI, MATEUSZ GUTSCHE, AGNIESZKA MAKOWSKA: Factors to shape quality characteristics of flour for wafer production.....	170
KATARZYNA SUJKA, PIOTR KOCZOŃ, AGATA GÓRSKA, MAGDALENA WIRKOWSKA, MAGDALENA REDER: Sensory and spectral characteristics of selected freeze-dried spirit beverages.....	184
BEATA ŚLASKA-GRZYWNA, DARIUSZ ANDREJKO, IZABELA KUNA-BRONIOWSKA, AGNIESZKA SAGAN, AGATA Blicharz-Kania: Shaping some selected textural properties of pumpkin (<i>Cucurbita maxima</i> Duch.) by optimized heat treatment.....	195
AGATA MARZEC, HANNA KOWALSKA, BEATA OŁDAK: Effect of sour cherries drying technique on textural properties of dried fruit assessed using acoustic and mechanical methods.....	210
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA: Interactions among food components.....	222
GRAŻYNA MORKIS: Food problems in Polish and EU legislation.....	225
MAGDALENA NIEWCZAS: Book reviews.....	228
Creators of the Polish food science.....	230
18 th Conference of Young Researchers Section of Polish Society of Food Technologist – 2 nd International Session – Quo Vadis Alimentum?.....	233
41 st Scientific Session of Committee of Food Science of Polish Academy of Sciences “Innovations in science of food and nutrition”.....	235
Contemporary Terms: Prof. dr hab. Jacek Kijowski 1948 – 2013.....	239
The Food Technologist.....	242

Only reviewed papers are published

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

OD REDAKCJI

Szanowni Czytelnicy,

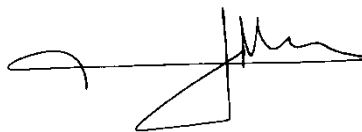
nr 4 (89) naszego czasopisma zawiera różnorodnie tematycznie artykuły naukowe, prezentujące dorobek kilku krajowych ośrodków nauki o żywności.

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

Chcę zwrócić Państwa uwagę na kwestię podawania nazwy naszego czasopisma w artykułach kierowanych do innych czasopism, szczególnie obcojęzycznych. Otóż w bazach, w których ŻYWNOSĆ jest indeksowana figuruje pod polską nazwą: **Zywnosc. Nauka. Technologia. Jakosc** (bez polskich znaków diakrytycznych). Stąd też cytując artykuły opublikowane w naszym dwumiesięczniku należy podawać w opisie bibliograficznym tytuł w wyżej podanej formie. Proszę nie podawać nazwy czasopisma w języku angielskim. Przestrzeganie tej zasady jest bardzo ważne w związku z ustalaniem indeksów cytowań przez bazy indeksujące.

Kraków, sierpień 2013 r.

Redaktor Naczelny



Tadeusz Sikora

Prof. dr hab. Tadeusz Sikora

Odznaczony Krzyżem Kawalerskim Orderu Odrodzenia Polski

W dniu 28 maja 2013 r. Wojewoda Małopolski wręczył prof. Tadeuszowi Sikorze Krzyż Kawalerski OOP nadany przez Prezydenta RP *„za wybitne osiągnięcia w pracy naukowo-badawczej i działalności dydaktycznej oraz za zasługi na rzecz rozwoju nauki”*.

Gratulujemy!

Redakcja

MONIKA TRZĄSKOWSKA

PROBIOTYKI W PRODUKTACH POCHODZENIA ROŚLINNEGO

Streszczenie

Badania prowadzone w XX wieku pozwoliły wyodrębnić drobnoustroje, tzw. probiotyki, które spożyte z żywnością szczególnie korzystnie wpływają na zdrowie konsumenta. Celem pracy było przedstawienie zasadności dodawania probiotyków do produktów roślinnych, opisanie wybranych aspektów technologii żywności roślinnej zawierającej te drobnoustroje oraz dokonanie charakterystyki surowców, które mogą stać się ich nośnikiem. Wśród czynników przemawiających za stosowaniem probiotyków w żywności roślinnej wymienia się ich wpływ na wysoką wartość żywieniową i sensoryczną oraz długą tradycję fermentowania. Ich wzrost i/lub przeżycie podczas przetwarzania i przechowywania żywności i jednocześnie zachowanie korzystnego wpływu na zdrowie można osiągnąć m.in. przez dobór odpowiedniego nośnika probiotyków, różne metody wzmacniania żywotności probiotyków oraz ich mikrokapsułkowanie. Niezwykle ważnym aspektem technologicznym jest zapewnienie odpowiednich właściwości sensorycznych produktu. Potencjalnymi nośnikami probiotyków mogą być przetworzone produkty z soi, zbóż, owoców i warzyw.

Słowa kluczowe: probiotyki, bakterie fermentacji mlekowej, soja, zboża, warzywa i owoce

Wprowadzenie

Od ponad 100 lat mikroorganizmy działające „dla życia” (gr. *pro bios*), czyli probiotyki, są przedmiotem badań naukowców. Badania te dowodzą, że złożona flora bakteryjna obecna w przewodzie pokarmowym jest skuteczna w zapewnieniu odporności i przeciwdziałaniu wielu chorobom. Jednak na skład tej ochronnej mikroflory może wpływać wiele czynników dietetycznych i środowiskowych, zakłócających stan równowagi w organizmie gospodarza. Funkcją probiotyków jest przywrócenie naturalnego stanu mikroflory, który istniał w organizmie człowieka, ale który został zakłócony przez nieprawidłowe żywienie, choroby czy też przez proces leczenia [11].

Ze względu na naturalne występowanie, właściwości i powszechną dostępność produkty pochodzenia mlecznego stały się żywnością najczęściej wzbogacaną w pro-

Dr inż. M. Trząskowska, Katedra Technologii Gastronomicznej i Higieny Żywności, Wydz. Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa

biotyki. Jednak zawartość niektórych substancji w tych produktach, np. laktozy lub cholesterolu bądź substancji alergicznych powoduje, że nie są one zalecane wszystkim konsumentom. Ponadto, istnieją diety, z których wyklucza się produkty pochodzenia zwierzęcego, co powoduje ograniczony dostęp konsumentów do probiotyków. Podejmuje się więc badania nad opracowaniem funkcjonalnych i sensorycznie akceptowanych produktów roślinnych zawierających bakterie probiotyczne.

Celem pracy było przedstawienie zasadności dodawania probiotyków do produktów roślinnych, opisanie wybranych aspektów technologicznych związanych z produkcją żywności roślinnej zawierającej te dobroczynne mikroorganizmy oraz charakterystyka surowców roślinnych, które mogą stać się ich nośnikiem.

Zasadność stosowania probiotyków w produktach pochodzenia roślinnego

Wśród przyczyn stosowania probiotyków w produktach pochodzenia roślinnego można wymienić wysoką wartość żywieniową i sensoryczną tych surowców oraz długą tradycję ich fermentowania. Ye i wsp. [37] przeprowadzili metaanalizę, której celem była ocena badań dotyczących spożycia produktów pełnoziarnistych i błonnika w stosunku do ryzyka wystąpienia cukrzycy typu 2., chorób układu krążenia, przyrostu masy ciała i metabolicznych czynników ryzyka. Doszukano się 45 prospektywnych badań kohortowych i 21 randomizowanych badań kontrolowanych między 1966 a lutym 2012 r. Wyniki z tej metaanalizy dostarczyły dowodów na poparcie tezy o korzystnym wpływie spożycia produktów z pełnoziarnistego ziarna na zapobieganie chorobom naczyniowym. W diecie wegetariańskiej z zasady spożywa się tylko żywność roślinną i tylko ją traktuje się jako potencjalny nośnik probiotyków. Stosowanie probiotyków w produktach roślinnych jest uzasadnione względami ekonomicznymi i kulturowymi oraz warunkami klimatycznymi, szczególnie w krajach azjatyckich, w których nie ma tradycji spożywania produktów mlecznych, natomiast często spożywa się fermentowane warzywa, owoce i produkty zbożowe.

Wiele tradycyjnych fermentowanych produktów spożywczych przyczynia się do utrzymania zdrowia, zapobiega rozwojowi chorób i/lub pomaga w leczeniu [18].

Żywność fermentowana powstaje w wyniku zasiedlenia surowców roślinnych przez korzystne mikroorganizmy, których enzymy, m.in. amylazy, proteazy i lipazy, hydrolizują polisacharydy, białka i lipidy do nietoksycznych substancji smakowych, zapachowych i modyfikujących teksturę i wpływają na właściwości atrakcyjne dla konsumentów [31]. Tym sposobem wzbogaca się surowce w dobroczynne mikroorganizmy oraz wytworzone przez nie substancje bioaktywne. Dodatkowo stwierdza się korzystne działanie fermentacji na zmniejszenie zawartości substancji przeciwdrożdżyczych, np. fitynianów i inhibitorów proteaz. Z uwagi na specyfikę diety wegetarianie spożywają duże ilości fitynianów zawartych w zbożach, orzechach, roślinach strączkowych i oleistych. Odgrywają one rolę w patogenezie zespołu złego wchłaniania

pierwiastków śladowych i białek. Probiotyczne bakterie fermentacji mlekowej oraz inne gatunki endogennej mikroflory przewodu pokarmowego są źródłem fitazy, która katalizuje uwalnianie fosforanów z fitynianów i hydrolizuje kompleksy utworzone przez fityniany i jony metali [12].

Lioger i wsp. [19] zbadali wpływ fermentacji otręb i pełnoziarnistej mąki pszennej na rozpad kwasu fitynowego zawartego w tych surowcach. W doświadczeniu badano także wpływ CaCO_3 (jako czynnika zwiększającego pH produktu) na degradację kwasu fitynowego oraz rozpuszczalność wapnia, magnezu i cynku. W mące już po 3 h fermentacji zaobserwowano zanik ok. 80 % początkowej ilości kwasu fitynowego. Po upływie tego samego czasu proces rozkładu tego kwasu w otrębach był wolniejszy ($p < 0,05$), jednak po 5 h fermentacji zawartość kwasu fitynowego zmniejszyła się o ok. 90 % w obydwu surowcach. Stwierdzono także zwiększoną rozpuszczalność badanych składników mineralnych mąki. Kwasowość fermentowanych surowców zmniejszyła się przez dodanie CaCO_3 , ale degradacja kwasu fitynowego była nadal obserwowana. Fermentację mąki wykorzystuje się głównie do wypieku chleba. Uzyskane w badaniu wyniki wskazują na prozdrowotne właściwości pieczywa wytworzonego na bazie zakwasu.

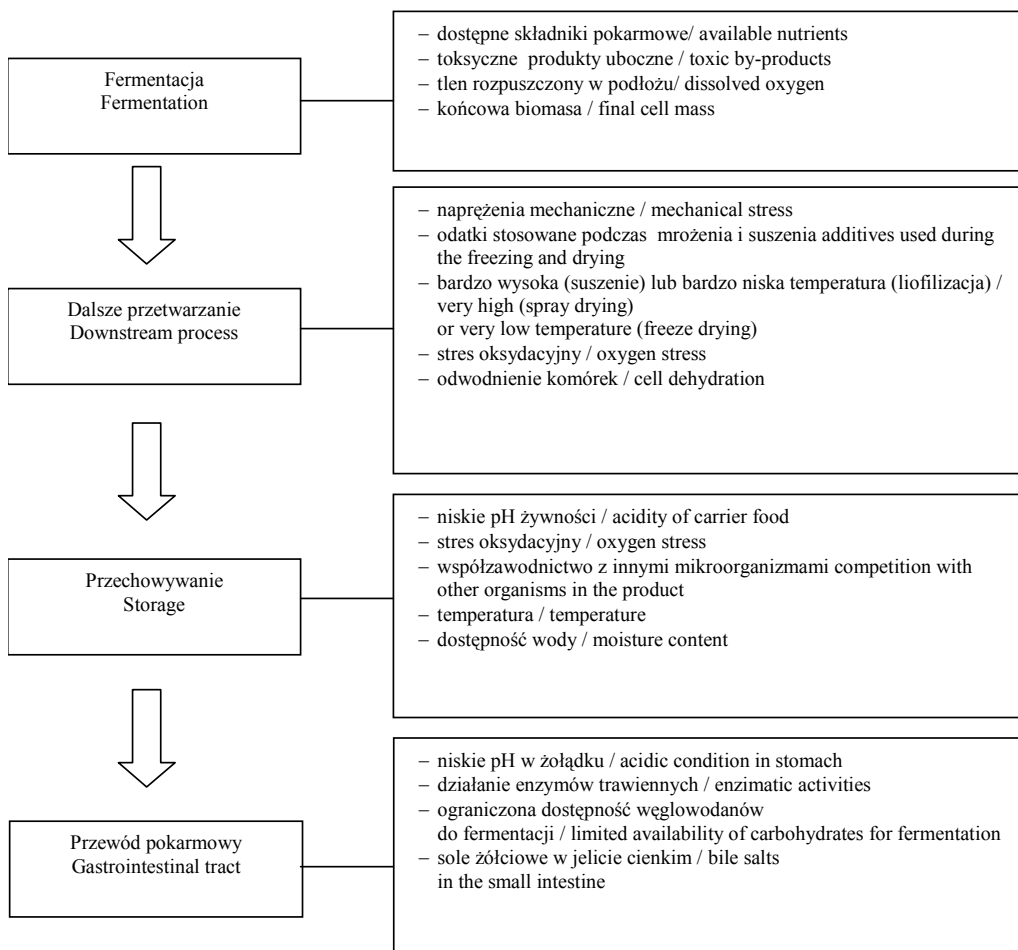
Palacios i wsp. [25, 26] poszukiwali wśród szczepów *Bifidobacterium* i *Lactobacillus* mikroorganizmów, które wytwarzają duże ilości fosfatazy i fitazy, ponieważ oba enzymy mogłyby przyczynić się do degradacji fitynianów. Szczepy *L. reuteri* (M15-L) i *L. salivarius* (L-ID15) charakteryzowały się największą aktywnością w degradowaniu fitynianów. Jednocześnie uzyskane z ich udziałem chleby nie różniły się od prób kontrolnych pod względem cech technologicznych i dłużej zachowywały świeżość. Podczas fermentacji ciasta razowego w obecności wybranych bifidobakterii (*B. catenulatum*, *B. longum*, *B. breve*) stężenie kwasu fitynowego stopniowo zmniejszało się i następowało większe uwalnianie produktów hydrolizy niż w próbie kontrolnej.

Otręby pszenne są często dodawane do wielu produktów zbożowych (płatki śniadaniowe, ciastka, makarony, pieczywo) w celu zwiększenia w nich zawartości błonnika. Wstępna fermentacja umożliwia degradację znacznej części kwasu fitynowego i zwiększa przyswajalność składników mineralnych [19]. Tę ostatnią właściwość potwierdziły m.in. badania Bergqvista i wsp. [2]. W doświadczeniu zbadano biodostępność składników mineralnych w fermentowanym soku marchwiowym. Fermentacja soku z udziałem LAB przyczyniła się do zwiększenia biodostępności żelaza. W badaniu wykluczono wpływ samego obniżenia pH na biodostępność Fe.

Aspekty technologiczne wprowadzania probiotyków do żywności roślinnej

Głównym celem spożywania probiotyków zarówno z żywnością, jak i w postaci preparatów farmaceutycznych, jest ich korzystne oddziaływanie na mikroflorę jelita

grubego. Na rys. 1. przedstawiono kilka czynników wpływających na żywotność bakterii probiotycznych w żywności do momentu przemieszczenia się do jelita grubego.



Rys. 1. Najważniejsze czynniki wpływające na żywotność probiotyków.

Fig. 1. The most important factors affecting the viability of probiotics.

Źródło: //Source: opracowanie własne na podstawie [17] / the authors' study on the basis of [17].

Najważniejszym zagadnieniem technologicznym związanym z produkcją żywności probiotycznej jest zapewnienie warunków, które będą gwarantowały żywotność probiotyków, czyli ich wzrost i/lub przeżycie podczas przetwarzania i przechowywania żywności oraz jednocześnie zachowanie korzystnego wpływu na zdrowie. Niezwykle ważnym aspektem technologicznym jest zapewnienie odpowiednich właściwości sensorycznych produktu [4].

Powyższe cele można osiągnąć stosując m.in. [36]: 1) dobór odpowiedniego nośnika probiotyków, 2) metody poprawiania żywotności probiotyków (np. przez stosowanie warunków subletalnego stresu, suplementacji surowców w składniki odżywcze) oraz 3) mikrokapsułkowanie.

Alternatywnym sposobem dostarczania probiotyków z żywnością jest unieruchomienie komórek na różnego rodzaju nośnikach, np. słomkach do picia napoju [7].

Surowce roślinne wymagają analizy zawartości składników, które będą łatwo metabolizowane przez probiotyki i oceny cech fizykochemicznych środowiska sprzyjających ich wzrostowi i przetrwaniu (np. pH, zawartość tlenu, a_w). Oprócz tradycyjnie fermentowanych produktów roślinnych prowadzi się próby polegające na dodawaniu wyselekcjonowanych szczepów bakterii do surowców dotychczas niefermentowanych [32, 33, 35].

Poprawę żywotności probiotyków w produkcji można osiągnąć poprzez wcześniejszą ekspozycję komórek na subletalny stres (tj. inkubację komórek w warunkach niedoboru składników odżywczych lub w subletalnej temperaturze, w obecności soli żółciowych, nadtlenu wodoru lub w środowisku o niskim pH). Takie działanie jest początkiem reakcji adaptacyjnej komórek oraz poprawia ich przetrwanie w niekorzystnych warunkach podczas przetwórstwa przemysłowego, tranzytu przez żołądek i kolejne odcinki przewodu pokarmowego [17].

Przeżywalność *Bifidobacterium longum* w temp. 6 °C znacznie wzrosła, gdy komórki przetrzymywano w warunkach głodu przez 30 lub 60 min [22]. Desmond i wsp. [8] stwierdzili, że warunki subletalnego stresu termicznego (52 °C przez 15 min) spowodowały wytworzenie białek szoku cieplnego w komórkach *Lactobacillus paracasei* NFBC 338. Ponowne narażenie na podwyższoną temperaturę (60 °C przez 30 min) spowodowało zmniejszenie liczby tych bakterii tylko o ok. 0,5 log jtk/ml, natomiast w próbie kontrolnej zaobserwowano spadek żywotności o ok. 2 log jtk/ml. Niskie pH w sokach owocowych działa hamująco na bifidobakterie. Działanie promieniami UV w połączeniu z inkubacją komórek *B. breve* 99 w środowisku o niskim pH może poprawić tolerancję szczepu na kwasy organiczne oraz korzystnie wpłynąć na stabilność w soku owocowym [29].

Ocena wrażliwości na niskie pH środowiska podczas produkcji i przechowywania powinna być badana w żywności (produkty modelowe). Wykazano, że *B. animalis*-subsp. *lactis* był stabilny podczas inkubacji z kwasem nieorganicznym (pH 2,5 przez 2 h). Natomiast w soku jabłkowym (pH 3,5 przez 6 tygodni) zaobserwowano zróżnicowanie jego przeżywalności [28]. Świadczy to o wpływie innych czynników niż tylko wartość pH na przeżywalność bakterii.

Probiotyki z rodzaju *Lactobacillus* można wzmocnić poprzez uzupełnienie podłoża do namnażania w niektóre związki, takie jak: glukoza, fruktoza, magnez, mangan i ekstrakt drożdżowy. Efekt stymulacji wzrostu probiotyków uzyskuje się dzięki do-

datkowi hydrolizatów kazeiny i octanów. Probiotyki z rodzaju *Bifidobacterium* wspomagają się dodatkiem witamin, maltozy i ekstraktu drożdżowego. Cennym dodatkiem są prebiotyki, czyli niestrawne polisacharydy, które w jelicie grubym selektywnie stymulują wzrost probiotyków. Większość gatunków *Bifidobacterium* metabolizuje szeroką gamę niestrawnych polisacharydów i oligosacharydów do kwasów octowego i mlekowego. Rafinoza, stachioza, fruktooligosacharydy, isomalto- i galaktooligosacharydy oraz laktuloza są skutecznie fermentowane przez rodzime lub nabyte bifidobakterie w jelicie grubym [16].

Bakterie probiotyczne poddaje się liofilizacji, czyli suszeniu sublimacyjnemu zamrożonych mikroorganizmów. Trwałość liofilizowanych komórek może być jednak zmniejszona, jeśli są one narażone na działanie warunków atmosferycznych lub jeśli są źle wykorzystywane przez konsumentów, np. przez nabieranie liofilizatu mokrą łyżką [15].

Mikrokapsułkowanie jest jedną z technik, która pozwala na stabilizację liofilizowanych komórek podczas przechowywania i po kontakcie z kwaśnym środowiskiem. Jego skuteczność w stosunku do bakterii probiotycznych udowodniono w wielu badaniach przy użyciu różnych materiałów i metod [15]. Technologia ta chroni probiotyki w żywności i podczas przemieszczania się przez przewód pokarmowy oraz umożliwia ich uwalnianie w stanie aktywnym metabolicznie w jelicie grubym [27]. Mikrokapsułkowanie może zwiększyć przeżywalność bakterii i wydajność w czasie fermentacji [23]. Zachowanie żywotności przez probiotyki łączy się z koniecznością stosowania właściwych metod przetwarzania oraz wymaga odpowiedniego rodzaju powłoki kapsułek i stosownej wielkości cząstek wchodzących w ich skład. Początkowa liczba probiotyków i ich szczep są parametrami, które także należy uwzględnić podczas stosowania tej techniki. Mikrocząstki powinny być nierozpuszczalne w wodzie, by utrzymać ich integralność strukturalną w matrycy żywnościowej oraz w górnej części przewodu pokarmowego, a przede wszystkim właściwości cząstek powinny umożliwić stopniowe uwalnianie komórek w jelicie grubym [9, 35].

Do immobilizowania mikroorganizmów najczęściej stosowane są polimery (naturalne i mające status GRAS), takie jak: chitosan (ze stawonogów), alginiany (z wodorostów), a także karagen, białka serwatkowe, pektyna, poli-L-lizyna i skrobia. Materiały te są stosowane do tworzenia jednowarstwowych otoczek lub w połączeniu z innymi tworzą wielowarstwową powłokę mikrokapsułki, która zmniejsza narażenie na tlen w czasie przechowywania i może zwiększyć ich stabilność w środowisku o niskim pH. Podwójna (lub potrójna) kapsułka może składać się z wewnętrznej warstwy alginianu zawierającego mikroorganizmy, otaczanego chitozanem, który można ewentualnie pokryć zewnętrzną warstwą alginianu, chitozanu lub innego polimeru. Stosowanie chitozanu jako zewnętrznej warstwy lepiej chroni probiotyki w symulowanych warunkach występujących w żołądku. Natomiast zaletą otoczek skrobiowych jest ich odpor-

ność na działanie amylazy trzustkowej. Dzięki temu probiotyki docierają do jelita grubego żywe, a dodatkowo skrobia ma działanie prebiotyczne [6].

Probiotyki unieruchomione na nośnikach, takich jak słomki do napojów i kapsle do butelek dostają się do żywności dopiero bezpośrednio przed spożyciem. Wadą tego rozwiązania jest wyeliminowanie fermentacji żywności i korzyści z nią związanych.

Słomki przeznaczone do jednorazowego użytku są pokryte od wewnątrz proszkiem/olejem zawierającym probiotyki. Dopiero podczas picia napoju przez taką słomkę probiotyk miesza się z napojem i trafia do przewodu pokarmowego. Firma BioGaia produkuje m.in.: „BioGaiaProTectis straw” – słomki zawierające kropelkę oleju z *L. reuteri* w ich wewnętrznej części, z dawką dobową 100 milionów aktywnych komórek. Nadaje się do picia napoju zimnego lub w temperaturze pokojowej. Inny produkt BioGaia to „LifeTop Cap” – nakrętka na butelkę z pęcherzykiem zawierającym probiotyk w proszku. Przed wypiciem zawartość butelki należy wstrząsnąć, aby proszek zmieszać z płynem [7].

Surowce roślinne jako potencjalne nośniki probiotyków

Do najczęściej wybieranych surowców roślinnych przeznaczanych do fermentowania zalicza się produkty sojowe, zbożowe oraz warzywa i owoce.

Produkty sojowe

Nasiona soi są źródłem bardzo wartościowego białka roślinnego. Decyduje o tym skład aminokwasów oraz większa zawartość żelaza i witamin z grupy B w porównaniu z innymi nasionami strączkowych. Ze względu na zawartość składników bioaktywnych, np. izoflawonów, spożywanie soi może działać profilaktycznie w odniesieniu do osteoporozy czy chorób sercowo-naczyniowych [39]. Soja zawiera także substancje przeciwdrożdżycze, np. inhibitory tripsyny. Dlatego surowiec ten wymaga odpowiedniego przygotowania do spożycia. W tab. 1. przedstawiono przykłady produktów sojowych z dodatkiem probiotyków.

Przetworzone produkty sojowe mogą być dobrym nośnikiem probiotyków ze względu na naturalne pH soi oraz dużą zawartość węgla i azotu niezbędnych do fermentacji. Dobry wzrost probiotyków w produktach sojowych może być ponadto związany z ich zdolnością do metabolizowania oligosacharydów sojowych np. rafinozy. Niektóre probiotyki wytwarzają α -galaktozydazę – enzym, który hydrolizuje oligosacharydy do sacharydów prostych [10].

Zielińska [41] podjęła próbę wyboru najbardziej odpowiedniego szczepu do fermentacji oraz najlepszych warunków fermentacji napoju sojowego. Po przeprowadzeniu badań sensorycznych napoju stwierdziła występowanie statystycznie istotnych różnic pod względem akceptacji napoju sojowego fermentowanego przy użyciu dziesięciu różnych szczepów bakterii potencjalnie prebiotycznych. Fermentowany napój

sojowy z udziałem szczepów *L. acidophilus* Bauer i *L. acidophilus* B był niżej oceniony od napojów fermentowanych np. szczepami *L. acidophilus* CH-5i *L. casei* KN 291. Uzyskane dane wykorzystano do badań polegających na skonstruowaniu prognostycznych modeli wzrostu i przeżywalności *L. casei* KN 291 w napoju sojowym przechowywanym w różnej temperaturze. Modele te w zadowalający sposób opisują zachowanie bakterii *L. casei* KN291 w fermentowanym napoju sojowym i mogą służyć do szacowania (prognozowania) liczby bakterii w zależności od czasu przechowywania [42]. Konstruowanie modeli prognostycznych staje się niezbędnym elementem nowoczesnego procesu produkcyjnego. Tego typu dane są ważne podczas analizy ryzyka lub wdrażania systemów zapewnienia bezpieczeństwa zdrowotnego żywności.

Tabela 1

Przykładowe produkty sojowe z udziałem probiotyków.
Examples of soy products with probiotics.

Produkt sojowy Soy products	Dodany probiotyk Probiotics	Zawartość probiotyku [jtk/ml lub g] Content of probiotic [cfu/ml or g]	Źródło Reference
Napój sojowy Soy drink	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i>	$> 10^8$	[41]
Mleko sojowe Soy milk	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>B. longum</i>	$10^7 - 10^8$	[38]
Serek sojowy Soy cream cheese	<i>L. acidophilus</i>	$> 10^7$	[20]
Tofufa / Tofufa	<i>L. bulgaricus</i> , <i>L. fermentum</i>	$> 10^6$	[24]

Przeprowadzono badania dotyczące wpływu fermentacji produktów sojowych na zawartość wybranych substancji bioaktywnych. Yeo i Liang [38] określili wpływ prebiotyków (fruktooligosacharydów, inuliny, mannitolu, maltodekstryny i pektyny) na bioaktywność fermentowanego mleka sojowego i stwierdzili, że taka suplementacja sprzyjała zmniejszaniu ciśnienia w badaniach *in vitro* i produkcję bioaktywnych aglikonów. Tego rodzaju mleko sojowe może być wykorzystane jako składnik diety zmniejszający ryzyko wystąpienia nadciśnienia i hormonozależnych chorób, takich jak rak piersi, rak prostaty i osteoporoza.

Liang i wsp. [20] wytworzyli serek sojowy ze zmiksowanego tofu z olejem palmowym (10 %), karagenem (4 %), pektyną (1 %), maltodekstryną (4,05 %) i solą (0,96 %). Do produktu dodano kulturę *L. acidophilus* FTCC 0291 w liczbie ok. 10^8 jtk/g. Wykazano, że *L. acidophilus* FTCC 0291 był zdolny do wykorzystania istniejących cukrów redukujących w mleku sojowym i jednocześnie hydrolizował dodane

oligosacharydy. Hydroliza białka mleka sojowego spowodowała powstanie istotnych czynników wzrostu, takich jak peptydy i aminokwasy. Bardziej miękka od tofu jest tofufa, w krajach azjatyckich spożywana jako deser, szczególnie z dodatkiem słodkich syropów. Ng i wsp. [24] ocenili stabilność mikroorganizmów probiotycznych *Lactobacillus* sp. i *Bifidobacterium bifidum* BB 12 w tofufie. Dodatkowo zbadano dynamikę wzrostu, działanie przeciwdrobnoustrojowe, redukcję ilości oligosacharydów i, w badaniu *in vitro*, możliwy efekt zmniejszania ciśnienia.

Produkty zbożowe

Zboża, takie jak: pszenica, owies i ryż, zasobne w substancje odżywcze, bioaktywne oraz błonnik, są wykorzystane w codziennej diecie. Spożywanie produktów o wysokiej zawartości błonnika działa profilaktycznie i leczniczo w chorobach układu krążenia, wpływa na regulację masy ciała i prawidłową pracę jelit [37].

W różnych regionach świata fermentacji poddaje się rozmaite surowce zbożowe. Rodzaje tych produktów, metody ich wytwarzania i ich znaczenie zostały omówione w innych publikacjach [3, 41].

Produkty zbożowe fermentowane probiotykami mogą stać się bardzo korzystnym nośnikiem zarówno bioaktywnych składników zbóż, jak i mikroorganizmów. W tab. 2. przedstawiono przykłady badań nad zastosowaniem probiotyków w fermentowanych produktach na bazie zbóż.

Tabela 2

Przykładowe produkty zbożowe z udziałem probiotyków.
Examples of cereals with probiotics.

Produkt zbożowy Cereals	Dodany probiotyk Probiotics	Zawartość probiotyku [jtk/ml lub g] Content of probiotic [cfu/ml or g]	Źródło References
Napój na bazie owsa Oats based beverage	<i>L. plantarum</i>	10^{10}	[14]
Boza – napój bałkański Boza – Balkan drink	<i>L. plantarum</i> , <i>L. rhamnosus</i>	$>10^8$	[34]
Chleb / Bread	<i>L. acidophilus</i>	$>10^7$	[1]

Gupta i wsp. [14] badali wpływ różnych ilości przetworu owsianego, sacharozy i inoculum na wzrost *L. plantarum*. Ilość tych składników określono na podstawie równania Box-Behnkena, które jest elementem statystycznego planowania doświadczenia, tj. metody powierzchni odpowiedzi (ang. *Response Surface Methodology* – RSM). Zoptymalizowany produkt poddano badaniom przechowalniczym, oceniono m.in. żywotność bakterii, zawartość β -glukanu, kwasowość miareczkową, barwę i pH

napoju. Ilość dodanego przetworu owsianego i sacharozy wpływały na wzrost *L. plantarum* w napoju owsianym. Po 21 dniach przechowywania liczba bakterii utrzymywała się na poziomie ok. 10^9 jtk/ml. Zawartość β -glukanu zmieniła się podczas obróbki, fermentacji i przechowywania.

Boza jest tradycyjnym napojem w krajach bałkańskich, wytwarzanym m.in. z kukurydzy, pszenicy, prosa i innych dodatków. Stwierdzono, że naturalną mikroflorę odpowiedzialną za fermentację surowców zbożowych stanowiły drożdże i różne gatunki bakterii fermentacji mlekowej [13]. Podjęto próbę opracowania kultur starterowych [43]. Zbadano i stwierdzono pewne cechy probiotyczne szczepów izolowanych z tego napoju. Wszystkie szczepy badane przez Todorova i wsp. [34] przetrwały w warunkach symulujących przewód pokarmowy i produkowały bakteriocyny aktywne przeciwko wielu patogenom. Przyleganie do komórek HT-29 i Caco-2 było porównywalne do obserwowanego u *L. rhamnosus* GG.

Chleb jest podstawowym pożywieniem w wielu krajach, stanowi ważne źródło węglowodanów złożonych, białka, witamin i związków mineralnych. Wysoka temperatura pieczenia powoduje, że mikroorganizmy zamierają podczas tego procesu. Jednak Altamirano-Fortoul i wsp. [1] opracowali sposób wprowadzenia żywych probiotyków do chleba. W tym celu użyli mikrokapsułkowanych bakterii *L. acidophilus* w powłoce skrobiowej. Zastosowano różne powłoki probiotyczne (jedno- lub wielowarstwowe) na powierzchni częściowo upieczonego pieczywa. Przed pieczeniem na górnej powierzchni chleba rozpylano równomiernie 10 ml roztworu z probiotykiem. Podczas stosowania kilku powłok kolejno nanoszono je na powierzchnię częściowo upieczonego chleba. We wszystkich próbach mikrokapsułkowany *L. acidophilus* przetrwał pieczenie (16 min w temp. 180 °C) i czas przechowywania (24 h) chleba. Początkowa liczba bakterii wynosiła $4,83 \times 10^8$ jtk/g. Pieczenie spowodowało zmniejszenie liczby bakterii o ok. 1 rząd logarytmiczny. W czasie przechowywania liczba bakterii zmniejszyła się o kolejny rząd logarytmiczny, jednak we wszystkich próbach była powyżej $1,15 \times 10^6$ jtk/g.

Dodatkową zaletą surowców zbożowych jest działanie ochronne na probiotyki podczas pasaży przez przewód pokarmowy. Charalampopoulos i wsp. [5] badali wpływ słodu, ekstraktu z jęczmienia i pszenicy na żywotność *L. plantarum*, *L. acidophilus* i *L. reuteri* podczas ekspozycji przez 4 h w buforze fosforanowym o pH 2,5. W próbie kontrolnej zaobserwowano statystycznie istotne zmniejszenie liczby badanych bakterii. Dodatek produktów zbożowych spowodował istotne zwiększenie liczby badanych drobnoustrojów, odpowiednio o 3 - 4 rzędy logarytmiczne w przypadku *L. plantarum* oraz 0,7 - 1,5 w przypadku, *L. acidophilus* i *L. reuteri*.

Warzywa i owoce

Warzywa i owoce zawierają m.in. fitozwiązki i przeciwutleniacze korzystne dla zdrowia człowieka, składniki odżywcze, w tym cukry, sole mineralne, witaminy i błonnik pokarmowy. Z tego względu mogą stać się dobrymi nośnikami probiotyków. Jedną z głównych trudności w wytworzeniu tego typu żywności probiotycznej jest niskie pH, zwłaszcza soków owocowych. Szczepy probiotyczne są często wrażliwe na niskie pH, co powoduje, że szybko zamierają w sokach owocowych. Dlatego dobór szczepów, które są bardziej odporne na kwaśne środowisko ma zasadnicze znaczenie w produkcji owocowych soków probiotycznych. W tab. 3. przedstawiono przykłady owocowych i warzywnych produktów probiotycznych fermentowanych.

Tabela 3

Przykładowe produkty warzywne i owocowe z udziałem probiotyków.

Examples of fruit and vegetable products with probiotics.

Produkt owocowy / warzywny Fruit / vegetable product	Dodane probiotyki Added probiotics	Zawartość probiotyków [jtk/ml lub g] Content of probiotics [cfu/ml or g]	Źródło Reference
Sok pomarańczowy i ananasowy Orange and pineapple juice	<i>L. casei</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>B. lactis</i> , <i>L. salivarius</i>	>10 ⁶	[30]
Przecier z dyni Mashed pumpkin	<i>L. casei</i>	>10 ⁹	[32]
Sorbet z dyni Pumpkin sorbet	<i>L. casei</i>	>10 ⁸	[33]
Sok z kapusty Cabbage juice	<i>L. casei</i> , <i>L. delbrueckii</i> , <i>L. plantarum</i>	>10 ⁶	[40]
Sok marchwiowy / Carrot juice	<i>L. acidophilus</i>	>10 ¹⁰	[23]
Sok marchwiowy / Carrot juice	<i>L. acidophilus</i>	>10 ⁸	[35]

Sheehan i wsp. [30] określili żywotność *L. casei*, *L. rhamnosus*, *B. lactis*, *L. salivarius* w sokach: pomarańczowym (pH 3,65), ananasowym (pH 3,40) i z żurawiny (pH 2,50). Wszystkie badane szczepy lepiej przeżywały w sokach: pomarańczowym i ananasowym niż w żurawinowym. Oznaczono powyżej 10⁷ jtk/ml bakterii w soku pomarańczowym i powyżej 10⁶ jtk/ml w soku ananasowym przechowywanym przez co najmniej 12 tygodni w temp. 4 °C.

Yoon i wsp. [40] określili przydatność kapusty jako surowca do produkcji soku z probiotycznymi bakteriami fermentacji mlekowej (*L. plantarum* C3, *L. casei* A4 i *L. delbrueckii* D7). Sok z kapusty zaszczepiono 24-godziną kulturą bakterii i inkubowa-

no w temp. 30 °C. Bakterie rosły dobrze w tym soku (ok. 10×10^8 jtk/ml po 48 h fermentacji). Po 4 tygodniach przechowywania w temp. 4 °C, stwierdzono *L. plantarum* i *L. delbrueckii* w liczbie odpowiednio $4,1 \times 10^7$ i $4,5 \times 10^5$ jtk/ml. *L. casei* nie przetrwał niskiego pH zafermentowanego soku z kapusty i po 2 tygodniach w próbkach nie stwierdzono żywych komórek.

Szydłowska i Kołożyn-Krajewska [32] przebadaly 8 różnych szczepów bakterii potencjalnie probiotycznych w celu wybrania najlepszego do fermentowania przecieru z dyni. Na podstawie wyników badań sensorycznych wskazano 3 próby przecierów z dyni, fermentowane z udziałem różnych szczepów bakterii (*L. acidophilus* CH-2, *L. casei* KNE 1 oraz *L. casei* KN 291), o pożądalności statystycznie istotnie większej od pozostałych. Przeciery zostały wykorzystane do dalszych badań. Wytworzono z nich sorbety dyniowe z dodatkiem soków owocowych. W ocenie konsumenckiej najlepszy okazał się sorbet dyniowo-anansowy. Przechowywanie tego produktu w temp. -30 °C przez 6 miesięcy nie wpłynęło na jego jakość sensoryczną i mikrobiologiczną (oznaczono $3,5 \times 10^8$ jtk/g produktu) [33].

Surowcem odpowiednim do wzrostu i przeżycia bakterii probiotycznych jest sok marchwiowy. Nazzaro i wsp. [23] zbadali wpływ mikrokapsułkowania na zdolność fermentacji soku marchwiowego. Dodatkowo próbki soku przetrzymywano w warunkach symulujących środowisko żołądka i jelita cienkiego. Mikrokapsułkowanie znacznie zwiększyło żywotność komórek *L. acidophilus* DSM 20079 po fermentacji i przechowywaniu (odpowiednio 6×10^{12} i 4×10^{10} jtk/ml w porównaniu do 4×10^{10} i 2×10^8 jtk/ml wolnych bakterii). Unieruchomione w kapsułkach komórki przeżywały lepiej zarówno w niskim pH, jak i w soku trzustkowym. Po 3 h inkubacji w sztucznym soku żołądkowym stężenie tych komórek pozostało niemal stałe ($4,35 \times 10^{11}$ w porównaniu z $5,59 \times 10^{12}$ jtk/ml początkowego stężenia). Tendencja ta była podobna po 8 tygodniach przechowywania w temp. 4 °C. Natomiast Trzaskowska i Kołożyn-Krajewska [35] wykazały, że odpowiedni dobór szczepu pozwala wytworzyć fermentowany sok marchwiowy o pożądanym smaku i zapachu. Najwyżej oceniono sok fermentowany szczepami *Lactobacillus acidophilus* CH-2 i *L. acidophilus* CH-5, w którym bezpośrednio po fermentacji liczba bakterii wynosiła ok. $1,02 \times 10^9$ jtk/ml. Zastosowane bakterie przeżyły okres chłodniczego przechowywania (32 dni w temp. 5 °C) w liczbie średnio $7,76 \times 10^9$ jtk/ml.

Istotnym zagadnieniem związanym z probiotykami w produktach warzywnych i owocowych jest ich wpływ na jakość sensoryczną produktu końcowego, w szczególności na zapach i smak. Luckow i wsp. [21] poddali ocenie trzy produkty: sok pomarańczowy, sok pomarańczowy zawierający probiotyki i sok pomarańczowy z probiotykiem i dodatkiem soku z innych owoców tropikalnych (10 %) w celu określenia maskującego wpływu soków tropikalnych na niepożądany zapach wytwarzany podczas fermentacji. Badacze podjęli także próbę oceny czynników, takich jak przyzwyczajenie

(długotrwałe spożywanie) i informacje na temat wpływu na zdrowie, które oddziałują na upodobania konsumentów. Wykazano, że sok tropikalny był skuteczny w maskowaniu zapachów związanych z obecnością probiotyków w soku. Przyzwyczajenie i informacja zdrowotna miały znaczący wpływ na preferencję soków zawierających kultury probiotyczne.

Podsumowanie

Probiotyki są drobnoustrojami, które, spożyte z żywnością lub w innej formie, szczególnie korzystnie wpływają na zdrowie konsumenta. Obecnie probiotyki są najczęściej zawarte w różnego rodzaju produktach mlecznych (np. mleczne napoje fermentowane, jogurty, sery).

Warto stosować probiotyki także w produktach pochodzenia roślinnego, gdyż otrzymywana żywność funkcjonalna może charakteryzować się wysoką wartością żywieniową i sensoryczną. Długa tradycja fermentowania żywności roślinnej gwarantuje jej bezpieczeństwo. Zwiększenie liczby produktów żywnościowych z probiotykami będzie korzystne nie tylko dla osób stosujących dietę wegetariańską, ale umożliwi wzbogacenie diety wszystkich konsumentów.

Produkcja żywności probiotycznej wymaga stworzenia warunków, które będą gwarantowały żywotność probiotyków. Wzrost i/lub przeżycie podczas przetwarzania i przechowywania żywności i jednocześnie zachowanie korzystnego wpływu na zdrowie można osiągnąć stosując m.in.: dobór odpowiedniego nośnika probiotyków, różne metody poprawiania żywotności probiotyków oraz ich mikrokapsułkowanie. Niezwykle ważnym aspektem technologicznym jest zapewnienie odpowiednich właściwości sensorycznych produktu [4, 34].

Do najczęściej wybieranych surowców roślinnych, stosowanych jako potencjalne nośniki probiotyków, zalicza się produkty sojowe i zbożowe oraz warzywa i owoce. Liczne badania (tab. 1, 2 i 3) nad zastosowaniem niemlecznych surowców jako nośników probiotyków dowodzą, że mikroorganizmy te znajdują w nich odpowiednie środowisko do przeżycia i rozwoju. Dobór odpowiedniego szczepu i żywności pozwoli uzyskać produkty akceptowane sensorycznie. Dalsze prace nad rozwojem tej żywności funkcjonalnej muszą uwzględnić analizę zawartości składników, które będą łatwo metabolizowane przez probiotyki i ocenę cech fizykochemicznych środowiska, które wpływają (korzystnie lub szkodliwie) na ich przetrwanie i wzrost (np. pH, zawartość tlenu, a_w). Można zmniejszać niekorzystny wpływ środowiska, np. przez poprawę tolerancji szczepu probiotycznego na kwasy organiczne zawarte w soku owocowym.

Literatura


- [1] Altamirano-Fortoul R., Moreno-Terrazas R., Quezada-Gallo A., Rosell C.: Viability of some probiotic coatings in bread and its effect on the crust mechanical properties. *Food Hydrocoll.*, 2012, **29** (1), 166-174.
- [2] Bergqvist S.W., Sandberg A.S., Carlsson N.G., Andlid T.: Improved iron solubility in carrot juice fermented by homo- and hetero-fermentative lactic acid bacteria. *Food Microbiol.*, 2005, **22** (1), 53-61.
- [3] Blandino A., Al-Aseeri M., Pandiella S., Cantero D., Webb C.: Cereal-based fermented foods and beverages. *Food Res. Int.*, 2003, **36** (6), 527-543.
- [4] Champagne C.P.: Some technological challenges in the addition of probiotic bacteria to foods. W: *Prebiotics and probiotics science and technology*. Ed. D. Charalampopoulos, R.A. Rastall, Springer, New York 2009, pp. 761-804.
- [5] Charalampopoulos D., Pandiella S., Webb C.: Evaluation of the effect of malt, wheat and barley extracts on the viability of potentially probiotic lactic acid bacteria under acidic conditions. *Int. J. Food Microbiol.*, 2003, **82** (2), 133-141.
- [6] Chavarri M., Maran I., Ares R., Ibanez F.C., Marzo F., del Carmen Villaran M.: Microencapsulation of a probiotic and prebiotic in alginate-chitosan capsules improves survival in simulated gastrointestinal conditions. *Int. J. Food Microbiol.*, 2010, **142** (12), 185-189.
- [7] Czinn S.J., Blanchard S.S.: Probiotics in foods and supplements. In: *Probiotics in pediatric medicine*. Eds. S. Michaili Ph., M. Sherman, Humana Press, 2009, pp. 299-306.
- [8] Desmond C., Fitzgerald G.F., Stanton C., Ross R.P.: Improved stress tolerance of groESL-overproducing *Lactococcus lactis* and probiotic *Lactobacillus paracasei* NFBC 338. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2004, **70** (10), 5929-5936.
- [9] Ding W., Shah N.: Acid, bile, and heat tolerance of free and microencapsulated probiotic bacteria. *J. Food Sci.*, 2007, **72** (9), 446-450.
- [10] Donkor O.N., Henriksen A., Vasiljevic T., Shah N.: α -Galactosidase and proteolytic activities of selected probiotic and dairy cultures in fermented soymilk. *Food Chem.*, 2007, **104** (1), 10-20.
- [11] Fuller R.: Probiotics in man and animals. *J. Appl. Microbiol.*, 1989, **66** (5), 365-378.
- [12] Famularo G., Simone C.D., Pandey V., Sahu A.R., Minisola G.: Probiotic lactobacilli: An innovative tool to correct the malabsorption syndrome of vegetarians? *Med. Hypotheses*, 2005, **65** (6), 1132-1135.
- [13] Gotcheva V., Pandiella S.S., Angelov A., Roshkova Z.G., Webb C.: Microflora identification of the Bulgarian cereal-based fermented beverage boza. *Process Biochem.*, 2000, **36** (1-2), 127-130.
- [14] Gupta S., Cox S., Abu-Ghannam N.: Process optimization for the development of a functional beverage based on lactic acid fermentation of oats. *Biochem. Eng. J.*, 2010, **52** (23), 199-204.
- [15] Huckle B., Zhang Z.: Maintenance and protection of probiotics. In: *Probiotics*. Ed. Min-Tze Liong, Springer Berlin Heidelberg 2011, pp. 87-108.
- [16] Kailasapathy K., Chin J.: Survival and therapeutic potential of probiotic organisms with reference to *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. *Immunol. Cell Biol.*, 2000, **78** (1), 80-88.
- [17] Lacroix C., Yildirim S.: Fermentation technologies for the production of probiotics with high viability and functionality, current opinion in biotechnology. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 2007, **18** (2), 176-183.
- [18] Lee C.-H.: Creative fermentation technology for the future. *J. Food Sci.*, 2004, **69** (2), 31-33.
- [19] Lioger D., Leenhardt F., Demigne C., Remesy C.: Sourdough fermentation of wheat fractions rich in fibres before their use in processed food. *J. Sci. Food Agric.*, 2007, **87** (7), 1368-1373.
- [20] Liong M.-T., Easa A.M., Lim P.-T., Kang J.-Y.: Survival, growth characteristics and bioactive potential of *Lactobacillus acidophilus* in a soy-based cream cheese. *J. Sci. Food Agric.*, 2009, **89** (8), 1382-1391.
- [21] Luckow T., Sheehan V., Fitzgerald G., Delahunty C.: Exposure, health information and flavour-masking strategies for improving the sensory quality of probiotic juice. *Appetite*, 2006, **47** (3), 315-323.

- [22] Maus J., Ingham S.: Employment of stressful conditions during culture production to enhance subsequent cold- and acid-tolerance of bifidobacteria. *J. Appl. Microbiol.*, 2003, **95** (1), 146-154.
- [23] Nazzaro F., Fratianni F., Coppola R., Sada A., Orlando P.: Fermentative ability of alginate-prebiotic encapsulated *Lactobacillus acidophilus* and survival under simulated gastrointestinal conditions. *J. Funct. Foods*, 2009, **1** (3), 319-323.
- [24] Ng K.-H., Lye H.-S., Easa A.-M., Liong M.-T.: Growth characteristics and bioactivity of probiotics in tofu-based medium during storage. *Ann. Microbiol.*, 2008, **58** (3), 477-487.
- [25] Palacios M., Haros M., Sanz Y., Rosell C.: Phytate degradation by *Bifidobacterium* on whole wheat fermentation. *Eur. Food Res. Technol.*, 2008, **226**, 825-831.
- [26] Palacios M.C., Haros M., Sanz Y., Rosell C.M.: Selection of lactic acid bacteria with high phytate degrading activity for application in whole wheat breadmaking. *LWT-Food Sci. Technol.*, 2008, **41** (1), 82-92.
- [27] Picot A., Lacroix C.: Encapsulation of bifidobacteria in whey protein-based microcapsules and survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. *Int. Dairy J.*, 2004, **14** (6), 505-515.
- [28] Saarela M., Alakomi H.-L., Matto J., Ahonen A.-M., Tynkkynen S.: Acid tolerant mutants of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* with improved stability in fruit juice. *LWT-Food Sci. Technol.*, 2011, **44** (4), 1012-1018.
- [29] Saarela M., Alakomi H., Matto J., Ahonen A., Puhakka A., Tynkkynen S.: Improving the storage stability of *Bifidobacterium breve* in low pH fruit juice. *Int. J. Food Microbiol.*, 2011, **149** (1), 106-110.
- [30] Sheehan V.M., Ross P., Fitzgerald G. F.: Assessing the acid tolerance and the technological robustness of probiotic cultures for fortification in fruit juices. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2007, **8** (2), 279-284.
- [31] Steinkraus K.: Fermentations in world food processing. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 2002, **1** (1), 23-32.
- [32] Szydłowska A., Kołożyn-Krajewska D.: Zastosowanie bakterii potencjalnie probiotycznych do fermentacji przecieru z dyni. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **6** (73), 109-119.
- [33] Szydłowska A., Kołożyn-Krajewska D.: Możliwość zastosowania bakterii probiotycznych do produkcji sorbetów z dyni. W: *Probiotyki w żywności*. Wyd. Nauk. PTTŻ, Kraków 2010, ss. 203-218.
- [34] Todorov S., Botes M., Guigas C., Schillinger U., Wiid I., Wachsmann M., Holzapfel W., Dicks L.: Boza, a natural source of probiotic lactic acid bacteria. *J. Appl. Microbiol.*, 2008, **104** (2), 465-477.
- [35] Trzaskowska M., Kołożyn-Krajewska D.: Fermentowany sok marchwiowy z dodatkiem bakterii potencjalnie probiotycznych. W: *Probiotyki w żywności*. Wyd. Nauk. PTTŻ, Kraków 2010, ss. 161-180.
- [36] Yamaguchi C., Spier M., De Dea Lindner J., Soccol V., Soccol C.: Current Market Trends and Future Directions. In: *Probiotics*. Ed. Liong M.-T., Springer, Berlin 2011, pp. 299-319.
- [37] Ye E.Q., Chacko S.A., Chou E.L., Kugizaki M., Liu S.: Greater whole-grain intake is associated with lower risk of type 2 diabetes, cardiovascular disease, and weight gain. *J. Nutr.*, 2012, **142** (7), 1304-1313.
- [38] Yeo S.-K., Liong M.-T.: Angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity and bioconversion of isoflavones by probiotics in soymilk supplemented with prebiotics. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 2010, **61** (2), 161-181.
- [39] Yeo S.-K., Ewe J.-A., Tham C., Liong M.-T.: Carriers of probiotic microorganisms. In: *Probiotics*. Ed. Liong M.-T., Springer, Berlin 2011, pp. 191-220.
- [40] Yoon K.Y., Woodams E.E., Hang Y.D.: Production of probiotic cabbage juice by lactic acid bacteria. *Bioresource Technology*, 2006, **97** (12), 1427-1430.
- [41] Zielińska D.: Dobór szczepów bakterii *Lactobacillus* i ustalenie warunków fermentacji napoju sojowego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **2** (43) Supl., 289-297.
- [42] Zielińska D., Kołożyn-Krajewska D., Goryl A.: Modele przeżywalności bakterii potencjalnie probiotycznych *Lactobacillus casei* KN291 w fermentowanym napoju sojowym. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **5** (60), 126-134.
- [43] Zorba M., Hancioglu O., Genc M., Karapinar M., Ova G.: The use of starter cultures in the fermentation of boza, a traditional Turkish beverage. *Process Biochem*, 2003, **38** (10), 1405-1411.

PROBIOTICS IN PRODUCTS OF PLANT ORIGIN

Summary

Research studies carried out in the 20th century made it possible to isolate micro-organisms, the so-called probiotics, which, if consumed with food, have a particularly positive effect on consumer health. The objective of this study was to explain the reasonableness of adding probiotics to plant products, to describe the selected technological aspects of producing plant foods containing those micro-organisms, and to characterize raw products that can become their carrier. Among the factors in favour for using probiotics in plant foods, the impact thereof on high nutritive and sensory value is named as is a long tradition of fermenting them. It is possible to achieve both their growth and / or survival while foods are processed and stored, and, at the same time, to perpetuate their beneficial effect on health, among other things, by: selecting a suitable probiotics carrier, applying various methods to enhance the viability of probiotics, and micro-encapsulating them. A particularly important aspect of the technology is to ensure appropriate sensory properties of a product. Processed products of soybean, cereals, fruits, and vegetables are considered to be potential carriers of probiotics.

Key words: probiotics, lactic acid bacteria, soybeans, cereals, vegetables, fruits 

Sprostowanie

Autorki artykułu pt. „Biotechnologiczne metody otrzymywania substancji zapachowych”, który ukazał się w czasopiśmie *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, 3 (64), pragną wyjaśnić, że na s. 11. tej publikacji, na której widnieje schemat szlaku metabolicznego przekształcania L-fenylalaniny do 2-fenyletanolu (schemat zaczerpnięty z publikacji Schrader et al., 2004) omyłkowo umieszczono w podpisie drożdże *Yarrowia lipolytica*.

Z danych literaturowych wynika, że udowodniono możliwość syntezy 2-fenyletanolu przez drożdże *Saccharomyces cerevisiae* lub *Kluyveromyces marxianus*. Taka zdolność nie została dotychczas opisana u wymienionego przez autorki gatunku *Yarrowia lipolytica*. Za pojawienie się wymienionego błędu autorki przepraszają.

Jolanta Krzyżkowska, Ewa Białecka-Florjańczyk i Izabela Stolarzewicz

MICHAŁ PAŁYS, ZDZISŁAW TARGOŃSKI

PRODUKCJA KWASU MLEKOWEGO PRZEZ GRZYBY Z RODZAJU *RHIZOPUS*

Streszczenie

Kwas mlekowy jest beztlenowym produktem glikolizy prowadzonej przez homo- i heterofermentatywne bakterie fermentacji mlekowej. Próby wykorzystania pleśni z rodzaju *Rhizopus* do produkcji kwasu mlekowego wykazały nieopłacalność procesu. Pleśnie z rodzaju *Rhizopus* mają o wiele mniejsze wymagania pokarmowe niż bakterie fermentacji mlekowej. Ponadto wykorzystują jako źródło węgla tanie polimery, takie jak: skrobia, hemicelulozy i celuloza, a produktem fermentacji jest pożądaný kwas L(+) mlekowy. W pracy przedstawiono biochemizm wytwarzania kwasów organicznych, w tym mlekowego, z glukozy i ksylozy przy udziale szczepów *Rhizopus oryzae* z uwzględnieniem czynników warunkujących efektywność tego procesu. Z literatury wynika, że szczepy z rodzaju *Rhizopus* w optymalnych warunkach hodowli, takich jak: rodzaj i stężenie substratu, odpowiednia temperatura a także pH i natlenienie podłoża hodowlanego wyraźnie zwiększają produkcję kwasu mlekowego. Forma morfologiczna i unieruchomienie grzybni *Rhizopus* znacznie podnoszą produktywność i wydajność kwasu mlekowego.

Słowa kluczowe: kwas mlekowy, *Rhizopus*, warunki hodowli, forma morfologiczna, unieruchomienie

Wprowadzenie

Kwas mlekowy jest związkiem organicznym wytwarzanym przez organizmy: ludzkie, zwierzęce, roślinne i mikroorganizmy [34]. Przez mikroorganizmy (*Lacobacillus delbrücki* i in.) produkowany jest metodą biotechnologiczną z melasy, serwatki, skrobi ziemniaczanej, kukurydzianej lub innej zbożowej [16]. Pleśnie z rodzaju *Rhizopus* jako źródła węgla do produkcji kwasu mlekowego wykorzystują również cukry proste i złożone oraz odpady przemysłowe [2, 4, 7, 13, 14, 40].

W skali globalnej wytwarza się ok. 50 000 ton rocznie kwasu mlekowego, z czego ok. 70 % metodą fermentacyjną, a pozostałą część otrzymuje się na drodze syntezy chemicznej. Kwas mlekowy dostępny jest jako: techniczny, do celów spożywczych, farmakopealny oraz do produkcji biopolimerów [17].

Mgr inż. M. Pałys, prof. dr hab. Z. Targoński, Katedra Biotechnologii, Żywności Człowieka i Towaroznawstwa Żywności, Wydz. Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Skromna 8, 20-704 Lublin

Kwas mlekowy jest substancją bezbarwną i bezzapachową, co jest ważne w wielu branżach, w tym w przemyśle spożywczym [33, 34, 44]. Jest najprostszym karboksylowym kwasem z asymetrycznym atomem węgla ($\text{CH}_3\text{CHOHCOOH}$) [5, 19]. Kwas mlekowy występuje w przyrodzie w postaci dwóch izomerów optycznych: kwasu D(-) i L(+) mlekowego [34]. Podwyższony poziom D-izomeru jest szkodliwy dla organizmu człowieka, dlatego forma L(+) kwasu mlekowego jest preferowana w produkcji żywności i w przemyśle farmaceutycznym [11, 34].

Celem pracy było przedstawienie aktualnego stanu wiedzy dotyczącego czynników decydujących o efektywności produkcji kwasu mlekowego przez grzyby z rodzaju *Rhizopus*.

Charakterystyka i wykorzystanie grzybów z rodzaju *Rhizopus*

Rodzaj *Rhizopus* należy do grzybów strzępkowych. Mogą być one pożyteczne lub szkodliwe. Szkodliwe działanie tych grzybów objawia się w produktach żywnościowych – powodują psucie owoców, mięsa, serów i chleba. Niektóre gatunki, jak *Rhizopus nigricans* i *Rhizopus oryzae* wytwarzają mikotoksyny [26].

Grzyby z rodzaju *Rhizopus* są wykorzystywane do produkcji leków steroidowych np. hydrokortyzonu i związków pochodnych. W roztworach cukru mogą powodować fermentację alkoholową, prowadzącą do otrzymania napojów alkoholowych [26]. Gatunki *Rhizopus* są używane w Azji w procesie fermentacji do przetwarzania soi i produkcji żywności takiej, jak: tempeh, peka, ragi i loog-pang [3, 15]. Fermentacja produktów spożywczych przez te grzyby zwiększa ich strawność i zapobiega psuciu się [15, 28]. Grzyby te, w szczególności gatunek *Rhizopus oryzae*, są zdolne do produkcji kwasów organicznych, głównie kwasu mlekowego i fumarowego [20, 27, 29, 40]. W porównaniu z bakteriami mają małe potrzeby pokarmowe, wymagają oprócz źródła węgla jedynie soli nieorganicznych [33, 44]. W czasie fermentacji kultury *Rhizopus* są bardziej odporne na środowisko kwasowe niż bakterie [33]. Termofilne grzyby z rodzaju *Rhizopus*, w porównaniu z mezofilnymi, różnią się morfologią i produkcją kwasu mlekowego [15].

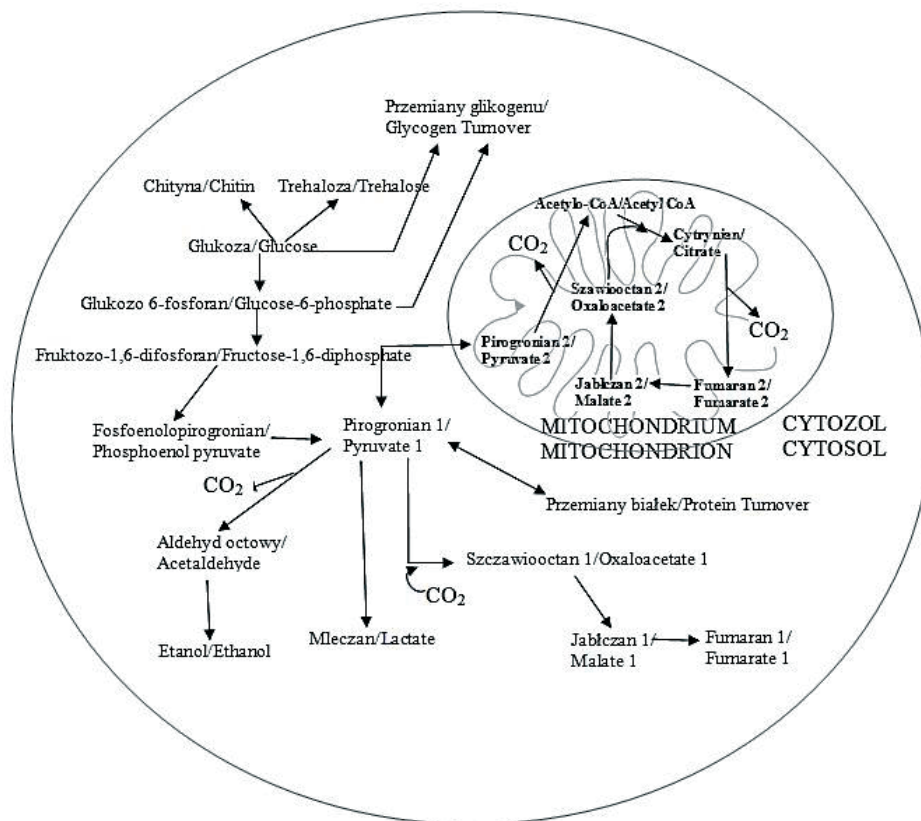
Produkcja kwasu mlekowego

*Biochemizm produkcji kwasu mlekowego przez gatunki grzybów *Rhizopus**

Proces wytwarzania kwasów organicznych z udziałem gatunków grzyba *Rhizopus* ma charakter tlenowy. Przemiany glukozy z udziałem szczepów *Rhizopus oryzae* prowadzą do wytworzenia pirogronianu, który może być przekształcany poprzez dwa szlaki metaboliczne (rys. 1). Pierwsza ścieżka metabolizmu pirogronianu prowadzi do wytworzenia aldehydu octowego oraz mleczanu, a w efekcie czystego etanolu i kwasu mlekowego. Druga ścieżka prowadzi poprzez cykl Krebsa i dostarcza kwasu jabłko-

wego i fumarowego. W procesach, które przyczyniają się do produkcji tych metabolitów biorą udział następujące enzymy: dekarboksylaza pirogronianowa (PDC), karboksylaza pirogronianowa (PC), dehydrogenaza alkoholowa (ADH), dehydrogenaza mleczanowa (LDH), dehydrogenaza jabłczanowa (MDH) i fumaraza. Enzymy te odgrywają główną rolę w prowadzeniu reakcji biochemicznych, a w konsekwencji określają wydajność produktów końcowych [21, 44].

W eksperymencie przeprowadzonym przez Thitipraserta i wsp. [31] stwierdzono, że metabolizm glukozy z udziałem *Rhizopus oryzae* można kształtować przez regulację poziomu enzymów ADH i LDH. Wprowadzenie inhibitorów chemicznych hamujących działanie dehydrogenazy alkoholowej prowadzi do zmniejszenia wydajności etanolu, co stymuluje działanie dehydrogenazy mleczanowej (LDH), a w efekcie powoduje zwiększoną wydajność kwasu mlekowego o 38 % w stosunku do pierwotnej fermentacji.



Rys. 1. Schemat przedstawiający metabolizm glukozy *Rhizopus oryzae*.

Fig. 1. Schematic diagram to show glucose metabolism of *Rhizopus oryzae*.

Źródło: / Source: wg Longacre [21], zmodyfikowany / acc. to Longacre [21], modified.

Maas i wsp. [22] badali wpływ wzrostu i oddychania grzyba *Rhizopus oryzae* CBS 112.07 w metabolizmie ksylozy i glukozy na produkcję kwasu mlekowego. W szlaku metabolicznym ksylozy enzym reduktaza ksylozy (XR) prowadzi do konwersji ksylozy w ksylitol, następnie dehydrogenaza ksylitolu (XDH) przekształca ksylitol do ksylulozy zaś ksylokinaza (XK) 5-fosforan ksylulozy do 6-fosforanu glukozy.

Powstały 6-fosforan glukozy ostatecznie jest rozszczepiany na dwie cząsteczki pirogronianu, który jest substratem wzrostu biomasy grzybów, fermentacji i oddychania. Metabolizm ksylozy w dwuetapowym procesie redukcji i utleniania prowadzi do wytworzenia biomasy grzybów, etanolu, dwutlenku węgla, kwasu mlekowego i wody.

Źródło azotu i soli mineralnych oraz optymalne warunki hodowli grzybów z rodzaju *Rhizopus* w produkcji kwasu mlekowego

Szczepki z rodzaju *Rhizopus* są zdolne wykorzystywać jako źródło węgla i energii zarówno sacharydy proste i dwucukry, jak również polisacharydy. Do produkcji kwasu mlekowego we wcześniejszych badaniach wykorzystywano głównie glukozę [6, 7, 9, 21, 25, 27, 29, 38]. Liczne szczepki mają zdolność wykorzystywania także fruktozy [40], ksylozy [22, 39] mannozy, galaktozy [40], a w mniejszym stopniu sacharozy [40]. Szczepki gatunku *Rhizopus oryzae* wytwarzające kwas mlekowy są zdolne do degradacji skrobi [24, 30] oraz celulozy i hemicelulozy [37]. Dlatego też w licznych publikacjach zwraca się uwagę na możliwości produkcji kwasu mlekowego na bazie produktów ubocznych przemysłu rolno-spożywczego i papierniczego, zawierających skrobię i biomasę ligninocelulozową [14]. Jednak największe znaczenie mają typowe surowce, takie jak: melasa, surowce skrobiowe (kukurydza, ziemniaki, ziarno zbóż) [12, 40, 46] oraz surowce ligninocelulozowe (słoma zbóż, kolby kukurydziane, odpady drzewne) [2, 37]. Szczepki *Rhizopus oryzae* są zdolne do produkcji kwasu mlekowego z produktów rozkładu biomasy ligninocelulozowej zawierającej glukozę i ksylozę. Słoma zbóż i odpady drzewne wymagają wstępnej obróbki, np. poprzez ogrzewanie z 0,5 % kwasem siarkowym w temp. 180 - 200 °C, aby ułatwić celulazom i ksylanazom dostęp do polimerów biomasy [37].

Produkcja kwasu mlekowego na bazie polisacharydów obejmuje dwa etapy. W pierwszym w wyniku syntezy enzymów hydrolitycznych polisacharydy ulegają degradacji do sacharydów prostych (glukoza, ksyloza), a te są fermentowane do kwasu mlekowego. Wiele czynników decyduje o efektywności tego procesu, m.in.: temperatura, pH, rodzaj oraz stężenie substratu, dobór odpowiedniego szczepki, natlenienie podłoża hodowlanego i inne. Proces ten może być prowadzony zarówno w hodowli płynnej, jak też w złożu stałym [44].

Produkcję kwasu mlekowego przez szczepki z rodzaju *Rhizopus* prowadzi się w hodowli wgłębnej, co opisali w 1936 r. Lockwood i wsp. [20]. Autorzy zastosowali *Rhizopus oryzae* i wykorzystali glukozę jako źródło węgla. Proces ten wymaga ograni-

czonego dostępu źródła azotu. W pierwszej fazie hodowli w obecności w podłożu małych ilości azotu i soli mineralnych następuje namnożenie biomasy niezbędnej do produkcji kwasu mlekowego. W drugiej fazie cechującej się zahamowaniem przyrostu biomasy rozpoczyna się intensywna produkcja kwasu mlekowego. Źródło węgla dodawane jest do podłoża hodowlanego w nadmiarze w stosunku do źródła azotu, tak aby po wytworzeniu pewnej ilości biomasy nastąpiła druga faza procesu, w której grzyb wytwarza kwas mlekowy i inne metabolity. Jako źródła azotu wykorzystuje się siarczan amonu lub azotan amonu. W badaniach Warda i wsp. [36] najlepszym źródłem azotu do produkcji kwasu mlekowego przez *Rhizopus oryzae* NRRL 395 okazał się NH_4NO_3 . Na azotan(V) amonu jako najbardziej odpowiednie źródło azotu do produkcji kwasu mlekowego przez *Rhizopus arrhizus* WEBL 0501 zwrócili też uwagę Zhang i wsp. [45]. Natomiast Zhou i wsp. [48] w doświadczeniu z glukozą, w optymalnych warunkach hodowli grzyba *Rhizopus oryzae* ATCC 52311, wykazali, że najlepszym źródłem azotu spośród badanych (azotan, mocznik, ekstrakt drożdżowy, siarczan amonu) był siarczan(VI) amonu w stężeniu 0,1 %. Największe stężenie kwasu mlekowego wynoszące 56,8 g/l oraz wydajność 0,62 g/g glukozy uzyskano po 60 h inkubacji. Yin i wsp. [40] także uznali siarczan amonu za najlepsze źródło azotu w produkcji kwasu mlekowego przez szczep *Rhizopus oryzae* NRRL 395 w porównaniu z ekstraktem drożdżowym, maniakiem kukurydzianym i polipeptonem. Największą wydajność kwasu mlekowego otrzymano w obecności siarczanu amonu w stężeniu 1,35 g/l.

Jin i wsp. [14] wykazali, że uzupełnienie pożywki zawierającej odpady przetwórstwa spożywczego bogate w skrobię i cukry rozpuszczalne z dodatkiem siarczanu amonu wyciągiem z drożdży i peptonem w ilości 2 g/l zwiększało produkcję kwasu mlekowego o 8 - 15 % i wydajność biomasy grzybów *Rhizopus oryzae* 2062 i *Rhizopus arrhizus* 36017 o 10 - 20 %.

Dobrym źródłem azotu zastępującym pepton może być również mączka rybna z dorsza. Stwierdzono bowiem najlepszą wydajność kwasu mlekowego i biomasy grzybni w hodowli *Rhizopus oryzae* As 3.254 na podłożu zawierającym glukozę z dodatkiem mączki rybnej [13].

Na produkcję kwasu mlekowego z udziałem grzybów z rodzaju *Rhizopus* wpływa stosunek węgla do azotu. Maas i wsp. [22] stwierdzili, że największą wydajność produkcji biomasy i kwasu mlekowego w obecności ksylozy jako źródła węgla otrzymuje się przy stosunku C : N wynoszącym 61 : 1, zaś w obecności glukozy, gdy C : N wynosi 201 : 1. Stosując 30 g/l substratu otrzymali większą produkcję kwasu, gdy źródłem węgla była glukoza (21,6 do 23,5 g/l) niż ksyloza (12,0 do 18,8 g/l). Woiciechowski i wsp. [37] udowodnili statystycznie, że stosunek C : N wynoszący 35 : 1 i stężenie cukrów redukujących 90 g/l podłoża były najlepszymi warunkami do produkcji kwasu mlekowego. Z danych doświadczalnych wynikało natomiast, że maksimum produkcji kwasu mlekowego miało miejsce w obecności 75 g cukrów redukują-

cych/l i stosunku C : N równym 55 : 1. Przeciwnie Zhang i wsp. [45], po przetestowaniu różnych źródeł azotu (siarczan(VI) amonu, azotan(V) amonu, mocznik, wyciąg z drożdży i pepton) w procesie wytwarzania kwasu mlekowego przez *Rhizopus arrhizus* WEBL 0501 z odpadów przemysłowych zawierających skrobię ziemniaczaną wykazali, że to właśnie niski stosunek C : N zwiększał produkcję kwasu mlekowego, biomasy i etanolu, zaś wysoki stosunek – zwiększał ilość produkowanego kwasu fumarowego.

W podłożu hodowlanym przeznaczonym do produkcji kwasu mlekowego przez *Rhizopus* winny znajdować się jony potasowe, magnezowe, cynkowe oraz jony siarczanowe i fosforanowe. Hodowla wglębna szczepów z rodzaju *Rhizopus* wymaga napowietrzania pożywki, szczególnie intensywnego w pierwszej fazie charakteryzującej się wytwarzaniem biomasy grzybni. Z kolei wytwarzanie kwasu mlekowego wymaga neutralizacji podłoża, gdyż optymalne pH produkcji kwasu wynosi 5,0 z tolerancją jednej jednostki.

Dobór optymalnych warunków hodowli grzybów z rodzaju *Rhizopus* w dużym stopniu może zwiększyć produkcję kwasu mlekowego [2, 12, 24, 38, 48]. W eksperymentach laboratoryjnych [48] wykazano, że fermentacja glukozy z użyciem szczepu *Rhizopus oryzae* ATCC 52311 prowadzona w bioreaktorze kolumnowym, w optymalnych warunkach dotyczących składu podłoża i dzięki napowietrzaniu zwiększała wydajność biomasy i kwasu mlekowego bardziej niż prowadzona w kolbach na wytrząsarkach. Mniejszy wpływ na wydajność produkcji kwasu mlekowego miały natomiast jony metali, z których najlepsze okazały się: Zn^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} [48].

Na przydatność substratów hemicelulozowych do wydajnej produkcji kwasu mlekowego przez *Rhizopus oryzae* HZS6 zwrócili uwagę także Bai i wsp. [2]. Poprzez dobór warunków hodowli, takich jak pH i temperatura, zoptymalizowali wzrost zaadaptowanego szczepu grzyba i zapewnili lepsze wykorzystanie podłoża i dwukrotny wzrost ilości kwasu mlekowego. Dotyczyło to w szczególności możliwości wykorzystania ksylozy zawartej w hydrolizacie kolby kukurydzianej – nieasymilowanej przez szczep macierzysty (*Rhizopus oryzae* HM11). Największą wydajność produkcji kwasu mlekowego osiągnęto w temp. 34 °C przy pH 5,8.

Na wydajność kwasu mlekowego miały ponadto wpływ takie czynniki, jak: wielkość i forma inokulum, obecność węglanu wapnia, czas i temperatura fermentacji oraz skład podłoża hodowlanego. Wu i wsp. [38] wykazali, że optymalna półciągła fermentacja z użyciem *Rhizopus oryzae* AS 3.819 z dużą wydajnością kwasu mlekowego przebiegała po zaszczepleniu 4 % zawiesiną zarodników z użyciem węglanu wapnia i temp. od 32 do 34 °C. W innych badaniach wykazano, że *Rhizopus arrhizus* szczep DAR 36017 wykazywał wysoką zdolność do scukrzania skrobi ziemniaczanej i syntezy kwasu mlekowego w obecności $CaCO_3$. Największą wydajność kwasu mlekowego wynoszącą 21 g/dm³ uzyskano w temp. 30 °C, przy pH podłoża w granicach 5 - 6 [12].

Według Miury i wsp. [24] optymalne warunki hodowli, tj. temp. 30 °C, pH 6,5 oraz napowietrzenie hodowli mutantu *Rhizopus* sp. MK 96-1196 na zhydrolizowanej skrobi umożliwiły otrzymanie płynu pohodowlanego zawierającego 93 g/l kwasu mlekowego przy produktywności $2,6 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, czemu odpowiadała wydajność na poziomie 87 %.

Formy morfologiczne grzyba a kwas mlekowy

Grzyby nitkowate (*filamentous fungi*), czyli tworzące grzybnię zbudowaną ze strzępek w hodowlach wglębnych, mogą rosnać w formie homogennej zawiesiny strzępek, co jest określane jako wzrost nitkowaty (*filamentous growth*) lub jako odrębne skupiska grzybni, które zależnie od gatunku oraz warunków hodowli przyjmują różne formy – od skrajnie luźnych kłaczków do granulek zbudowanych z gęstej i zbitej grzybni, określanych jako pellets. Grzyby tworzące strzępki podzielone septami rosna lepiej w hodowlach wglębnych (grzyby wyższe) niż grzyby o strzępkach niepodzielonych, m.in. z rodzaju *Mucor* i *Rhizopus* [3].

Forma wzrostu w hodowlach wglębnych jest szczególnie ważna w technologiach fermentacyjnych, ponieważ wpływa na szybkość wzrostu mikroorganizmów oraz tworzenie produktów [3]. Grzyby z rodzaju *Rhizopus* w hodowlach wglębnych mogą rosnać w trzech wymienionych formach: dyfuzyjnej, luźnych kłaczków grzybni (*clump form*) oraz sferycznych kuleczek o zbitej grzybni, czyli pellets. Forma zależy od szczepu, ale także od szeregu czynników środowiskowych, takich jak: pH, gęstość zarodników (inokulum), rodzaj i stężenie podłoża, zawartość tlenu, wysokość temperatury itd. Formy morfologiczne grzyba z rodzaju *Rhizopus* były kształtowane przez czynniki hodowli w wielu badaniach [1, 7, 19, 23, 25, 38, 41, 42, 46, 47, 48].

Bai i wsp. [1] wykazali, że czynnikami wpływającymi na tworzenie określonych form morfologicznych grzybów *Rhizopus oryzae* 1021 były m.in.: obecność CaCO_3 i NH_4NO_3 , wielkość inokulum (koncentracja spor), szybkość mieszania i wielkość napowietrzania. Węglan wapnia i poziom stężenia zarodników wpływały na formę morfologiczną grzybów w hodowlach wglębnych. Dodatek CaCO_3 w początkowym okresie (od 0 do 6 h) wzrostu grzyba sprzyjał tworzeniu kłaczków (*clump form*) i mniejszej produkcji kwasu mlekowego. Wprowadzenie węglanu wapnia po 8 - 10 h hodowli indukowało wzrost w formie pellets i sprzężoną z tym wyższą wydajność produkcji kwasu mlekowego. Efekt wyższej wydajności kwasu był uwarunkowany regulacją pH podłoża. Wymienieni autorzy wykazali także, że *Rhizopus oryzae* 1021, zależnie od stężenia zarodników (inokulum), rósł w formie nitkowatej (*filamentous form*), granulowej (*pellets*) lub kłaczkowej (*clump*). Formę nitkowatą uzyskiwano, gdy gęstość zawiesiny spor była najmniejsza ($10^3 - 10^5/\text{ml}$), pellets – gdy wynosiła $10^6/\text{ml}$, a formę kłaczkową w przypadku inokulum 10^7 spor/ml. Czynniki wpływającymi na wielkość pellets były: szybkość mieszania i napowietrzania hodowli *Rhizopus oryzae* 1021. Gdy szybkość mieszania zwiększała się, rozmiary pellets ulegały zmniejszaniu, co

sprzyjało zwiększaniu produkcji kwasu mlekowego. W przypadku napowietrzania otrzymano efekt odwrotny. Wzrost napowietrzania powodował tworzenie pellets o większej średnicy i zmniejszenie wydajności kwasu mlekowego.

Istotne znaczenie dla formy wzrostu i wydajności kwasu mlekowego ma także gęstość zawiesiny zarodników użytych jako inokulum. Yin i wsp. [41] stwierdzili, że zaszczepienie (w kolbach) pożywki 2×10^6 zarodników/ml prowadziło do tworzenia małych jednolitych pellets, które dostarczały największego stężenia kwasu mlekowego. Koncentracja od 2×10^3 do 2×10^5 zarodników/ml pożywki prowadziła do wytworzenia trwałej formy kłaczkowej i zmniejszenia produkcji kwasu mlekowego. Dowiedli też, że podobne formy morfologiczne grzyba *Rhizopus oryzae* NRRL 395 tworzyło inokulum zarodników w bioreaktorze.

Zdaniem Martáka i wsp. [23] formę morfologiczną grzyba *Rhizopus arrhizus* CCM 8109 również można kształtować przez szczepienie hodowli odpowiednim inokulum zarodników a także poprzez dodatek CaCO_3 lub NH_4OH . Autorzy otrzymali jednak większą wydajność kwasu mlekowego wówczas, gdy grzyb rósł w formie nitkowatej, a nie pellets. Najbardziej efektywna produkcja kwasu zachodziła w środowisku o pH 5,30 w przypadku form nitkowatych. Zmiana formy nitkowatej na formę pellets i zmniejszenie pH poniżej 5,0 spowodowały zmniejszenie wydajności kwasu. Amoniak wywierał negatywny wpływ na produkcję kwasu mlekowego. Według Zhanga i wsp. [46, 47] wzrost wysoko wydajnej w produkcji kwasu mlekowego formy *Rhizopus arrhizus* DAR 36017 (pellets małych rozmiarów) można otrzymać po uprzedniej adaptacji szczepu do wzrostu w warunkach kwasowych.

Park i wsp. [25] stwierdzili wydajną produkcję kwasu mlekowego z udziałem form kłaczkowych grzyba *Rhizopus oryzae* NRRL 395. Formę kłaczkową tego grzyba, podobną do bawełny, uzyskali po dodaniu 5 ppm politlenku etylenu i 3 g/l związków mineralnych. Cytowani autorzy otrzymali optymalną produkcję kwasu mlekowego dla formy kłaczkowej podczas prowadzenia hodowli w bioreaktorze. Yu i wsp. [42] uzyskali także zwiększoną produkcję kwasu mlekowego z glukozy z zastosowaniem form kłaczkowych kultury *Rhizopus oryzae* ATCC 9363. W czasie fermentacji utrzymywali w roztworze poziom amoniaku wyższy niż 0,1 g/l i pH 4,3 - 4,5, które regulowali węglanem wapnia, aby utrzymać formę kłaczkową.

Za obiecującą w produkcji kwasu mlekowego uważa się fermentację półciąglą (faza wzrostu komórek oraz etap produkcji biomasy) z udziałem *Rhizopus oryzae* AS 3.819 [38]. W obecności źródła węgla, azotu i innych jonów *Rhizopus oryzae* rósł w formie jednolitych pod względem wielkości pellets, które w optymalnych warunkach odżywczych utrzymywały wysoką wydajność kwasu mlekowego. Zdaniem autorów duży wpływ na utrzymanie formy morfologicznej grzybów AS 3.819 miała także temperatura. W temp. powyżej 34 °C, z dodatkiem CaCO_3 , grzyb tworzył kłaczkę, co

prowadziło do zmniejszenia wydajności kwasu mlekowego, zaś w temp. 32 - 34 °C grzyb rósł w formie jednolitych pellets o wysokiej wydajności kwasu mlekowego.

Obie formy wzrostu grzybni: nitkowata (*filamentous*) i granulowa (*pellets*) *Rhizopus oryzae* ATCC 52311, przebadane przez Du i wsp. [7], wykazywały wysoką wydajność kwasu L-mlekowego w kadzi fermentacyjnej, przy początkowym stężeniu glukozy powyżej 70 g/l. Ostateczne stężenie kwasu mlekowego wyprodukowanego przez nitkowate formy grzybni wskazywało na 80-procentowe zużycie glukozy, zaś granulowe: na 86-procentowe.

Liu i wsp. [19] prowadzili doświadczenia nad produkcją kwasu mlekowego i chityny z wybrakowanych ziemniaków i glukozy przy użyciu pellets *Rhizopus oryzae* NRRL 395. Zwiększenie produkcji kwasu mlekowego było regulowane glukożą ziemniaka, jako źródłem węgla, z dodatkiem węglanu wapnia i mieszaniną amoniaku oraz wodorotlenku sodu (neutralizator).

Z przeprowadzonych badań wynika, że forma morfologiczna grzyba rodzaju *Rhizopus*, w powiązaniu z doбором innych parametrów hodowlanych znacząco wpływa na produkcję kwasu mlekowego (tab. 1).

Wpływ unieruchamiania grzybni na produkcję kwasu mlekowego

Zdaniem niektórych badaczy [25, 32, 39] na produkcję kwasu mlekowego pozytywny wpływ wywiera unieruchomienie grzybni *Rhizopus oryzae* w procesie fermentacji. Thongchul i wsp. [32] w procesie fermentacji glukozy i zhydrolizowanej masy manioku z udziałem grzyba *Rhizopus oryzae* NRRL 395 uzyskali większe stężenie kwasu mlekowego w przypadku komórek unieruchomionych niż wolnych. Największe stężenie kwasu mlekowego uzyskane z glukozy przez immobilizowaną grzybnię wynosiło 23,76 g/l, zaś przez grzybnię wolną: 21,82 g/l. Maniok zhydrolizowany kwasem solnym również zwiększał stężenie kwasu mlekowego, gdy proces prowadzono z użyciem grzybni unieruchomionej (6,67 g/l) niż wolnej (4,47 g/l). Pośrednie wartości otrzymano, stosując enzymatyczny hydrolizat manioku. Podobnie jak stężenie kwasu mlekowego, produktywność grzybni unieruchomionej osiągała wyższe wartości w porównaniu z grzybnią wolną.

Park i wsp. [25], którzy prowadzili badania w bioreaktorze, użyli immobilizowanej formy kłaczkowej (bawełnopodobnej) *Rhizopus oryzae* NRRL 395. W ciągu 58-godzinnej fermentacji stwierdzili produktywność kwasu mlekowego na poziomie 87 %.

T a b e l a 1

Parametry produkcji kwasu mlekowego przy udziale różnych form morfologicznych grzyba *Rhizopus*.
Parameters of lactic acid production with use of various morphological forms of *Rhizopus* fungus.

Forma grzyba Fungus shape	Proces Process	Wydajność Yield [%]	Produktywność Productivity [g l ⁻¹ ·h ⁻¹]	Stężenie Concentration [g/l]	Pozycja w bibliografii Reference Item
Nitki / Filamentous form	średnia 3 cykli / mean of 3 batches	83,1	3,04	57,6	[7]
Nitki / Filamentous form	półciągła fermentacja semi-continuous fermentation	75,3	2,91	-	[23]
Kłaczki / Clumps	cykl / batch	87,0	1,8	104,6	[25]
Kłaczki / Clumps	powtarzający się cykl / repeated batch	71,4	1,07	85,7	[41]
Kłaczki / Clumps	1. cykl / first batch	87,2	2,73	109	[42]
	średnia 4 kolejnych cykli / mean of 4 successive batches	90,4	4,03	113	
Granulki / Pellets	średnia 3 cykli / mean of 3 batches	89,2	2,95	62,5	[7]
Granulki / Pellets	półciągła fermentacja / semi-continuous fermentation	62,6	1,63	-	[23]
Granulki / Pellets	powtarzający się cykl / repeated batch	86	2,8-3,0	140	[19]
Jednolite granulki / Uniform pellets	1. cykl / first batch	78,75	2,16	103,7	[38]
	19 kolejnych cykli / 19 successive batches	80-90	3,40-3,85	81-95	
Granulki o średnicy 1,4 mm / Pellets with a diameter of 1,4 millimeters	1. cykl / first batch	76,4	-	76,35	[1]
	6. cykl / first batch	74,2	-	74,92	
Małe granulki / Small pellets	powtarzające się cykle / repeated batches	62-74	2,9-6,2	60	[39]
Małe granulki / Small pellets	powtarzający się cykl / repeated batch	-	1,07	85,7	[41]
Małe granulki / Small pellets	-	86	-	85,7	[46]
Małe granulki / Small pellets	1. cykl / first batch	88	2,1	88,1	[47]
Małe granulki / Small pellets	cykl / batch	88	2,58	83	[48]

Źródło: opracowanie własne / Source: the authors' own study.

Tabela 2

Sposoby unieruchamiania grzybnii *Rhizopus* i ich wpływ na produkcję kwasu mlekowego.
Methods of immobilization of *Rhizopus mycelium* and their influence on the production of lactic acid.

Nośnik unieruchomienia Immobilization support	Cukier Sugar	Proces [cycle, czas] Process [batches, time]	Wydajność [%] Yield [%]	Produktywność [g·l ⁻¹ ·h ⁻¹] Productivity [g·l ⁻¹ ·h ⁻¹]	Koncentracja [g/l] Concentration [g/l]	Pozycja w bibliografii Reference
Kostki z pianki poliuretanowej Polyurethane foam cubes	glukoza glucose	10 powtarzających się cykli, 4 dni 10 repeated batches, 4 days	~75	~5	40	[6]
Bawelniana wkładka w bioreaktorze Cotton cloth in bioreactor	glukoza glucose	-	54	2,09	37,83	[4]
Gwiazda stalowa wyłożona tkaniną bawełnianą A steel asterisk lined with cotton cloth	glukoza glucose	9 powtarzających się cykli, 36 dni 9 repeated batches, 36 days	~80-93,4	0,72	68,8	[35]
Obracający się walec z tkaniną bawełnianą Cotton cloth in a rotating bed	skrobia starch glukoza glucose	powtarzające się cykle repeated batches	100 ~90	1,65 2,5	127 126	[30]
Obracająca się tarcza Rotating disc	glukoza glucose	5 powtarzających się cykli, 8 dni 5 repeated batches, 8 days	~75	1,67	60	[43]
Gąbka Loofa [1008 cm ³] wykonana z suszonych owoców Loofa sponge [1008cm ³] made from dried fruit	glukoza glucose	10 powtarzających się cykli, 20 dni 10 repeated batches, 20 days	63,6	1,36	65,8	[8]
Alginiat wapnia w bioreaktorze Calcium alginate in bioreactor	glukoza glucose	cykl batch	64,8	1,6	73	[9]
Kulki alginianu wapnia w bioreaktorze Calcium alginate beads in bioreactor	glukoza glucose	powtarzające się cykle, 2 tygodnie repeated batches, 2 weeks	70-80	3-4	56-64	[18]
Kulki alginianu wapnia w żelu Calcium alginate beads in gel	glukoza glucose	5 cykli, 24 h fifth batch, 24 h	72	2,5	62,4	[10]

Źródło: opracowanie własne / Source: the authors' own study.

Yang i wsp. [39] badali wpływ glukozy i ksylozy jako źródeł węgla na produkcję kwasu mlekowego przez unieruchomienie pellets *Rhizopus oryzae* NRRL 395 o średnicy około 1 mm. W okresie 22 dni z glukozy wyprodukowali tą metodą kwas mlekowy w ilości ogółem od 1742 do 2001 g/l, co stanowiło wydajność 62 - 74 %. Podstawową zaletą tej metody było wielokrotne użycie pellets.

Wprowadzenie odpowiednich nośników polimerowych (naturalnych i syntetycznych) (tab. 2) i unieruchomienie na nich grzybów *Rhizopus oryzae* w produkcji kwasu mlekowego z cukrów było przedmiotem badań wielu autorów [4, 6, 8, 9, 10, 18, 30, 35, 43]. Poprzez unieruchomienie na nośnikach komórek grzybowych z rodzaju *Rhizopus* można zwiększyć produkcję kwasu mlekowego aż trzykrotnie w porównaniu z wolnymi komórkami [6, 18]. Ponadto, unieruchomione komórki grzyba mogą być wykorzystane nawet powyżej 10 cykli fermentacji [6].

Wykorzystanie kwasu mlekowego w przemyśle spożywczym

W przemyśle spożywczym kwas mlekowy pełni rozmaite funkcje technologiczne. Jest stosowany jako środek zakwaszający, konserwujący, regulujący mikroflorę lub jako dodatek poprawiający smak [34]. Polimery kwasu mlekowego wykorzystuje się do produkcji nieszkodliwych opakowań artykułów żywnościowych [44].

Kwas mlekowy znajduje się w wielu produktach spożywczych naturalnych bądź przetworzonych w procesie fermentacji [5, 33, 48]. Występuje w produktach fermentowanych, takich jak ogórki i kapusta oraz w innych warzywach. Produkty kwaszone zachowują dłużej trwałość. Fermentacja mlekowa wykorzystywana jest również w mleczarstwie do produkcji jogurtów, kefiru, serów twarogowych, topionych i ich pochodnych. Kwas mlekowy wykorzystuje się do zakwaszania przetworów żelowanych, takich jak dżemy i marmolady oraz napojów owocowych, majonezów, olejów jadalnych, koncentratów pomidorowych i innych produktów. Ponadto, kwas mlekowy jest doskonałą substancją zakwaszającą do produkcji przetworów rybnych, konserw mięsnych, wędlin, piwa, wódek gatunkowych, lodów i wyrobów cukierniczych [16]. W przemyśle piekarniczym jest surowcem do produkcji stearoilo-2-mleczanu wapnia, używanego do produkcji pieczywa i ciast [33]. W przemyśle mięsnym, oprócz hamowania rozwoju mikroflory patogennej wywołującej psucie, kwas mlekowy pełni rolę regulatora kwasowości, substancji smakowej i wspomagającej w procesie peklowania [16, 34].

Kwas mlekowy dodawany do żywności w ilości ponad 70 % stosowany jest jako środek konserwujący [33]. Z danych opublikowanych w 1995 roku w USA wynika, że 85 % kwasu mlekowego produkowanego w tym kraju było stosowane w żywności [34, 44].

Podsumowanie

Szczepy z rodzaju *Rhizopus* mają wiele zalet w porównaniu z bakteriami wytwarzającymi kwas mlekowy. Mają niewielkie wymagania, wykorzystują jako źródło węgla i energii szereg cukrów prostych i dwucukrów oraz polisacharydy. Biomase grzybni łatwo oddzielić od filtratu, a sama grzybnia może być wykorzystana m.in. do produkcji chitozanu lub jako dodatek do pasz.

Grzyby *Rhizopus* mają również znaczenie w produkcji kwasu mlekowego, do celów przemysłu spożywczego i chemicznego. Jediną ich wadą jest to, że w porównaniu z bakteriami mlekowymi charakteryzują się małą wydajnością produkcji kwasu mlekowego z cukrów. Istnieją jednak duże możliwości zwiększania produkcji kwasu mlekowego przez te grzyby. Jednym z nich jest optymalizacja warunków hodowli grzybów, w tym dobór odpowiedniego składu pożywki czy parametrów hodowli. Produkcja kwasu mlekowego uzależniona jest od odpowiedniego stosunku C i N w pożywce oraz od właściwej temperatury. Największą wydajność kwasu mlekowego uzyskuje się w temp. od 30 do 34 °C. Duży wpływ na wzrost wydajności kwasu mlekowego mają ponadto formy morfologiczne grzyba *Rhizopus*, regulowane m.in. przez dobór pH podłoża i stężenie zarodników w inokulum. Wysokie stężenie kwasu mlekowego uzyskuje się najczęściej stosując pellets małych rozmiarów lub formę kłaczkową grzybni. Produkcję kwasu mlekowego wydatnie zwiększa unieruchamianie komórek grzyba na różnych nośnikach, takich jak: tkanina bawełniana, pianka poliuretanowa, gąbka i inne oraz dobre napowietrzanie w bioreaktorze w procesie fermentacji. Unieruchomienie grzybni w porównaniu z grzybnią wolną może zwiększyć produkcję kwasu mlekowego nawet trzykrotnie.

Dalsze zwiększanie produktywności kwasu mlekowego przez szczepy *Rhizopus* wymaga pełniejszego poznania szlaków biosyntezy tego związku i ich regulacji oraz doskonalenia samych szczepów przy użyciu technik genetyki molekularnej, jak również technik bioinformatycznych, pomocnych w modelowaniu molekularnym.

Literatura

- [1] Bai D.M., Jia M.Z., Zhao X.M., Ban R., Shen F., Li X.G., Xu S.M.: L(+)-lactic acid production by pellet-form *Rhizopus oryzae* R1021 in a stirred tank fermentor. Chem. Eng. Sci., 2003, **58**, 785-791.
- [2] Bai D.M., Li S.-Z., Liu Z.L., Cui Z.-F.: Enhanced L-(+)-lactic acid production by an adapted strain of *Rhizopus oryzae* using corn cob hydrolysate. Appl. Biochem. Biotechnol., 2008, **144**, 79-85.
- [3] Carlile M.J., Watkinson S.C., Gooday G.W.: Fungal Cells and Vegetative Growth. W: The Fungi. Academic Press, London 2001, pp. 85-184.
- [4] Chotisubha-Anandha N., Thitiprasert S., Tolieng V., Thongchu N.: Improved oxygen transfer and increased L-lactic acid production by morphology control of *Rhizopus oryzae* in a static bed bioreactor. Bioprocess Biosyst. Eng., 2010, 1-10 (article in press).
- [5] Datta R., Henry M.: Lactic acid: recent advances in products, processes and technologies. J. Chem. Technol. Biotechnol., 2006, **81**, 1119-1129.
- [6] Dong X.Y., Bai S., Sun Y.: Production of L-lactic acid with *Rhizopus oryzae* immobilized in polyurethane foam cubes. Biotechnol. Lett., 1996, **18**, 225-228.

- [7] Du J., Cao N., Gong C.S., Tsao G.T.: Production of L-lactic acid by *Rhizopus oryzae* in a bubble column fermenter. Appl. Biochem. Biotechnol. – Part A Enz. Eng. Biotechnol., 1998, **70-72**, 323-329.
- [8] Ganguly R., Dwivedi P., Singh R.P.: Production of lactic acid with loofa sponge immobilized *Rhizopus oryzae* RBU2-10. Bioresour. Technol., 2007, **98**, 1246-1251.
- [9] Hamamci H., Ryu D.D.Y.: Production of L(+)-lactic acid using immobilized *Rhizopus oryzae* reactor performance based on kinetic model and simulation. Appl. Biochem. Biotechnol., 1994, **44 (2)**, 125-133.
- [10] Hang Y.D., Hamamci H., Woodams E.E.: Production of L (+)-lactic acid by *Rhizopus oryzae* immobilized in calcium alginate gels. Biotechnol. Lett., 1989, **11**, 119-120.
- [11] Hofvendahl K., Hahn-Hägerdal B.: Factors affecting the fermentative lactic acid production from renewable resources. Enz. Microbial. Technol., 2000, **26 (2-4)**, 87-107.
- [12] Huang L.P., Jin B., Lant P., Zhou J.: Biotechnological production of lactic acid integrated with potato wastewater treatment by *Rhizopus arrhizus*. J. Chem. Technol. Biotechnol., 2003, **78**, 899-906.
- [13] Huang L.P., Dong T., Chen J.W., Li N.: Biotechnological production of lactic acid integrated with fishmeal wastewater treatment by *Rhizopus oryzae*. Bioprocess Biosyst. Eng., 2007, **30**, 135-140.
- [14] Jin B., Yin P., Zhao L.: Production of lactic acid and fungal biomass by *Rhizopus* fungi from food processing waste streams. J. Ind. Microbiol. Biotechnol., 2005, **32**, 678-686.
- [15] Kitpreechavanich V., Maneeboon T., Kayano Y., Sakai K.: Comparative characterization of L-lactic acid-producing thermotolerant *Rhizopus* fungi. J. Biosci. Bioeng., 2008, **106**, 541-548.
- [16] Kompendium dodatków do żywności. Red.: A. Rutkowski, S. Gwiazda, K. Dąbrowski. Wyd. Hortimex, Konin 2003.
- [17] Kubicek C.P.: Kwasy organiczne. W: Podstawy biotechnologii. Red. C. Ratledge, B. Kristiansen. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2011, ss. 248-264.
- [18] Li X.M., Lin J.P., Liu M.: Repeated-batch and continuous production of L-lactic acid by *Rhizopus oryzae* immobilized in calcium alginate beads: reactor performance and kinetic model. Chin. J. Chem. Eng., 1998, **6**, 330-339.
- [19] Liu Y., Liao W., Chen S.: Co-production of lactic acid and chitin using a pelletized filamentous fungus *Rhizopus oryzae* cultured on cull potatoes and glucose. J. Appl. Microbiol., 2008, **105 (5)**, 1521-1528.
- [20] Lockwood L.B., Ward G.E., May O.E.: The physiology of *Rhizopus oryzae*. J. Agric. Res., 1936, **53**, 849-857.
- [21] Longacre A., Reimers J.M., Gannon J.E., Wright B.E.: Flux analysis of glucose metabolism in *Rhizopus oryzae* for the purpose of increasing lactate yields. Fungal Genet. Biol., 1996, **21**, 30-39.
- [22] Maas R.H.W., Springer J., Eggink G., Weusthuis R.A.: Xylose metabolism in the fungus *Rhizopus oryzae*: Effect of growth and respiration on L(+)-lactic acid production. J. Ind. Microbiol. Biotechnol., 2008, **35 (6)**, 569-578.
- [23] Marták J., Schlosser Š., Sabolová E., Křištofiková L., Rosenberg M.: Fermentation of lactic acid with *Rhizopus arrhizus* in a stirred tank reactor with a periodical bleed and feed operation. Process Biochem., 2003, **38**, 1573-1583.
- [24] Miura S., Arimura T., Hoshino M., Kojima M., Dwiarti L., Okabe M.: Optimization and scale-up of L-lactic acid fermentation by mutant strain *Rhizopus* sp. MK-96-1196 in airlift bioreactors. J. Biosci. Bioeng., 2003, **96 (1)**, 65-69.
- [25] Park E.Y., Kosakai Y., Okabe M.: Efficient production of L(+)-lactic acid using mycelial cotton-like floes of *Rhizopus oryzae* in an air-lift bioreactor. Biotechnol. Prog., 1998, **14**, 699-704.
- [26] Piotrowska M., Żakowska Z.: Grzyby strzępkowe. W: Mikrobiologia techniczna. Red. Z. Libudzisz., K. Kowal, Z. Żakowska. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2007, ss. 60-83.
- [27] Soccol C.R., Marin B., Raimbault M., Lebeault J-M.: Potential of solid state fermentation for production of L(+)-lactic acid by *Rhizopus oryzae* Appl. Microbiol. Biotechnol., 1994, **41 (3)**, 286-290.
- [28] Soccol C.R., Marin B., Raimbault M., Lebeault J-M.: Breeding and growth of *Rhizopus* in raw cassava by solid state fermentation. Appl. Microbiol. Biotechnol., 1994, **41**, 330-336.

- [29] Soccol C.R., Stonoga V.J., Raimbault M.: Production of L-lactic acid by *Rhizopus* species. World J. Microbiol. Biotechnol., 1994, **10** (4), 433-435.
- [30] Tay A., Yang S.T.: Production of L (+)-lactic acid from glucose and starch by immobilized cells of *Rhizopus oryzae* in a rotating fibrous bed bioreactor. Biotechnol. Bioeng., 2002, **80**, 1-12.
- [31] Thitiprasert S., Sooksai S., Thongchul N.: In vivo regulation of alcohol dehydrogenase and lactate dehydrogenase in *Rhizopus oryzae* to improve L-lactic acid fermentation. Appl. Biochem. Biotechnol., 2011, **164**, 1305-1322.
- [32] Thongchul N., Navankasattusas S., Yang S-T.: Production of lactic acid and ethanol by *Rhizopus oryzae* integrated with cassava pulp hydrolysis. Bioprocess Biosyst. Eng., 2010, **33** (3), 407-416.
- [33] Tsao G.T., Cao N.J., Du J., Gong C.S.: Production of multifunctional organic acids from renewable resources. Advances in Biochem. Eng./ Biotechnol., 1999, **65**, 243-280.
- [34] Vijayakumar J., Aravindan R., Viruthagiri T.: Recent trends in the production, purification and application of lactic acid. Chem. Biochem. Eng. Quarterly, 2008, **22** (2), 245-264.
- [35] Wang Z., Wang Y., Yang S.-T., Wang R., Ren H.: A novel honeycomb matrix for cell immobilization to enhance lactic acid production by *Rhizopus oryzae*. Bior. Technol., 2010, **101** (14), 5557-5564.
- [36] Ward G.E., Lockwood L.B, May O.E., Herrick H.T.: Biochemical studies in the genus *Rhizopus*. I. The production of dextro-lactic acid. J. Am. Chem. Soc., 1936, **58** (7), 1286-1288.
- [37] Woiciechowski A.L., Soccol C.R, Ramos L.P., Pandey A.: Experimental design to enhance the production of L(+)-lactic acid from steam-exploded wood hydrolysate using *Rhizopus oryzae* in a mixed-acid fermentation. Process Biochem., 1999, **34**, 949-955.
- [38] Wu X., Jiang S., Liu M., Pan L., Zheng Z., Luo S.: Production of L-lactic acid by *Rhizopus oryzae* using semicontinuous fermentation in bioreactor. J. Ind. Microbiol. Biotechnol., 2010, **38** (4), 565-571.
- [39] Yang C.W., Lu Z., Tsao G.T.: Lactic acid production by pellet-form *Rhizopus oryzae* in a submerged system. Appl. Biochem. Biotechnol., 1995, **51-52** (1), 57-71.
- [40] Yin P.M., Nishina N., Kosakai Y., Yahiro K., Park Y., Okabe M.: Enhanced production of L(+)-lactic acid from corn starch in a culture of *Rhizopus oryzae* using an air-lift bioreactor. J. Ferment. Bioeng., 1997, **84** (3), 249-253.
- [41] Yin P., Yahiro K., Ishigaki T., Park Y., Okabe M.: L(+)-Lactic acid production by repeated batch culture of *Rhizopus oryzae* in air-lift bioreactor. J. Ferment. Bioeng., 1998, **85**, 96-100.
- [42] Yu M.C., Wang R.C., Wang C.Y., Duan K.J., Sheu D.C.: Enhanced production of L(+)-lactic acid by floc-form culture of *Rhizopus oryzae*. J. Chin. Inst. Chem. Eng., 2007, **38** (3-4), 223-228.
- [43] Zhang D.F., Lin J.P., Jin Z.H.: Rotating disc contactor used for L-lactic acid production by immobilized *Rhizopus oryzae* and its scale-up. Chem. Eng. (China), 2004, **32** (1), 34-37.
- [44] Zhang, Z.Y., Jin B., Kelly J.M.: Production of lactic acid from renewable materials by *Rhizopus* fungi. Biochem. Eng. J., 2007, **35** (3), 251-263.
- [45] Zhang Z.Y., Jin B., Kelly J.M.: Production of lactic acid and by-products from waste potato starch by *Rhizopus arrhizus*: role of nitrogen sources. World J. Microbiol. Biotechnol., 2007, **23**, 229-236.
- [46] Zhang Z.Y., Jin B., Kelly J.M.: Production of L(+)-lactic acid using acid-adapted precultures of *Rhizopus arrhizus* in a stirred tank reactor. Appl. Biochem. Biotechnol., 2008, **149** (3), 265-276.
- [47] Zhang Z.Y., Jin B., Kelly J.M.: Enhancement of L(+)-lactic acid production using acid-adapted precultures of *Rhizopus arrhizus* in a bubble column reactor. J. Biosci. Bioeng., 2009, **108** (4), 344-347.
- [48] Zhou Y., Domínguez J.M., Cao N., Du J., Tsao G.T.: Optimization of L-lactic acid production from glucose by *Rhizopus oryzae* ATCC 52311. Appl. Biochem. Biotechnol., 1999, **77-79**, 401-407.

LACTIC ACID PRODUCTION BY FUNGI OF *RHIZOPUS* GENUS**S u m m a r y**

Lactic acid is a product of anaerobic glycolysis performed by homo- and heterofermentative lactic acid bacteria. Attempts to use moulds of the *Rhizopus* genus in the production of lactic acid proved that this process was not cost-effective. The moulds of the *Rhizopus* genus have much lower nutritional requirements than lactic acid bacteria. Additionally, they use inexpensive polymers as a carbon source, such as: starch, hemicellulose, and cellulose; and the fermentation product is a desirable L(+) lactic acid. The paper presents a biochemical profile of the production of organic acids, including lactic acid, from glucose and xylose with the participation of *Rhizopus oryzae* strains, and the factors to determine the efficiency of the process are incorporated therein. The reference literature confirms that strains of the *Rhizopus* genus increase, in large measure, the production of lactic acid under optimal culture conditions, such as type and concentration of the substrate, appropriate temperature, as well as pH and oxygenation of the culture medium. The morphological form and immobilization of *Rhizopus* mycelium significantly add to the productivity and yield of lactic acid.

Key words: lactic acid, *Rhizopus*, culture conditions, morphological form, immobilization ☒

Redakcja czasopisma przeprasza mgra Piotra Szymańskiego i prof. dr hab. Danutę Kołożyn-Krajewską za niewłaściwą jakość rysunków wydrukowanych w artykule tych Autorów pt. „Ocena możliwości zastosowania szczepu bakterii *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 w procesie peklowania mięsa”, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, 3 (88), 61-72 (wersja wydrukowana).

Równocześnie informujemy, że w wersji on-line (<http://www.pttz.org/zyw/index.html>) zamieściliśmy plik, w którym rysunki zostały poprawione.

Redakcja czasopisma Żywność. Nauka. Technologia. Jakość

JAROSŁAW KOWALIK, ADRIANA ŁOBACZ, SYLWIA TARCZYŃSKA

PROGNOZOWANIE WZROSTU LICZBY KOMÓREK *LISTERIA MONOCYTOGENES* W SERKU WIEJSKIM

Streszczenie

Celem badań było oszacowanie matematycznych modeli wzrostu liczby pałeczek *Listeria monocytogenes* w twarogu „cottage cheese”. W badaniach wykorzystano model pierwszorzędowy Baranyiego i Roberta oraz drugorzędowy – Ratkowsky’ego. Dane eksperymentalne pozwoliły na konstrukcję modeli prognostycznych. Oceny dopasowania modeli dokonano poprzez wyliczenie błędu średniokwadratowego MSE, współczynników odchylenia (A_p) i dokładności (B_p). Na podstawie uzyskanych prognoz wykonano walidację matematyczną i graficzną modelu trzeciorzędowego ComBase Predictor (CP), bazującego na zmodyfikowanych pożywkach mikrobiologicznych i stwierdzono jego przydatność do prognozowania zachowania bakterii z gatunku *L. monocytogenes* w twarogu. Wykorzystując CP, przeprowadzono analizę ewentualnych błędów procesów technologicznych i przerwania łańcucha chłodniczego podczas dystrybucji „cottage cheese”. Wykazano, że zmiany składu i temperatury podczas produkcji i dystrybucji mają duży wpływ na stabilność mikrobiologiczną i bezpieczeństwo produktu.

Słowa kluczowe: modele matematyczne, twarog „cottage cheese”, bezpieczeństwo żywności

Wprowadzenie

Ze względu na psychrotrofowy charakter *Listeria monocytogenes* namnaża się w warunkach chłodniczych nawet przy wysokich stężeniach NaCl (do 12 %). Z tych względów jest niebezpieczna dla zdrowia człowieka [22]. Względnie beztlenowe pałeczki *Listeria* mają zdolność wzrostu w temp. od -1,5 do 45 °C, w zakresie pH od 4,4 do 9,6 [6, 19]. Do artykułów spożywczych uznanych za szczególnie narażone na obecność *L. monocytogenes* należą sery miękkie oraz żywność wysoko przetworzona [8, 18, 23]. Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (ang. *European Food Safety Authority* - EFSA) w raporcie z 2009 r. podaje, że współczynnik zapadalności na listeriozę w krajach Unii Europejskiej wynosił 0,4 na 100 000 osób [6]. Minimalna dawka infekcyjna dla zdrowej dorosłej osoby wynosi od 10^4 do 10^9 jtk/g spożytej żywności.

Dr inż. J. Kowalik, dr inż. A. Łobacz, dr inż. S. Tarczyńska, Katedra Mleczarstwa i Zarządzania Jakością, Wydz. Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, ul. Oczapowskiego 7, 10-719 Olsztyn

W 2009 r. *L. monocytogenes* była przyczyną ok. 1600 zatruć w USA (zmarło 260 osób) [19]. Obecność komórek *Listeria* w artykułach wyprodukowanych w UE reguluje rozporządzenie Komisji Europejskiej nr 2073/2005 [17]. Zachowanie właściwej temperatury w łańcuchu chłodniczym jest bardzo ważnym czynnikiem decydującym o wzroście liczby komórek niepożądanych mikroorganizmów [15].

W celu naukowego potwierdzenia, że w produkcie spożywczym nie rozwiną się drobnoustroje niepożądane, możliwe jest przeprowadzenie badań przechowalniczych w szerokim zakresie temperatury. Przy użyciu elementów mikrobiologii prognostycznej dokonywana jest analiza wyników badań (uzyskanych z próbek celowo zanieczyszczonych określonymi patogenami).

Mikrobiologia prognostyczna i modele matematyczne służą do opisu zachowania mikroorganizmów w żywności. Właściwie walidowane modele mogą być użyte do ilościowego szacowania ryzyka mikrobiologicznego w czasie rzeczywistym [9, 10, 11]. Zgodnie z rozporządzeniem (WE) nr 178/2002: „Ocena ryzyka powinna opierać się na istniejących dowodach naukowych i być podejmowana w sposób niezależny, obiektywny i przejrzysty”, wobec czego mikrobiologia prognostyczna staje się skutecznym narzędziem w ujęciu prawa [16, 21].

W niniejszym opracowaniu przedstawiono możliwości rozwoju *Listeria monocytogenes* w twarożku „cottage cheese”. Wybór do badań tego produktu uzasadniają jego właściwości fizykochemiczne, które potencjalnie sprzyjają rozwojowi pałeczek *Listeria*. „Cottage cheese”, w zależności od metody produkcji, jest niedojrzewającym twarożkiem kwasowym lub kwasowo-podpuszczkowym o strukturze ziarnistej. Ziarna serka są zanurzone w śmietanie [8, 12].

Celem pracy było określenie możliwości rozwoju pałeczek *Listeria monocytogenes* w twarożku „cottage cheese” podczas przechowywania w temp. 3 - 15 °C. Dokonano próby wykorzystania mikrobiologii prognostycznej do określenia stabilności mikrobiologicznej produktu w przypadku różnicy parametrów technologicznych i powstałych w ich wyniku zmian fizykochemicznych. Oszacowano również konsekwencje ewentualnego przerwania łańcucha chłodniczego w czasie przechowywania i dystrybucji produktu.

Material i metody badań

Do badań przeżywalności *Listeria monocytogenes* wykorzystano twarożek ziarnisty wiejski „cottage cheese” polskiego producenta, pochodzący ze sprzedaży detalicznej, o 21-dniowym terminie przydatności do spożycia.

Do zanieczyszczenia próbek produktu używano trzech szczepów *Listeria monocytogenes* (szczepy ATTC: 0232S, 0737S, 0398S; Microbiologics). W wyniku pasażowania uaktywnionych szczepów uzyskano w bulionie odżywczym wzbogaconym hodowlę na poziomie 1×10^9 jtk/ml. W twarożku określano kwasowość czynną za po-

mocą pehametru Lab 860 (Schott Instruments). Wykonywano analizę chemiczną składu za pomocą urządzenia FoodScan Lab (FOSS). Skład chemiczny serka był następujący: białko (11,00 %), tłuszcz (5,00 %), woda (79,50 %) i sucha masa (20,50 %). Próbkę dzielono na 25-gramowe porcje i umieszczano w sterylnych torebkach przystosowanych do homogenizacji w urządzeniu typu Stomacher (Interscience). Następnie zanieczyszczano je właściwym dziesięciokrotnym rozcieńczeniem hodowli *Listeria* w liczbie zapewniającej koncentrację na poziomie 3 log jtk/g i przechowywano w inkubatorach precyzyjnych z chłodzeniem (ICP, Memmert) w temp. 3, 6, 9, 12 i 15 °C.

Do analizy liczby komórek *L. monocytogenes* wykorzystywano metodę posiewu powierzchniowego przy zastosowaniu podłoża Chromocult Agar, wybiórczego dla *Listeria* wg Ottavianiego i Agosti (Merck) [13]. Próbkę poddawano homogenizacji z jałowym płynem fizjologicznym z peptonem w stosunku 1 : 10. Czas przechowywania, po którym wykonywano analizy, zależał od tempa wzrostu badanego mikroorganizmu w produkcie.

Płytki Petriego z posiewami inkubowano w temp. 37 °C przez 48 h. Posiewano trzy kolejne rozcieńczenia w dwóch powtórzeniach. W próbkach kontrolnych (bez celowego zanieczyszczenia) określano obecność *Listeria* metodą etapowego posiewu w pożywkach Fräsera, zgodnie z normą PN-EN ISO 11290-1 [13] i nie stwierdzono jej obecności. W laboratorium mikrobiologii prognostycznej w Katedrze Mleczarstwa i Zarządzania Jakością UWM zapewniona była bezpieczna praca z mikroorganizmami.

Doświadczenie przeprowadzono na pięciu różnych partiach produktu. Z uzyskanych wyników obliczano średnią arytmetyczną, którą logarytmowano, a następnie poddawano dalszej analizie statystycznej.

Na podstawie badań eksperymentalnych oszacowano modele pierwszorzędowe (Baranyiego i Roberta) z wykorzystaniem aplikacji DMFit [1, 2, 3]. W celu porównania uzyskanych prognoz generowano modele w programie Combase Predictor (CP), który zawarty jest w bazie danych Combase [4]. Program CP prognozuje na podstawie wyników uzyskanych na pożywkach mikrobiologicznych z wykorzystaniem równania Baranyiego i Roberta. Pożywki mikrobiologiczne zmodyfikowano pod względem: pH, aktywności wody, zawartości kwasów organicznych i NaCl [4, 10].

W wyniku modelowania pierwszorzędowego uzyskano współczynniki tempa wzrostu (w każdej temperaturze eksperymentu – aplikacja DMFit) oraz prognozowane tempo wzrostu (wyliczone w programie CP) [4]. Dokonano oceny dopasowania modeli pierwszorzędowych do obserwowanych danych poprzez wyliczenie wartości błędu średniokwadratowego MSE. Następnie w aplikacji DMFit (wykorzystując tempo wzrostu obserwowane i prognozowane w CP) uzyskano współczynniki tempa wzrostu na podstawie drugorzędowego modelu pierwiastka kwadratowego Ratkowsky'ego [7]. Wykonano walidację graficzną i matematyczną wygenerowanych modeli za pomocą

wykresu równości (modele pierwszorzędowe) i wyliczenia współczynników: odchylenia (Bf) oraz dokładności (Af) (modele drugorzędowe) [7].

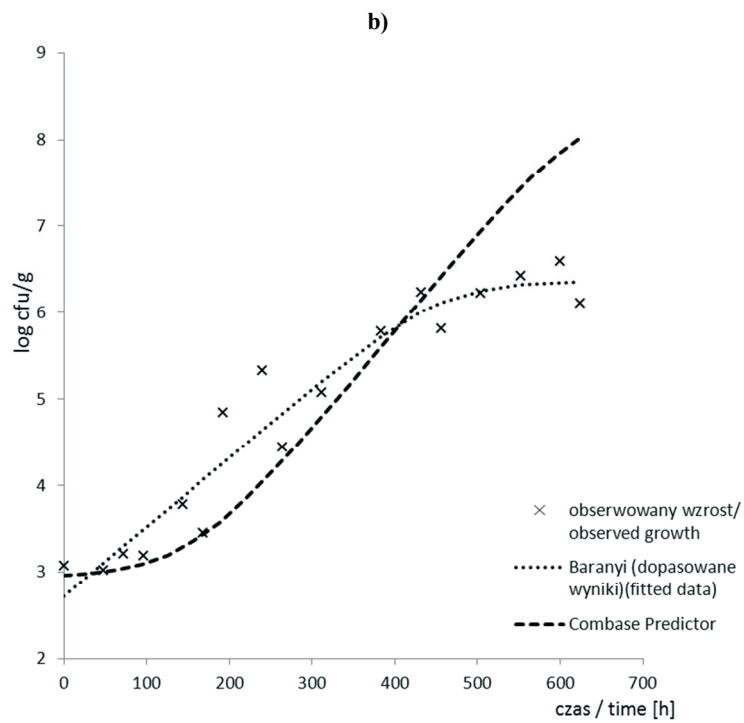
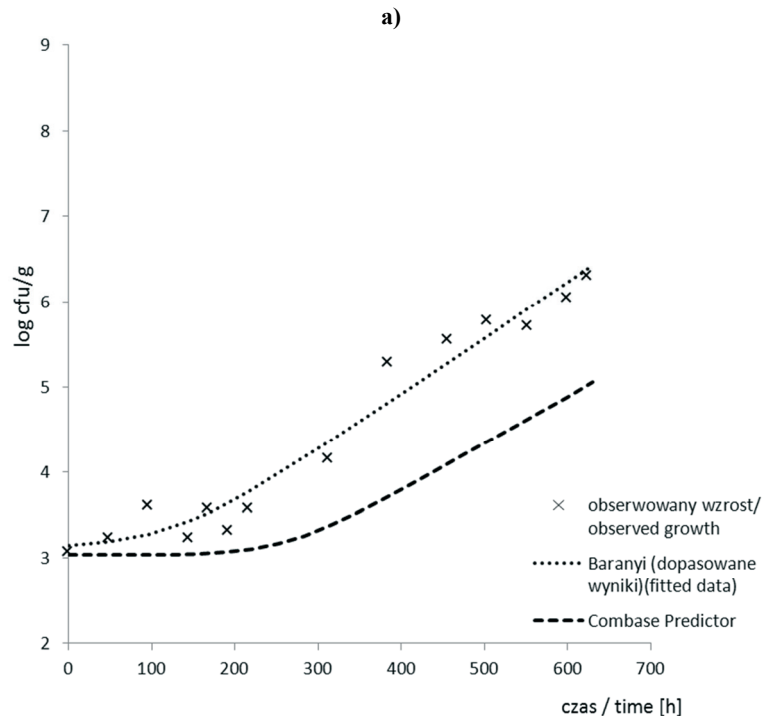
Wyniki i dyskusja

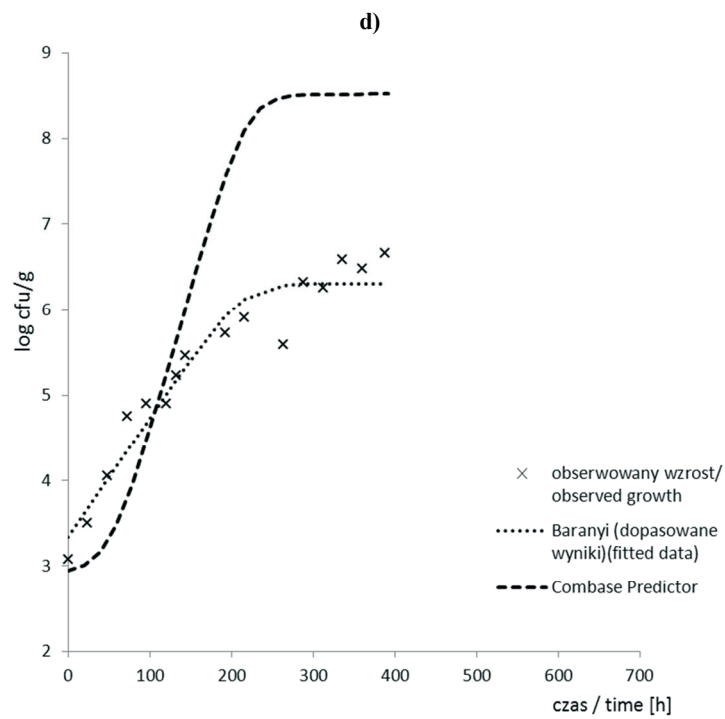
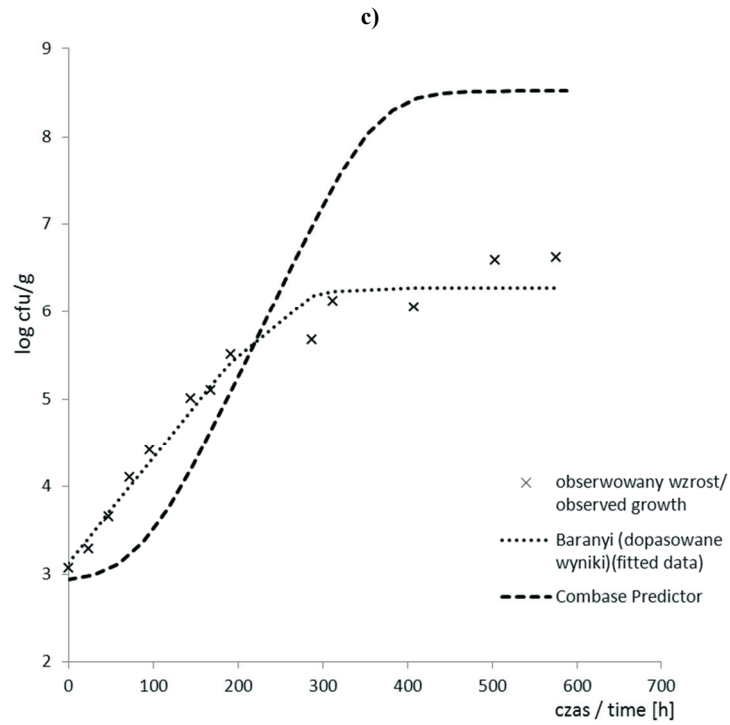
Próbki przechowywano do osiągnięcia maksymalnej gęstości populacji *L. monocytogenes*. Na rys. 1. (a-e) przedstawiono wzrost liczby komórek *Listeria* w przechowywanym twarogu „cottage cheese”. Czas przechowywania wynosił 624 h w temp. 3 i 6 °C, 576 h w 9 °C oraz 388 h w 12 i 15 °C. Zaobserwowano, że wraz ze wzrostem temperatury następowało większe tempo wzrostu liczby komórek *Listeria*. Podobne badania prowadzili Chen i Hotchkiss [5], którzy próbki „cottage cheese” (celowo zanieczyszczone *L. monocytogenes*) przechowywali w warunkach tlenowych w temp.: 4, 7 i 21 °C przez 1512 h. Wykazali wzrost liczby komórek *Listeria* z 4 log do 7 log jtk/g po 1512 h w temp. 4 °C, zaś po 384 h w 7 °C. Czas trwania lagfazy wynosił odpowiednio: 672 h i 168 h [5].

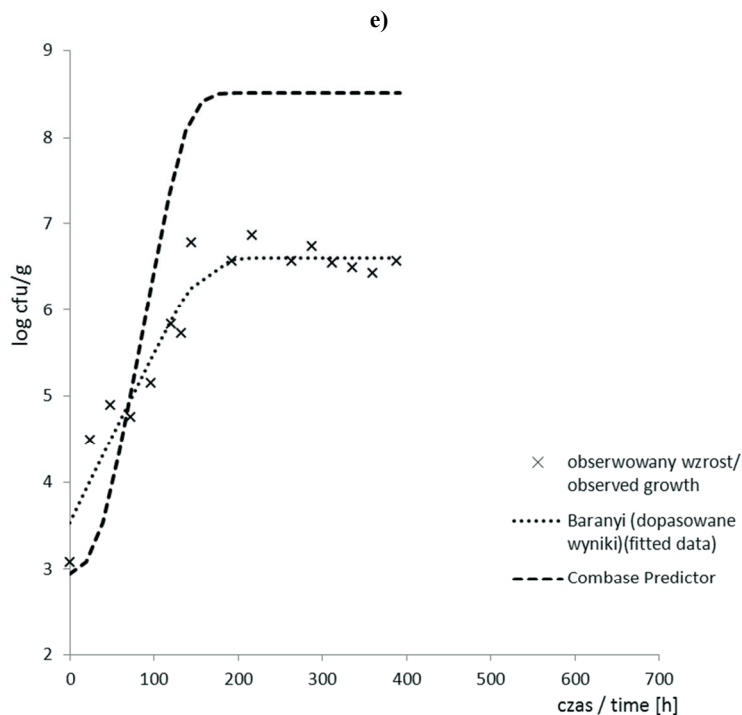
Odmienne wyniki badań uzyskali Stańczak i wsp. [20]. Wykonali oni próby przechowalnicze serka termizowanego („grani quark”) zanieczyszczonego *Listeria* na poziomie 3 log jtk/g i przechowywanego w temp. 10 i 20 °C. Największą redukcję bakterii (o 2 cykle logarytmiczne) zaobserwowano w temp. 10 °C pomiędzy 240. a 336. h przechowywania. Po tym czasie nie wykryto komórek *L. monocytogenes* zastosowanymi metodami badawczymi (podłoże selektywne Oxford (Oxoid)). W temp. 20 °C zaobserwowano brak obecności *Listeria* już po 240 h. Kwasowość czynna (pH) serka podczas przechowywania kształtowała się na poziomie 4,55 - 5,26. Większe tempo obumierania bakterii zaobserwowano w wyższej temperaturze, mimo sprzyjającego czynnika środowiskowego (pH powyżej 5,2). Główny wpływ na efekt letalny miał rozwój mikroflory antagonistycznej [20].

Przy użyciu aplikacji DMFit wyliczono współczynniki determinacji R^2 , które świadczą o dopasowaniu modelu. Współczynniki wynosiły w temp.: 3 °C – 0,96, 6 °C – 0,92, 9 °C – 0,96; 12 °C – 0,92 oraz 15 °C – 0,92. Oprócz R^2 aplikacja DMFit oblicza błąd standardowy dopasowania SE(fit) (odchylenie standardowe obserwowanych, niezależnych zmiennych). Wartości SE(fit) wynosiły odpowiednio w temp.: 3 °C – 0,2593, 6 °C – 0,3656, 9 °C – 0,2497; 12 °C – 0,2972 oraz 15 °C – 0,3118. Liczba stopni swobody w przypadku modelu Baranyiego, na którym bazuje aplikacja DMFit, wynosi 5.

Na podstawie wyliczeń w DMFit określono wartości współczynników tempa wzrostu *L. monocytogenes*, które wynosiły odpowiednio w temp.: 3 °C – 0,0066 [h⁻¹], 6 °C – 0,0080 [h⁻¹], 9 °C – 0,0121 [h⁻¹], 12 °C – 0,0139 [h⁻¹] oraz 15 °C – 0,0197 [h⁻¹]. Zaobserwowano, że im wyższa była temperatura przechowywania produktu, tym wyższy współczynnik tempa wzrostu.







Legenda: / Legends: x – obserwowany wzrost / observed growth; - model Baraniego (dopasowane wyniki) / Baranyi model (fitted data), - - - - - Combase Predictor.

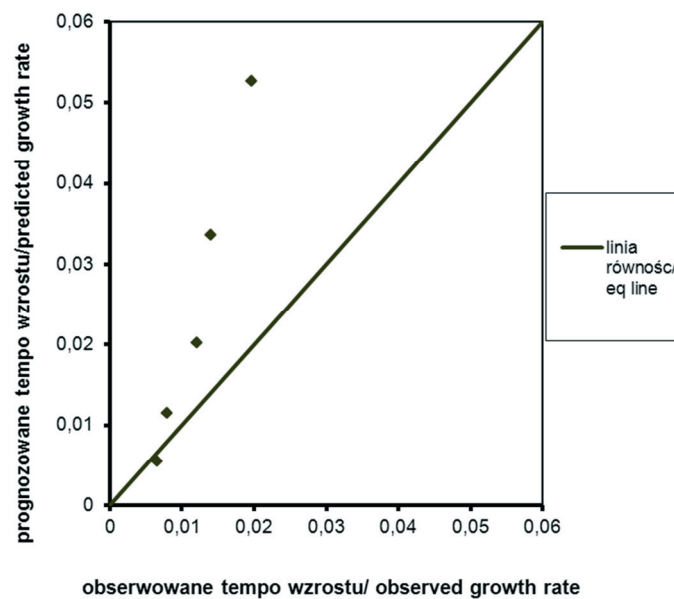
Rys. 1. Wyniki modelowania pierwszorzędowego opisujące wzrost liczby *Listeria monocytogenes* w temp.: a) 3 °C, b) 6 °C, c) 9 °C, d) 12 °C, e) 15 °C.

Fig. 1. Results of primary modelling to describe increase in *Listeria monocytogenes* count at a temperature: a) 3 °C, b) 6 °C, c) 9 °C, d) 12 °C, e) 15 °C.

Następnie wygenerowano w programie CP prognozy uwzględniające podobne parametry środowiska: temperaturę, czas, pH, zawartość kwasu mlekowego (rys. 1 a-e). W czasie przechowywania produktu w temp. 3 - 15 °C pH wynosiło od 4,9 do 5,2. Na potrzeby generowania modeli wzrostu w programie CP wpisano wartość 5,2, przy której patogeny mają korzystniejsze warunki do rozwoju, co zapewnia większy margines bezpieczeństwa prognoz. Kwasowość miareczkowa „cottage cheese” wynosiła 27 °SH (odpowiada to 0,6 % kwasu mlekowego, czyli 6000 ppm, a więc ilości wymaganej przez program CP). Zawartość NaCl, charakterystyczną dla tego typu produktu, ustalono w programie na poziomie 1 %.

Na podstawie obliczeń stwierdzono, że błąd średniokwadratowy sum błędów wartości obserwowanych (DMFit) i prognozowanych (CP) wynosił 0,00031, co wskazuje na dobre dopasowanie modelu [7, 10]. Walidacja graficzna (rys. 2) pozwoliła

stwierdzić dużą przydatność prognoz uzyskanych w CP. Poprzez wizualne porównanie obserwowanego (badania własne) i prognozowanego tempa wzrostu stwierdzono, że 4 punkty odpowiadające prognozowanym wartościom w CP leżą powyżej linii równości, zaś 1 punkt leży na jej granicy. Prognozowane w CP wartości tempa wzrostu w większości przypadków miały wyższą wartość niż obserwowane, co potwierdziło wysoki margines bezpieczeństwa predykcji. Modele prognostyczne zawsze obciążone są błędem, ale w celu uzyskania bezpieczeństwa żywności prognozowany współczynnik tempa wzrostu musi mieć wartość wyższą aniżeli obserwowany.

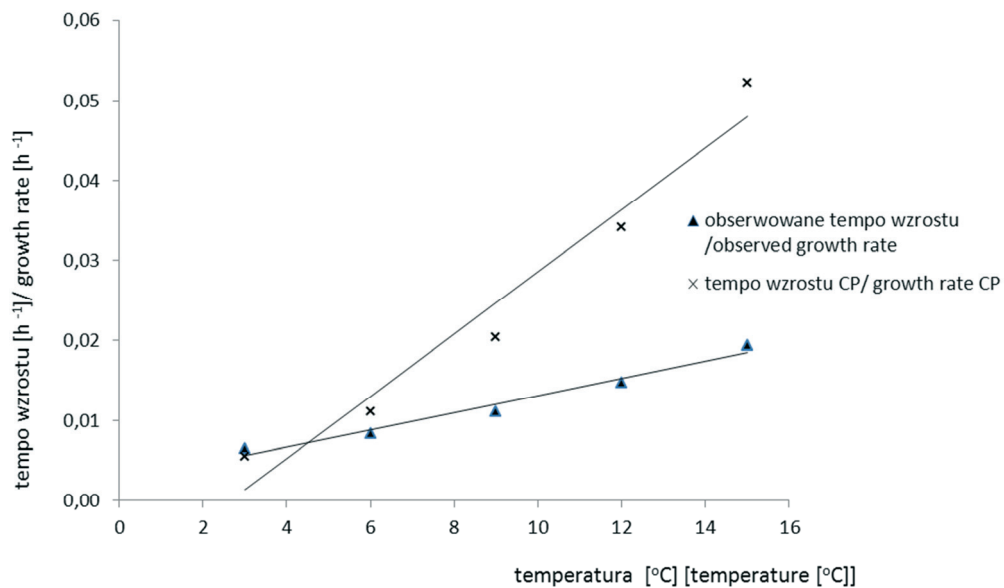


Rys. 2. Porównanie obserwowanego (DMFit) i prognozowanego (CP) tempa wzrostu μ *Listeria monocytogenes* w „cottage cheese” podczas przechowywania (temp.: 3, 6, 9, 12 i 15 °C).

Fig. 2. Comparing observed (DMFit) and predicted (CP) μ growth rate of *Listeria monocytogenes* in cottage cheese during storage (3, 6, 9, 12 and 15 °C).

W wyniku modelowania drugorzędowego (równanie Ratkowsky’ego) uzyskano możliwość prognozy tempa wzrostu *Listeria* w zależności od temperatury przechowywania (rys. 3). Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że program CP dla określonych warunków środowiska („cottage cheese”) pozwolił na bezpieczne prognozy tempa wzrostu *Listeria*. Zauważono, że w miarę wzrostu temperatury przechowywania prognozowany współczynnik tempa wzrostu, a tym samym margines bezpieczeństwa uzyskanych prognoz, miał znacznie wyższą wartość od obserwowanego. Walidacji modelu Ratkowsky’ego dokonano poprzez wyliczenie współczynnika odchylenia (B_f) i współczynnika dokładności (A_f) (tab. 1). Stwierdzono zgodność między

wartościami obserwowanymi i prognozowanymi w CP a uzyskanymi podczas modelowania drugorzędowego (model Ratkowsky’ego). W przypadku B_f wartość równa jeden świadczy o idealnej zgodności. Wartość współczynnika A_f na poziomie 1 świadczy o dobrej korelacji, natomiast poniżej 0,5 – informuje o nieprecyzyjności prognoz [10].



Rys. 3. Zachowanie *L. monocytogenes* w „cottage cheese” według modelu drugorzędowego Ratkowsky’ego.

Fig. 3. Behaviour of *L. monocytogenes* in cottage cheese according to secondary Ratkowsky model.

Tabela 1

Parametry charakteryzujące poprawność dopasowania modelu Ratkowsky’ego.
Parameters to characterize correctness of Ratkowsky model fitting.

Współczynniki matematyczne Mathematical coefficients	Model
DMFit / Ratkowsky	
Wsp. odchylenia / Bias factor	1,0511
Wsp.dokładności / Accuracy factor	1,0025
CP / Ratkowsky	
Wsp. odchylenia / Bias factor	1,0159
Wsp.dokładności / Accuracy factor	1,00025

W wyniku walidacji modeli wykazano, że prognozy wygenerowane w CP umożliwiają przewidywanie wzrostu liczby komórek *Listeria* podczas produkcji i dystrybucji „cottage cheese”. Na podstawie wykonanej walidacji CP może być przydatnym narzędziem w szacowaniu ryzyka mikrobiologicznego. W tab. 2. przedstawiono wyniki i prognozy skutków błędnie przeprowadzonego procesu technologicznego, w wyniku którego nastąpiła zmiana pH i zawartości kwasu mlekowego. Wyznacznikiem stabilności mikrobiologicznej jest czas trwania lagfazy. Na podstawie oszacowanych wyników uzyskanych w programie CP zaobserwowano, że w przypadku reinfekcji *L. monocytogenes* (np. podczas dystrybucji i przerywania łańcucha chłodniczego) w temp. 6, 10 i 14 °C czas stabilności mikrobiologicznej był dłuższy przy niższym pH i wyższej zawartości kwasu mlekowego. Najdłuższy czas stabilności mikrobiologicznej dotyczył parametrów produktu w temp. 6 °C o wartości pH 5,2 i zawartości kwasu mlekowego 0,6 %, najkrótszy zaś w temp. 14 °C przy pH 5,8 i zawartości kwasu mlekowego 0,4 %. Po tym czasie, według programu CP, nastąpiła faza logarytmicznego wzrostu.

Tabela 2

Parametry fizykochemiczne i warunki przechowywania produktu w przypadku nieprawidłowości technologicznych i reinfekcji *L. monocytogenes*.

Physical-chemical parameters and storage conditions of product in case of technological failure and re-infection by *L. monocytogenes*.

pH produktu Product pH	Kwas mlekowy Lactic acid [ppm] / [%]	Temperatura / Temperature [°C]					
		6		10		14	
		tempo wzrostu growth rate [h ⁻¹]	lagfaza lag phase [h]	tempo wzrostu growth rate [h ⁻¹]	lagfaza lag phase [h]	tempo wzrostu growth rate [h ⁻¹]	lagfaza lag phase [h]
5,2	6000 / 0,6	0,0112	150	0,0241	72	0,0456	38
5,5	5000 / 0,5	0,0155	113	0,0326	54	0,0617	29
5,8	4000 / 0,4	0,0195	89	0,0412	42	0,0752	13

Dostępne bazy danych dotyczące mikroorganizmów w żywności opisują zachowanie drobnoustrojów w zmodyfikowanych pożywkach mikrobiologicznych. Wyniki niniejszej pracy mogą być przydatne do implementacji w bazie danych WaMa Predictor (WMP) [14]. Polska baza danych (WMP) zawiera m.in. opracowane modele matematyczne służące określaniu zachowania drobnoustrojów w rzeczywistych warunkach produktów spożywczych.

Wnioski

1. Twarożek ziarnisty („cottage cheese”) stanowił dobrą pożywkę dla rozwoju pałeczek *Listeria monocytogenes* w zakresie temperatur 3 - 15 °C.
2. Istnieje potrzeba tworzenia modeli prognostycznych na podstawie danych eksperymentalnych pochodzących z badań nad rozwojem patogenów i bakterii niepożądaných w gotowych produktach spożywczych.
3. Prognozowanie mikrobiologiczne stanowi nowe, naukowe podejście do oszacowania ilościowego i jakościowego ryzyka mikrobiologicznego w łańcuchu dystrybucyjnym serka „cottage cheese”.

Praca naukowa finansowana ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju w ramach projektu badawczego pt. Zastosowanie mikrobiologii prognostycznej do modelowania bezpieczeństwa żywności (N R12 0097 06).

Literatura

- [1] Baranyi J., Le Marc Y.: DMFit manual, Version 2.0, Institute of Food Research, Norwich Research Park, UK.
- [2] Baranyi J.: Stochastic modelling of bacterial lag phase. *Int. J. Food Microbiol.*, 2002, **73**, 203-206.
- [3] Baranyi, J., Roberts, T.A.: A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. *Int. J. Food Microbiol.*, 1994, **23**, 277-294.
- [4] Baza danych ComBase. [online]. [dostęp 25.11.2012]. Dostępna w Internecie: <http://www.combase.cc/index.php/en/>.
- [5] Chen J.H. Hotchkiss J.H.: Growth of *Listeria monocytogenes* and *Clostridium sporogenes* in cottage cheese in modified atmosphere packaging. *J. Dairy Sci.*, 1993, **76**, 972-977.
- [6] Dmowska K., Osek J.: Molekularne aspekty chorobotwórczości *Listeria monocytogenes*. *Med. Wet.*, 2010, **66 (4)**, 236-241.
- [7] Giffel M.C., Zwietering M.H.: Validation of predictive models describing the growth of *Listeria monocytogenes*. *Int. J. Food Microbiol.*, 1999, **46**, 135-149.
- [8] Holanowski A.: Twarogi i serki twarogowe. Wyd. Spółdzielcze, Warszawa 1986.
- [9] Kowalik J., Łobacz A., Tarczyńska A.S., Ziajka S.: Zastosowanie mikrobiologicznych modeli prognostycznych w produkcji bezpiecznej żywności. *Med. Wet.*, 2009, **65 (06)**, 381-381.
- [10] Kowalik J., Łobacz A., Tarczyńska A.S., Ziajka S.: Graphic validation of growth models for *Listeria monocytogenes* in the milk during storage. *Milchwissenschaft*, 2012, **1 (67)**, 38-42.
- [11] McMeekin T.A., Ross T.: Predictive microbiology: providing a knowledge-based framework for change management. *Int. J. Food Microbiol.*, 2002, **78**, 133-153.
- [12] Pijanowski E., Gawęł J.: Zarys chemii i technologii mleczarstwa. Tom III. Sery, kazeina, produkty z serwatki. PWRiL, Warszawa 1985.
- [13] PN-EN ISO 11290-2:2003/A1:2005. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda wykrywania obecności i oznaczania liczby *Listeria monocytogenes*.
- [14] Portal Internetowy WaMaPredictor. [online]. [dostęp 25.11.2012]. Dostępny w Internecie: <http://wamapredictor.uwm.edu.pl/WaMaPredictor>.
- [15] Rosiak E., Kołożyn-Krajewska D.: Modele wzrostu bakterii *Pseudomonas* w produktach gotowych do spożycia. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **3 (44)**, 191-205.

- [16] Rozporządzenie (WE) nr 178/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 28 stycznia 2002 r. ustanawiające ogólne zasady i wymagania prawa żywnościowego, powołujące Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności oraz ustanawiające procedury w zakresie bezpieczeństwa żywności. Dz. Urz. L 31 z 1.2.2002, str. 1.
- [17] Rozporządzenie (WE) nr 2073/2005 z dnia 15 listopada 2005 r. w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych. Dz. Urz. L 338 z 22.12.2005, str. 1.
- [18] Sip A., Więckowicz M., Grajek W.: Sery regionalne potencjalne źródło *Listeria monocytogenes*. Przem. Spoż., 2008, **10**, 30-34.
- [19] Sip A., Więckowicz M., Olejnik-Schmidt A., Grajek W.: Anti-listeria activity of lactic acid bacteria isolated from golka, a regional cheese produced in Poland. Food Control, 2012, **26**, 117-124.
- [20] Stańczak B., Szczawiński J., Peconek J.: Przeżywalność *Listeria monocytogenes* w serze twarogowym termizowanym. Med. Wet., 2000, **56** (4), 251-254.
- [21] Tarczyńska A.S., Kowalik J., Łobacz A.: Modelowanie mikrobiologicznego bezpieczeństwa żywności. Przem. Spoż., 2012, **6**, 35-38.
- [22] Walczycka M.: Metody inaktywacji i hamowania wzrostu *Listeria monocytogenes* w przetworach mięsnych. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2005, **43** (2), 61-72.
- [23] Zadernowska A., Łaniewska-Trokenheim Ł., Chajęcka W.: Wykrywanie pałeczek *Listeria monocytogenes* i *Salmonella* sp. w rybach i produktach rybnych z użyciem aparatu mini Vidas. Med. Wet., 2010, **66** (4), 264-267.

PREDICTING GROWTH OF *LISTERIA MONOCYTOGENES* CELL COUNT IN COTTAGE CHEESE

S u m m a r y

Summary

The objective of the research study was to develop mathematical models of the growth of number of *Listeria monocytogenes* rods in cottage cheese. In the study, a primary Baranyi and Roberts model and a secondary Ratkowsky model were applied. The experimental data made it possible to construct prognostic models. A mean square error (MSE), bias (Bf), and accuracy (Af) factors were calculated and applied to assess the goodness-of-fit of the constructed models. Based on the predictions obtained, a mathematical and graphical validation was performed of the tertiary Combase Predictor (CP) model, which was based on the modified microbiological culture media; its usefulness was confirmed to predict the behaviour of bacteria of the species *L. monocytogenes* in cottage cheese. Then, using CP, possible technological errors were analyzed as was the break of the cold chain while distributing cottage cheese. It was proved that the changes in the composition and temperature during the production and distribution had a high impact on the microbiological stability and safety of the product.

Key words: mathematical models, cottage cheese, food safety 

MAREK SZOŁTYSIK, ANNA DĄBROWSKA, KONRAD BABIJ,
MARTA POKORA, ALEKSANDRA ZAMBROWICZ, XYMENA POŁOMSKA,
MARIA WOJTATOWICZ, JÓZEFA CHRZANOWSKA

BIOCHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL CHANGES IN CHEESE INOCULATED WITH *YARROWIA LIPOLYTICA* YEAST

Summary

A *Yarrowia lipolytica* JIIIc yeast strain, isolated from the Polish 'Rokpol' mould cheese, was used as an adjunct culture in the production of a Dutch-type cheese. Its effect on the microbiological and biochemical characteristics of the cheese was evaluated in this research study. Milk used to produce the cheese was inoculated with 10^5 cfu/mL yeast cells. During the ripening process, the yeast population grew systematically to reach a maximum level of 7.9 log cfu/g in the sixth week of maturation, whereas the number of lactic acid bacteria increased until the fourth week of ripening. Thereafter, the number of microorganisms in the both groups decreased. After 8 weeks of ripening, the pH value of cheese inoculated with yeasts was significantly higher than that of the control cheese sample (produced without those microorganisms) and reached the levels of 6.37 and 5.47, respectively. In the experimental cheeses, it was also found that the utilization rate of lactic and citric acids was higher. Additionally, the concentration levels of water-soluble nitrogen (WSN) and free amino groups (FAG) in the experimental cheeses were about twice as high as in the control cheese sample. A more intensive proteolysis in the experimental cheese was accompanied by a higher accumulation of biogenic amines, especially of tyramine, putrescine, and 2-phenylethylamine; in the experimental cheese, after 8 weeks, their contents amounted to: 167.01, 77.90, and 69.54 mg/100 g, respectively. In contrast, the concentration of histamine was similar in both cheeses (9.47 and 9.81 mg/100 g in the control and experimental cheese samples, respectively). Also, the experimental cheese revealed more pronounced lipolysis resulting in a higher accumulation of free fatty acids, especially of butyric, myristic, palmitic, stearic, and oleic acids. It can be concluded that the *Y. lipolytica* JIIIc grew well in the cheese causing the ripening process of the cheese to significantly accelerate.

Key words: *Yarrowia lipolytica*, cheese ripening, proteolysis, lipolysis

Dr inż. M. Szoltysik, dr A. Dąbrowska, mgr inż. K. Babij, mgr inż. M. Pokora, dr inż. A. Zambrowicz, prof. dr hab. J. Chrzanowska, Katedra Technologii Surowców Zwierzęcych i Zarządzania Jakością, dr inż. X. Połomska, prof. dr hab. M. Wojtatowicz, Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Wydz. Nauk o Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, ul. Chelmońskiego 37/41, 51-630 Wrocław

Introduction

Yeasts are frequently present in the form of a non-starter microflora in many types of cheese [17, 47, 48, 52, 53, 55]. The occurrence of those microorganisms in cheese is attributed to their ability to grow at a low temperature, high salt concentration levels, and a low pH level. What is more, their lipolytic and proteolytic activities and ability to assimilate or ferment lactose, and to assimilate organic acids enable them to grow in such a microenvironment [56]. The yeast population can reach a considerable quantity of cells in the cheese, up to 10^6 - 10^9 cfu/g [48]. However, their growth in cheeses varies depending on the yeast species, location in the curd, and the cheese variety [48, 56]. The prevailing yeast species found in the cheeses are: *Debaryomyces hansenii*, *Kluyveromyces lactis*, *K. fragilis*, *K. bulgaricus*, *Geotrichum candidum*, *Torulopsis sphaerica*, and *Saccharomyces cerevisiae* [40].

In some cheese types, the yeasts contribute to the spoilage and cause changes in the texture (gassiness, softening), flavour (fruity, bitter, or yeasty off-flavours), or colour (pigmentation or discoloration), and, in some other types, they positively affect the maturation process [15, 46, 47, 49, 53]. In particular, their positive impact on the cheese ripening process consists in the utilisation of lactic acid causing the pH level to increase and the bacterial growth to be enhanced, especially in the semi-soft cheeses with a surface film, e.g., Limburger, Tilsit, and mould ripened cheeses, such as Camembert and Roquefort [1, 14]. In the blue veined cheeses, the yeasts are assumed to enhance the development of *Penicillium roqueforti* by gas production, leading to curd openness [20, 46, 47, 48].

In addition, the growth factors produced by yeast, including pantothenic acid, riboflavin and niacin, favour the development of cheese starter microflora [4, 38]. Additionally, the proteolytic and lipolytic enzymes synthesized by the yeast may directly affect the degradation of key cheese compounds during the ripening process [19].

One of the yeast species occurring in cheese is *Yarrowia lipolytica*, but its populations are not usually numerous [26, 33, 46, 47, 55]. Our earlier investigations proved that the reason why there were low quantities of *Y. lipolytica* cells in the Polish blue-veined cheese was their vulnerability to killer toxins produced by the species that prevail in that cheese: *Candida famata* (imperfect form of *Debaryomyces hansenii*) and *C. sphaerica* [26]. On the contrary, Viljoen et al. [51], who studied South African camembert and brie cheeses, found that the *Y. lipolytica* reached an even higher population size than *D. hansenii*.

The strains of *Y. lipolytica* exhibit high proteolytic and lipolytic activities. They produce two extra-cellular proteases: alkaline serine protease and acid aspartic protease [18, 34]. The cells of *Y. lipolytica* also secrete several lipases: intracellular, membrane-bound, and extra-cellular [9]. Owing to their high hydrolytic activities, those yeasts were used as starter cultures in cheese production to accelerate the ripening process

[10, 14, 48]. However, depending on the strain used, the cheese quality significantly varied [33].

The objective of the present research study was to assess the potential of *Y. lipolytica* JIIIc strain as a cheese-ripening agent. The yeast strain was selected from among other *Y. lipolytica* isolates originating from the Polish 'Rokpol' blue-veined cheese [55]. It was characterized by the highest hydrolytic activities and a resistance to toxins produced by other yeasts prevailing in the same type of cheese [28, 44, 57].

Materials and methods

Microorganism

A *Yarrowia lipolytica* JIIIc yeast strain was obtained from the cultures collection of the Department of Biotechnology and Food Microbiology, Wrocław University of Environmental and Life Sciences, where it had been previously isolated from a 'Rokpol' mould cheese [55]. The stock culture of yeast was kept on the yeast extract-malt extract agar (YM) slants at 4 °C [54].

Cheese production process

Six experimental and six control samples of Dutch-type cheeses were produced from 100 litres of milk in two successive experiments with the use of a traditional technology. Prior to producing cheese samples, the milk used was standardized to obtain 40 % of fat in dry matter, and pasteurized at 72 °C for 15 s. After cooling to 30 °C, the milk in both experimental and control cheese was inoculated with mesophilic aromatic culture (Chr. Hansen). The *Y. lipolytica* JIIIc yeast co-starter was added only to the milk targeted for the experimental cheese, its amount was 5.0 log cfu/mL. The yeast inoculum was grown in a shaken culture in an YM-broth at 28 °C for 48 hours; then, the cells were counted using a haemocytometer, and collected by centrifugation (5000g, 4 °C; 15 min). Next, the cells were re-suspended in UHT milk and introduced into the cheese milk. The cheese milk was coagulated with a Maxiren preparation (Gist Brocades, Netherlands) for 30 min. Thereafter, the curds were cut into 6 - 8 mm cubes and heated to 38 °C for 15 min; then, they were pressed for 20 hours, salted in a 15 % NaCl brine for 3 hours at 10 °C, and ripened at a temperature of 15 °C and a humidity of 85 %. The cheese samples were taken for analysis immediately after salting (time 0) and, subsequently: 2, 4, 6, and 8 weeks after their ripening had started.

Microbiological analysis

The aseptically taken cheese samples (each of 10 g) were homogenized with 90 ml of a sterile solution of 2 % sodium citrate for 2 min, in a Stomacher 400 Lab Blender (Seward Medical, London, England). The successive decimal dilutions were

prepared and plated in duplicate on specific media for viable counts. The yeasts were determined on Oxytetracycline – Glucose – Yeast Extract – Agar (OGY, Oxoid). The plates were incubated at 30 °C for 5 days.

The lactic acid bacteria were counted on an M17 agar (Difco) and MRS agar (Oxoid) after the incubation at 30 °C for 3 days. The media for plating bacteria contained cycloheximide at a concentration level of 100 µg mL⁻¹ to inhibit the growth of yeast.

Proximate analyses

The grated cheese samples were analysed for total solids, fat, protein, and salt concentration rates using standard methods [22, 23, 24]. The pH level of the cheese slurry was measured (1 : 1, w/v) with a pH-meter (InoLab, Germany).

Content of organic acids

The concentration rate of organic acids was measured according to Roostita & Fleet [39]. A 10 mL quantity of the water-soluble fraction (WSF) of cheese, prepared according to a method as described by Kuchroo & Fox [31], was added to 20 mL of acetonitrile, stirred for 1 min, and centrifuged. The supernatant was filtered through a 0.45 µm membrane (Millipore). The samples of 10 µL were introduced into HPLC (Agilent 1100, Agilent, USA) with an Aminex HPX-87H stainless steel column (Bio-Rad Laboratories Inc., USA). The elution of the column was performed at 55 - 60 °C using 0.07 - 0.1 % (v/v) orthophosphoric acid at a flow rate of 0.5 mL/min. The identification and quantification of the organic acids were conducted by the comparison to the pattern of standard solutions (0.5 % w/v) chromatographed under the same conditions.

Assessment of proteolysis

The content of nitrogen was determined by a micro Kjeldhal method (AOAC, 1993) using an auto 1030 Kjeltex analyzer (KjeltexTM 2300, Foss). Water-soluble nitrogen (WSN) was determined in the water-soluble fraction (WSF) of the cheese and expressed as a percent of total nitrogen (TN). The contents of free amino acid groups in water (WSF) and the phosphotungstic acid (PTA) soluble fractions were measured using a 2,4,6-trinitrobenzenesulphonic acid (TNBS) (Sigma) [32]. A phosphotungstic acid soluble fraction of cheese was prepared from WSF [27].

The protein degradation in cheese was also analyzed by an alkaline urea-polyacrylamide gel electrophoresis [5]. The electrophoresis was performed in a dual cooled vertical slab gel electrophoresis unit SE 600 (Hoefler Scientific Instruments, San Francisco, CA, USA). The gels were stained using Comassie Brilliant Blue G250 (Sigma) [7].

Determination of the biogenic amines

Biogenic amines were extracted from the cheese at the end of the ripening period [8, 13]. The extracted amines were dansylated with a dansyl chloride (50 mg/mL in acetone). The separation of dansylated amines (5 μ L) was performed at 37 °C using a column MERCK LiChroCart HPLC 3 Purospher RP-C18, 5 μ m, 150 mm. The solvents were as follows: buffer pH 8.0: Tris 0.1 M pH 8.0 /acetic acid 0.1 M / water (2/1/2); solvent A: buffer pH 8.0 (30 mL) / acetonitrile (550 mL) / water (420 mL); solvent B: buffer pH 8.0 (2 mL) / acetonitrile (900 mL) / water (100 mL). The dansylated amines were detected at 254 nm. The peaks were identified by comparing their retention time and the retention time of the standard mixtures of amines. The biogenic amines were quantified using calibration curves calculated from the analysis of commercial amines mixture with the increasing concentration rates known (8 μ g to 1 mg/g of cheese equivalent) in a 0.02 mol L⁻¹ sulphuric acid.

Analysis of free fatty acids

Free fatty acids (FFA) were extracted from the cheese using a method by Deeth et al. [12]. Acetyl chloride was used as a methylating reagent [25]. The separation was performed using a gas chromatograph (Agilent Technologies) equipped with a mass detector (GC/MS), a capillary column (Agilent DB-224 MS), its parameters being 60 m \times 250 μ m \times 0.25 μ m. The injector temperature was changed by continuously raising it from 70 °C to 240 °C at a rate of 4 °C min⁻¹. During the entire period of investigation, the flow rate of gaseous carrier (helium) was 2.0 mL/min and the split flow ratio was 1 : 100. The peaks were identified and quantified using the FFA standard values. The relative fatty acids composition was estimated as a percentage of the total peak area.

Statistical analysis

The data were statistically analysed using a Statistica AGXP V.5.5 software. Mean values with standard deviations were reported.

Results and discussion

Microbiological characteristics

Fig. 1. shows changes in the quantities of yeast and lactic acid bacteria cells in cheeses during ripening. The yeast population in the experimental cheeses inoculated with *Y. lipolytica* JIIIc systematically grew and reached the maximum level of 7.9 log cfu/g in the 6th week of ripening. During the next two weeks, their quantity slightly decreased. The similar maximum yeast counts were found in the cheeses produced with four *Y. lipolytica* strains, even though they used a higher initial yeast cell concen-

tration rate of ca. 1 log cycle [33]. Other authors reported significantly lower numbers of that yeast genus in the Cheddar cheese, co-inoculated with *Y. lipolytica*; moreover, they ceased to survive after four months of ripening [14]. In the Limburger cheese, *Y. lipolytica* genus was found only during the first half of the ripening period; after that period, they were not detectable [56]. In our control cheeses, the yeasts were detected after two weeks and their maximal level was 3.6 log cfu/g at the last stage of ripening. Their colony appearance differed from easy recognizable, rough and wrinkled colonies of *Y. lipolytica*. The lactic acid bacteria exhibited a similar growth pattern in both the experimental and control cheeses. However, the number of lactic bacteria detected on M17 agar plates was higher than on MRS. Those results suggest that the starter lactococci grow better in the cheese than the leuconostocs and the non-starter lactobacilli, for which the two above named media were used.

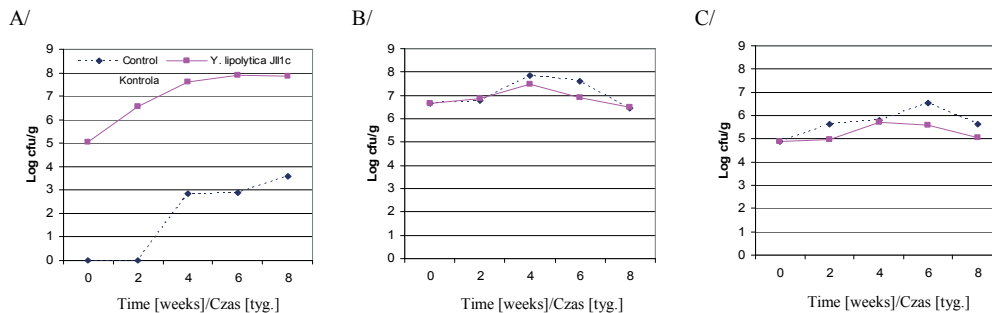


Fig. 1. Total count of micro-organisms in cheeses during ripening. (A) yeast; (B) Lactococci; (C) Lactobacilli

Rys. 1. Ogólna liczba drobnoustrojów w serach, w trakcie procesu dojrzewania. (A) drożdże, (B) paciorkowce, (C) pałeczki mlekowe.

The quantities of cells in both groups of the lactic bacteria increased until the fourth week of maturation by 1.0 - 1.5 log unit; thereafter, they declined. Generally, their populations were slightly more numerous in the control sample than in the cheeses produced with the yeast adjunct culture. Similarly, Hansen et al. [20] did not find significant differences in the counts of lactic bacteria between the Mycella cheeses matured with or without *Saccharomyces cerevisiae* FB7 co-starter [20]. In contrast, other authors who searched into the effects of yeast adjunct cultures on the lactic acid bacteria reported a higher growth of the latter group of the microorganisms in cheeses produced with the yeasts added. The authors explained this fact by the deacidification effect of the cheese microenvironment caused by the yeasts and their ability to produce growth factors such as vitamins and amino acids, which stimulate the growth of lactic acid bacteria populations [4, 38].

Physicochemical characteristics

Changes in the cheese composition during ripening are summarized in Tab. 1. The total solids amount increased from 53.40 to 56.19 % and from 51.23 to 54.97 % in the control and experimental cheeses, respectively. The fat concentration in the dry matter and proteins was continuously increasing as the result of the continuously decreasing cheese moisture. Significant differences among the cheeses during ripening were found in the increases of pH values; they were about 0.9 of pH unit higher in the experimental compared to the control cheeses. After 8 weeks, the pH value in those cheeses reached a level of 6.37 and 5.47, respectively. A possible reason of a more dynamic increase in the pH value in the cheeses inoculated with yeasts could be the utilisation of the lactic acid by *Y. lipolytica*. Generally, the yeasts occurring in the cheeses contribute to the deacidification thereof by assimilating organic acids and by forming alkaline products from the lactic acid bacteria metabolites [2, 11, 37, 50,]. However, Ferreira and Viljoen [14] reported that pH in the Cheddar cheese produced with a *Y. lipolytica* yeast co-starter remained lower than in the control cheese during three months of ripening; they attributed this fact to the higher count of lactic acid bacteria to produce lactic acid at higher concentrations in that cheese [14].

Table 1

Physicochemical parameters of cheeses during ripening.

Właściwości fizykochemiczne serów podczas procesu dojrzewania.

Cheese Ser	Time [weeks] Czas [tyg.]	Dry matter [DM] Sucha masa [%]	Fat Tuszcz [%]	Fat in DM Tuszcz w suchej masie [%]	Protein Białko [%]	NaCl [%]	Titrateable acidity Kwasowość miareczkowa [°SH]	pH
Control sample Próba kontrolna	0	53.40 ± 0.09	20.51 ± 0.24	38.40 ± 0.03	28.85 ± 0.25	1.03 ± 0.02	45.6 ± 0.05	4.78 ± 0.05
	4	54.97 ± 0.27	21.93 ± 0.09	39.89 ± 0.26	29.34 ± 0.04	1.19 ± 0.25	58.7 ± 0.15	5.16 ± 0.11
	8	56.19 ± 0.36	22.72 ± 0.19	40.43 ± 0.33	30.12 ± 0.03	1.17 ± 0.03	64.8 ± 0.05	5.47 ± 0.75
Experimental cheese sample Próba badana	0	51.23 ± 0.25	20.06 ± 0.04	39.17 ± 0.01	27.33 ± 0.11	1.14 ± 0.32	44.7 ± 0.29	4.72 ± 0.30
	4	53.23 ± 0.20	21.27 ± 0.12	39.97 ± 0.16	28.74 ± 0.26	1.17 ± 0.28	78.7 ± 0.08	5.58 ± 0.31
	8	54.97 ± 0.31	22.33 ± 0.28	40.63 ± 0.31	29.64 ± 0.33	1.23 ± 0.27	113.0 ± 0.33	6.37 ± 0.18

± SD (standard deviation) / ± Odchylenie standardowe

Changes in the organic acids content in cheeses during ripening are shown in Tab. 2. Among all the acids determined (lactic, citric, propionic, acetic, succinic, and formic), the concentration rates of lactic and citric acids were the highest in the control and experimental cheeses. However, the total content of organic acids in the experimental cheeses was lower than in the control cheeses during the entire ripening process. During 8 weeks of maturation, the concentrations of those acids in the cheeses studied generally decreased. However, their decrease in the yeast-inoculated cheeses was more dynamic than in the control ones. A particularly significant decrease was reported in the contents of lactic and citric acids; this could be explained by a more intensive utilisation of these acids by the yeast co-starter; therefore, the result was a higher pH increase in these cheeses. Lactic acid generally prevails in cheeses; however, depending on the type and age of cheese, the concentrations thereof ranges between 1.94 and 17.4 mg/g cheese [6].

Table 2

Contents of organic acids in cheeses during ripening.
Zawartość kwasów organicznych w serach podczas procesu dojrzewania.

Cheese Ser	Ripening time [weeks] Czas dojrzewania [tyg.]	Organic acid / Kwas organiczny [mg/100 g]					
		Lactic Mlekowy	Citric Cytrynowy	Succinic Bursztynowy	Propionic Propionowy	Acetic Octowy	Formic Mrówkowy
Control sample Próba kontrola	0	1649.7 ± 0.10	211.3 ± 0.04	3.7 ± 0.09	73.2 ± 0.25	32.0 ± 0.17	2.1 ± 0.17
	4	832.4 ± 0.17	184.6 ± 0.11	2.0 ± 0.16	62.4 ± 0.15	27.4 ± 0.25	3.4 ± 0.14
	8	154.2 ± 0.26	92.5 ± 0.18	1.8 ± 0.18	68.5 ± 0.14	21.3 ± 0.26	2.1 ± 0.04
Experimental cheese sample Próba badana	0	1357 ± 0.40	156.1 ± 0.22	3.4 ± 0.10	71.8 ± 0.35	34.5 ± 0.41	2.7 ± 0.12
	4	570 ± 0.33	92.3 ± 0.30	nd	40.5 ± 0.27	18.3 ± 0.26	1.5 ± 0.28
	8	54 ± 0.20	26.7 ± 0.13	nd	20.7 ± 0.14	13.7 ± 0.31	1.5 ± 0.15

nd – < 0.002 mg/100 g cheese; ± SD (standard deviation), nd – < 0.002 mg/100 g sera; ± SD (odchylenie standardowe)

In the cheeses under analysis, after 8 weeks of ripening, the content of lactic acid remained at a level of 154.2 and 54.0 mg/100 g in the control and experimental cheese

samples, respectively. Lactic acid is essential to properly manufacture cheese and for the ripening process. It can be further metabolized by a secondary starter and a non-starter micro-flora of cheeses [35]. Citric acid is also easily metabolized by some lactic acid bacteria to volatile flavour compounds (diacetyl, acetic acid) [35]. This acid is not detectable in some aged cheeses, especially in those of a long maturation time, such as: Emmental, Parmigiano-Reggiano [36]. Moreover, in Halloumi, a traditional Cyprian ovine cheese kept in brine, no citric acid was detected [29]. The decrease in the content of other organic acids in the cheeses analyzed was a bit surprising. Usually, their concentrations increase along with the ripening period [3, 29]. This decrease was likely owing to high fermentative activity of a starter micro-flora abundantly occurring immediately after cheese manufacture.

Proteolysis

The protein degradation during cheese ripening resulted in the increase in WSN from about 5 % in fresh cheeses to 18.20 % and 33.21 % of total nitrogen at the end of the ripening period in the control and experimental cheeses, respectively. Aljewicz et al. [2] reported comparable values. Changes in the concentrations of free amino groups in the water-soluble and PTA-soluble fractions showed the same tendency as WSN. During the whole maturation period, their content was about twice as high in the cheeses ripened with yeast co-culture compared to the control samples. After 8 weeks, the concentration rates of free amino groups in the experimental cheeses reached 8637 and 3423 $\mu\text{M Gly}/100\text{g}$ in WSF and PTA fractions, respectively (Tab. 3).

A higher release of free amino groups in cheese produced with the yeast adjunct cultures was correlated with the increased production of soluble nitrogen compounds. Such a relationship was reported by a number of authors [10, 37, 56].

The protein degradation was also electrophoretically monitored (Fig. 2). The patterns of cheese proteins at different stages of ripening showed a very intensive proteolysis in the cheeses under analysis compared to the control sample cheese. After two weeks of degradation, at first, the changes were found in α_s -casein fraction. At this stage, the intensity of the band corresponding to $\alpha_s - \text{I}$ peptide was the highest. After four weeks, a reduction of the intensity of β -casein band was also confirmed, and it was concomitant to the increase in the bands corresponding to γ -caseins. At the end of the ripening period, the bands corresponding to the main casein fractions disappeared almost completely. In the control cheeses, most of the α_s - and β -casein remained intact until the end of ripening.

Table 3

Increase in contents of WSN and free amino groups in cheese during ripening.

Przyrost azotu rozpuszczalnego i wolnych grup aminowych w serach podczas procesu dojrzewania.

Cheese Ser	Ripening time [weeks] Czas dojrzewania [tyg.]	WSN/N _{total} [%]	Free amino groups [μ M Gly/100 g cheese] Wolne grupy aminowe [μ M Gly/100 g sera]	
			in water soluble fraction we frakcji rozp. w wodzie	in PTA soluble fraction we frakcji rozp. w PTA
Control sample Próba kontrola	0	4.72 \pm 0.17	937 \pm 0.15	0
	4	9.93 \pm 0.11	2542 \pm 0.05	664 \pm 0.31
	8	18.20 \pm 0.26	4623 \pm 0.19	1533 \pm 0.29
Experimental cheese sample Próba badana	0	5.06 \pm 0.15	943 \pm 0.25	0
	4	17.20 \pm 0.06	4267 \pm 0.33	994 \pm 0.17
	8	33.21 \pm 0.19	8637 \pm 0.37	3423 \pm 0.33

\pm SD (standard deviation) / odchylenie standardowe

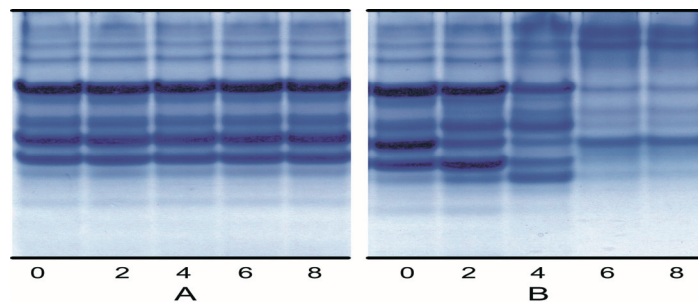


Fig. 2. Urea-PAGE of cheese proteins during ripening of (A) control cheese and (B) experimental Cheese.

Rys. 2. Rozdział elektroforetyczny białek serów podczas procesu dojrzewania. (A) ser kontrolny, (B) ser eksperymentalny.

Formation of biogenic amines

All main biogenic amines were detected in the two investigated cheeses (Tab. 4). Their concentrations increased during ripening and reached a significantly higher level in the cheeses analyzed (442.62 mg/100 g) than in the control cheeses (213.27 mg/100 g). After 8 weeks of the maturing of cheeses studied, the highest content of biogenic amines was reported in tyramine (167.01), in putrescine (77.90), and in 2-phenylethylamine (69.54 mg/100 g). On the contrary, the concentration rate of histamine was

the lowest, but it was similar in both cheeses (9.47 and 9.81 mg/100 g in the control and experimental cheeses, respectively). The presence of biogenic amines in cheeses is attributed to the decarboxylating activity of microorganisms. It is confirmed that the starter cultures have a great impact on the formation of biogenic amines in cheeses; however, according to Innocente and de Agostin [21], there is no direct correlation between the microbial counts in cheese and the content of biogenic amines therein [21]. Their formation can be affected by different factors, such as: raw milk quality, composition of cheese microflora, synergism among various species, proteolysis, salt content, pH level, and ripening temperature [43, 45]. So far, the role of yeast in the production of those compounds has not been well recognized. It was found that three strains of *Y. lipolytica* originating from a Pecorino Crotonese cheese were able to decarboxylate ornithine, phenylalanine, tyrosine, and lysine, but not histidine [17, 44]. In addition, the results obtained in our previous investigations showed that the *Y. lipolytica* strains could generate the formation of biogenic amines while growing in milk [41, 44]. It was reported that the biogenic amines in the hard, Dutch-type cheese increased significantly during ripening and the tyramine was, quantitatively, the most important biogenic amine [30].

Table 4

Content of biogenic amines in cheeses during ripening.
Zawartość amin biogennych w serach podczas procesu dojrzewania.

Biogenic amines [mg/100 g of cheese] Aminy biogenne [mg/100 g sera]	Control Cheese Ser kontrolny			Experimental Cheese Ser eksperymentalny		
	Ripening time [weeks] / Czas dojrzewania [tyg.]					
	0	4	8	0	4	8
TRY	nd	nd	14.84 ± 0.08	nd	7.24 ± 0.18	20.13 ± 0.21
PHE	nd	19.81 ± 0.11	36.55 ± 0.15	16.3 ± 0.05	42.15 ± 0.32	69.54 ± 0.18
PUT	nd	6.70 ± 0.09	24.01 ± 0.21	nd	25.45 ± 0.22	77.90 ± 0.13
CAD	nd	22.72 ± 0.08	27.50 ± 0.1	7.23 ± 0.16	39.21 ± 0.19	51.31 ± 0.11
HIS	nd	1.88 ± 0.27	9.47 ± 0.19	nd	nd	9.81 ± 0.09
TYR	nd	36.89 ± 0.15	59.27 ± 0.19	16.55 ± 0.3	95.30 ± 0.08	167.01 ± 0.41
SPE	nd	12.15 ± 0.11	20.11 ± 0.19	nd	11.15 ± 0.22	20.24 ± 0.14
SPN	nd	12.25 ± 0.09	21.52 ± 0.42	nd	21.13 ± 0.22	26.68 ± 0.16
Total	-	112.40	213.27	40.08	241.63	442.62

Explanatory notes: / objaśnienia:

nd – not determined < 0.002 mg/100 g of cheese; ± SD (standard deviation); TRY – Tryptamine / Tryptamina, PHE – β-Phenylethylamine / β-Fenyloetyloamina, PUT – Putrescine / Putrescyna, CAD – Cadaweryne / Kadaweryna, HIS – Histamine / Histamina, TYR – Tyramine / Tyramina, SPE – Spermine / Spermina, SPN – Spermidine / Spermidyna.

FFA profile

The lipolytic changes occurring during cheese maturation were monitored using the determination of the free fatty acids (FFA). Table 5 shows their individual and total contents at every stage of ripening. In most cases, the content of FFAs increased progressively during ripening. However, the degree of fatty acids released in the cheeses produced with *Y. lipolytica* JII1c was markedly higher than that found in the control cheese samples. At the end of ripening period, the total concentration rate of free fatty acids in the experimental and control cheeses were 18624 mg/kg and 9303 mg/kg, respectively. In both cheeses, it was confirmed that the concentration of oleic acid was the highest and was followed by the concentrations of palmitic, myristic, and stearic acids.

Table 5

Content of free fatty acids (FFA) in cheeses during ripening.

Zawartość wolnych kwasów tłuszczowych (WKT) w serach podczas procesu dojrzewania.

FFA / WKT [mg/kg]	Control Cheese Ser kontrolny			Experimental Cheese Ser eksperymentalny		
	Ripening time [weeks] / czas dojrzewania [tyg.]					
	0	4	8	0	4	8
C ₄	34 ± 0.16	192 ± 0.36	399 ± 0.26	42 ± 0.17	647 ± 0.37	1430 ± 0.41
C ₆	23 ± 0.16	171 ± 0.32	238 ± 0.33	35 ± 0.27	539 ± 0.38	762 ± 0.28
C ₈	32 ± 0.25	166 ± 0.27	293 ± 0.30	38 ± 0.27	183 ± 0.30	425 ± 0.33
C ₁₀	63 ± 0.27	267 ± 0.25	542 ± 0.34	62 ± 0.47	246 ± 0.18	627 ± 0.27
C ₁₂	53 ± 0.25	210 ± 0.24	560 ± 0.37	57 ± 0.32	538 ± 0.36	924 ± 0.41
C ₁₄	134 ± 0.11	1002 ± 0.33	1473 ± 0.41	149 ± 0.31	1402 ± 0.30	2503 ± 0.26
C ₁₆	426 ± 0.23	874 ± 0.36	1634 ± 0.31	489 ± 0.46	1856 ± 0.37	3806 ± 0.21
C _{18:0}	127 ± 0.14	621 ± 0.22	1010 ± 0.31	134 ± 0.36	1267 ± 0.33	2324 ± 0.40
C _{18:1}	334 ± 0.13	1304 ± 0.35	2412 ± 0.24	350 ± 0.18	2595 ± 0.37	3851 ± 0.50
C _{18:2}	123 ± 0.25	164 ± 0.26	734 ± 0.13	135 ± 0.16	893 ± 0.39	1964 ± 0.31
Total content of FFA	1351	4974	9297	1495	10168	18619

± SD (standard deviation / odchylenie standardowe)

A significant difference between the cheeses was in the content of short-chain fatty acids, especially the butyric and capronic acids, which were 3.6 and 3.2-times higher in the yeast-inoculated cheeses than in the control samples. This finding coincides with the results reported by other researchers who found that the inoculation with *Y. lipolytica* and its enzymes resulted in the highest increase in the contents of butyric

and caproic acids [37, 56]. Moreover, de Wit et al. [10] found the highest concentrations of oleic and palmitic acids among the long chain fatty acids and the contents of acetic and butyric acids among the volatile free fatty acids in the Cheddar cheese inoculated with *Y. lipolytica* as a single culture or with a mixed co-starter culture containing *Debaryomyces hansenii* [10]. Lanciotti et al. [33] reported that four strains of *Y. lipolytica* used in cheese production induced quantitative and qualitative differences in the content of the individual fatty acids compared to the control sample; however, the short-chain fatty acids did not differ significantly [33].

Conclusions

1. The *Y. lipolytica* JIIIc yeast strain applied as an adjunct culture showed a good growth in cheeses during their ripening periods.
2. The growth of yeasts was correlated with a more intensive protein degradation, which resulted in higher contents of water-soluble nitrogen and free amino groups compared to control cheeses. However, at the same time, a higher concentration level of biogenic amines, especially of tyramine, was found in that cheese.
3. The addition of a yeast co-starter to the cheese caused the pH level to increase; this was probable owing to a more intensive utilisation of lactic and citric acids, which usually prevailed in the cheeses.
4. The yeast starter culture significantly impacted the lipolysis during cheese ripening; the consequence of this impact was a higher accumulation level of long-chain (oleic, palmitic, myristic and stearic) and short-chain free fatty acids (especially butyric and caproic) in the cheeses analysed compared to the control samples.
5. The results of the present research study have proven the *Y. lipolytica* yeasts to be a promising adjunct culture for applications in cheese production owing to their potential to accelerate the ripening process of cheeses significantly.

Acknowledgements

This work was financially supported by the Ministry of Science and High Education. Project No. WW312213036.

References

- [1] Addis E., Fleet G.H., Cox J.M., Kolak D., Leung T.: The growth, properties and interactions of yeasts and bacteria associated with the maturation of Camembert and blueveined cheese. *Int. J. Food Microbiol.*, 2001, **69**, 25-36.
- [2] Aljewicz M., Cichosz G., Kowalska M.: Wpływ dodatku kultur probiotycznych *Lactobacillus* na intensyfikację proteolizy w serach typu holenderskiego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **5 (72)**, 136-145.
- [3] Alkalin A.S., Gonc S., Akbas Y.: Variation in organic acids content during ripening of pickled white cheese. *J. Dairy Sci.*, 2002, **85**, 1670-1676.

- [4] Álvarez-Martin P., Flórez A.B., Hernández-Baranco A., Mayo B.: Interaction between dairy yeast and lactic acid bacteria strains during milk fermentation. *Food Contr.*, 2008, **19**, 62-70.
- [5] Andrews A.T.: Proteinases in normal bovine milk and their action on caseins. *J. Dairy Res.*, 1983, **50**, 45-55.
- [6] Bevilacqua A.E., Califano A.N.: Determination of organic acids in dairy products by high performance liquid chromatography. *J. Food Sci.*, 1989, **54**, 1076-1079.
- [7] Blakesley R.W., Boezi J.A.: A new staining technique for protein in polyacrylamide gels using Coomassie Brilliant Blue G250. *Anal. Biochem.*, 1977, **82**, 580-582.
- [8] Bütikofer U., Fuchs D., Hurni D., Bosset J.O.: Contribution of the determination of biogenic amines in cheeses. Comparison of a HPLC- and an IC-method and application to several cheeses. *Mitt. Lebensmitt. Hyg.*, 1990, **81**, 120-133.
- [9] Corzo G., Revah S.: Production and characteristic of the lipase from *Yarrowia lipolytica* 681. *Biores. Technol.*, 1999, **70**, 173-180.
- [10] De Wit M., Osthoff G., Viljoen B.C., Hugo A.: A comparative study of lipolysis and proteolysis in Cheddar cheese and Yeast-inoculated Cheddar cheese during ripening. *Enzym. Microbiol. Technol.*, 2005, **37**, 606-616.
- [11] Deak T., Beuchat L.R.: *Handbook of Food Spoilage Yeasts*. CRC Press, New York, USA 1996.
- [12] Deeth H.C., Fitz-Gerald C.H., Snow A.J.: A gas chromatographic method for the quantitative determination of free fatty acids in milk and milk products. *J. Dairy Sci.*, 1983, **18**, 230-233.
- [13] Etter R., Dietrich S., Battaglia R.: Determination of biogenic amines in food. *Mitt. Lebensmitt. Hyg.*, 1990, **81**, 106-119.
- [14] Ferreira A.D., Viljoen B.C.: Yeasts as adjunct starters in matured Cheddar cheese. *Int. J. Food Microbiol.*, 2003, **86**, 131-140.
- [15] Fleet G.H.: A review: yeasts in dairy products. *J. Appl. Bact.*, 1990, **68**, 199-211.
- [16] Fleet G.H.: Spoilage yeast's. *Crit. Rev. Biotechnol.*, 1992, **12**, 1-44.
- [17] Gardini F., Tofalo R., Belletti N., Iucci L., Suzzi G., Torriani S., Guerzoni M.E., Lanciotti R.: Characterization of yeasts involved in the ripening of Pecorino Crotonese cheese. *Food Microbiol.*, 2006, **23**, 641-648.
- [18] Glover D.J., McEwen R.K., Thomas C.R., Young T.W.: pH-Regulated expression of the acid and alkaline extracellular proteases of *Yarrowia lipolytica*. *Microbiol.*, 1997, **143**, 3045-3054.
- [19] Guerzoni M.E., Gobetti M., Lanciotti R., Vannini L., Lopez C.C.: *Yarrowia lipolytica* as potential ripening agent in milk products. in: *Yeast in the Dairy Industry: Positive and Negative Aspects*. Eds. M. Jakobsen, J. Narvhus, B.C. Viljoen. FIL-IDF, Copenhagen, Denmark 1998, pp. 23-33.
- [20] Hansen T.K., van den Tempel T., Cantor M.D. Jacobsen M.: *Saccharomyces cerevisiae* as a starter culture in Mycella. *Int. J. Food Microbiol.*, 2001, **69**, 101-111.
- [21] Innocente N., Agostin P.D.: Formation of biogenic amines in a typical semihard Italian cheese. *J. Food Prot.*, 2002, **65**, 1498-1501.
- [22] International Dairy Federation Determination of casein content of milk. Standard 29. IDF, Brussels, Belgium 1964.
- [23] International Dairy Federation Determination of fat (cheese) Standard 5B. IDF, Brussels, Belgium 1988.
- [24] International Dairy Federation. Determination of nitrogen content (Kjeldahl method) and calculation of crude protein content. Standard 20 A. FDI, Brussels, Belgium 1986.
- [25] International Dairy Federation. Biulletin 265, Brussels, Belgium 1991.
- [26] Jakobsen M., Narvhus J.: Yeasts and their possible beneficial and negative effects on the quality of dairy products. *Int. Dairy J.*, 1996, **6**, 755-768.
- [27] Jarret W.D., Aston J.W., Dulle J.R.: A simple method for estimating free amino acids in Cheddar cheese. *Aust. J. Dairy Technol.*, 1982, **6**, 55-58.


- [28] Juszczak P., Wojtatowicz M., Żarowska B., Chrzanowska J., Malicki A.: Diversity of physiological and biochemical properties within yeast species occurring in Rokpol cheese. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2005, **14**, 257-261.
- [29] Kaminarides S., Stamou P., Massouras T.: Changes of organic acids, volatile compounds and sensory characteristics of Holloumi cheese kept in brine. *Food Chem.*, 2007, **100**, 219-225.
- [30] Komprda T., Smela D., Novicka K., Kolhotka L., Sustova K., Pechowa P.: Content and distribution of biogenic amines in Dutch-type hard cheese. *Food Chem.*, 2007, **102**, 129-137.
- [31] Kuchroo C.N., Fox P.F.: Soluble nitrogen in Cheddar cheese: comparison of extraction procedures. *Milchwiss.*, 1982, **37**, 331-335.
- [32] Kuchroo C.N., Rahilly J., Fox P.F.: Assessment of proteolysis in cheese by reaction with trinitrobenzene sulphonic acid. *Ir. J. Food Sci. Technol.*, 1983, **7**, 129-133.
- [33] Lanciotti R., Vanini L., Lopez C.C., Gobbetti M., Guerzoni M.E.: Evaluation of the ability of *Yarrowia lipolytica* to impart strain-dependent characteristics to cheese when used as ripening adjunct. *Int. J. Dairy Technol.*, 2005, **58**, 89-99.
- [34] Matoba S., Ogrydziak D.M.: A novel location for dipeptidyl aminopeptidase processing sites in the alkaline extracellular protease of *Yarrowia lipolytica*. *J. Biol. Chem.*, 1989, **264**, 6037-6043.
- [35] McSweeney P.L.H., Sousa M.J.: Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheese during ripening: a review. *Lait*, 2000, **80**, 293-324.
- [36] Panari G.: HPLC of organic acids: an approach to cheese analysis. *Milchwissenschaft*, 1986, **41**, 214-216.
- [37] Pokora M., Niedbalska J., Szoltysik M.: Wpływ enzymów drożdży *Yarrowia lipolytica* na wybrane cechy jakościowe dojrzewających serów niskotłuszczowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **5 (72)**, 146-158.
- [38] Reys A.: Bacterial surface-ripened cheeses. In *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. Eds P.F. Fox. Elsevier Applied Science Publishers, London 1993, pp.1-137.
- [39] Roostita R., Fleet G.H.: Growth of yeasts in milk and associated changes to milk composition. *Int. J. Food Microbiol.*, 1996, **31**, 205-219.
- [40] Rossi J., Gobetti M., Buzzini P., Corsetti A., Smacchi E., De Angelis M.: Yeast in dairy. *Ann. Microbiol. Enz.*, 1997, **47**, 169-183.
- [41] Szoltysik M., Żelazko M., Rak L., Połomska X., Dąbrowska A., Wojtatowicz M., Chrzanowska J.: The ability of yeasts *Yarrowia lipolytica* isolated from cheese to produce biogenic amines in milk. *Acta Sci. Pol., Biotechnol.*, 2006, **5**, 87-94.
- [42] Schneller R., Good P., Jenny M.: Influence of pasteurized milk, raw milk and different ripening cultures on biogenic amine concentrations in semi-soft cheeses during ripening. *Zeits. Lebens. Unt. Forsch. A*, 1997, **204**, 265-272.
- [43] Stratton J.E., Hutkins R.V., Taylor S.L.: Biogenic amines in cheese and other fermented foods. A review. *J. Food Prot.*, 1991, **54**, 460-470.
- [44] Szczepaniak G., Wojtatowicz M.: Dobór szczepów *Yarrowia lipolytica* i *Debaryomyces hansenii* do szczepionki wspomagającej proces dojrzewania sera. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, **6 (79)**, 192-203.
- [45] Valsamaki S., Michaelideou A., Polychroniadou A.: Biogenic amine production in Feta cheese. *Food Chem.*, 2000, **71**, 259-266.
- [46] van den Tempel T., Jakobsen M.: Yeast associated with Danablu cheese. *Int. Dairy J.*, 1998, **8**, 25-31.
- [47] van den Tempel T., Jakobsen M.: The technological characteristic of *Candida* isolated from Danablu. In: *Yeast in the Dairy Industry: Positive and Negative Aspects*. Eds. M. Jakobsen, J. Narvhus, B.C. Viljoen. FIL-IDF, Copenhagen, Denmark 1998, pp. 59-69.
- [48] van den Tempel T., Jakobsen M.: The technological characteristics of *Debaryomyces hansenii* and *Yarrowia lipolytica* and their potential as starter cultures for production of Danablu. *Int. Dairy J.*, 2000, **10**, 263-270.

- [49] Viljoen B.C., Greyling T.: Yeast associated with Cheddar and Gouda making. *Int. J. Food Microbiol.*, 1995, **28**, 79-88.
- [50] Viljoen B.C.: The ecological diversity of yeasts in dairy products. In: *Yeast in the Dairy Industry: Positive and Negative Aspects*. Eds. M. Jakobsen, J. Narvhus, B.C.Viljoen, FIL-IDF, Copenhagen, Denmark 1998, pp. 70-77.
- [51] Viljoen B.C., Khoury A.R., Hattingh A.: Seasonal diversity of yeasts associated with white-surface mould-ripened cheeses. *Food Res. Int.*, 2003, **36**, 275-283.
- [52] Welthang J.J., Viljoen B.C.: Yeast profile in Gouda cheese during processing and ripening. *Int. J. Food Microbiol.*, 1998, **41**, 185-194.
- [53] Welthang J.J., Viljoen B.C.: The isolation and identification of yeasts obtained during the manufacture and ripening of cheddar cheese. *Food Microbiol.*, 1999, **16**, 63-73.
- [54] Wickerham L.J.: *Taxonomy of Yeasts*. U.S, Department of Agriculture Technical. Bull. No1029, Washington, USA, 1951, pp.1-56.
- [55] Wojtatowicz M., Chrzanowska J., Juszczyk P., Skiba A., Gdula A.: Identification and biochemical characteristic of yeast microflora of Rokpol cheese. *Int. J. Food Microbiol.*, 2001, **69**, 135-140.
- [56] Wyder M.T., Puhan Z.: Role of selected yeasts in cheese ripening: an evaluation in aseptic cheese curd slurries. *Int. Dairy J.*, 1999, **9**, 117-122.
- [57] Żarowska B., Wojtatowicz M., Juszczyk P., Połomska X., Chrzanowska J.: Factors affecting killer activity of some yeast species occurring in Rokpol cheese. *Folia Microbiol.*, 2004, **49**, 713-717.

ZMIANY BIOCHEMICZNE I MIKROBIOLOGICZNE W SERZE WYPRODUKOWANYM PRZY UDZIALE DROŹDŻY *YARROWIA LIPOLYTICA*

Streszczenie

Szczep drożdży *Yarrowia lipolytica* JIIIc wyizolowany z sera Rokpol z przerostem pleśni zastosowany został jako kultura wspomagająca do produkcji sera typu holenderskiego. W pracy oceniano jego wpływ na właściwości biochemiczne wyprodukowanego sera oraz na rozwój mikroflory. Mleko użyte do produkcji sera zostało zaszczerpienie komórkami drożdży w ilości 10^5 jtk/mL. Podczas dojrzewania liczba drożdży systematycznie wzrastała, osiągając w szóstym tygodniu dojrzewania poziom maksymalny $7,9 \log$ jtk/g, natomiast liczba bakterii mlekowych wzrastała jedynie do czwartego tygodnia dojrzewania. W kolejnych tygodniach dojrzewania liczba obu grup drobnoustrojów stopniowo malała. Po 8 tygodniach dojrzewania pH sera, do którego wprowadzono drożdże, było znacząco wyższe w porównaniu z serami kontrolnymi wyprodukowanymi bez udziału tych mikroorganizmów i osiągnęło wartość odpowiednio 6,37 i 5,47. W doświadczalnych serach obserwowano także intensywniejsze przemiany kwasu mlekowego i cytrynowego, a oznaczone wartości azotu rozpuszczalnego (WSN) i wolnych grup aminowych (FAG) były około 2-krotnie wyższe. Intensywniejszej proteolizie w serach otrzymanych przy udziale drożdży *Yarrowia lipolytica* towarzyszyła także wyższa zawartość amin biogennych, zwłaszcza tyraminy, putrescyny i 2-fenyletylaminy. Ich ilości, w przeliczeniu na 100 g sera, wynosiły w 8. tygodniu dojrzewania odpowiednio 167,01, 77,90 i 69,54 mg. Stężenie histaminy w serach badanych i kontrolnych było zbliżone i wynosiło 9,81 i 9,47 mg w 100 g sera. Intensywniejszą lipolizę odnotowano w serach eksperymentalnych, co spowodowało większe stężenie wolnych kwasów tłuszczowych, zwłaszcza masłowego, mirystynowego, palmitynowego, stearynowego i oleinowego. Wykazano, że szczep drożdży *Y. lipolytica* JIIIc wprowadzony do sera wpływał na przyspieszenie procesu jego dojrzewania.

Słowa kluczowe: *Yarrowia lipolytica*, dojrzewanie serów, proteoliza, lipoliza 

MARTA LISZKA-SKOCZYLAS, ANNA PTASZEK, MONIKA HALIK,
MIROSLAW GRZESIK

ZASTOSOWANIE POMIARÓW OSMOMETRYCZNYCH DO OCENY ODDZIAŁYWAŃ POMIĘDZY BIAŁKAMI I POLISACHARYDAMI W WODNYCH ROZTWORACH

Streszczenie

Trwałość produktów spożywczych zależy między innymi od oddziaływań pomiędzy białkami, polisacharydami i wodą. Mogą być one oszacowane na podstawie pomiarów ciśnienia osmotycznego w modelowych układach: rozpuszczalnik – pojedynczy biopolimer lub mieszanina biopolimerów.

Wyjściowy materiał badawczy stanowiły wodne roztwory izolatów białek: serwatkowych (WPI) i sojowych (SPI) oraz wodne roztwory polisacharydów: gumy ksantanowej (XG) i inuliny (INU). W toku dalszych badań sporządzono wodne mieszaniny białek i polisacharydów zawierające dwa lub trzy rozpuszczone składniki: WPI/SPI-XG, WPI/SPI-INU i WPI/SPI-XG-INU. W roztworach zmierzono ciśnienie osmotyczne π w funkcji stężenia i temperatury. Wyznaczono wartości współczynników wirialu, które umożliwiły określenie charakteru oddziaływań pomiędzy molekułami składników roztworów. Otrzymane wyniki wskazują na tworzenie kompleksów polisacharydowo-białkowych. Na podstawie badań wyznaczono także średnie osmotyczne masy cząsteczkowe XG i INU, które wyniosły odpowiednio: 1960 kg/mol i 126 kg/mol).

Słowa kluczowe: izolat białek serwatkowych (WPI), izolat białek sojowych (SPI), guma ksantanowa (XG), inulina (INU), ciśnienie osmotyczne, osmotyczne współczynniki wirialu

Wprowadzenie

Produkty żywnościowe to niejednorodne układy zawierające wiele związków chemicznych, m.in. białek, sacharydów, lipidów oraz elektrolitów. W układach tego typu występują skomplikowane oddziaływania między różnymi składnikami na poziomie molekularnym. Interakcje takie są przedmiotem zainteresowania wielu naukowców i technologów żywności [2, 4, 6, 12, 16-18].

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

Białka i polisacharydy wpływają na wartość odżywczą produktów oraz na ich właściwości funkcjonalne [3, 8, 11, 18, 20]. Wymienione składniki pełnią ważną rolę w kształtowaniu właściwości reologicznych i teksturalnych żywności. Mogą też być stosowane niezależnie jako emulgatory, zagęstniki, środki żelujące czy pieniące [12, 13].

Analiza oddziaływań pomiędzy białkami, polisacharydami i rozpuszczalnikiem obejmuje badania równowagi fazowej w układach typu polimer - polimer - woda i wyznaczenie składu faz pozostających w równowadze. Ważnym i cennym narzędziem poznawczym może być w tym przypadku osmometria. Pomiar ciśnienia osmotycznego roztworów o różnych stężeniach stanowi metodę wyznaczania średniej liczbowej masy cząsteczkowej biopolimerów oraz określenia wartości współczynników wirialu. Znajomość zjawisk osmotycznych związanych z równowagą w układach dwu- lub kilkuskładnikowych jest ważna w rozwiązywaniu problemów związanych z rozpuszczalnością białek w roztworach polisacharydów. Ma to szczególne znaczenie na etapie doboru i wyznaczania ilości odpowiednich polisacharydów.

Metody osmometryczne stosowane były głównie do opisu oddziaływań pomiędzy polisacharydami a wodą [15]. W literaturze przedmiotu brak jest natomiast charakterystyki osmotycznej bardziej złożonych układów zawierających, oprócz polisacharydów, wybrane białka.

Celem przeprowadzonych badań było określenie właściwości osmotycznych wodnych roztworów wybranych białek i polisacharydów, a także ich mieszanin. Na podstawie obserwowanych zmian wartości ciśnienia osmotycznego π w funkcji stężenia i temperatury wyznaczono średnie osmotyczne masy cząsteczkowe i wartości współczynników wirialu. Te ostatnie umożliwiły ocenę charakteru oddziaływań pomiędzy składnikami roztworu na poziomie molekularnym.

Material i metody badań

Material badawczy stanowiły białka i polisacharydy przemysłowe (z grupy hydrokolidów) oraz otrzymane z nich roztwory wodne. Zastosowano białka pochodzenia zwierzęcego – izolat białek serwatkowych (Whey Protein Isolate – WPI, o zawartości 88,14 % białka; Extensor, Siedlce, Polska) oraz roślinnego – izolat białek sojowych (Soya Protein Isolate – SPI, o zawartości 83,74 % białka; PPHU Edmir-Pol i Hutnik, Chorzów, Polska). W badaniach wykorzystano polisacharydy nieskrobiowe, tj. gumę ksantanową (XG) i inulinę INU (Hortimex Plus, Konin, Polska).

Skład mieszanin doświadczalnych przedstawiono w tab. 1.

Tabela 1

Skład mieszanin użytych w badaniach osmometrycznych.
Composition of mixtures used in osmotic research studies.

Układy / Systems	Preparaty białkowe [g] Protein preparations WPI/SPI	XG [g]	INU [g]
Jednoskładnikowy / Single	≤ 0,5	–	–
	–	≤ 0,05	–
	–	–	≤ 0,1
Dwuskładnikowy / Binary	0,5	≤ 0,05	–
	0,5	–	≤ 0,05
Trójskładnikowy / Ternary	0,5	0,025	≤ 0,025

Objaśnienia: / Explanatory notes:

masy podano na 100 cm³ wody / weight values were given as per 100 cm³ of water, WPI – izolat białek serwatkowych / whey protein isolate, SPI – izolat białek sojowych / soy protein isolate, XG – guma ksantanowa / xanthan gum, INU – inulina / inulin

Pomiar ciśnienia osmotycznego π można wykonać tylko w przypadku jednorodnych roztworów, z tego względu stosunek ilościowy składników badanych roztworów dobrano na drodze eksperymentalnej. Ilość dodawanych polisacharydów ograniczona była maksymalną dopuszczalną przez normy ilością hydrokoloidów w produktach spożywczych.

Wszystkie roztwory białek i polisacharydów oraz ich mieszaniny przygotowywano w temp. 20 °C i przy zachowaniu pH w przedziale 6,7 - 7,0. W przypadku obu preparatów białkowych (WPI, SPI) zastosowano procedurę rozpuszczania opisaną w literaturze [7], ze zmianami. W przypadku roztworów polisacharydów 12-godzinne mieszanie w temp. 20 °C (mieszadło magnetyczne, 500 rpm) wystarczyło do otrzymania roztworów o lepkości umożliwiającej przepływ roztworu przez celkę pomiarową osmometru membranowego.

Na podstawie doświadczeń z jednoskładnikowymi układami opracowano procedury przygotowania dwuskładnikowych wodnych roztworów WPI/SPI i polisacharydów (XG/INU) oraz mieszanin trójskładnikowych (WPI/SPI-XG-INU-woda). W przypadku mieszanin dwuskładnikowych odważano 0,5 g białka i zmienną ilość XG lub INU (5 naważek o maksymalnej zawartości hydrokoloidu 0,05 g). W przypadku mieszanin trójskładnikowych naważano po 0,5 g WPI/SPI, 0,025 g XG i zmienną ilość INU (5 naważek o maksymalnej zawartości INU 0,025 g), z zachowaniem preferowanej proporcji pomiędzy białkiem a polisacharydami. Roztwory wytrząsano 12 h w temp. otoczenia, a następnie wirowano (9000 rpm, 10 min, 4 °C). Wszystkie mie-

szaniny zabezpieczano przed działaniem drobnoustrojów, dodając 10 µl wodnego roztworu NaN_2 (0,01 % m/m). Tak otrzymane roztwory poddawano badaniom osmometrycznym.

Do pomiarów ciśnienia osmotycznego posłużył osmometr membranowy Osmomat 090 (Gonotec, Berlin, Niemcy). Urządzenie to umożliwia pomiar ciśnienia osmotycznego, rzędu 0,1 mm słupa wody, polimerów o minimalnej średniej masie cząsteczkowej 2 kg/mol, w zakresie temp. 30 - 50 °C. Podczas pomiarów można korzystać z membran o wartościach obcięcia *cut-off* od 5 do 20 kg/mol. Wielkość porów membrany, a tym samym rodzaj membrany dobrano eksperymentalnie. Był on uzależniony przede wszystkim od średniej masy cząsteczkowej białek (10^4 Da). Badania osmometryczne wykonywano w temp. 30 i 40 °C. Wszystkie pomiary ciśnienia osmotycznego wykonywano w seriach 5 roztworów i w czterech powtórzeniach dla każdego stężenia roztworu. Tak obszerny program badawczy umożliwił estymację parametrów osmotycznego równania stanu [9]:

$$\frac{\pi}{c_w} = \frac{RT}{M_n} \cdot [1 + A_2(T) \cdot c_w + A_3(T) \cdot c_w^2 + \dots],$$

w którym:

$A_2(T)$, $A_3(T)$ – osmotyczny drugi i trzeci współczynnik wirialu,

c_w – stężenie substancji rozpuszczonej,

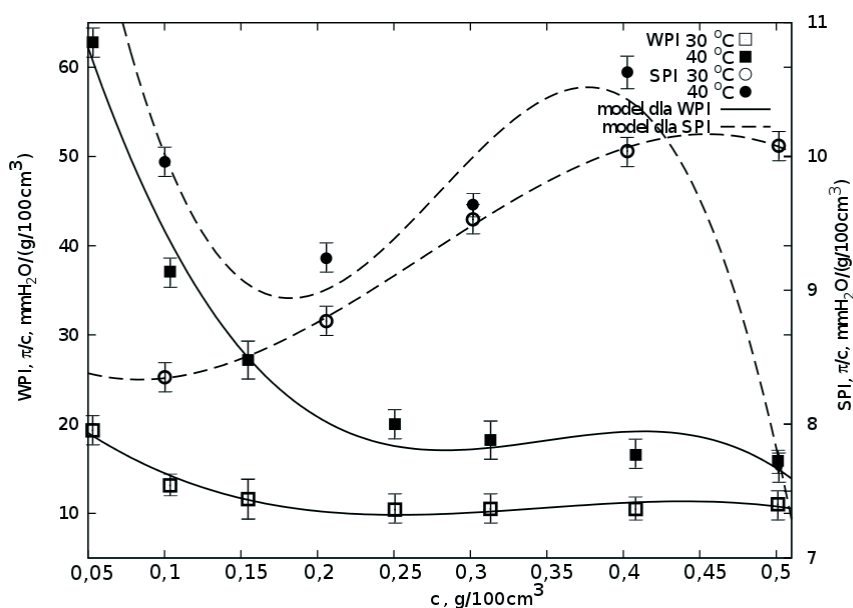
M_n – średnia osmotyczna masa cząsteczkowa.

Współczynniki w powyższym równaniu mają następujący sens fizyczny: wartość średniej osmotycznej masy cząsteczkowej zależy od oddziaływań pomiędzy składnikami roztworu. W przypadku agregacji łańcuchów biopolimerów czy też tworzenia kompleksów przyjmuje ona wartości większe niż masy poszczególnych składników. Jeżeli natomiast substancje rozpuszczone nie oddziałują ze sobą, wyznaczona masa cząsteczkowa jest średnią wartością mas poszczególnych biopolimerów. Wartość drugiego współczynnika wirialu $A_2(T)$ jest istotna ze względu na ilościowy opis oddziaływań pomiędzy rozpuszczonymi biopolimerami [1, 22]. Ujemne wartości współczynnika świadczą o agregacji cząsteczek lub wręcz o ich krystalizacji [5]. Dodatnie wartości odzwierciedlają z kolei bardzo dobre warunki rozpuszczalności, wynikające z doboru odpowiedniego rozpuszczalnika. Jeżeli w układzie nie występują oddziaływania pomiędzy cząsteczkami, brak jest zależności pomiędzy ciśnieniem osmotycznym a stężeniem biopolimeru.

Wyniki i dyskusja

Właściwości koligatywne roztworów białek i roztworów polisacharydów

Wyniki pomiarów ciśnienia osmotycznego roztworów białek przedstawiono na rys. 1. Po przeanalizowaniu zależności $\frac{\pi}{c}(c)$ stwierdzono, że izolat białek serwatkowych wykazywał zdecydowanie większe powinowactwo do wody niż izolat białek sojowych. Objawiało się to większymi wartościami ciśnienia osmotycznego WPI zarówno w temp. 30, jak i 40 °C.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

WPI – izolat białek serwatkowych / whey protein isolate, SPI – izolat białek sojowych / soy protein isolate, c – stężenie / concentration.

Rys. 1. Zależność ciśnienia osmotycznego roztworów białek od ich stężenia, w temp. 30 i 40 °C (układ jednoskładnikowy).

Fig. 1. Dependence of osmotic pressure of protein solutions and their concentration at temperatures of 30 °C and 40 °C (single system).

Zależność π/c od stężenia białka nie jest funkcją liniową. Jej malejący przebieg wskazuje na to, że białka serwatkowe obecne w roztworze wykazują tendencję do agregacji [5, 14]. Wartość drugiego współczynnika wirialu (tab. 2) była ujemna. W przypadku roztworów białek sojowych w temp. 30 °C ciśnienie osmotyczne wzrastało nieliniowo ze wzrostem stężenia białka. Wprawdzie wartość A_2 była ujemna, ale

pod względem wartości bezwzględnej najmniejsza (tab. 2). Otrzymane wyniki wskazują na dobrą rozpuszczalność SPI w wodzie i słabą tendencję cząsteczek białka do agregacji w tym zakresie stężeń [21]. W temp. 40 °C wartości $\frac{\pi}{c}$ (c) wzrastały w zakresie stężeń do 0,4 g/100 cm³, a następnie gwałtownie malały. Oznacza to, że po przekroczeniu stężenia 0,4 g/100 cm³ następowała agregacja cząsteczek tego białka. Wartość drugiego współczynnika wirialu była w tej temperaturze ujemna.

Tabela 2

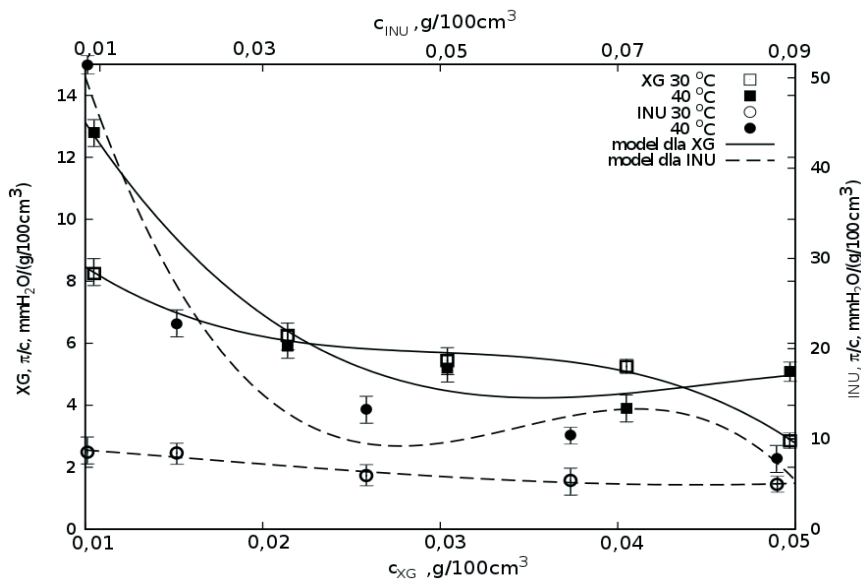
Wartości drugiego współczynnika wirialu w temp. 30 i 40 °C.
Values of second virial coefficient at temperatures of 30 °C and 40 °C.

Układ / System	$A_2 \cdot 10^{-6}$ [cm ³ ·mol·g ⁻²]	
	30 °C	40 °C
WPI	-4,80 ± 0,50	-21,2 ± 0,90
SPI	-0,25 ± 0,05	-2,77 ± 0,10
XG	-25,2 ± 3,50	-45,4 ± 9,2
INU	-1,88 ± 0,40	-95,8 ± 14,4
WPI-XG	14,79 ± 0,39	-1306 ± 10
WPI-INU	14,14 ± 0,12	403,1 ± 35,1
SPI-XG	-868,8 ± 10,2	-397,8 ± 5,6
SPI-INU	-668,5 ± 9,4	-668,2 ± 10,0
WPI-XG-INU	-12486 ± 250	-3389 ± 100
SPI-XG-INU	-3458 ± 100	-7218 ± 100

Objaśnienia / Explanatory notes:

WPI – izolat białek serwatkowych / whey protein isolate, SPI – izolat białek sojowych / soy protein isolate, XG – guma ksantanowa / xanthan gum, INU – inulina / inulin.

Podobnie zachowywały się roztwory inuliny (rys. 2). W temp. 40 °C obserwowano wyższe wartości ciśnienia osmotycznego niż w 30 °C. Drugi współczynnik wirialu był ujemny. Roztwory XG wykazywały znacznie niższe wartości ciśnienia osmotycznego. W temp. 30 °C wartość A_2 była ujemna i największa co do wartości bezwzględnej w grupie układów jednoskładnikowych (tab. 2). Stwierdzono, że inulina dobrze rozpuszczała się w wodzie, ale wykazywała tendencję do agregacji. Zjawisko to nasilało się w wyższej temperaturze – wartości A_2 były dużo większe co do wartości bezwzględnej.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

XG – guma ksantanowa / – xanthan gum, INU – inulina / inulin; c – stężenie / concentration.

Rys. 2. Zależność ciśnienia osmotycznego roztworów polisacharydów od ich stężenia, w temp. 30 i 40 °C (układ jednoskładnikowy).

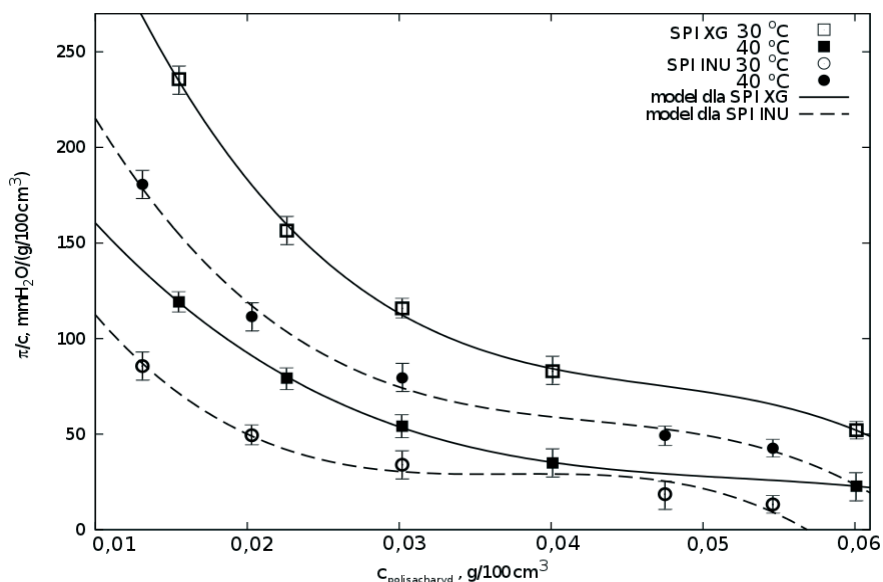
Fig. 2. Dependence of osmotic pressure of polysaccharide solutions and their concentration at temperatures of 30 °C and 40 °C (single system).

XG wykazywała mniejsze powinowactwo do wody, o czym świadczą mniejsze wartości $\frac{\pi}{c}(c)$. Wzrost temperatury do 40 °C nie powodował tak gwałtownych zmian jej rozpuszczalności. Wyznaczono również średnie osmotyczne masy cząsteczkowe gumy ksantanowej i inuliny, które wyniosły odpowiednio 1960 kg/mol i 126 kg/mol.

Roztwory białek i polisacharydów

Dodatek INU lub XG do roztworu SPI (rys. 3) zmienił właściwości osmotyczne układu w porównaniu z układami jednoskładnikowymi. Zaobserwowano bardzo duże wartości ciśnienia osmotycznego, co świadczy o możliwości wiązania dużej ilości wody przez te mieszaniny. Wzrost stężenia polisacharydu powodował nieliniowe zmniejszanie wartości $\frac{\pi}{c}(c)$, co w konsekwencji prowadziło do ujemnych wartości A_2 (tab. 2), zarówno w temp. 30, jak i 40 °C. Zachowanie to może świadczyć o tworzeniu kompleksu pomiędzy białkami izolatu a XG. Jak wskazują Miguelim i wsp. [12], polisacharyd ten zdolny jest do oddziaływania elektrostatycznego z białkami. W przypad-

ku roztworu SPI-INU wzrost temp. do 40 °C spowodował wzrost ciśnienia osmotycznego.



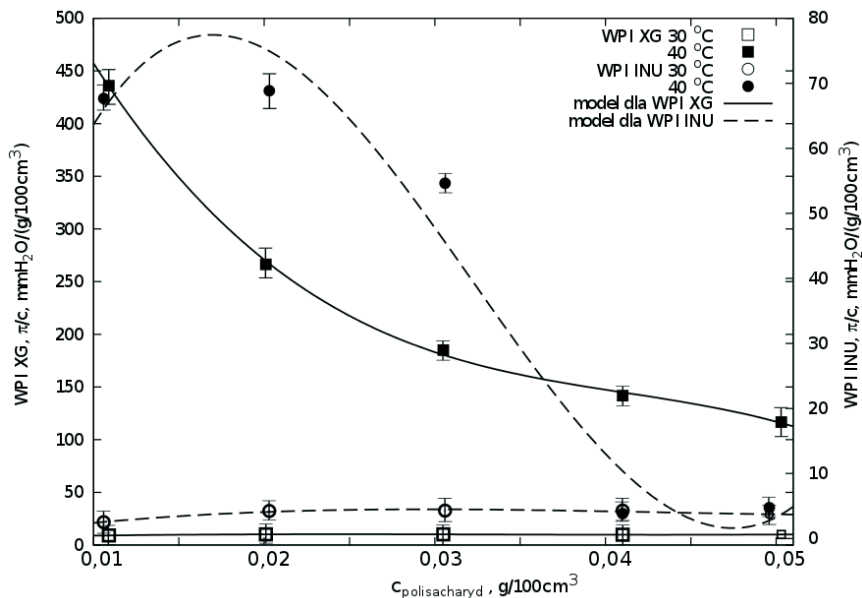
Objaśnienia: / Explanatory notes:

SPI – izolat białek sojowych / soy protein isolate, XG – guma ksantanowa / xanthan gum, INU – inulina / inulin, c – stężenie / concentration.

Rys. 3. Zależność ciśnienia osmotycznego roztworów SPI z polisacharydami od ich stężenia, w temp. 30 i 40 °C (układy dwuskładnikowe).

Fig. 3. Dependence of osmotic pressure of SPI-polysaccharide solutions and their concentration at temperatures of 30 °C and 40 °C (binary systems).

Odmienne zachowanie wykazywały roztwory izolatu białek serwatkowych i polisacharydów (rys. 4). W temp. 30 °C zarówno układy WPI-XG, jak i WPI-INU wykazywały nieliniowo rosnącą zależność ciśnienia osmotycznego od stężenia polisacharydu. Wartości drugiego współczynnika wirialu były dodatnie i zbliżone do siebie (tab. 2). W temp. 40 °C widoczne były różnice we właściwościach koligatywnych. Przede wszystkim wystąpił zdecydowany wzrost ciśnienia osmotycznego w porównaniu z danymi uzyskanymi w 30 °C. W przypadku roztworu WPI i XG ciśnienie osmotyczne gwałtownie malało ze wzrostem stężenia gumy ksantanowej. Drugi współczynnik wirialu był ujemny i, co do wartości bezwzględnej, bardzo wysoki – $1306 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^3 \cdot \text{mol} \cdot \text{g}^{-2}$. Właściwości koligatywne roztworu WPI-INU w temp. 40 °C charakteryzowała dodatnia wartość A_2 .



Objaśnienia: / Explanatory notes:

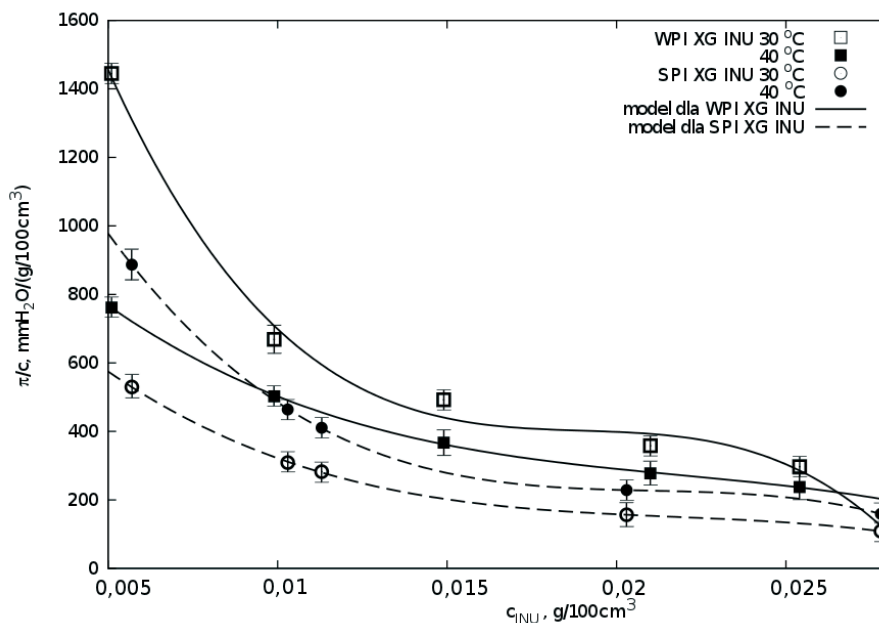
WPI – izolat białek serwatkowych / whey protein isolate, XG – guma ksantanowa / xanthan gum, INU – inulina / inulin, c – stężenie / concentration.

Rys. 4. Zależność ciśnienia osmotycznego roztworów WPI-polisacharyd od stężenia polisacharydów, w temp. 30 i 40 °C (układy dwuskładnikowe).

Fig. 4. Dependence of osmotic pressure of WPI-polysaccharide solutions and concentration of polysaccharides at temperatures of 30 °C and 40 °C (binary systems).

W zakresie niższych stężeń inuliny następował niewielki wzrost ciśnienia osmotycznego, następnie wartości $\frac{\pi}{c}(c)$ gwałtownie malały, a po przekroczeniu stężenia 0,04 g/100 cm³ następował ponowny wzrost π . Oznacza to, że w przypadku tej mieszaniny wystąpiły obszary stężeniowe ograniczonej rozpuszczalności składników układu. Wartości A_2 mieszanin WPI w temp. 30 °C wskazują na stabilizujące działanie XG, która kompleksuje z białkami i zapobiega separacji faz [10, 14]. Wraz ze wzrostem temperatury XG zaczyna ulegać przemianie helisa-kłębek [19], co objawia się ujemną wartością A_2 w temp. 40 °C. Zjawiska tego nie obserwowano w przypadku INU.

Układy trójskładnikowe (rys. 5) charakteryzowały się dużymi możliwościami pochłaniania wody, o czym świadczyły wartości $\frac{\pi}{c}(c)$. Jednak wzrost ilości polisacharydu w mieszaninie powodował gwałtowne obniżenie ciśnienia osmotycznego. W konsekwencji estymowane wartości A_2 były we wszystkich przypadkach ujemne (tab. 2).



Objaśnienia: / Explanatory notes:

WPI – izolat białek serwatkowych / whey protein isolate, SPI – izolat białek sojowych / soy protein isolate, XG – guma ksantanowa / xanthan gum, INU – inulina / inulin, c – stężenie / concentration.

Rys. 5. Zależność ciśnienia osmotycznego roztworów WPI/SPI-XG-INU od stężenia INU, w temp. 30 °C i 40 °C (układy trójskładnikowe).

Fig. 5. Dependence of osmotic pressure of WPI/SPI-XG-INU solutions and concentration of INU at temperatures of 30 °C and 40 °C (ternary systems).

Wnioski

1. Izolat białek serwatkowych wykazuje większe powinowactwo do wody w porównaniu z izolatem białek sojowych.
2. Inulina dobrze rozpuszcza się w wodzie, ale wykazuje tendencję do agregacji. Zjawisko to nasila się w wyższej temperaturze. Otrzymane wartości A_2 są dużo większe co do wartości bezwzględnej. Woda nie jest dobrym rozpuszczalnikiem gumy ksantanowej. Polisacharyd ten ma tendencje do agregacji; wzrost temperatury do 40 °C nie powoduje dużych zmian jego rozpuszczalności.
3. Dodatek INU lub XG do roztworu izolatu białka sojowego zmienia właściwości osmotyczne w porównaniu z układami jednoskładnikowymi. Duże wartości ciśnienia osmotycznego świadczą o możliwości wiązania wody przez te mieszaniny.
4. W temp. 30 °C roztwory WPI-XG i WPI-INU wykazują dodatnią wartość współczynnika A_2 , co świadczy o dobrej ich rozpuszczalności w wodzie.

5. Układy WPI-XG-INU i SPI-XG-INU charakteryzują się dużymi możliwościami pochłaniania wody, o czym świadczą wysokie wartości ciśnienia osmotycznego ich wodnych roztworów. Wzrost ilości polisacharydu w mieszaninie powoduje gwałtowne obniżenie ciśnienia osmotycznego.

Badania finansowane z Funduszu dla Młodych Naukowców BM-4724/KIAPS/2012.

Literatura

- [1] Aberle T., Burchard W.: Universality in behavior of branched macromolecules in semidilute solutions. *Computational and Theoretical Polymer Science*, 1997, **7**, 215-225.
- [2] Benichou A., Aserin A., Garti N.: Protein-polysaccharide interactions for stabilization of food emulsions. *J. Disp. Sci. Technol.*, 2002, **23** (1), 93-123.
- [3] Darewicz M., Dziuba J.: Struktura a właściwości funkcjonalne białek mleka. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **2** (4), 47-60.
- [4] De Kruif C.G., Tuinier R.: Polysaccharide protein interactions. *Food Hydrocol.*, 2001, **15** (4), 555-563.
- [5] Deszczynski M., Harding S. E., Winzor D. J.: Negative second virial coefficients as predictor of protein crystal growth: Evidence from sedimentation equilibrium studies that refutes the designation of those light scattering parameters virial coefficients. *Biophysical Chemistry*, 2006, **120**, 106-113.
- [6] Doublier J.L., Garnier C., Renard D., Sanchez C.: Protein-polysaccharide interactions. *Current Opin. Coll. Interf. Sci.*, 2000, **5**, 202-214.
- [7] Guimaraes Pelegrine D.H., de Moraes Santos Gomes M.T.: Whey protein solubility curves at several temperatures values. *Ciência e Natura*, 2008, **30**, 17.
- [8] Gustaw W., Mleko S., Glibowski P., Janas P.: Wpływ ogrzewania i typu dodanego karagenu na właściwości fizykochemiczne roztworów WPI. *Annales UMCS, Sec. E*, 2004, **59** (1), 215-223.
- [9] Hu Y., Ying X., Wu D.T., Prausnitz J.M.: Continuous thermodynamics for polydisperse polymer solutions. *Fluid Phase Equilibria*, 1995, **104**, 229-252.
- [10] Klein M., Aserin A., Ishai P.B., Garti N.: Interactions between whey protein isolate and gum Arabic. *Colloids Surf B: Biointerfaces*, 2010, **79**, 377-383.
- [11] Mine Y.: Recent advances in the understanding of egg white protein functionality. *Trends Food Sci. Technol.*, 1995, **6**, 225-232.
- [12] Miquelim J., Lannes S., Mezzenga R.: pH influence on the stability of foams with protein-polysaccharide complexes at their interfaces. *Food Hydrocoll.*, 2010, **24** (4), 398-405.
- [13] Mleko S.: Otrzymywanie mieszanych żeli białek serwatkowych z wybranymi polisacharydami i badanie ich właściwości mechanicznych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **1** (38), 34-40.
- [14] Perez A.A., Carrara C.R., Sanchez C.C., Santiago L.G., Patino J.M.R.: Interfacial and foaming characteristics of milk whey protein and polysaccharide mixed systems. *AIChE*. 2010, **56** (4), 1107-1117
- [15] Ptaszek A., Łukasiewicz M., Bednarz Sz.: Environmental friendly polysaccharide modification – rheological properties of oxidized starches water systems. *Starke*, 2013, **65**, 134-145.
- [16] Samant S., Singhal R., Kulkarni P., Rege D.: Protein-polysaccharide interactions: a new approach in food formulations. *Inter. J. Food Sci. Technol.*, 1993, **28** (6), 547-562.
- [17] Surówka K., Maciejaszek I.: Oddziaływania białkowo-polisacharydowe i ich praktyczne wykorzystanie. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **4** (53), 17-35.

- [18] Tolstoguzov V.B.: Functional properties of food proteins and role of protein-polysaccharide interaction. *Food Hydrocoll.*, 1991, **4 (6)**, 429-468.
- [19] Viebke Ch.: Order-disorder Conformational Transition of Xanthan Gum. *Polysaccharides 2nd Ed.*, Ed. Severian Dumitriu, Marcel Dekker, New York 2005.
- [20] Worobiej E., Wołosiak R., Chwalisz M.: Właściwości białek preparatów części białkowej jaja w procesie utleniania. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **4 (49)**, 136-144.
- [21] Xie Y.R., Hettiarachchy N.S.: Effect of xanthan gum on enhancing the foaming properties of soy protein isolate. *JAACS*, 1998, **75 (6)**, 729-732.
- [22] Yokozeki A.: Osmotic pressures studied using a simple equation-of-state and its applications. *Applied Energy*, 2006, **83**, 15-41.

APPLYING OSMOMETRIC MEASUREMENTS TO ASSESS PROTEIN-POLYSACCHARIDE INTERACTIONS IN WATER SOLUTIONS

S u m m a r y

Among other things, shelf life of food products depends on interactions among proteins, polysaccharides, and water. It is possible to assess them based on the measurements of osmotic pressure in model systems: solvent - single biopolymer or a mixture of biopolymers.

The initial research material constituted aqueous solutions of protein isolates: whey (WPI) and soy (SPI) as well as of aqueous solutions of polysaccharides: xanthan gum (XG) and inulin (INU). In the process of further research, aqueous mixtures of proteins and polysaccharides were prepared; they contained two or three components dissolved: WPI / SPI-XG, WPI / SPI-INU, and WPI / SPI-XG-INU. In all of the solutions, the π osmotic pressure was measured as a function of concentration and temperature. The values of virial coefficients were determined; they made it possible to determine the nature of interactions amidst the molecules of the solutions components. The results obtained suggest that polysaccharide – protein complexes have been formed. On the basis of the research performed, the mean molecular osmotic weights of XG and INU (1960 kg / mol and 126 kg / mol, respectively) were determined.

Key words: whey protein isolate (WPI), soy protein isolate (SPI), xanthan gum (XG), inulin (INU), osmotic pressure, osmotic virial coefficients ☒

TOMASZ DASZKIEWICZ, KAROLINA WILGA, PAWEŁ JANISZEWSKI,
KATARZYNA ŚMIECIŃSKA, DOROTA KUBIAK

PORÓWNANIE JAKOŚCI MIĘSA JELENI SZLACHETNYCH (*CERVUS ELAPHUS* L.) POZYSKANYCH NA TERENIE POLSKI I WĘGIER

Streszczenie

Celem przeprowadzonych badań było porównanie jakości mięsa byków jeleni szlachetnych (*Cervus elaphus* L.) pozyskanych przez myśliwych na terenie Węgier (10 szt.) i północno-wschodniej Polski (10 szt.). Badaniami objęto zwierzęta w wieku od 3 do 5 lat, odstrzelone w tym samym sezonie łowieckim. Z tusz wykrojono cztery zasadnicze części: comber, przodek, łopatkę i udziec. Mięso z każdego elementu rozdrobniono i po wymieszaniu pobrano z niego próbkę średnią dla danego elementu (ok. 300 g). Wykonano oznaczenia składu chemicznego oraz właściwości fizykochemicznych mięsa.

Na podstawie przeprowadzonych badań wykazano, że mięso jeleni z łowisk polskich charakteryzowało się większą ($p \leq 0,05$) zawartością suchej masy, tłuszczu i składników mineralnych oznaczonych w postaci popiołu. Ponadto, jego barwa była ciemniejsza ($p \leq 0,01$) oraz odznaczała się mniejszym ($p \leq 0,01$) udziałem barwy żółtej (b^*) i czerwonej (a^*), a w konsekwencji również mniejszym ($p \leq 0,01$) nasyceniem (C^*). Z kolei mięso byków jeleni z Węgier charakteryzowało się wyższą ($p \leq 0,01$) średnią wartością pH.

Po przeanalizowaniu jakości mięsa czterech podstawowych elementów tuszy jeleni stwierdzono, że największą zawartością suchej masy charakteryzowało się mięso z combra, a najmniejszą – z łopatki i karkówki (różnice potwierdzone statystycznie). Najniższy procentowy udział białka ogólnego stwierdzono w mięsie z łopatki i był on istotnie mniejszy od stwierdzonego w mięsie z combra ($p \leq 0,01$) i udźca ($p \leq 0,05$). Mięso z combra i udźca charakteryzowało się niższymi ($p \leq 0,01$) średnimi wartościami pH, a także większą (różnice potwierdzone statystycznie) wodochłonnością i mniejszym ($p \leq 0,01$) wyciekami termicznym w porównaniu z mięsem z karkówki i łopatki. Najciemniejszą barwą ($p \leq 0,01$) odznaczało się mięso z combra, natomiast najjaśniejszą ($p \leq 0,01$) mięso z karkówki oraz łopatki. Zdecydowanie największym ($p \leq 0,01$) nasyceniem barwy (C^*) charakteryzowało się mięso z karkówki, natomiast najmniejsze wartości parametru C^* stwierdzono w mięsie z combra i udźca, co było konsekwencją różnic w udziale składowej czerwonej i żółtej w barwie badanego mięsa.

Słowa kluczowe: dziczyzna, jelen szlachetny, jakość mięsa

Dr hab. T. Daszkiewicz, prof. UWM, mgr inż. K. Wilga, dr inż. K. Śmiecińska, dr inż. D. Kubiak, Katedra Towaroznawstwa i Przetwórstwa Surowców Zwierzęcych, dr hab. P. Janiszewski, prof. UWM, Katedra Hodowli Zwierząt Futerkowych i Łowiectwa, Wydz. Bioinżynierii Zwierząt, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, ul. Oczapowskiego 5, 10-719 Olsztyn

Wprowadzenie

Współczesne łowiectwo jest przede wszystkim formą ochrony przyrody, która ma na celu dostosowanie liczby zwierząt dziko żyjących do zmieniającego się środowiska [3]. Towarzyszy temu pozyskiwanie bardzo wartościowego surowca mięsnego, który spełnia wiele wymagań i oczekiwań konsumentów związanych z wartością odżywczą, atrakcyjnością i oryginalnością cech sensorycznych oraz zdrowotnością produktów żywnościowych [5]. Polska, obok Austrii, Węgier i Słowenii, od lat należy do głównych europejskich producentów dzicyzny [2]. Głównym jej źródłem są takie gatunki zwierząt łownych jak: jelen szlachetny (*Cervus elaphus* L.), sarna europejska (*Capreolus capreolus* L.), dzik (*Sus scrofa* L.) i daniel (*Dama dama* L.). W sezonie łowieckim 2010/2011 krajowe pozyskanie zwierząt tych gatunków wyniosło odpowiednio: 54,3 tys., 160,7 tys., 232,7 tys. i 6,4 tys. sztuk [9].

Analiza dostępnej literatury [6, 8, 12, 19, 21] wskazuje na bardzo wysoką jakość mięsa zwierząt dziko żyjących, ale dowodzi też jej dużego zróżnicowania. Zjawisko to dotyczy nie tylko różnic międzygatunkowych, ale również zmiennej jakości mięsa zwierząt tego samego gatunku. Może to powodować, że produkt nie będzie dla konsumenta rozpoznawalny z powodu braku cech typowych dla niego. W tym kontekście, dla podmiotu wprowadzającego produkt na rynek oraz dla konsumenta ważna jest informacja, czy – a jeśli tak, to w jakim zakresie – różni się surowiec z tusz zwierząt dziko żyjących pozyskanych w różnych łowiskach, regionach, a nawet krajach. Niezależnie od tego, dla konsumentów i zakładów mięsnych istotna jest również informacja o możliwości występowania różnic w jakości mięsa uzyskiwanego z różnych partii tuszy [7, 16]. Informacja ta może bowiem decydować o przeznaczeniu kulinarnym bądź przetwórczym mięsa.

Celem przeprowadzonych badań było porównanie jakości mięsa pochodzącego z czterech wyrębów (przodek, comber, łopatka, udziec) tuszy jeleni szlachetnych (*Cervus elaphus* L.) pozyskanych na terenie Węgier i północno-wschodniej Polski.

Material i metody badań

Material do badań stanowiły tusze byków jelenia szlachetnego (*Cervus elaphus* L.) dostarczone do jednego z zakładów przetwórstwa mięsnego. Tusze do badań wybierano losowo spośród byków odstrzelonych przez myśliwych w lasach północno-wschodniej Polski, w kołach łowieckich zlokalizowanych w odległości do 80 km od Olsztyna (10 szt.) oraz byków odstrzelonych przez myśliwych w łowiskach węgierskich (10 szt.). Badaniami objęto zwierzęta w wieku od 3 do 5 lat, odstrzelone w tym samym sezonie łowieckim (2008/2009). Wiek zwierząt określano na podstawie oceny pokroju tuszy i wywiadu z myśliwym, który dokonał odstrzału (byki pochodzące

z łowisk krajowych) oraz dokumentacji dostarczonej z tuszami (byki pochodzące z łowisk węgierskich).

Tusze jeleni pozyskanych w łowiskach krajowych poddawano rozbirowi nie później niż 48 - 54 h od momentu odstrzału zwierzęcia w łowisku. Czas ten ustalano na podstawie protokołu przyjęcia tuszy od myśliwego. Tusze jeleni pochodzących z Węgier poddawano rozbirowi po 24 h od ich dostarczenia do zakładu przetwórstwa mięsnego i nie później niż 96 h od momentu odstrzału zwierzęcia (czas ustalano na podstawie dokumentacji dostarczonej z tuszami). Po oskórowaniu tuszy oceniano jej jakość. W trakcie tej oceny eliminowano: tusze z uszkodzeniami przodka, combra, łopatek i udźców powstałymi w wyniku postrzału, tusze zanieczyszczone treścią przewodu pokarmowego w wyniku uszkodzenia przewodu pokarmowego przez kulę lub w następstwie nieprawidłowo przeprowadzonego patroszenia, tusze nieprawidłowo wychłodzone (temp. wyższa niż 7 °C w centrum geometrycznym najgrubszego elementu, tj. udźca), tusze, których mięśnie najdłuższe grzbietu (*m. longissimus dorsi*) charakteryzowały się wartością pH powyżej 5,8 (pomiar za ostatnim żebrem), w celu wyeliminowania mięsa DFD.

W trakcie prowadzonego w zakładzie rozbioru tusz do badań pobierano cztery zasadnicze części, tj. comber, przodek, łopatkę i udźce. Mięso z każdego elementu krojono na drobne kawałki, z których po wymieszaniu pobierano próbkę średnią dla danego elementu (ok. 300 g). Próbkę pakowano próżniowo i przewożono w izotermicznych pojemnikach do laboratorium Katedry Towaroznawstwa i Przetwórstwa Surowców Zwierzęcych UWM w Olsztynie, gdzie zamrażano je w temp. -26 °C i przechowywano w tej temperaturze do momentu wykonania analiz laboratoryjnych.

Przed przystąpieniem do analiz próbki mięsa rozmrażano w temp. 2 °C do osiągnięcia w ich wnętrzu temp. -1 °C. Następnie próbki rozdrabniano trzykrotnie w wilku z użyciem siatki o średnicy oczek wynoszącej 3 mm. Zmieloną masę dokładnie mieszano i pobierano z niej próbki do analiz, które obejmowały oznaczenie składu chemicznego oraz właściwości fizykochemicznych mięsa.

Ocena podstawowego składu chemicznego mięsa obejmowała oznaczenie w nim zawartości: suchej masy, białka ogólnego metodą Kjeldahla, tłuszczu metodą Soxhleta (eter dietylowy jako rozpuszczalnik) oraz składników mineralnych w postaci popiołu [1].

Wartość energetyczną mięsa obliczano przy użyciu współczynników przeliczeniowych dla białka i tłuszczu, wynoszących odpowiednio: 4,00 kcal (16,78 kJ)/g oraz 9,00 kcal (37,62 kJ)/g [14].

Pomiarów pH dokonywano w homogenacie wodnym z 10 g mięsa (stosunek mięsa i wody redestylowanej wynosił 1 : 1 m/v), przy użyciu elektrody kombinowanej Polilyte Lab firmy Hamilton i pH-metru pH 340i z czujnikiem temperatury TFK 325 firmy WTW.

Charakterystyki barwy mięsa dokonywano na podstawie wartości składowych L^* , a^* , b^* , C^* w układzie CIE LAB [4]. Parametry L^* , a^* i b^* określano metodą odbicia za pomocą aparatu MiniScan XE Plus firmy HunterLab przez bezpośredni trzykrotny pomiar powierzchni zmielonego mięsa w różnych miejscach. Pomiar przeprowadzano po półgodzinnym przetrzymaniu próbek w temp. 4 °C, przykrytych folią przepuszczalną dla O_2 i nieprzepuszczalną dla H_2O .

Wodochłonność mięsa określano metodą Graua i Hamma [24]. Próbkę zmielonego mięsa (300 mg) umieszczano na bibule Whatman nr 1. Bibulę wraz próbką wkładano między szklane płytki i poddawano naciskowi 5 kg przez 5 min. Po zakończeniu wyciskania obrysowywano na bibule granicę powierzchni zajmowanej przez próbkę mięsa oraz granicę powierzchni wycieku soku mięsnego. Obie powierzchnie planimetrowano. Miarą wodochłonności mięsa była różnica obu splanimetrowanych powierzchni (większa wartość to mniejsza wodochłonność mięsa).

Wielkość wycieku termicznego ustalano metodą opisaną przez Honikela [11]. Zważone próbki mięsa umieszczano w plastikowych torebkach i przetrzymywano w łaźni wodnej w temp. 80 °C przez 1 h. Następnie próbki schładzano przez 30 min pod strumieniem bieżącej wody, osuszano i ważono. Wielkość wycieku termicznego ustalano na podstawie różnicy masy próbki mięsa przed i po obróbce cieplnej.

Uzyskane wyniki opracowano statystycznie w programie Statistica ver. 9.0. [20]. Przeprowadzono dwuczynnikową analizę wariancji w układzie: pochodzenie jeleni szlachetnych (Polska, Węgry) × element tuszy. Statystyczną istotność różnic między średnimi grup ustalano wielokrotnym testem rozstępu Duncana.

Wyniki i dyskusja

Przeprowadzone badania wykazały istotne zróżnicowanie podstawowego składu chemicznego mięsa byków jelenia szlachetnego z polskich i węgierskich łowisk (tab. 1). Większą ($p \leq 0,05$) zawartością suchej masy, tłuszczu i składników mineralnych oznaczonych w postaci popiołu charakteryzowało się mięso jeleni z Polski. Nie stwierdzono istotnej różnicy ($p > 0,05$) między średnią zawartością białka ogólnego w mięsie zwierząt z Polski i Węgier, jednak zauważalna była tendencja do większego udziału tego składnika w próbkach mięsa jeleni polskich. Konsekwencją opisanych różnic w składzie chemicznym mięsa była większa ($p \leq 0,01$) kaloryczność surowca mięsnego pochodzącego z tusz krajowych.

Wyniki własne, wskazujące na dużą zawartość białka ogólnego i małą zawartość tłuszczu w mięsie byków jelenia szlachetnego, są zgodne z wynikami innych badań. Zawartość białka i tłuszczu w *m. longissimus dorsi* węgierskich jeleni szlachetnych w badaniach przeprowadzonych przez Zomborszky'ego i wsp. [26] wynosiła odpowiednio: 21,7 oraz 0,6 % i była zbliżona do stwierdzonej przez Daszkiewicza i wsp. [6] w *m. longissimus dorsi* polskich byków jelenia (odpowiednio: 22,01 i 0,56 %).

Zawartość składników mineralnych oznaczonych w postaci popiołu w *m. longissimus* jeleni szlachetnych, w cytowanych badaniach, kształtowała się na nieznacznie wyższym poziomie (około 1,1 %) od ich średniej zawartości w mięsie z tusz jeleni węgierskich, otrzymanej w badaniach własnych. Wy tłumaczeniem wskazywanej w literaturze [26, 27] i potwierdzonej w przedstawionych badaniach małej zawartości tłuszczu i dużej – białka w mięsie zwierząt dziko żyjących jest tryb ich życia i sposób żywienia. Zwierzęta dziko żyjące prowadzą zdecydowanie aktywniejszy tryb życia w porównaniu z gospodarskimi, a ich żywienie jest mniej intensywne. Na wyniki oceny składu chemicznego mięsa zwierząt łownych ma również wpływ miejsce i pora roku ich pozyskania [27, 28]. Czynniki te wskazują na zróżnicowanie w zakresie dostępności (ilości i jakości) pożywienia.

Jednym z podstawowych parametrów uwzględnianych w ocenie jakości mięsa jest wartość pH. W przeprowadzonych badaniach mięso byków z Węgier charakteryzowało się wyższą ($p \leq 0,01$) średnią wartością pH (5,88) (tab. 1). Różnica między średnimi grup wynosiła jednak tylko 0,08 jednostki. W literaturze wskazuje się, że stwierdzone zróżnicowanie wartości pH końcowego mięsa zarówno jeleni szlachetnych dziko żyjących, jak i pochodzących z chowu fermowego może być związane z warunkami przedubojowymi towarzyszącymi pozyskiwaniu tusz zwierzyny [17, 25], a prawdopodobnie również z cyklem płciowym zwierząt [21].

Hoffman i wsp. [10] podają, że dziczyzna jest postrzegana jako surowiec odznaczający się ciemniejszą barwą niż mięso zwierząt domowych. Ciemna barwa tego mięsa jest naturalną cechą, związaną m.in. ze zwiększoną zawartością mioglobiny w mięśniach dzikich zwierząt, w następstwie ich dużej aktywności ruchowej. Może ona również pozostawać w związku z gorszym wykrwawieniem tusz odstrzelonej zwierzyny w porównaniu z tuszami zwierząt rzeźnych. W przeprowadzonych badaniach barwa mięsa byków z łowisk polskich była ciemniejsza ($p \leq 0,01$) oraz charakteryzowała się mniejszym ($p \leq 0,01$) udziałem barwy żółtej (b^*) i czerwonej (a^*), a w konsekwencji również mniejszym ($p \leq 0,01$) nasyceniem barwy (C^*). Nie stwierdzono natomiast istotnych różnic ($p > 0,05$) pod względem wodochłonności oraz wielkości wycieku termicznego z mięsa badanych grup jeleni (tab. 1).

Wyniki porównania jakości mięsa z różnych elementów tuszy jelenia szlachetnego przedstawiono w tab. 1. Wykazano, że największą zawartością suchej masy charakteryzowało się mięso z combra. Jej zawartość była statystycznie istotnie większa niż w mięsie uzyskanym z pozostałych badanych elementów. Na wysokim poziomie kształtowała się również zawartość suchej masy w udźcu, która była większa ($p \leq 0,01$) od stwierdzonej w mięsie z łopatki i karkówki.

Tabela 1

Wyniki oceny jakości mięsa jelenia szlachetnego (*Cervus elaphus* L.).
Results of quality assessment of red deer (*Cervus elaphus* L.) meat.

Cecha Trait	Miara stat. Stat. meas.	Mięso jelenia szlachetnego Red deer meat		Element tuszy Carcass cut				Interakcja Interaction
		z Polski from Poland	z Węgier from Hungary	comber fillet	karkówka neck	łopatka shoulder	udziec leg	
Sucha masa Dry matter [%]	\bar{x} s/SD	24,20 ^A 0,79	23,54 ^B 0,74	24,59 ^{Xx} 0,60	23,43 ^Y 0,50	23,34 ^Y 0,76	24,12 ^{Xy} 0,75	NS
Tłuszcz Fat [%]	\bar{x} s/SD	1,07 ^A 0,57	0,68 ^B 0,38	0,77 0,44	0,74 0,38	1,04 0,66	0,95 0,55	NS
Białko ogólne Total protein [%]	\bar{x} s/SD	22,25 0,96	22,03 0,77	22,93 ^X 0,63	21,96 ^Y 0,95	21,57 ^{Yx} 0,61	22,09 ^{Yy} 0,68	*
Popiół Ash [%]	\bar{x} s	1,05 ^A 0,05	0,96 ^B 0,06	1,02 ^x 0,05	0,97 ^{Xy} 0,09	0,99 ^X 0,08	1,04 ^Y 0,07	NS
Stosunek woda/białko (W/B) Water/protein ratio (W/P)	\bar{x} s/SD	3,41 ^a 0,18	3,48 ^b 0,15	3,29 ^X 0,11	3,49 ^{YZ} 0,18	3,56 ^Y 0,13	3,44 ^Z 0,13	*
Wartość energetyczna Energy value [kJ]	\bar{x} s/SD	413,5 ^A 23,87	395,20 ^B 17,11	413,70 ^x 18,63	396,30 ^y 17,07	401,10 29,59	406,50 20,84	NS
pH	\bar{x} s/SD	5,80 ^A 0,13	5,88 ^B 0,15	5,77 ^X 0,06	5,95 ^Y 0,15	5,89 ^Y 0,17	5,75 ^X 0,07	**
L*	\bar{x} s/SD	30,93 ^A 2,29	33,13 ^B 2,15	29,05 ^X 1,90	33,85 ^Y 2,31	33,49 ^Y 2,29	31,71 ^Z 1,44	NS
a*	\bar{x} s/SD	14,48 ^A 1,66	15,78 ^B 1,46	14,66 ^X 1,70	16,57 ^Y 1,38	15,16 ^{Xx} 1,28	14,12 ^{Xy} 1,39	*
b*	\bar{x} s/SD	11,98 ^A 1,40	13,41 ^B 1,27	11,64 ^X 1,52	13,69 ^Y 1,22	13,10 ^{YZx} 1,52	12,34 ^{XZy} 0,94	NS
C*	\bar{x} s/SD	18,80 ^A 2,04	20,73 ^B 1,67	18,73 ^X 2,21	21,50 ^Y 1,72	20,07 ^Z 1,60	18,76 ^X 1,53	NS
Wodochłonność - metoda Graua i Hamma Water-holding capacity - Grau and Hamm's method [cm ²]	\bar{x} s/SD	5,53 1,26	5,95 1,66	4,62 ^X 0,95	6,40 ^{Yx} 0,97	6,52 ^{Yx} 1,75	5,41 ^y 1,28	NS
Wyciek termiczny Cooking loss [%]	\bar{x} s/SD	37,41 2,730	37,95 2,709	35,94 ^X 0,865	38,74 ^Y 2,418	39,21 ^Y 3,422	36,83 ^X 2,192	**

Objaśnienia: / Explanatory notes:

\bar{x} - wartość średnia / mean value; s/SD – odchylenie standardowe / standard deviation; wartości oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się statystycznie istotnie, A, B, X, Y, Z – $p \leq 0,01$; a, b, x, y – $p \leq 0,05$ / Values in the lines and denoted by different letters differ statistically significantly, A, B, X, Y, Z – $p \leq 0.01$; ab, xy – $p \leq 0.05$; ** - $p \leq 0.01$; * - $p \leq 0.05$; NS – $p > 0.05$.

Najniższy procentowy udział białka ogólnego stwierdzono w mięsie z łopatki i był on istotnie mniejszy od stwierdzonego w mięsie z combra ($p \leq 0,01$) oraz oznaczonego w mięsie z udźca ($p \leq 0,05$). Nie stwierdzono istotnych różnic ($p > 0,05$) pod względem zawartości tłuszczu w mięsie pochodzącym z badanych elementów tuszy. Statystyczną istotność różnic między średnimi grup odnotowano natomiast w przypadku zawartości w mięsie składników mineralnych oznaczonych w postaci popiołu. Należy jednak podkreślić, że różnice te były małe (do 0,07 jednostki).

Najmniejszą wartością stosunku wody do białka charakteryzowało się mięso z combra i była ona istotnie ($p \leq 0,01$) mniejsza niż w mięsie z karkówki, łopatki i udźca. Istotne różnice ($p \leq 0,01$) wykazano także między średnimi wartościami tego wskaźnika w łopatce (najwyższa wartość) i udźcu.

Nieduże różnice między średnimi grup stwierdzono w zakresie kaloryczności mięsa. Co prawda, różnica między największą (comber) a najmniejszą (karkówka) średnią tej cechy była statystycznie istotna ($p \leq 0,05$), ale wynosiła tylko 17 kJ.

W badaniach mięsa jeleni szlachetnych przeprowadzonych przez Zomborsky'ego i wsp. [26] stwierdzono, że zawartość suchej masy w *m. longissimus dorsi* była mniejsza ($p < 0,05$) w porównaniu z *m. semimembranosus*. Nie stwierdzono natomiast istotnych różnic pod względem zawartości białka, tłuszczu i popiołu w porównywanych mięśniach. Na wysokim poziomie kształtowała się zawartość białka ogólnego (20,2 - 21,0 %) w mięsie (połędwica, udziec) jelenia szlachetnego w badaniach przeprowadzonych przez Trziszkę [23]. Jednocześnie wymieniony autor stwierdził, że mięso z udźca charakteryzowało się tylko nieznacznie większą zawartością tego składnika w porównaniu z mięsem z połędwicy.

Mięso z combra i udźca charakteryzowało się istotnie ($p \leq 0,01$) niższymi średnimi wartościami pH, a także większą (różnice między średnimi potwierdzone statystycznie) wodochłonnością i mniejszym ($p \leq 0,01$) wyciekami termicznym w porównaniu z mięsem z karkówki i łopatki (tab. 3).

Dostępna literatura nie dostarcza jednoznacznych informacji na temat kwasowości czynnej (pH) mięsa pochodzącego z różnych partii (mięśni) tuszy jelenia szlachetnego. Według Trziszki [23] średnie wartości pH mięsa z połędwicy i udźca jelenia szlachetnego nie różniły się i wynosiły 5,7. Jago i wsp. [13] podają, że średnie wartości pH mięsa (5,37 - 5,42) pochodzącego z udźca (*m. semimembranosus*) łań jelenia szlachetnego były dużo niższe od średnich wartości pH mięsa (5,75 - 5,83) z karkówki (*m. splenius*). W badaniach Wiklund i wsp. [25] średnie wartości pH mięsa łań jelenia szlachetnego z łopatki (*m. triceps brachii*) oraz mięsa z połędwicy (*m. longissimus*

dorsi et lumborum) wynosiły odpowiednio: 5,70 oraz 5,71 i były wyraźnie wyższe od średniej wartości pH mięsa z udźca (*m. biceps femoris*), która wynosiła 5,58. Różny poziom poubojowego zakwaszenia tkanki mięśniowej może wynikać ze zróżnicowanej zawartości w mięśniach glikogenu, z którego w procesie beztlenowej glikolizy tworzy się kwas mlekowy [18]. Ponadto, jak podaje Szkucik [22], zróżnicowanie wartości pH badanych mięśni może być również spowodowane różnym poziomem krwi resztkowej, która pozostaje w tkankach po wykrwawieniu zwierząt i działa buforująco.

Stwierdzone wyższe wartości pH mięsa z karkówki i łopatki nie miały odzwierciedlenia w jego większej wodochłonności i zmniejszeniu wycieku w trakcie obróbki termicznej. Prawdopodobną przyczyną tego, że mięso z tych elementów charakteryzowało się większym wyciekim wymuszonym, określanym metodą Graua i Hamma oraz większym wyciekim termicznym w porównaniu z mięsem z combra i udźca, była większa zawartość w nim wody.

Najciemniejszą barwą odznaczało się mięso z combra, natomiast najjaśniejszą – mięso z karkówki oraz łopatki. Różnice między średnimi wartościami parametru L* (jasność) badanych elementów tuszy były statystycznie istotne ($p \leq 0,01$). Zdecydowanie największym nasyceniem barwy (C*) (różnice między średnimi grup potwierdzone statystycznie na poziomie $p \leq 0,01$) charakteryzowało się mięso z karkówki. Najmniejsze wartości parametru C* stwierdzono w mięsie z combra i udźca. Różnice między średnimi tych grup i mięsem z karkówki oraz łopatki były statystycznie istotne ($p \leq 0,01$). Barwa mięsa z karkówki odznaczała się istotnie wyższym, od stwierdzonego w mięsie z pozostałych elementów, udziałem barwy czerwonej (a*). Najniższą wartością parametru a* charakteryzowało się mięso z udźca i była ona niższa nie tylko od stwierdzonej w mięsie z karkówki, ale także w mięsie z łopatki ($p \leq 0,05$). Mięso z karkówki charakteryzowało się również najwyższą wartością parametru b*. Była ona istotnie wyższa ($p \leq 0,01$) od stwierdzonej w mięsie z combra i udźca. Ponadto stwierdzono, że barwa mięsa z łopatki odznaczała się większym udziałem barwy żółtej niż mięso z combra ($p \leq 0,01$) i udźca ($p \leq 0,05$).

Stwierdzone zróżnicowanie barwy mięsa byków jeleni szlachetnych, pochodzącego z różnych elementów tuszy, można tłumaczyć m.in. różną aktywnością przyżyciową mięśni, które wchodzi w skład elementu po uboju zwierzęcia. Jak podaje Lawrie [15], mięśnie systematycznie i ciężiej pracujące przyżyciowo zawierają więcej mioglobiny, co w konsekwencji wpływa na wskaźniki chromatyczne barwy, które są określane w mięsie po uboju. W przeprowadzonych badaniach potwierdzeniem tej zależności były wyższe wartości składowych a* i b* oraz C* mięsa z karkówki i łopatki. W literaturze również znajdują się przykłady potwierdzające opisaną zależność. W badaniach Stevensona i wsp. [21] *m. longissimus* byków jeleni szlachetnych charakteryzował się mniejszymi wartościami składowych a* i b*, w porównaniu z *m. semimembranosus*. Z kolei wytłumaczeniem większej jasności (L*) mięsa z karkówki i łopatki w bada-

niach własnych może być stwierdzona w nim mniejsza zawartość wody niż w mięsie z combra i udźca. Większe uwodnienie tkanki mięśniowej sprzyja bowiem wnikaniu światła w głąb tkanki, czego konsekwencją jest rejestrowanie (w ocenie sensorycznej i instrumentalnej) ciemniejszej barwy mięsa.

Wykazano statystyczną istotność interakcji między badanymi czynnikami doświadczalnymi: zawartością w mięsie białka ogólnego, wartością stosunku woda/białko, wartością pH i składową a^* oraz wielkością wycieku termicznego. W związku z tym wyniki oceny tych cech zostały omówione w obrębie podgrup doświadczalnych (tab. 2).

Mięso z combra jeleni z łowisk polskich miało potwierdzoną statystycznie większą zawartość białka ogólnego niż mięso z pozostałych elementów tuszy, zarówno byków polskich, jak i węgierskich. Ponadto stwierdzono, że mięso z combra jeleni węgierskich zawierało więcej białka niż mięso z łopatki tych zwierząt oraz mięso z karkówki i łopatki jeleni polskich. Mięso z łopatki z tusz importowanych zawierało mniej ($p \leq 0,05$) białka również w porównaniu z mięsem z udźca jeleni krajowych i mięsem z karkówki jeleni węgierskich.

Mięso pochodzące z combra jeleni polskich odznaczało się zdecydowanie najmniejszą wartością stosunku woda/białko (różnice między średnimi podgrup zostały potwierdzone statystycznie). Niższą wartością analizowanego wskaźnika charakteryzowało się mięso z udźca jeleni polskich i combra jeleni węgierskich ($p \leq 0,01$) oraz karkówki i udźca jeleni węgierskich w porównaniu z mięsem z łopatki z tusz importowanych. Ponadto, odnotowano potwierdzoną statystycznie niższą wartość stosunku woda/białko w mięsie z combra jeleni węgierskich w porównaniu z mięsem z karkówki i łopatki jeleni polskich oraz w mięsie z udźców jeleni polskich w porównaniu z mięsem pochodzącym z karkówki krajowych tusz.

Najwyższą wartością pH charakteryzowało się mięso z karkówki byków z Węgier. Była ona wyższa ($p \leq 0,01$) niż w mięsie pochodzącym z pozostałych elementów. Stwierdzono także, że mięso z łopatki jeleni polskich odznaczało się większą (różnice potwierdzone statystycznie) wartością pH w porównaniu z mięsem z combra jeleni krajowych oraz mięsem z combra i udźca jeleni węgierskich. Statystycznie istotnie niższą wartością pH charakteryzowało się mięso z udźca byków krajowych w porównaniu z mięsem z karkówki i łopatki tych zwierząt oraz mięsem z łopatki byków węgierskich. Mięso z łopatki byków z Węgier miało wyższą wartość pH również w porównaniu z mięsem z combra jeleni z polskich łowisk.

Najmniejszą wartością składowej a^* charakteryzowało się mięso z combra i udźca jeleni pochodzących z Polski. Była ona istotnie mniejsza (różnice potwierdzone statystycznie) od stwierdzonej w mięsie z pozostałych elementów tusz jeleni polskich i węgierskich. Ponadto, stwierdzono większy udział barwy czerwonej (a^*) w mięsie

z karkówki tusz importowanych niż w mięsie z łopatki tusz krajowych oraz w mięsie z łopatki i udźca tusz jeleni węgierskich.

Tabela 2

Wyniki oceny jakości mięsa jelenia szlachetnego (*Cervus elaphus* L.) – interakcje między czynnikami doświadczalnymi.

Results of quality assessment of red deer (*Cervus elaphus* L.) meat – interactions among experimental factors.

Cecha Trait	Miara stat. Stat. meas.	Mięso jelenia szlachetnego z polskich łowisk Red deer meat from Polish hunting grounds				Mięso jelenia szlachetnego z węgierskich łowisk Red deer meat from Hungari- an hunting grounds				Statystyczna istotność różnic między średnimi grup Statistical significance of differences among means for groups
		Comber / fillet (1)	Karkówka / neck (2)	Łopaska / shoulder (3)	Udźcie / leg (4)	Comber / fillet (5)	Karkówka / neck (6)	Łopaska / shoulder (7)	Udźcie / leg (8)	
Białko ogólne Total protein [%]	\bar{x} s	23,29 0,47	21,68 1,04	21,77 0,66	22,25 0,67	22,57 0,57	22,25 0,80	21,37 0,51	21,93 0,70	2,3,4,6,7,8**; 5* < 1 7**; 2,3* < 5 7 < 4,6*
Stosunek woda/białko (W/B) Water/ protein ratio (W/P)	\bar{x} s	3,22 0,07	3,53 0,19	3,50 0,14	3,40 0,12	3,36 0,09	3,45 0,16	3,61 0,09	3,48 0,13	1 < 2,3,4,6, 7,8**; 5* 5 < 2,7**; 3* 4 < 2*; 7** 6,8 < 7*
pH	\bar{x} s	5,75 0,06	5,83 0,07	5,90 0,20	5,72 0,04	5,79 0,05	6,07 0,11	5,88 0,13	5,78 0,08	1,2,3,4,5, 7,8 < 6** 1**; 5,8* < 3 4 < 3,7**; 2* 1 < 7*
a*	\bar{x} s	13,40 0,80	16,09 1,66	15,06 1,36	13,36 0,89	15,92 1,38	17,05 0,89	15,27 1,26	14,88 1,41	1,4 < 2,3,5,6,7** 1**; 4* < 3,7, 8 < 6**
Wyciek termiczny Cooking loss [%]	\bar{x} s	35,67 0,908	39,93 1,795	37,73 3,803	36,31 1,385	36,21 0,767	37,55 2,441	40,68 2,323	37,35 2,762	1,3,4,5, 6,8 < 2,7**

** - $p \leq 0,01$; * - $p \leq 0,05$

Wyciek termiczny z mięsa uzyskanego z karkówki jeleni z łowisk polskich oraz mięsa z łopatki byków z Węgier był większy ($p \leq 0,01$) od stwierdzonego w mięsie z pozostałych podgrup doświadczalnych.

Wnioski

1. Przeprowadzone badania wykazały wyraźne zróżnicowanie podstawowego składu chemicznego (z wyjątkiem zawartości tłuszczu) oraz ocenianych cech fizykochemicznych mięsa pochodzącego z tusz byków jelenia szlachetnego pozyskanych przez myśliwych w łowiskach północno-wschodniej Polski oraz importowanych z Węgier.
2. Różnice jakości mięsa (skład chemiczny i właściwości fizykochemiczne) stwierdzone w badaniach czterech podstawowych elementów tuszy jelenia szlachetnego (comber, przodek, łopatka, udziec) mogą stanowić dla producentów podstawę do różnicowania ich ceny w obrocie handlowym.

Praca naukowa zrealizowana z wykorzystaniem aparatury laboratoryjnej zakupionej w projekcie finansowanym z Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego i Ministerstwo Rozwoju Regionalnego w ramach programu operacyjnego „Rozwój Polski Wschodniej 2007-2013”.

Literatura

- [1] AOAC. Official Methods of Analysis, 15th Ed. Assoc. of Official Analytical Chemists, Washington, D.C. 1990.
- [2] Bertolini R., Zgrablic G., Cuffolo E.: Wild game meat: products, market, legislation and processing controls. *Vet. Res. Commun.*, 2005, **29 (Suppl. 2)**, 97-100.
- [3] Borkowski J.: Dynamika populacji jeleniowatych a gospodarowanie łowieckie. *Sylvan*, 2001, **145 (3)**, 93-101.
- [4] CIE. Recommendations on uniform color spaces-color difference equations. *Psychometric Color Terms*. 1978 Supplement No. 2 to CIE Publication No. 15 (E-1.3.1.) 1978, 1971/(TC-1-3), Commission Internationale de l'Eclairage, Paris.
- [5] Daszkiewicz T., Gugolek A., Janiszewski P., Chwastowska-Siwiecka I., Kubiak D.: Jakość mięsa królików rasy białej nowozelandzkiej pochodzącego z różnych elementów tuszki. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, **3 (76)**, 152-160.
- [6] Daszkiewicz T., Janiszewski P., Wajda S.: Quality characteristics of meat from wild red deer (*Cervus elaphus L.*) hinds and stags. *J. Muscle Foods*, 2009, **20 (4)**, 428-448.
- [7] Daszkiewicz T., Kubiak D., Winarski R., Cwalina M.: The quality characteristics of meat from wild red deer (*Cervus elaphus L.*) stags, hinds and calves. *Fleischwirtschaft Int.*, 2011, **26 (3)**, 77-80.
- [8] Daszkiewicz T., Kubiak D., Winarski R., Koba-Kowalczyk M.: The effect of gender on the quality of roe deer (*Capreolus capreolus L.*) meat. *Small Ruminant Res.*, 2012, **103 (2-3)**, 169-175.
- [9] GUS, Departament Rolnictwa: Leśnictwo. Warszawa 2011.
- [10] Hoffman L.C., Kritzinger B., Ferreira A.V.: The effects of region and gender on the fatty acid, amino acid, mineral, myoglobin and collagen contents of impala (*Aepyceros melampus*) meat. *Meat Sci.*, 2005, **69 (3)**, 551-558.

- [11] Honikel K.O.: Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. *Meat Sci.*, 1998, **49** (4), 447-457.
- [12] Hutchison C.L., Mulley R.C., Wiklund E., Flesch J.S.: Consumer evaluation of venison sensory quality: Effects of sex, body condition score and carcass suspension method. *Meat Sci.*, 2010, **86** (2), 311-316.
- [13] Jago J.G., Harcourt R.G., Matthews L.R.: The effect of road-type and distance transported on behaviour, physiology and carcass quality of farmed red deer (*Cervus elaphus*). *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 1997, **51**, 129-141.
- [14] Jankowska B., Żmijewski T., Kwiatkowska A., Korzeniowski W.: The composition and properties of beaver (*Castor fiber*) meat. *Eur. J. Wildl. Res.*, 2005, **51**, 283-286.
- [15] Lawrie R.A.: *Lawrie's Meat Science*. 6th edn. Woodhead Publ. Ltd., Cambridge, England, 1998.
- [16] Paulsen P., Bajer F., Winkelmayer R., Smulders F.J.M., Hofbauer P.: A note on quality traits of vacuum packaged meat from roe-deer cut and deboned 12 and 24 h *post mortem*. *Fleischwirtschaft*, 2005, **11**, 114-117.
- [17] Pollard J.C., Littlejohn R.P., Asher G.W., Pearse A.J.T., Stevenson-Barry J.M., Mcgregor S.K., Manley T.R., Duncan S.J., Sutton C.M., Pollock K.L., Prescott J.: A comparison of biochemical and meat quality variables in red deer (*Cervus elaphus*) following either slaughter at pasture or killing at a deer slaughter plant. *Meat Sci.*, 2002, **60** (1), 85-94.
- [18] Pösö A.R., Puolanne E.: Carbohydrate metabolism in meat animals. *Meat Sci.*, 2005, **70** (3), 423-434.
- [19] Purchas R.W., Triumf E.C., Egelandsdal B.: Quality characteristics and composition of the longissimus muscle in the short-loin from male and female farmed red deer in New Zealand. *Meat Sci.*, 2010, **86** (2), 505-510.
- [20] StatSoft, Inc STATISTICA (data analysis software system), version 9.0. Tulsa, OK, USA, 2009.
- [21] Stevenson J.M., Seman D.L., Littlejohn R.P.: Seasonal variation in venison quality of mature, farmed red deer stags in New Zealand. *J. Anim. Sci.*, 1992, **70** (5), 1389-1396.
- [22] Szkucik K.: Pozostałość krwi w tkankach wykrwawianych zwierząt. *Med. Wet.*, 1998, **54**, 537-540.
- [23] Trziszka T.: Technological evaluation of carcasses and meat in red deer and roe deer. *Zesz. Nauk. AR Wrocław*, 1975, **XX**, **111**, 149-155.
- [24] Van Oeckel M.J., Warnants N., Boucqueé Ch.V.: Comparison of different methods for measuring water holding capacity and juiciness of pork versus on-line screening methods. *Meat Sci.*, 1999, **51** (4), 313-320.
- [25] Wiklund E., Stevenson-Barry J.M., Duncan S.J., Littlejohn R.P.: Electrical stimulation of red deer (*Cervus elaphus*) carcasses - effects on rate of pH-decline, meat tenderness, colour stability and water-holding capacity. *Meat Sci.*, 2001, **59** (2), 211-220.
- [26] Zomborszky G., Szentmihályi I., Sarudi I., Horn P., Szabó C.S.: Nutrient composition of muscles in deer and boar. *J. Food Sci.*, 1996, **61** (3), 625-635.
- [27] Żochowska-Kujawska J., Lachowicz K., Sobczak M., Bienkiewicz G.: Utility for production of massaged products of selected wild boar muscles originating from wetlands and arable area. *Meat Sci.*, 2010, **85** (3), 461-466.
- [28] Żochowska-Kujawska J., Sobczak M., Lachowicz K., Nitek L.: Wydajność łowna i udział elementów zasadniczych w tuszach dzików w zależności od sezonu i miejsca odstrzału oraz płci. *Med. Wet.*, 2010, **66**, 335-338.


QUALITY COMPARISON OF MEAT FROM RED DEER (*CERVUS ELAPHUS L.*) HARVESTED IN POLAND AND HUNGARY

S u m m a r y

The objective of this research study performed was to compare the quality of meat from red deer (*Cervus elaphus L.*) stags that were hunter-harvested in Hungary (10 animals) and north-eastern Poland (10 animals). The animals aged 3 to 5 years were included in the research study; all of them were shot during the same hunting season. Four primal cuts (saddle, fore-end, shoulder, and leg) were trimmed from the carcasses. Meat from each cut was chopped and, upon mixing, a meat sample, an average for the given cut (approximately 300 g), was collected from that cut. The chemical composition and physicochemical properties of meat were determined.

Based on the analyzes performed, it was found that meat from the red deer from the Polish hunting grounds was characterized by a higher ($p \leq 0.05$) content of dry matter, fat, and mineral components determined in the form of ash. Additionally, its colour was darker ($p \leq 0.01$) and characterized by a lower ($p \leq 0.01$) content of yellowness (b^*) and redness (a^*), and, consequently, also by a lower level ($p \leq 0.01$) of saturation (C^*). Next, meat from red deer stags from Hungary was characterized by a higher ($p \leq 0.01$) mean value of pH.

The quality analysis of the four primal carcass cuts was conducted and, based thereupon, it was found that meat from the saddle was characterized by the highest content of dry matter whereas meat from the shoulder and neck by the lowest content thereof (those differences were statistically confirmed). The lowest per cent content of total proteins was found in meat from the shoulder; it was significantly lower than the content determined in meat from the saddle ($p \leq 0.01$) and leg ($p \leq 0.05$). Meat from the saddle and leg was characterized by lower ($p \leq 0.01$) mean values of pH, a higher water-holding capacity (those differences were confirmed statistically), and by a lower ($p \leq 0.01$) cooking loss compared with meat from the neck and shoulder. The darkest colour ($p \leq 0.01$) showed meat from the saddle whereas meat from the neck and shoulder showed the lightest ($p \leq 0.01$) colour. Meat from the neck was definitely characterized by the highest saturation (C^*) value ($p \leq 0.01$), whereas the lowest values of the C^* parameter were found in meat from the saddle and leg; this was a consequence of the differences in the per cent content of the red and yellow component in the colour of the meat analyzed.

Key words: game, red deer, meat quality 

TOMASZ FLOROWSKI, ANNA FLOROWSKA, ANNA KUR, ANDRZEJ PISULA

PORÓWNANIE WPŁYWU DODATKU BIAŁKA KOLAGENOWEGO I SOJOWEGO NA JAKOŚĆ RESTRUKTUROWANYCH SZYNEK PARZONYCH WYPRODUKOWANYCH Z MIĘSA PSE

Streszczenie

Przetwórstwo mięsa PSE wymaga stosowania różnych dodatków funkcjonalnych, w tym zwiększających związaną i utrzymanie wody w produkcie oraz poprawiających jego teksturę. Celem pracy było porównanie wpływu dodatku białka kolagenowego i sojowego na jakość restrukturyzowanych szynek parzonych wyprodukowanych z mięsa PSE. Stwierdzono, że zastosowanie preparatu białek kolagenowych, w porównaniu z preparatem białek sojowych, pozwala na ograniczenie wielkości wycieku w trakcie chłodniczego przechowywania produktów. Zastosowanie preparatu białek sojowych wpływa na uzyskanie produktu o większej twardości i żuźności. Nie zaobserwowano istotnych różnic w oddziaływaniu porównywanych preparatów na ilość wycieku w trakcie obróbki termicznej wyrobów, parametry ich barwy, skład chemiczny oraz wyróżniki jakości sensorycznej. Zastosowanie obu preparatów białkowych pozwoliło na wytworzenie produktów dobrej jakości i może być rekomendowane do produkcji wyrobów restrukturyzowanych z mięsa PSE.

Słowa kluczowe: białko kolagenowe, białko sojowe, mięso PSE, szynka, jakość

Wprowadzenie

Istotnym problemem krajowego przemysłu mięsnego jest duża częstość występowania mięsa wieprzowego obciążonego wadą jakości PSE. Strzelecki i wsp. [18] wykazali, że w sezonie letnim 2007 r. średnia częstość występowania mięsa PSE (częściowo PSE, PSE i ekstremalnie PSE) kształtowała się w Polsce na poziomie przekraczającym 50 %.

Powstawanie wady jakościowej typu PSE jest wynikiem zbyt szybkiego obniżania pH mięsa w pierwszych kilkadziesiąt minutach po uboju świń. Obniżenie pH mięsa do wartości poniżej 5,8 w ciągu 45 min po uboju wraz z utrzymującą się wysoką

Dr inż. T. Florowski, dr inż. A. Florowska, mgr inż. A. Kur, prof. dr hab. A. Pisula, Katedra Technologii Żywności, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa

jego temperaturą (39 - 42 °C), powoduje częściową denaturację białek mięśniowych i utratę nieprzepuszczalności błon komórkowych [1, 14, 19]. Efektem tych przemian jest m.in. zbyt jasna barwa [2] i delikatna, rozwarstwiająca się struktura mięsa oraz duży wyciek soku mięsnego [7]. Mięso takie nie nadaje się do produkcji porcji kulinarnych i powinno być zagospodarowywane w produkcji przetwórczej. Niestety, mięso PSE cechuje się również obniżoną przydatnością przetwórczą, w tym zmniejszoną wodochłonnością i zwiększoną ilością ubytków masy w trakcie obróbki termicznej. Wytworzenie z takiego surowca produktów o dobrej i powtarzalnej jakości wymaga zatem stosowania dodatków funkcjonalnych, które poprzez swoje oddziaływanie mogłyby zniwelować niekorzystny wpływ niskiej jakości mięsa. Kłossowska i Olkiewicz [6] podają, że dobre efekty w ograniczaniu niekorzystnego wpływu mięsa PSE na jakość wyrobu (konserwy pasteryzowane) można uzyskać, stosując łączny dodatek preparatów transglutaminazy i białek funkcjonalnych. Na korzystny wpływ dodatku białek funkcjonalnych na jakość modelowej konserwy blokowej zawierającej 50-procentowy udział mięsa PSE, objawiający się zmniejszoną ilością wycieku termicznego, wskazują również Olkiewicz i Kłossowska [8]. Możliwość wykorzystania białek niemięśnych w przetwórstwie mięsa obciążonego różnymi wadami jakościowymi wynika z ich zdolności wiązania wody i emulgowania tłuszczu oraz żelowania. Dzięki ich zastosowaniu uzyskuje się również poprawę tekstury i krajalności oraz zwiększenie soczystości produktów [21]. Spośród preparatów białkowych pochodzenia roślinnego, niwelujących niekorzystny wpływ niskiej jakości mięsa na jakość przetworów, największe zastosowanie mają izolaty białka sojowego [9]. Przepuszczalnie zastosowanie w przetwórstwie mięsa PSE mogą mieć również preparaty kolagenowe. Wskazywać na to może ich zdolność wiązania wody i tworzenia struktur żelowych oraz korzystny wpływ na kształtowanie tekstury produktów [4].

Celem pracy było porównanie wpływu dodatku białka kolagenowego i sojowego na jakość restrukturyzowanych szynki parzonych wyprodukowanych z mięsa wieprzowego typu PSE.

Material i metody badań

Surowiec do produkcji restrukturyzowanych szynki wędzonych, parzonych stanowiło mięso wieprzowe z rozbioru szynki (*m. semimembranosus*), wykrawane po około 24 h od uboju świń. Do badań pobierano próbki mięsa, które na podstawie oceny wizualnej zostało wyselekcjonowane i zakwalifikowane przez pracownika działu rozbioru zakładu mięsnego jako mięso o obniżonej jakości. Charakteryzowało się ono m.in. zbyt jasną barwą, nietypową, zbyt „luźną” i rozwarstwiająca się strukturą oraz nadmierną wodnistością powierzchni, czyli cechami typowymi dla mięsa obciążonego wadą PSE. Tak wyselekcjonowane mięso poddawano dodatkowej kontroli przewodności elektrycznej (pomiar wykonywano po około 24 h od uboju świń) i do dalszych badań po-

bierano wyłącznie próbki o przewodności elektrycznej >10 mS. Pobrano łącznie próbki mięsa z 18 półtuszy.

Próbki mięsa pakowano próżniowo w woreczki z folii polietylenowej, a następnie zamrażano i przechowywano w temp. -22 °C do czasu produkcji (około 4 tygodnie). W przeddzień produkcji próbki mięsa wyjmowano z mroźni i rozmrażano w chłodni w temp. $4 - 6$ °C przez 24 h (ilość wycieku rozmrażalniczego kształtowała się średnio na poziomie 8,4 %). Z rozmrożonego mięsa produkowano restrukturyzowane szynki wędzone, parzone. Mięso rozdrabniano w wilku laboratoryjnym (90 % mięsa z użyciem szarpaka, 10 % mięsa z użyciem siatki o średnicy otworów 3 mm). Następnie mięso mieszano w mieszalce (mieszalka Kenwood Major; czas 20 min, temp. $4 - 6$ °C) z solanką (10 % w stosunku do masy mięsa) zawierającą peklosól (1,7 % w stosunku do masy farszu), preparat białka kolagenowego lub sojowego (izolat, 1,3 % w stosunku do masy farszu) i mieszankę przypraw do szynki (0,4 % w stosunku do masy farszu). Wytworzony farsz pozostawiano w chłodni na 24 h. Po tym czasie formowano batony (po jednym z każdego wariantu) o średnicy około 70 mm i masie około 600 g, stosując jako osłonkę folię kolagenową. Uformowane batony ważono i poddawano obróbce wędzarniczo-parzalnicy (wędzenie w temp. 50 °C przez 40 min; parzenie w temp. 85 °C do uzyskania w centrum geometrycznym temp. 72 °C). Po obróbce termicznej produkty chłodzono pod natryskiem wody wodociągowej i przechowywano w chłodni ($4 - 6$ °C) przez 24 h. Następnie produkty ważono w celu określenia wielkości ubytków masy podczas obróbki wędzarniczo-parzalnicy oraz przeprowadzano ocenę ich jakości. Badania obejmowały:

- pomiar parametrów tekstury produktu (maszyna Zwick, typ 1120). Przeprowadzano test podwójnego ściskania celem wyznaczenia spoistości, sprężystości, żujności i twardości oraz dokonywano pomiaru siły cięcia produktu. Próbki do przeprowadzenia testu podwójnego ściskania stanowiły sześciiany o boku 20 mm wycięte ze środkowej części batonu (po usunięciu uwędzonej zewnętrznej jego warstwy). Próbki ściskano pomiędzy dwiema równoległymi płytkami do 50 % ich początkowej wysokości. Z każdego wariantu szynki badaniom poddawano 4 próbki produktu. Za wynik przyjmowano wartość średnią pomiarów. Próbki do pomiaru siły cięcia miały kształt prostopadłościanów o wymiarach $50 \times 40 \times 10$ mm, wycinanych ze środkowej części batonu (po usunięciu uwędzonej zewnętrznej jego warstwy). Mierzono maksymalną siłę potrzebną do przecięcia próbki w przystawce Warnera-Bratzlera z nożem płaskim. Pomiarów dokonywano w trzech punktach każdej z próbek. Uzyskane wyniki uśredniano;
- pomiar parametrów L^* , a^* , b^* barwy produktu – pomiar wykonywano kolorymetrem odbiciowym Minolta CR-200 na świeżym przekroju próbki produktu. Na każdej próbce produktu dokonywano sześciu pomiarów barwy, za wynik pomiaru przyjmowano wartość średnią;

- pomiar stabilności barwy produktu – stabilność barwy wyrażano parametrem całkowitej różnicy barw (ΔE) produktu przed i po naświetlaniu w standardowych warunkach (czas 20 min, światło białe żarowe, żarówka o mocy 20 W);
- oznaczenie ilości wycieku przechowalniczego – próbki produktu o masie około 300 g ważono, pakowano próżniowo i przechowywano w warunkach chłodniczych (4 - 6 °C) przez 4 tygodnie, po czym ponownie ważono, a z różnicy mas wyliczono ilość wycieku przechowalniczego;
- oznaczenie zawartości wody (PN-ISO 1442:2000) [12], białka (PN-75/A-04018) [10] i tłuszczu (PN-ISO 1444:2000) [13];
- analizę sensoryczną –przeprowadzaną z wykorzystaniem niestrukturowanej skali graficznej intensywności wrażeń sensorycznych z określeniami brzegowymi, analizowano pożądalność smaku, zapachu i barwy, ogólną pożądalność produktu (określenia brzegowe: pożądan(a) – niepożądan(a)) oraz wilgotność powierzchni (określenia brzegowe: powierzchnia sucha – powierzchnia wilgotna) i soczystość (określenia brzegowe: soczystość mała – soczystość duża). Analizę sensoryczną przeprowadzał każdorazowo zespół tych samych ośmiu osób złożony z pracowników i studentów Zakładu Technologii Mięsa SGGW w Warszawie).

Produkcję restrukturowanych szynek wędzonych, parzonych i ocenę ich jakości powtarzano trzykrotnie, w niezależnych seriach badań ($n = 3$). Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej z wykorzystaniem programu Statgraphics plus 4.1. Hipotezę o równości średnich sprawdzano, przeprowadzając test t-Studenta ($p = 0,05$).

Wyniki i dyskusja

Stwierdzono, że rodzaj zastosowanego preparatu białkowego nie różnicował wielkości ubytków masy powstałych w trakcie obróbki termicznej szynek restrukturowanych z mięsa PSE (tab. 1). Obserwowane wielkości ubytków masy kształtowały się na zbliżonym poziomie w przypadku obu stosowanych preparatów i wynosiły 10,9 % w przypadku szynki z dodatkiem białka kolagenowego i 11,3 % z dodatkiem białka sojowego. Jak podają Rutkowski i Kozłowska [15], zastosowanie izolatu białek sojowych do produkcji wyrobów parzonych pozwala na ograniczenie ubytków masy w trakcie obróbki termicznej i w efekcie zwiększa wydajność produkcji dzięki dobremu współdziałaniu z białkami mięsa. Według Olkiewicza i Kłossowskiej [8] zastosowanie białek funkcjonalnych do produkcji modelowej konserwy mięsnej zawierającej 50-procentowy udział mięsa PSE zwiększało zdolność zatrzymywania wody przez mięso i wpływało na zmniejszenie ilości wycieku termicznego. Słowiński [17] stwierdził, że zwiększenie wydajności produkcyjnej wędzonek parzonych jest możliwe również dzięki białkom kolagenowym.

Tabela 1

Ilość wycieku w trakcie obróbki termicznej i przechowywania chłodniczego szynek restrukturowanych z mięsa wieprzowego PSE.

Amount of cooking loss and weight loss during thermal treatment and cold storage of restructured hams from PSE pork meat.

Wyróżnik / Characteristic	Produkt wytworzony z dodatkiem: Product made with the addition of:			
	białka kolagenowego collagen protein		białka sojowego soy protein	
Ilość wycieku w trakcie obróbki termicznej [%] Cooking loss [%]	10,9 ^a	± 0,9	11,3 ^a	± 0,6
Ilość wycieku w trakcie przechowywania [%] Weight loss during storage [%]	1,4 ^a	± 0,4	2,9 ^b	± 0,1

Objaśnienia: / Explanatory notes:

wartość średnia ± odchylenie standardowe / mean value ± standard deviation;

wartości średnie w wierszach oznaczone tymi samymi małymi literami nie różnią się między sobą statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$); $n = 3$. / Mean values in the rows and denoted by the same small letters do not differ statistically significantly ($p \leq 0.05$); $n=3$.

Konsekwencją wykorzystania mięsa PSE do produkcji szynek parzonych może być nadmierny wyciek powstały w trakcie ich chłodniczego przechowywania. Stwierdzono, że większą skuteczność w ograniczaniu wielkości ubytków masy w trakcie chłodniczego przechowywania szynek restrukturowanych parzonych wytworzonych z mięsa PSE miał preparat białek kolagenowych niż sojowych (tab. 1). Ilość wycieku z produktu wytworzonego z mięsa PSE z dodatkiem preparatu białek kolagenowych kształtowała się na poziomie 1,4 %, natomiast w przypadku zastosowania preparatu białek sojowych wyciek ten był ponad dwukrotnie większy (średnio 2,9 %).

Wykorzystanie w przetwórstwie mięsa PSE może mieć również niekorzystny wpływ na parametry tekstury produktów. Wpływ niskiej jakości surowca na jakość produktu próbuje się niwelować przez zastosowanie różnych dodatków funkcjonalnych, w tym o działaniu teksturotwórczym. Stwierdzono, że zastosowanie preparatu białek sojowych pozwala na uzyskanie produktu o większej twardości i żujności w porównaniu z produktem wytworzonym z dodatkiem białka kolagenowego. Nie zaobserwowano natomiast istotnych różnic pod względem spoistości i sprężystości szynek wytworzonych z dodatkiem badanych preparatów (tab. 2).

W przypadku niektórych gatunków przetworów mięsnych, szczególnie restrukturowanych parzonych, wskutek obniżonej zdolności żelowania białek, może pojawić się również problem pogorszonej krawalności produktu. W przeprowadzonych badaniach nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic pod względem siły cięcia szynek wytworzonych z dodatkiem preparatu białek sojowych i kolagenowych (tab. 2). Jak poda-

ją Gwiazda i wsp. [4] oraz Słowiński [17], zarówno preparaty białek kolagenowych, jak i sojowych zalicza się do składników pozytywnie wpływających na teksturę produktu i ułatwiających plasterkowanie. Natomiast z badań Olkiewicza i Kłossowskiej [8] wynika, że zastosowanie preparatu białek sojowych do produkcji konserw pasteryzowanych zawierających 50-procentowy udział mięsa PSE powodowało niekorzystny efekt w postaci obniżenia wytrzymałości plastrów na zrywanie.

Tabela 2

Parametry tekstury szynek restrukturyzowanych z mięsa wieprzowego PSE.
Texture parameters of restructured hams from PSE pork meat.

Parametr / Parameter	Produkt wytworzony z dodatkiem: Product made with the addition of:			
	białka kolagenowego collagen protein		białka sojowego soy protein	
Spoistość / Cohesiveness	0,3 ^a	± 0,1	0,3 ^a	± 0,1
Sprężystość / Springiness	0,6 ^a	± 0,1	0,7 ^a	± 0
Twardość [N] / Hardness [N]	54,9 ^a	± 2,7	70,6 ^b	± 5,9
Żujność [N] / Chewiness [N]	16,5 ^a	± 2,7	21,4 ^b	± 0,9
Siła cięcia [N] / Shear force [N]	41,9 ^a	± 2,2	41,9 ^a	± 5,3

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

Problemem przy stosowaniu niektórych preparatów białkowych w przetwórstwie mięsa może być ich niekorzystny wpływ na barwę produktu, w tym jej intensywność i jednolitość. Na podstawie przeprowadzonych badań nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic pod względem parametrów L*, a*, b* barwy produktów wytworzonych z dodatkiem preparatu białek sojowych i kolagenowych. Nie zaobserwowano również istotnych różnic w stabilności barwy szynek po ich naświetlaniu w standardowych warunkach (tab. 3).

Odnosząc uzyskane wyniki parametrów barwy do parametrów barwy wędzonek (szynki) rynkowych [3] można stwierdzić, że wyprodukowane szynki restrukturyzowane cechowały się nieznacznie większą jasnością oraz wyższym udziałem parametru barwy a*, a niższym udziałem parametru barwy b* w porównaniu z produktami rynkowymi. Stwierdzona wyższa wartość parametru barwy L* mogła być wynikiem stosowania w produkcji mięsa PSE, którego cechą charakterystyczną jest zbyt jasna barwa [2, 20].

Istotnym pozytywnym efektem stosowania w przetwórstwie mięsa preparatów białkowych jest zwiększenie zawartości białka w produktach. Stwierdzono, że rodzaj zastosowanego w badaniach preparatu białkowego nie różnicował zawartości białka, a także wody i tłuszczu w restrukturyzowanych szynkach parzonych (tab. 4). Wyroby

cehowały się mniejszą zawartością wody i tłuszczu, a większą zawartością białka w porównaniu z wymogami (nieobligatoryjnej) Polskiej Normy [11]. Zawartość wody w szynkach resktukturyzowanych, w porównaniu z wędzonymi produktami analizowanymi przez Grześkowiak i wsp. [3], była również mniejsza o prawie 3 jednostki. Różnice te mogły wynikać z rodzaju przetwarzanego surowca. Cechą charakterystyczną mięsa PSE jest bowiem duży wyciek swobodny [16, 20], powodujący że mięso cechuje się mniejszą zawartością wody a większą zawartością białka.

Tabela 3

Parametry barwy (L^* , a^* , b^*) i parametr całkowitej różnicy barw (ΔE) szynek restrukturyzowanych z mięsa wieprzowego PSE.

Colour parameters (L^* , a^* , b^*) and parameter of total colour difference (ΔE) of restructured hams from PSE pork meat.

Parametr / Parameter	Produkt wytworzony z dodatkiem: Product made with the addition of:			
	białka kolagenowego collagen protein		białka sojowego soy protein	
L^*	67,71 ^a	$\pm 0,22$	66,86 ^a	$\pm 1,05$
a^*	12,29 ^a	$\pm 0,42$	12,66 ^a	$\pm 0,29$
b^*	5,68 ^a	$\pm 0,47$	5,59 ^a	$\pm 0,52$
ΔE	1,87 ^a	$\pm 0,33$	2,13 ^a	$\pm 0,44$

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

Tabela 4

Skład chemiczny szynek restrukturyzowanych z mięsa wieprzowego PSE.

Chemical composition of restructured hams from PSE pork meat.

Składnik / Component	Produkt wytworzony z dodatkiem: Product made with the addition of:			
	białka kolagenowego collagen protein		białka sojowego soy protein	
Woda [%] / Water [%]	70,8 ^a	$\pm 0,1$	70,7 ^a	$\pm 0,3$
Białko [%] / Protein [%]	24,4 ^a	$\pm 0,2$	24,7 ^a	$\pm 0,2$
Tłuszcz [%] / Fat [%]	3,1 ^a	$\pm 0,1$	2,7 ^a	$\pm 0,1$

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

Tabela 5

Wyróżniki jakości sensorycznej szynek restrukturyzowanych z mięsa wieprzowego PSE.
Sensory quality characteristics of restructured hams from PSE pork meat.

Cecha / Features	Produkt wytworzony z dodatkiem: Product made with the addition of:			
	białka kolagenowego collagen protein		białka sojowego soy protein	
Pożądalność smaku [pkt] (0 pożądaný – 10 niepożądaný) / Desirability of taste [points] (0 desired – 10 undesired)	3,2 ^a	± 1,5	3,8 ^a	± 1,7
Pożądalność zapachu [pkt] (0 pożądaný – 10 niepożądaný) / Desirability of aroma [points] (0 desired – 10 undesired)	3,6 ^a	± 1,0	2,1 ^a	± 1,3
Pożądalność barwy [pkt] (0 pożądaný – 10 niepożądaný) / Desirability of colour [points] (0 desired – 10 undesired)	3,7 ^a	± 1,2	3,3 ^a	± 0,6
Soczystość [pkt] (0 mała – 10 duża) / Juiciness [points] (0 little juicy – 10 very juicy)	2,4 ^a	± 0,9	2,0 ^a	± 1,8
Wilgotność powierzchni [pkt] (0 sucha – 10 wilgotna) / Surface moisture [points] (0 dry – 10 wet)	4,6 ^a	± 1,3	3,5 ^a	± 0,8
Pożądalność ogólna [pkt] (0 pożądaný – 10 niepożądaný) / Total desirability [points] (0 desired – 10 undesired)	5,2 ^a	± 1,3	5,1 ^a	± 0,9

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

W badaniach analizowano również różnice jakości sensorycznej restrukturyzowanych szynek parzonych z mięsa PSE wytworzonych z dodatkiem białka sojowego i kolagenowego. Stwierdzono, że pod względem pożądalności smaku, zapachu i barwy badane wyroby nie różniły się między sobą istotnie. Zastosowane preparaty białkowe nie różnicowały również ocenianej sensorycznie soczystości produktu oraz wilgotności jego powierzchni (tab. 5). Stwierdzono ponadto, że pomimo wykorzystywania surowca o obniżonej wodochłonności, powierzchnia produktów z udziałem białka kolagenowego i sojowego nie była oceniana jako nadmiernie wilgotna (wysokość not średnio: 4,6 pkt w przypadku produktu z dodatkiem białka kolagenowego i 3,3 pkt w przypadku produktu z dodatkiem białka sojowego; skala: 0 pkt powierzchnia sucha – 10 pkt powierzchnia wilgotna). Rodzaj zastosowanego preparatu białkowego nie różnicował również wysokości not przyznawanych w ocenie pożądalności ogólnej szynki. Wysokość not kształtowała się na średnim poziomie 5,1 - 5,2 w skali 10-punktowej. Kłossowska i Olkiewicz [6] stwierdzili, że zastosowanie w produkcji konserw pasteryzo-

wanych zawierających 50-procentowy udział mięsa PSE preparatów białek funkcjonalnych, takich jak białko sojowe i kazeinian sodu (obok transglutaminazy) powodowało zwiększenie pożądalności konsystencji i pożądalności ogólnej produktów. Jako składniki korzystnie wpływające na jakość sensoryczną przetworów mięsnych, m.in. poprzez intensyfikację smaku i zapachu, wskazywane są również białka kolagenowe [5].

Wnioski

1. Zastosowanie preparatu białek kolagenowych do produkcji restrukturowanych szynek wędzonych, parzonych wytworzonych z mięsa PSE, w porównaniu z preparatem białek sojowych, skutkowało ograniczeniem wielkości wycieku w trakcie przechowywania chłodniczego, natomiast zastosowanie preparatu białek sojowych – uzyskaniem produktu o większej twardości i żujności.
2. Rodzaj stosowanych preparatów białkowych nie różnicował ilości wycieku w trakcie obróbki termicznej ani parametrów barwy, składu chemicznego oraz wyróżników jakości sensorycznej restrukturowanych szynek wędzonych, parzonych wytworzonych z mięsa PSE.
3. Zastosowanie zarówno preparatu białek kolagenowych, jak i sojowych pozwoliło na wytworzenie produktu dobrej jakości i może być rekomendowane do produkcji wyrobów restrukturowanych z mięsa PSE.

Literatura


- [1] Binke R.: Vom Muskel zum Fleisch. *Fleischwirtschaft*, 2004, **84** (5), 224-227.
- [2] Chmiel M., Słowiński M., Cal P.: Zastosowanie komputerowej analizy obrazu do wykrywania wady PSE mięsa wieprzowego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, **6** (79), 47-54.
- [3] Grześkowiak E., Fabian M., Lisiak D.: Ocena zawartości fosforu oraz jakości mięsa i przetworów mięsnych dostępnych na rynku krajowym żywność. *Żywność Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, **2** (75), 160-170.
- [4] Gwiazda S., Dąbrowski K., Rutkowski A.: Surowce do produkcji przetworów mięsnych. W: *Mięso – podstawy nauki i technologii*. Red. A. Pisula i E. Pospiech. Wyd. SGGW, Warszawa 2011.
- [5] Jankiewicz L., Słowiński M.: *Technologia produkcji wędlin. Wędzonki parzone*. Wyd. Pol. Wyd. Fachowe, seria Mięso i Wędliny, Warszawa 1999.
- [6] Kłossowska B.M., Olkiewicz M.: Poprawa tekstury produktu z udziałem mięsa PSE. *Rocz. IPMiT*, 2003, **40**, 111-123.
- [7] Offer G.: Modelling of the formation of pale, soft and exudative meat: effects of chilling regime and rate and extent of glycolysis. *Meat Sci.*, 1991, (2) **30**, 157-184.
- [8] Olkiewicz M., Kłossowska B.M.: Próba uzdatnienia mięsa wieprzowego PSE do przetwórstwa przy kompleksowym zastosowaniu wybranych dodatków funkcjonalnych. *Roczniki IPMiT*, 2002, **39**, 171-184.
- [9] Pisula A., Florowski T.: Jakość mięsa a celowość stosowania dodatków funkcjonalnych w przetwórstwie. *Dodatki a współczesne przetwórstwo mięsne*. Wyd. Polska Izba Dodatków do Żywności, Kolin 2008, ss. 9-26.

- [10] PN-A-04018:1975. Produkty rolniczo-żywnościowe. Oznaczanie azotu metodą Kjeldahla i przeliczanie na białko.
- [11] PN-A-82007:1996. Przetwory mięsne. Wędliny.
- [12] PN-ISO 1442:2000. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości wody (metoda odwoławcza).
- [13] PN-ISO 1444:2000. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości tłuszczu wolnego.
- [14] Przybylski W., Jaworska D., Boruszewska K., Borejko M., Podsiadły W.: Jakość technologiczna i sensoryczna wadliwego mięsa wieprzowego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **1 (80)**, 116-127.
- [15] Rutkowski A., Kozłowska H.: Preparaty żywnościowe z białka roślinnego. WNT, Warszawa 1981.
- [16] Schilling M.W., Marriott N.G., Acton J.C., Anderson-Cook C., Alvarado C.Z., Wang H.: Utilization of response surface modelling to evaluate the effects of non-meat adjuncts and combination of PSE and RFN pork on water holding capacity and cooked color in the production of boneless cured pork. *Meat Sci.*, 2004, **66**, 371-381.
- [17] Słowiński M.: Proces technologiczny produkcji wędzonek. W: *Mięso – podstawy nauki i technologii*. Red. A. Pisula i E. Pospiech. Wyd. SGGW, Warszawa 2011.
- [18] Strzelecki J., Lisiak D., Borzuta K., Winarski R., Borys A., Wajda S., Kondratowicz J., Janiszewski P., Chwastowska I., Burczyk E.: Stan jakościowy mięsa tusz wieprzowych z pogłowia masowego ocenianego w 2007 roku. *Rocz. IPMiT*, 2008 **46 (1)**, 105-110.
- [19] Torley P.J., D'Arcy B.R., Trout G.R.: The effect of ionic strength, polyphosphates type, pH, cooking temperature and pre-blending on the functional properties of normal and pale, soft, exudative (PSE) pork. *Meat Sci.*, 2000, **55**, 451-462.
- [20] Van Oeckel M.J., Warnants N.: Variation of the sensory quality within the *m. longissimus thoracis et lumborum* of PSE and normal pork. *Meat Sci.*, 2003, **63**, 293-299.
- [21] Weber H.: Wirkung und Wirkungsweise. 1. Teil. *Fleischwirtschaft*, 2004, **84 (7)**, 31-34.

COMPARING EFFECT OF ADDED COLLAGEN AND SOYBEAN PROTEINS ON QUALITY OF RESTRUCTURED COOKED HAMS MADE FROM PSE MEAT

S u m m a r y

When processing PSE meat, it is required to use different functional additives including those to improve water binding and water holding capacity of the product as well as its texture. The objective of this study was to compare the effect of collagen and soy protein addition on the quality of restructured cooked hams manufactured from PSE meat. It was found that, compared to soy protein, the use of collagen protein made it possible to decrease a weight loss level during the refrigerated storage of products. The impact of soy protein preparations applied was that the hardness and chewiness of the product obtained became higher. No significant differences were reported as regards the effect of the two preparations under comparison on the amount of cooking loss during the treatment, colour parameters, chemical composition, and sensory quality of the ham products analyzed. When using the two preparations, it was possible to manufacture products of good quality, so, they can be recommended for the manufacture of products from PSE meat.

Key words: collagen protein, soy protein, PSE meat, ham, quality 

ELŻBIETA BILLER

PRÓBA IDENTYFIKACJI CECH SENSORYCZNYCH MIĘSA PIECZONEGO ZWIĄZKAMI LOTNYMI POWSTAJĄCYMI W MODELOWEJ REAKCJI LIZYNY Z RYBOŻĄ

Streszczenie

Oznaczono substancje lotne powstające w pieczonym produkcie z mielonego mięsa wieprzowo-wołowego i w termicznych reakcjach lizyny z rybożą w celu wyodrębnienia związków identycznych, które powstają w obu procesach. Dodatkowo próbki mięsa po upieczeniu poddano ocenie sensorycznej.

Z mięsa mielonego przyrządzono produkty o różnym udziale wieprzowiny do wołowiny [% (m/m)]: 100 : 0; 95 : 5; 90 : 10; 85 : 15. Obróbkę termiczną próbek przeprowadzono w opiekaczu gastronomicznym Philips, typ HD4454/A, w temp. 185 ± 5 °C. Związki lotne analizowano w warstwach powierzchniowych i wewnętrznych produktów mięsnych. Reakcje lizyny z rybożą przeprowadzono w tej samej temperaturze, zmienny był natomiast czas procesu, który wynosił: 5, 10, 15, 30, 45 i 60 min.

Na podstawie wyników badań określono aktywne sensorycznie substancje lotne, charakterystyczne dla reakcji termicznych zachodzących podczas pieczenia mięsa i w reakcjach lizyny z rybożą, determinujące część cech sensorycznych mięsa. Po zastosowaniu analizy czynnikowej wyodrębniono następujące wspólne istotne zmienne: benzaldehyd, butan-2-on, 1-hydroksypropan-2-on, butan-2,3-diol, octan butylu, heptanal, oktanal, pentan-2,3-dion, 2-pentylfuran, zapach przypalony, posmak goryczki, barwa i zapach mięsny. Następnie wykorzystano analizę PCA do klasyfikacji cech jakościowych badanych produktów mięsnych. Z rzutu przypadków na płaszczyznę czynników wyodrębniono dwa zasadnicze podzbiory symboli punktów, na podstawie których można było od siebie odróżnić cechy jakościowe pochodzące z obu warstw produktów mięsnych. Dodatkowo można było stwierdzić podobieństwa i różnice cech jakościowych poszczególnych próbek w każdym z podzbiorów. Dowiedziono, że w modelowych reakcjach lizyny z rybożą można wyodrębnić takie związki lotne, które będą utożsamiane z cechami sensorycznymi mięsa pieczonego. Można więc uprościć badania produktu do ukierunkowanych analiz modelowych.

Słowa kluczowe: mięso, pieczenie, związki lotne, reakcje lizyny z rybożą, cechy sensoryczne

Wprowadzenie

Związki lotne w żywności, w tym w mięsie, stanowią wskaźnik: źródła pochodzenia surowców, składu recepturowego produktów, stopnia zaawansowania reakcji utlenienia tłuszczów, degradacji białek, cukrów, witamin i reakcji nieenzymatycznego brązowienia (NB) [3, 8, 17, 24, 26]. Wiele związków lotnych wykazuje charakterystyczne cechy smakowo-zapachowe [2, 8, 15, 20]. Dzięki temu mogą one stanowić wstępny wskaźnik cech jakościowych żywności. Np. substancje świadczące o stopniu zjełczenia tłuszczów w wyrobach mięsnych są łatwo identyfikowane przez konsumentów [17, 26]. Poznanie zależności między rodzajami tworzących się związków lotnych w mięsie a cechami sensorycznymi mogłoby mieć zastosowanie praktyczne.

Zmysły człowieka identyfikują wiele substancji lotnych w tym samym czasie i często rozpoznają je jako ich zbiór [10]. Podczas tradycyjnych metod pieczenia, opiekania czy smażenia mięsa zachodzą reakcje chemiczne, przy czym są one inne w warstwach powierzchniowych niż w wewnętrznych. Na powierzchni mięsa zachodzą głównie reakcje Maillarda, ponieważ warstwy te są ogrzewane do wysokiej temperatury i jednocześnie odwadniane [1, 2]. Natomiast temperatura wewnątrz produktu w tym czasie jest niższa niż na powierzchni, co spowalnia reakcje NB [1]. Mimo to większość autorów analizuje ujednoczoną próbkę [6, 7, 12, 24], nie stosując podziału na warstwy: powierzchniową i wewnętrzną. Tym samym pomija się fakt większego zazwyczaj udziału warstwy wewnętrznej w stosunku do powierzchniowej w ogólnej masie mięsa: pieczonego, opiekane, smażonego. Kolejnym istotnym problemem w analizie mięsa i jego pochodnych są wieloskładnikowość i różnorodność ich składu chemicznego. Cechy te są związane z różną zawartością białek, peptydów i aminokwasów, nukleotydów, cukrów oraz tłuszczu w surowcu wyjściowym [18]. Generuje to trudności w prognozowaniu przyszłych zjawisk zachodzących w dwóch analogicznych, ale np. pochodzących z różnych źródeł próbkach. Metodą rozwiązania tego problemu są badania modelowe [16, 30]. W przypadku symulacji zjawisk zachodzących w mięsie, w tym powstawania związków lotnych, wykorzystuje się np. jeden cukier (rybozę lub glukozę) i jeden aminokwas (siarkowy lub lizynę) bądź witaminy [16, 30]. Wyniki takich reakcji są powtarzalne, ponieważ do ich przeprowadzania stosuje się czyste chemicznie składniki. Ich wadą jest jednak to, że odzwierciedlają tylko część procesów chemicznych, które przebiegają w mięsie podczas jego przetwarzania [1]. Dlatego należy poszukiwać zależności pomiędzy zjawiskami zachodzącymi w badaniach modelowych pojedynczych związków i w produktach żywnościowych (mięsie), łącząc je z cechami sensorycznymi. Tylko wtedy zostanie uwzględniona percepcja konsumenta – nadrzędnego adresata każdego produktu. Założono więc, że badając związki lotne powstające w zróżnicowanych próbkach mięsa pieczonego i w reakcji modelowej aminokwasu z cukrem redukującym, można by wyodrębnić takie substancje wspólne, które łączyłyby wyniki badań modelowych z cechami sensorycznymi produktu.

Celem pracy było określenie substancji lotnych wspólnych dla reakcji modelowych lizyny z rybozą i reakcji zachodzących podczas pieczenia mięsa, związanych z jego cechami sensorycznymi.

Material i metody badań

Przygotowanie materiału badawczego

Materiałem do badań były karkówka wieprzowa i udziec wołowy. Mięso zakupiono bezpośrednio w zakładach mięsnych. Surowiec rozdrabniano w wilku Predom - Zelmer 186, przy użyciu tarczy przeciskowej o średnicy otworów 4 mm, a następnie zamrażano w temp. $-28\text{ }^{\circ}\text{C}$. Przed rozpoczęciem badań mięso rozmrażano w warunkach chłodniczych (12 h, temp. $4\text{ }^{\circ}\text{C}$). Z rozmrożonego mięsa przygotowywano próby produktów mięsnych (po 10 próbek w każdej grupie) według schematu:

- próba zerowa (O) – mielone mięso wieprzowe o naturalnym pH (5,31),
- próba kontrolna (K) – mielone mięso wieprzowe, którego pH wystandaryzowano do wartości 5,60 przez dodatek kwasu octowego,
- próby mielonego mięsa wieprzowego z dodatkiem mielonego mięsa wołowego w ilości [% m/m]:
 - a) 5 % mięsa wołowego – grupy próbek o pH: 6,05, 5,51 i 5,42,
 - b) 10 % mięsa wołowego – grupy próbek o pH: 6,34; 5,70 i 5,66,
 - c) 15 % mięsa wołowego – grupy próbek o pH: 6,20; 6,00 i 5,43.

Mięso należące do każdej grupy ujednolicano przez wymieszanie i formowano z niego prostopadłościaki o wymiarach ok. $7 \times 5 \times 2\text{ cm}$ i masie ok. 80 g każdy. Obróbkę termiczną przeprowadzano w komorze roboczej opiekacza gastronomicznego (Philips, typ HD4454/A), w temp. $185 \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Czas pieczenia wynosił 30 min, po ok. 15 min z dwóch stron każdej próbki, do uzyskania temp. $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ w środku geometrycznym wyrobu.

Z L-lizyny (Sigma - Aldrich, Inc. Group, Saint Louis, Missouri, USA, czystość $\geq 98\%$) i D-rybozy (Sigma - Aldrich, Inc. Group, Saint Louis, Missouri, USA, czystość $\geq 97\%$) przygotowano roztwory wodne o stężeniu molowym $0,1\text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$. Oba roztwory mieszano w równych objętościach ($10 + 10\text{ cm}^3$). Mieszaniny doprowadzano do wartości pH równej 5,60, dodając bufor fosforanowy $\text{Na}_2\text{HPO}_4\cdot\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7\cdot\text{H}_2\text{O}$ o pH 4 (Chempur, Piekary Śląskie, Polska). Próbki ogrzewano wewnątrz komory roboczej opiekacza gastronomicznego (Philips HD4454/A) w temp. $185 \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Materiałem do badań były mieszaniny poreakcyjne ogrzewane w ciągu: 5, 10, 15, 30, 45 i 60 min. Temperatura obróbki i pH wyjściowe roztworów miały symulować warunki pieczenia mięsa.

Zakres i metody badań

We wszystkich próbkach surowego mięsa oznaczano pH początkowe, gdyż determinuje ono przebieg reakcji nieenzymatycznego brązowienia i powstawanie związków smakowo-zapachowych [16, 18]. Do pomiaru używano pH-metru CP-411 (Elmetron Sp.j., Zabrze, Polska). Aparat kalibrowano wykorzystując bufor $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \times \text{H}_2\text{O}$ o pH 7 (POCH S. A., Gliwice, Polska) i $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \times \text{H}_2\text{O}$ o pH 4 (Chempur, Piekary Śląskie, Polska). Oznaczenie wykonywano trzykrotnie z dokładnością do 0,01 [-]. Temp. mierzonych próbek wynosiła ok. 20 °C.

W gotowych produktach mięsnych oddzielano warstwy powierzchniowe (maksymalnie 2 mm grubości) od warstw wewnętrznych. Określano średni procentowy (m/m) udział obu warstw. Wynosiły one: warstwa powierzchniowa $16,03 \pm 2,48$ %, warstwa wewnętrzna $86,22 \pm 1,84$ %. Związki lotne analizowano oddzielnie w próbkach obu warstw.

Upieczone produkty oceniano sensorycznie, nie dzieląc próbek na warstwę powierzchniową i wewnętrzną. Ocena została przeprowadzona przez przeszkolony dziesięcioosobowy zespół. Zastosowano metodę skali dziesięciocentymetrowej niestrukturyzowanej. Analizowano siedemnaście różnych wyróżników sensorycznych, z których tylko pięć wykazywało istotne różnice pomiędzy badanymi próbkami gotowych produktów. Były to: barwa (bardzo błada do ciemnobrązowej), zapach mięsny (niewyczuwalny – mocno wyczuwalny), zapach przypalony (niewyczuwalny – mocno wyczuwalny), posmak goryczki (niewyczuwalny – mocno wyczuwalny) i twardość (bardzo miękkie – twarde). Nieistotne były wyróżniki: wygląd ogólny, zapach tłuszczowy, zapach trawiasty, zapach jelki, zapach woskowy, zapach kwaśny, zapach słodki, smak mięsny, smak tłuszczowy, smak przypalony, posmak mydlasty, posmak kwaśny oraz posmak słodki. Deskryptory opracowano na podstawie danych literaturowych [5, 7, 9, 13, 14, 25].

Związki lotne oznaczano chromatograficznie, stosując następujące parametry: temp. inżektora 200 °C, temp. pieca 4 - 220 °C (4 °C/min), ciśnienie gazu (hel) 35,2 kPa, temp. źródła jonów 170 °C, rodzaj kolumny ZB-WAX Plus (30 m \times 0,25 μm \times 0,25 mm), rodzaj urządzenia - Shimadzu GCMS-QP 2010, zastosowane włókno SPME do ekstrakcji związków lotnych z fazy nadpowierzchniowej – 75 μm CAR/PDMS (carboxen/polydimethylsiloxane), termostatowanie próbki przed ekstrakcją – 20 min, temp. termostatowania i ekstrakcji – 60 °C, czas adsorpcji – 30 min. Ekstrakcję związków lotnych prowadzono znad powierzchni próbek mięsa pieczonego (z obu warstw oddzielnie) o masie 0,5 g, a w przypadku mieszanin poreakcyjnych lizyny z rybozą – znad powierzchni próbek o objętości 0,2 cm^3 . Do próbek dodawano standard wewnętrzny (IS) 1,2-dichlorobenzen (Sigma - Aldrich, Inc. Group, Saint Louis, Missouri, USA, czystość ≥ 99 %). Masa dodanego IS wynosiła 1,306 μg . Bada-

nia realizowano w Zakładzie Oceny Jakości Żywności na Wydziale Nauk o Żywności SGGW. Wszystkie analizy przeprowadzono w co najmniej trzech powtórzeniach.

Związki lotne zidentyfikowano następującymi metodami:

1. Porównywano widma masowe związków lotnych z widmami znanych związków zawartych w bibliotekach NIST 147, PAL 600 oraz NIST 02.
2. Wyliczono ich liniowe indeksy retencji (LRI) na podstawie standardu węglowodórów $C_8 - C_{20}$ (Sigma - Aldrich, Inc. Group, Saint Louis, Missouri, USA).
3. Porównano LRI z informacjami podanymi w bazach danych [8, 20]. Nazwy wszystkich związków podano zgodnie z nomenklaturą IUPAC.
4. Pola powierzchni pod pikami zidentyfikowanych związków dzielono przez pole powierzchni pod pikami IS. W ten sposób wyrażano względny udział każdej substancji w stosunku do ilości standardu wewnętrznego. Szczegóły przebiegu doświadczenia, metodykę oraz LRI wszystkich oznaczonych związków lotnych podano w innej publikacji [1].

Wyniki poddano serii wielowymiarowych testów statystycznych. Zastosowano analizę czynnikową do eliminacji zmiennych nieistotnych, a następnie analizę składowych głównych (PCA) w celu klasyfikacji cech jakościowych przypadków zmiennych istotnych. Do obliczeń wykorzystano program Statistica 10.0 firmy StatSoft.

Wyniki i dyskusja

Procedurę badawczą rozpoczęto od eliminacji spośród ogólnej puli związków lotnych, takich substancji które nie były aktywne sensorycznie [8]. W przypadku warstw powierzchniowych mięsnych produktów pieczonych zidentyfikowano łącznie 117 związków lotnych [1]. Po odrzuceniu związków nieaktywnych sensorycznie i po wykonaniu analizy czynnikowej zredukowano tę liczbę zmiennych do 39 substancji istotnych. W warstwach pod powierzchnią, spośród wszystkich 90 substancji lotnych, ostatecznie pozostało 25. Po różnych etapach reakcji lizyny z rybozą zidentyfikowano łącznie 94 związki lotne [1]. Wśród nich znajdowały się 43 substancje smakowo-zapachowe, które poddano pierwszej analizie czynnikowej. W jej wyniku wyeliminowano zmienne, które nie były powiązane z pozostałymi. Ostatecznie pozostało 28 związków lotnych istotnych, aktywnych sensorycznie. Był to pierwszy etap redukcji zmiennych.

W kolejnym etapie badań, spośród wszystkich związków lotnych istotnych, wyznaczono substancje wspólne dla przemian termicznych zachodzących w warstwach powierzchniowych i w warstwach wewnętrznych produktów mięsnych po pieczeniu oraz w reakcjach modelowych. Wszystkie związki wspólne poddano kolejnej analizie czynnikowej. Ostatecznie otrzymano następujące związki istotne, aktywne sensorycznie: benzaldehyd, butan-2-on, 1-hydroksypropan-2-on, butan-2,3-diol, octan butylu, heptanal, oktanal, pentan-2,3-dion, kwas heksanowy oraz 2-pentylfuran. Substancje te

charakteryzowały jednocześnie: reakcje zachodzące w warstwach powierzchniowych oraz wewnętrznych próbek mięsa po pieczeniu oraz w warunkach modelowych. Związki te wykorzystano następnie do wyliczeń zależności pomiędzy nimi a cechami sensorycznymi produktu upieczonego. Dziesięć wymienionych powyżej związków lotnych, powstających w obydwu badanych warstwach próbek mięsa pieczonego,

Tabela 1

Wartości średnie (\bar{x}) i odchylenia standardowe (s) cech sensorycznych produktów z mielonego mięsa wieprzowo-wołowego po upieczeniu.

Mean values (\bar{x}) and standard deviations (SD) of sensory features of products made of minced pork-beef meat after roasting.

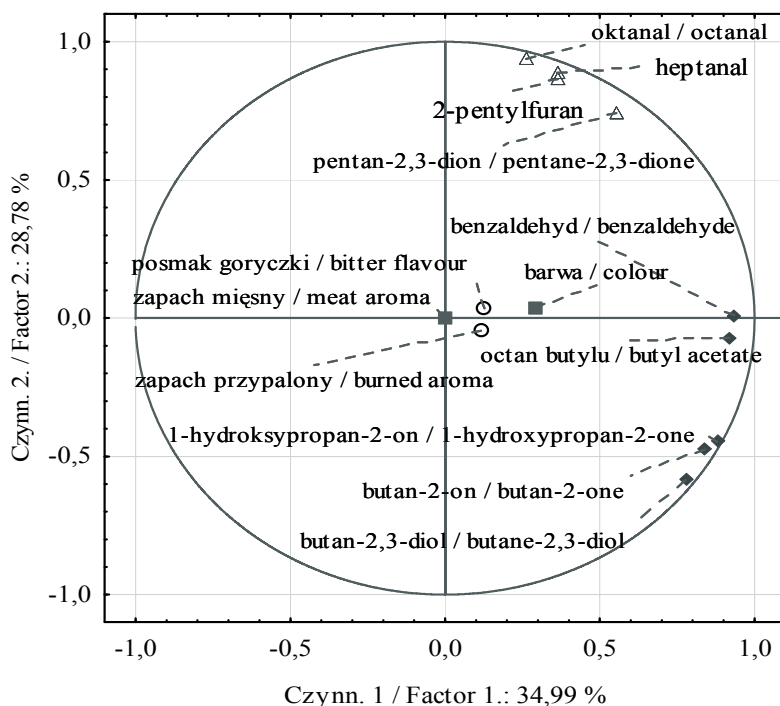
Rodzaj prób Type of samples	Barwa Colour $\bar{x} \pm s / SD$	Zapach mięsny Meat aroma $\bar{x} \pm s / SD$	Zapach przypalony Burnt aroma $\bar{x} \pm s / SD$	Twardość Toughness $\bar{x} \pm s / SD$	Posmak goryczki Bitter flavour $\bar{x} \pm s / SD$
Produkt wieprzowy Pork product	3,61 ± 1,95	6,62 ± 2,01	0,75 ± 1,15*	2,94 ± 1,85	0,57 ± 0,85*
Produkt wieprzowo-wołowy Pork - beef product 5 % mięsa wołowego 5 % of beef meat	6,15 ± 1,17	7,35 ± 1,48	2,06 ± 1,89	5,32 ± 1,88	1,42 ± 1,51*
Produkt wieprzowo-wołowy Pork - beef product 10 % mięsa wołowego 10 % of beef meat	6,44 ± 1,50	6,54 ± 1,90	2,00 ± 1,96	5,78 ± 2,07	1,65 ± 1,97*
Produkt wieprzowo-wołowy Pork - beef product 15 % mięsa wołowego 15 % of beef meat	6,27 ± 1,69	7,32 ± 1,98	1,97 ± 1,83	5,12 ± 2,31	1,70 ± 1,63

Objaśnienia: / Explanatory notes:

- w tabeli podano wartości średnie wyliczone dla dwóch serii produktów wieprzowych (n = 20) i dla trzech serii produktów wieprzowo-wołowych (n = 30) / mean values calculated for two series of pork products (n = 20) and for three series of pork - beef products (n = 30) are presented in the table;

- (*) - przypadki, w których niewielki procent ocen był różny od pozostałych, co spowodowało, że wartości odchylenia standardowych były większe niż wartość średnia / cases, in which small percentage of scores differed from the others; this caused that values of standard deviations were larger than mean value.

Projekcja zmiennych na płaszczyznę czynników (1 x 2) \ Projection of variable onto factor plane (1 x 2)



◆ czynn. 1., △ czynn. 2., ○ czynn. 3., ■ czynn. 4.

Rys. 1. Wyniki grupowania istotnych związków lotnych i cech sensorycznych łączących reakcje zachodzące w warstwach powierzchniowych i wewnętrznych badanych produktów mięsnych, powstających jednocześnie w reakcjach modelowych lizyny z rybozą.

Fig. 1. Clustering results of significant volatile compounds and sensory features that link reactions in surface and inner layers of meat products analyzed, and which, at the same time, are formed in model reactions between lysine and ribose.

oraz wartości cech sensorycznych (tab. 1) poddano kolejnej analizie czynnikowej. Na jej podstawie wykazano, że spośród wszystkich zmiennych poddanych obliczeniom nieistotne były kwas heksanowy i twardość. Obie zmienne można było odrzucić. Po ich pominięciu i ponownym wykonaniu analizy czynnikowej uzyskano cztery czynniki, które wyjaśniały łącznie 84,77 % ogólnej wariancji. Z czynnikiem 1. skorelowane były: benzaldehyd, butan-2-on, 1-hydroksypropan-2-on, butan-2,3-diol oraz octan butylu. Z czynnikiem 2. były związane: heptanal, oktanal, pentan-2,3-dion oraz 2-pentylfuran. Czynnikiem 3. był skorelowany z zapachem przypalonym i posmakiem goryczki, natomiast czynnikiem 4. – z barwą i zapachem mięsnym. Udział poszczególnych czynników w wyjaśnieniu ogólnej wariancji był następujący: czynnikiem pierwszym – 34,98 %, drugim – 28,78 %, trzecim – 11,45 % oraz czwartym: 9,56 % (rys. 1).

Najwięcej informacji dotyczących cech jakościowych badanych próbek mięsa pieczonego wnosili do modelu związki lotne (łącznie 63,76 %). Nie były one bezpośrednio związane z zapachem przypalonym, posmakiem goryczki, barwą ani zapachem mięsnym, ale stanowiły one ich dopełnienie (21,01 %). Wyniki te potwierdziły dotychczasowe informacje literaturowe. Większość autorów podaje bowiem, że najistotniejszymi wyróżnikami smakowo-zapachowymi w opinii konsumentów są cechy związane z wyczuwaniem zmian oksydacyjnych tłuszczu [2, 7, 15, 22]. W przeprowadzonych badaniach nie wykazano statystycznie istotnej zmienności ($p \leq 0,05$) natężenia tych cech w próbkach mięsa po upieczeniu. Odrzucono: zapach tłuszczowy, zapach trawiasty, zapach jełki, smak tłuszczowy i posmak mydlasty, ale ich pośrednim miernikiem były związki lotne, stanowiące pochodne rozkładu kwasów tłuszczowych. Np. benzaldehyd tworzy się na skutek rozkładu kwasu linolenowego, zawartego głównie w roślinach zielonych [7, 27], którymi karmi się zwierzęta. Jego obecność stwierdza się w obrabianej termicznie wołowinie [13, 27] i wieprzowinie [1, 21, 22]. W badaniach O'Sullivan i wsp. [22] związek ten znajdował się w jednej grupie z cechami smakowo-zapachowymi „trawiasty” oraz cechami kwasu mlekowego – „orzeźwiającej kwasowości”. W reakcjach Maillarda lizyny z rybozą benzaldehyd powstawał w śladowych ilościach po 15 i 60 min ogrzewania (tab. 2). Oznaczało to, że w upieczonych próbkach mięsa jego głównym źródłem był najprawdopodobniej rozkład tłuszczu. Sugestia ta dotyczyła głównie warstw wewnętrznych. Temperatura wnętrza próbek podczas obróbki termicznej była stosunkowo niska w porównaniu z temperaturą warstw powierzchniowych. Powodowało to, że reakcje Maillarda w warstwach wewnętrznych zachodziły wolniej [1] niż rozkład tłuszczu. Więcej benzaldehydu zidentyfikowano w warstwach powierzchniowych niż wewnętrznych, ponieważ wysoka temperatura powierzchni sprzyjała zarówno przebiegowi reakcji NB, jak i intensywnemu rozkładowi tłuszczu. Pod względem zapachu benzaldehyd jest zbliżony do cech migdałów i gorzkich migdałów [8].

Innymi związkami charakterystycznymi dla przemian oksydacyjnych tłuszczu były heptanal i oktanal. Heptanal może powstawać na skutek oksydacji kwasu linolowego [5] lub może być wynikiem przemian nienasyconego aldehydu – (E)-okt-2-enalu [23]. Oktanal jest pochodną oksydacji kwasu oleinowego [4, 5], który jest charakterystyczny dla tkanek zwierząt karmionych paszą treściwą [5]. Descalzo i wsp. [5] wykazali, że heptanal i oktanal były skorelowane dodatnio ze stopniem oksydacji tłuszczu mierzonym wskaźnikiem TBARS. W badanych produktach mięsnych po upieczeniu udział obydwu związków był wielokrotnie większy w warstwach wewnętrznych niż w powierzchniowych. W badaniach modelowych stwierdzono, że poziom obydwu aldehydów wzrastał wraz z czasem ogrzewania reagentów (tab. 2). W próbkach mięsnych po

Tabela 2

Indeksy retencji (LRI) oraz średnie względne udziały (\bar{x}) i odchylenia standardowe (s) istotnych związków lotnych w warstwach powierzchniowych i wewnętrznych produktów z mielonego mięsa wieprzowo-wołowego po upieczeniu oraz po różnych etapach reakcji lizyny z rybozą.

Retention indices (LRI) and relative mean amounts (\bar{x}) and standard deviations (SD) of significant volatile compounds in surface and inner layers of minced pork-beef meat after roasting as well as after various stages of the reaction between lysine and ribose.

Związek Compound	LRI $\bar{x} \pm s / SD$	Warstwy powierzchniowe Surface layers $\bar{x} \pm s / SD$	Warstwy wewnętrzne Inner layers $\bar{x} \pm s / SD$	Czas reakcji lizyny z rybozą [min] Time of reaction between lysine and ribose [min]					
				5	10	15	30	45	60
benzaldehyd / benzaldehyde	1520 ± 6, n = 72	36 ± 21, n = 33	16 ± 11, n = 33	-	-	3 ± 1 n = 3	-	-	10 ± 4 n = 3
butan-2-on / butan-2-one	910 ± 11, n = 72	132 ± 90, n = 33	24 ± 4, n = 33	-	-	-	11 ± 5 n = 3	23 ± 6 n = 3	-
1-hydroksypropan-2-on 1-hydroxypropane-2-one	1296 ± 10, n = 72	140 ± 60, n = 33	17 ± 9, n = 33	-	-	29 ± 5 n = 3	-	353 ± 80 n = 3	-
butan-2,3-diol / butane-2,3-diol	1570 ± 20, n = 75	106 ± 79, n = 33	14 ± 9, n = 3	-	-	3 ± 1 n = 3	7 ± 2 n = 3	10 ± 3 n = 3	-
octan butylu / butyl acetate	1075 ± 3, n = 51	35 ± 20, n = 33	35 ± 5, n = 33	8 ± 3 n = 3	40 ± 10 n = 3	95 ± 20 n = 3	120 ± 32 n = 3	8 ± 3 n = 3	-
heptanal	1186 ± 9, n = 78	87 ± 50, n = 33	570 ± 274, n = 33	-	-	2 ± 1 n = 3	4 ± 1 n = 3	60 ± 20 n = 3	220 ± 70 n = 3
oktanal / octanal	1286 ± 9, n = 81	20 ± 15, n = 33	167 ± 81, n = 33	12 ± 6 n = 3	-	20 ± 9 n = 3	22 ± 13 n = 3	183 ± 30 n = 3	80 ± 23 n = 3
pentan-2,3-dion / pentane-2,3-dione	1062 ± 9, n = 75	12 ± 10, n = 33	82 ± 59, n = 33	-	-	4 ± 2 n = 3	-	9 ± 3 n = 3	190 ± 40 n = 3
2-pentylfuran	1227 ± 8, n = 69	14 ± 6, n = 33	35 ± 27, n = 33	-	-	-	-	-	35 ± 15 n = 3

Objaśnienia: / Explanatory notes:

- LRI – wartości liniowych indeksów retencji / values of linear retention indices;

- znak „-” – oznacza brak związku w próbie / sign „-” marks lack of compound in the sample;

Względne udziały związków lotnych wyliczono, dzieląc pole powierzchni danego związku przez pole powierzchni piksu IS. Pole powierzchni IS przyjęto jako 1000, ponieważ ilości niektórych związków były śladowe / Relative amounts of volatile compounds were calculated by dividing surface area of given compound by surface area of IS. IS surface area was assumed to be 1000, since there were only trace amounts of some compounds.

upieczeniu mogły one więc być wynikiem obydwu typów reakcji. Wysoka temperatura warstw powierzchniowych powodowała, że oba te związki ulegały dalszym przemianom, ponieważ aldehydy są prekursorami szeregu innych substancji lotnych [18, 19]. Z tego powodu ich udział był mniejszy w warstwach powierzchniowych niż w wewnętrznych.

W literaturze oktanal charakteryzowany jest jako mydlasty, cytrusowy, kwiatowy [25], a heptanal jako rybi [24], tłuszczowy, olejowy [13].

Pochodną rozkładu kwasu linolowego jest 2-pentylfuran, odpowiedzialny za niekorzystne cechy smakowo-zapachowe określane jako tłuszczowe [4, 7]. Związku tego było więcej w warstwach wewnętrznych niż w powierzchniowych (tab. 2), a w reakcjach lizyny z rybozą zidentyfikowano go dopiero po 60 min ogrzewania. Można więc przypuszczać, że w mięsie jego źródłem był głównie rozkład kwasu linolowego. O'Sullivan i wsp. [22] stwierdzili, że oktanal i 2-pentylfuran (obok innych) były związane z jełkimi cechami smakowo-zapachowymi mięsa wieprzowego i stanowiły wskaźnik stopnia oksydacji tłuszczu; 2-pentylfuran był dodatkowo związany z cechami takimi, jak rybi oraz gumowy/siarkowy.

Na temat powiązań kolejnego związku – butan-2-onu z cechami sensorycznymi brak jest informacji w literaturze, pomimo że znajduje się on w wykazie związków lotnych większości badań dotyczących mięsa [7, 11, 22, 25]. O'Sullivan i wsp. [22] wykazali, że butan-2-on znajdował się w grupie takich cech smakowo-zapachowych, jak: wieprzowy, oleju roślinnego, wątrobowy oraz w tej samej ćwiartce co: zjelczały, gumowy/siarkowy, blaszany, cierpki i kwaśny. W innych źródłach określa się go jako rozpuszczalnikowy, słodki i ostry [25] oraz odpowiedzialny za cechy smakowo-zapachowe gotowanej wołowiny produkowanej przemysłowo [11]. W analizowanych próbkach mięsa pieczonego było go kilkakrotnie więcej w warstwach powierzchniowych niż w wewnętrznych. W reakcjach lizyny z rybozą zidentyfikowano go po 30 i 45 min ogrzewania. W mięsie mógł więc powstawać w obydwu rodzajach przemian jednocześnie, a wysoka temperatura sprzyjała jego tworzeniu się.

Kolejne dwa związki: 1-hydroksypropan-2-on i pentan-2,3-dion są uważane za typowe pochodne reakcji Maillarda [11, 18]. Pierwszy z nich, 1-hydroksypropan-2-on, powstaje w mięsie w procesie rozkładu rybozy, która ulega dalej reakcjom, tworząc aldehydy Streckera [18]. Stanowi on wskaźnik początkowych reakcji Maillarda [28]. W warstwach powierzchniowych, gdzie temperatura obróbki była wyższa niż w warstwach wewnętrznych i sprzyjała rozkładowi cukrów, 1-hydroksypropan-2-onu było około osiem razy więcej niż w warstwach wewnętrznych. W reakcjach lizyny z rybozą zidentyfikowany został po 15 i 45 min ogrzewania (tab. 2). Pomiędzy 30 a 45 min reakcji musiał następować intensywny rozkład cząsteczek rybozy, ponieważ udział 1-hydroksypropan-2-onu przewyższał udział wszystkich pozostałych związków zidentyfikowanych w tym czasie w mieszaninie poreakcyjnej. Związek ten jest bardzo reak-

tywny [18] i ulega kolejnym przemianom. Po 60 min ogrzewania już go nie zidentyfikowano. W warstwach powierzchniowych próbek mięsa upieczonego występował wielokrotnie wyższy poziom tego związku niż w warstwach wewnętrznych. Wynik ten potwierdzał zauważone wcześniej różnice w kierunkach przebiegu reakcji w obydwu przypadkach. W warstwach wewnętrznych najprawdopodobniej przeważały przemiany związane z oksydacją tłuszczu, natomiast w warstwach powierzchniowych zachodziły intensywnie obydwa rodzaje reakcji.

1-Hydroksypropan-2-on jest słodki i karmelowy [8]. Podobnymi cechami charakteryzuje się pentan-2,3-dion. W badaniach olfaktometrycznych mięsa cechy smakowo-zapachowe pentan-2,3-dionu określono jako maślane, cytrynowe, słodkie i owocowe [11]. Wymienia się go wśród związków kształtujących cechy karmelowe i maślane wołowiny [12]. Związek ten jest obecny również w wieprzowinie [1, 6] oraz w jagnięcinie [29]. Podczas ogrzewania lizyny z rybozą zaobserwowano tendencję zwiększania udziału pentan-2,3-dionu wraz z wydłużaniem czasu procesu. Jego maksymalny udział oznaczono w końcowej fazie reakcji. W warstwach wewnętrznych mięsa było go więcej niż w powierzchniowych, gdzie zapewne szybciej ulegał dalszym przemianom. Taki wynik sugerował, że w warstwach wewnętrznych także zachodziły reakcje Maillarda, ale w innym tempie.

Związkiem, który nie jest szeroko opisywany w literaturze przedmiotu jest butan-2,3-diol. Zidentyfikowano go np. w mięsie jagnięcym [27], wołowinie [24] oraz w mięsie wieprzowym i wieprzowo-wołowym [1]. W wielu badaniach analizuje się jego formę ketonową – butan-2,3-dion, który pochodzi z rozkładu cukru w mięsie [7]. Cechy sensoryczne obydwu form tego związku, alkoholowa i ketonowa, są określane jako maślane, karmelowe i owocowe [8]. W warstwach powierzchniowych było ponad siedem razy więcej butan-2,3-diolu niż w wewnętrznych. W reakcjach lizyny z rybozą butan-2,3-diol powstawał po 15, 30 i 45 min procesu i w tym czasie jego udział wzrastał. Najprawdopodobniej więc w badanych upieczonych produktach mięsnych źródłem tego związku były głównie reakcje NB.

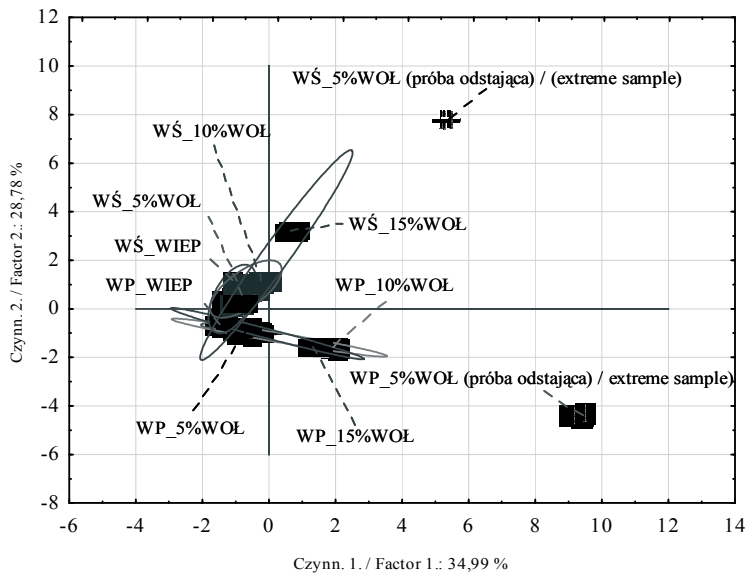
Ostatni związek – octan butylu był charakterystyczny głównie dla warstw powierzchniowych i reakcji Maillarda. W warstwach wewnętrznych zidentyfikowano go tylko w próbkach produktu pochodzących z jednej grupy. W pozostałych go nie stwierdzono. Estry w mięsie powstają jako wtórne produkty reakcji termicznych alkoholi z kwasami tłuszczowymi [13]. Ich powstawaniu sprzyjała wysoka temperatura warstw powierzchniowych próbek mięsa podczas pieczenia. Uważa się, że estrów jest w mięsie niewiele [14], co potwierdziło przeprowadzone doświadczenie. Wynik taki uzyskuje się najprawdopodobniej dlatego, że zwyczajowo bada się uśrednione próbki mięsa obrobionego termicznie bez podziału na warstwy powierzchniowe i wewnętrzne [6, 12, 15].

A)

Rzut przypadków na płaszczyznę czynników (1 x 2) / Projection of cases onto factor plane (1 x 2)

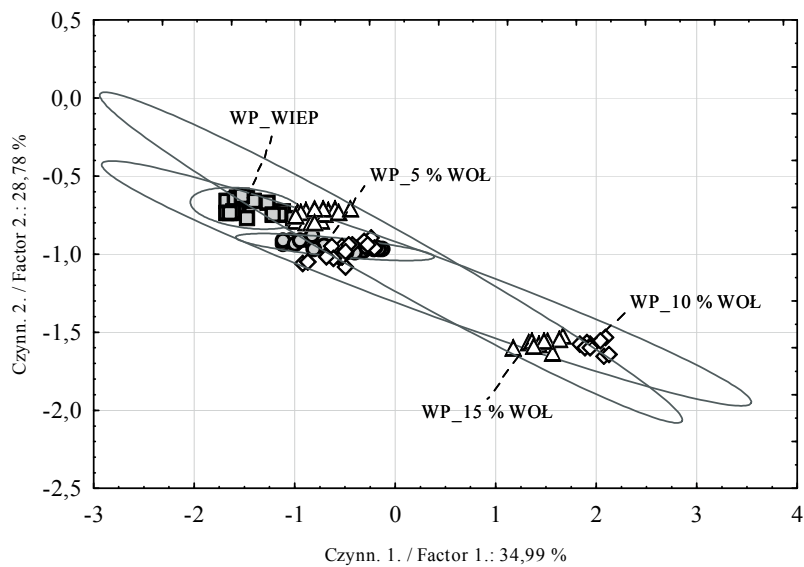
Przypadki o sumie kwadratów cosinusów $\geq 0,00$ / Cases with sum of cosine squares $\geq 0,00$

Zmienna etykietująca: rodzaj próby / Labelling variable: sample

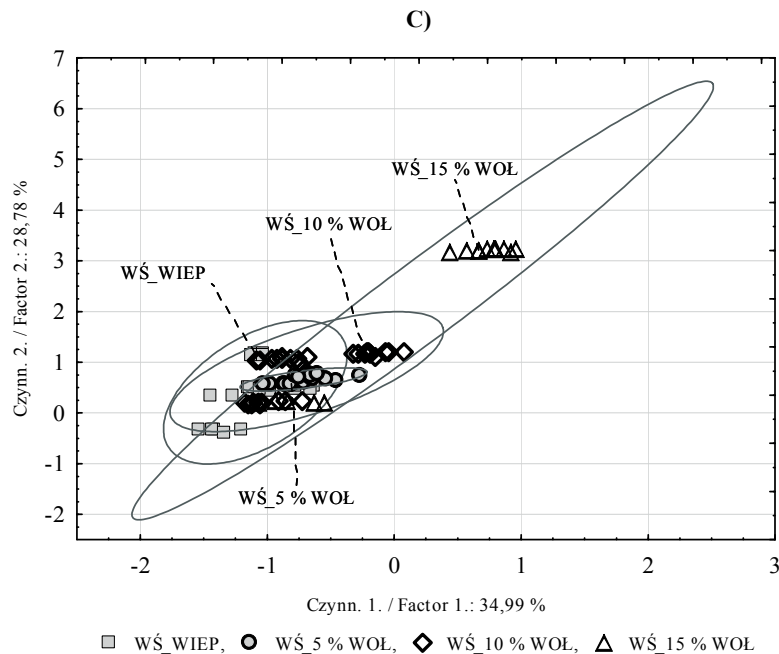


■ WP_WIEP, ■ WP_5%WOŁ (próbka odstająca) / (extreme sample),
 ■ WP_5%WOŁ, ■ WP_10%WOŁ, ■ WP_15%WOŁ,
 ■ WŚ_WIEP, + WŚ_5%WOŁ (próbka odstająca) / (extreme sample), ■ WŚ_5%WOŁ, ■ WŚ_10%WOŁ, ■ WŚ_15%WOŁ

B)



■ WP_WIEP, ● WP_5%WOŁ, ◆ WP_10%WOŁ, ▲ WP_15%WOŁ



Objaśnienia: / Explanatory notes:

- kody próbek: / codes of samples:

WP_WIEP – warstwy powierzchniowe produktów wieprzowych / surface layers of pork products;
 WP_5 % WOŁ, WP_10 % WOŁ, WP_15 % WOŁ – warstwy powierzchniowe produktów wieprzowych z odpowiednio 5, 10 i 15 % dodatkiem wołowiny / surface layers of pork products containing respectively: 5, 10, and 15 % w/w of beef meat; WS_WIEP – warstwy wewnętrzne produktów wieprzowych / inner layers of pork products; WS_5 % WOŁ, WS_10 % WOŁ, WS_15 % WOŁ – warstwy wewnętrzne produktów wieprzowych z 5, 10 i 15 % dodatkiem wołowiny / inner layers of pork products with 5, 10, and 15 % w/w of beef meat added.

Rys. 2. Klasyfikacja przypadków cech jakościowych warstw powierzchniowych i wewnętrznych produktów z mięsa pieczonego, uwzględniająca wyznaczone wcześniej zmienne istotne; A – obraz wszystkich próbek łącznie z wynikami odstającymi WP_5 % WOŁ i WS_5 % WOŁ (próbka odstająca); B – rozrzut przypadków warstw powierzchniowych; C – rozrzut przypadków warstw wewnętrznych.

Fig. 2. Case classification of quality features of surface and inner layers of roasted meat products including earlier determined significant factors; A – image of all samples including extreme results: WP_5 % WOŁ, and WS_5 % WOŁ (extreme sample); B – scatter of cases of surface layers; C – scatter of cases of inner layers.

Zależności między cechami sensorycznymi próbek upieczonych produktów mięsnych a wyszczególnionymi związkami lotnymi poddano weryfikacji. Przeprowadzono grupowanie wszystkich przypadków metodą analizy składowych głównych PCA. Rezultaty przedstawiono na rys. 2 (A, B i C).

Wykorzystując wartości ww. zmiennych uzyskano obraz ich rzutu na płaszczyznę. W ten sposób można było sklasyfikować wszystkie badane próbki mięsa po upieczeniu. Można było odróżnić umiejscowienie symboli punktów warstw powierzchniowych od punktów warstw wewnętrznych (rys. 2 A). Potwierdzono tym samym, że w obydwu warstwach reakcje termiczne, prowadzące do powstania różnych cech jakościowych gotowych produktów, zachodziły inaczej. Dodatkowo można było wyeliminować próbki odstające. Cechy odmienne od wszystkich pozostałych były charakterystyczne dla jednej grupy próbek zawierającej 5 % dodatku wołowiny do wieprzowiny. Różnice dotyczyły zarówno umiejscowienia symboli punktów warstw powierzchniowych (WP_5 % WOŁ (próbka odstająca)), jak i wewnętrznych (WŚ_5 % WOŁ (próbka odstająca)). Pozostałe dwie grupy próbek, w których składzie surowcowym był dodatek 5 % wołowiny, nie różniły się od siebie.

Następnie przeprowadzono szczegółową analizę wyników, rozpatrując oddzielnie rozrzut symboli punktów warstw powierzchniowych (rys. 2 B) i wewnętrznych (rys. 2 C), z pominięciem próbek o wartościach odstających. Stwierdzono, że cechy warstw powierzchniowych próbek upieczonej wieprzowiny (WP_WIEP) były inne niż próbek z dodatkiem wołowiny. Dodatkowo cechy produktów mięsnych z 10 i 15-procentowym udziałem wołowiny można było podzielić na dwa oddzielne podzbiory. Oznaczało to, że w tych grupach próbek, pomimo identycznych proporcji wieprzowiny do wołowiny, reakcje termiczne przebiegały inaczej. Mogło być to spowodowane czynnikami związanymi ze specyfiką surowców, głównie z ich różnymi początkowymi wartościami pH [1].

Rozmieszczenie symboli większości punktów charakteryzujących warstwy wewnętrzne badanych próbek uniemożliwiało ich rozdzielenie (rys. 2 C). Oznaczało to, że procesy termiczne zachodzące wewnątrz tych próbek były do siebie zbliżone. Najprawdopodobniej było to związane z niższą temperaturą warstw wewnętrznych w porównaniu z warstwami powierzchniowymi podczas obróbki termicznej i z różną intensywnością przebiegu reakcji oksydacji i Maillarda. Można było rozróżnić tylko dwa skupiska symboli punktów. Odzwierciedlały one cechy jakościowe jednej z grup produktów zawierającej 10 % dodatku wołowiny do wieprzowiny oraz jednej z grup próbek zawierającej 15 % udziału mięsa wołowego. Różnice w rozmieszczeniu symboli cech tych próbek najprawdopodobniej wynikały z różnic cech jakościowych surowców, z których przygotowywano produkty [1].

Wnioski

1. Stosując wielowymiarowe metody statystyczne można wyodrębnić takie związki lotne smakowo-zapachowe, powstające w reakcjach modelowych aminokwasu z cukrem redukującym, które będą związane z cechami sensorycznymi mięsa pieczonego. Oznacza to, że badania nad reakcjami termicznymi zachodzącymi w pro-

- duktach mięsnych i nad kształtowaniem ich cech sensorycznych można uprościć do doświadczeń modelowych.
2. W przypadku pieczonych produktów mięsnych przygotowanych z mielonych surowców wieprzowych i wieprzowo-wołowych, wyznacznikiem reakcji zachodzących w warstwach powierzchniowych i wewnętrznych oddzielnie, oraz w reakcjach modelowych lizyny z rybozą, było dziewięć związków lotnych: benzaldehyd, 1-hydroksypropan-2-on, butan-2-on, butan-2,3-diol, octan butylu, heptanal, oktanal, 2-pentylfuran i pentan-2,3-dion. Jednocześnie były one związane z cechami sensorycznymi tych produktów.
 3. Związki lotne: benzaldehyd, 1-hydroksypropan-2-on, butan-2-on, butan-2,3-diol i octan butylu wykazują cechy smakowo zapachowe maślane, karmelowe i owocowe. Heptanal, oktanal i 2-pentylfuran nadają produktom cechy tłuszczowe. Obecność wszystkich tych związków w próbkach mięsa po pieczeniu mogła być wynikiem zarówno reakcji oksydacji tłuszczu, jak i nieenzymatycznego brązowienia.
 4. Cechy sensoryczne produktów stanowiły dopełnienie cech smakowo-zapachowych związków lotnych. Były to cechy, których nie miały wymienione związki lotne: posmak goryczki, zapach przypalony, zapach mięsny i barwa.
 5. Wykorzystując wartości wszystkich wymienionych zmiennych (związków lotnych i cech sensorycznych) sklasyfikowano różnice między cechami jakościowymi badanego mięsa pieczonego, uwzględniając podział na warstwy powierzchniowe i wewnętrzne.

Badania sfinansowano z funduszy na działalność statutową Katedry Żywności Funkcjonalnej, Ekologicznej i Towaroznawstwa Wydziału Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji SGGW w Warszawie.

Literatura

- [1] Biller E.: Studia nad brązowaniem nieenzymatycznym i kształtowaniem cech smakowo-zapachowych w warunkach modelowych i w mięsie pieczonym. Wyd. SGGW, Warszawa 2011.
- [2] Byrne D.V., Bredie W.L.P., Mottram D.S., Martens M.: Sensory and chemical investigations on the effect of oven cooking on warmed-over flavour development in chicken meat. *Meat Sci.*, 2002, **61**, 127-139.
- [3] Bzducha A., Obiedziński M.W.: Badania nad związkami lotnymi serów z przerostem pleśni techniką analizy fazy nadpowierzchniowej (SPME) i chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią masową (GC/MS). *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **2 (47)** Supl., 36-47.
- [4] Chen J., Ho C.-T.: The flavor of pork. In: *Flavor of meat, meat products and seafoods*. Ed. F. Shahidi. Ed. Blackie Academic and Professional, Londyn 1998, pp. 61-83.
- [5] Descalzo, A.M., Insani, E.M., Biolatto, A., Sancho, A.M., Garcia, P.T., Pensel, N.A.: Influence of pasture or grain-based diets supplemented with vitamin E on antioxidant/oxidative balance of Argentine beef. *Meat Sci.*, 2005, **70**, 35-44.

- [6] Elmore J.S., Mottram D.S., Hierro E.: Two-phase solid-phase micro-extraction combined with gas chromatography-mass spectrometry for the analysis of volatile aroma compounds in cooked pork. *J. Chromatogr. A*, 2000, **905**, 233-240.
- [7] Elmore, J.S., Cooper, S.L., Enser, M., Mottram, D.S., Sinclair, L.A., Wilkinson, R.G.: Dietary manipulation of fatty acid composition in lamb meat and its effect on the volatile aroma compounds of grilled lambs. *Meat Sci.*, 2005, **69**, 233-242.
- [8] El-Sayed A.M.: *The Pherobase: Database of Insect Pheromones and Semiochemicals*. HortResearch, Lincoln, New Zealand, (baza danych).
- [9] Gandemer G.: Lipids in muscles and adipose tissues, changes during processing and sensory properties of meat products. *Meat Sci.*, 2002, **62**, 309-321.
- [10] García-González D.L., Tena N., Aparico-Ruiz R., Morales M.T.: Relationship between sensory attributes and volatile compounds quality of dry-cured hams. *Meat Sci.*, 2008, **80**, 315-325.
- [11] Machiels D., Istasse L., van Ruth S. M.: Gas chromatography-olfactometry analysis of beef meat originating from differently fed Belgian Blue, Limousin and Aberdeen Angus bulls. *Food Chem.*, 2004, **86**, 377-383.
- [12] Machiels D., Istasse L.: Evaluation of two commercial solid-phase micro-extraction fibers for the analysis of target aroma compounds in cooked beef meat. *Talanta*, 2003, **61**, 529-537.
- [13] Macleod G.: The flavor of beef. In: *Flavor of meat, meat products and seafoods*. Ed. F.Shahidi. Ed. 2. Blackie Academic and Professional, London 1998, pp. 27-60.
- [14] Marušić N., Petrović M., Vidaček S., Petrak T., Medić H.: Characterization of traditional Istrian dry-cured ham by means of physical and chemical analyses and volatile compounds. *Meat Sci.*, 2011, **88**, 786-790.
- [15] Meinert L., Andersen L.T., Bredie W.L.P., Bjerregaard Ch., Aaslyng M.D.: Chemical and sensory characterisation of pan-fried pork flavour: Interactions between raw meat quality, ageing and frying temperature. *Meat Sci.*, 2007, **75**, 229-242.
- [16] Meynier A., Mottram D.S.: The effect of pH on the formation of volatile compounds in meat-related model system. *Food Chem.*, 1995, **52**, 361-366.
- [17] Mildner-Szkudlarz S., Zawirska-Wojtasiak R., Korczak J., Jeleń H.: A comparison of human and electronic nose responses to flavour of various food products of different degree of lipids oxidation. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2007, **57 (2)**, 195-202.
- [18] Mottram D.S.: The chemistry of meat flavor. In: *Flavor of meat, meat products and seafoods*. Ed. F.Shahidi. Ed. 2. Blackie Academic and Professional, London 1998, pp. 5-26.
- [19] Mottram D.S.: Flavour formation in meat and meat products: a review. *Food Chem.*, 1998, **62 (4)**, 415-424.
- [20] Mottram R.: *The LRI and Odour Database*. Flavour Research Group. [online]. School of Food Biosciences, University of Reading, UK [dostęp: 02.01.2012]. Dostępna w Internecie: <http://www.odour.org.uk/lriindex.html>.
- [21] Nurjuliana M., Che Man Y.B., Hashim D.M., Mohamed A.K.S.: Rapid identification of pork for halal authentication using the electronic nose and gaschromatography mass spectrometer with head-space analyzer. *Meat Sci.*, 2011, **88**, 638-644.
- [22] O'Sullivan M.G., Byrne D.V., Jensen M.T., Andersen H.J., Vestergaard J.: A comparison of warmed-over flavour in pork by sensory analysis, GC/MS and the electronic nose. *Meat Sci.*, 2003, **65**, 1125-1138.
- [23] Resconi V.C., Campo M.M., Montossi F., Ferreira V., Sañudo C., Escudero A.: Relationship between odour-active compounds and flavour perception in meat from lambs fed different diets. *Meat Sci.*, 2010, **85**, 700-706.

- [24] Rivas-Cañedo A., Juez-Ojeda C., Nuñez M., Fernández-García E.: Volatile compounds in ground beef subjected to high pressure processing: A comparison of dynamic headspace and solid-phase micro-extraction. *Food Chem.*, 2011, **124**, 1201-1207.
- [25] Schindler S., Krings U., Berger R.G., Orlien V.: Aroma development in high pressure treated beef and chicken meat compared to raw and heat treated. *Meat Sci.*, 2010, **86**, 317-323.
- [26] Tikik K., Haugen J-E., Andersen H.J., Aaslyng M.D.: Monitoring of warmed-over flavor in pork using the electronic nose – correlation to sensory attributes and secondary lipid oxidation products. *Meat Sci.*, 2008, **80**, 1254-1263.
- [27] Vasta V., Luciano G., Dimauro C. Röhrle F., Priolo A., Monahan F.J., Moloney A.P.: The volatile profile of longissimus dorsi muscle of heifers fed pasture, pasture silage or cereal concentrate: Implication for dietary discrimination. *Meat Sci.*, 2011, **87**, 282-289.
- [28] Wang Y., Juliani H.R., Simon J.E., Ho Ch-T.: Amino acid – depended formation pathways of 2-acetylfuran and 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3[2H]-furanone in the Maillard reaction. *Food Chem.*, 2009, **115**, 233-237.
- [29] Wilches D., Rovira J., Jaime I., Palacios C., Lurueña-Martínez M. A., Vivar-Quintana A. M., Revilla I.: Evaluation of the effect of a maternal rearing system on the odour profile of meat from suckling lamb. *Meat Sci.*, 2011, **88**, 415-423.
- [30] Yu A-N., Zhang A-D.: Aroma compounds generated from thermal reaction of L-ascorbic acid with L-cysteine. *Food Chem.*, 2010, **121**, 1060-1065.

ATTEMPT TO IDENTIFY SENSORY FEATURES OF ROASTED MEAT USING VOLATILE COMPOUNDS IN MODEL REACTION BETWEEN LYSINE AND RIBOSE


S u m m a r y

The volatile compounds were determined produced in a roasted product of minced pork-beef meat and in thermal reactions between lysine and ribose for the purpose of identifying the same compounds produced those two processes. Additionally, upon completion of the roasting process, the sensory features of meat samples were analyzed.

The minced meat was used to make products of various percentage rates of pork and beef amounts contained therein [% (w/w)]: 100:0; 95:5; 90:10; and 85:15. The samples were thermally processed in a Phillips gastronomic roaster, type HD4454/A, at a temperature of 185 ± 5 °C. The volatile compounds were analyzed in the surface and inner layers of the meat products. The reactions between lysine and ribose were performed at the same temperature; the process times were changed as follows: 5, 10, 15, 30, 45, and 60 minutes.

Based on the research results, there were determined the sensorily active volatile compounds appearing characteristic for the thermal reactions occurring while roasting meat, and those produced during the reactions between lysine and ribose to determine some sensory features of meat. Using a factor analysis, the following significant, common variables were identified: benzaldehyde, butan-2-one, 1-hydroxypropan-2-one, butane-2,3-diol, butyl acetate, heptanal, octanal, pentane-2,3-dione, 2-pentylfuran, burnt aroma, bitter flavour, colour and aroma of meat. Next, a PCA analysis was used to classify the quality features of the meat products analyzed. On the basis of the projection of the cases onto the factor plane, two major subsets of point markers were identified; based thereon it was possible to distinguish between the quality features originating from the two layers of the meat products. Moreover, it was possible to find similarities of and differences among the qualitative features of the individual samples

in each of the two subsets. It was evidenced that volatile compounds could be identified in the model reactions between lysine and ribose that might be equated with the sensory features of roasted meat. Thus, the analyses of the product could be made simpler by using detail-focused model analyses.

Key words: meat, roasts, volatile compounds, reactions between lysine and ribose, sensory features 

KAROL MIŃKOWSKI, KATARZYNA ZAWADA, STANISŁAW PTASZNIK,
ARTUR KALINOWSKI

WPLYW ZWIĄZKÓW FENOLOWYCH NASION NA STABILNOŚĆ OKSYDACYJNĄ I AKTYWNOŚĆ ANTYRODNIKOWĄ WYTŁOCZONYCH Z NICH OLEJÓW BOGATYCH W PUFA n-3

Streszczenie

Celem pracy było wykazanie, czy i w jakim stopniu naturalne związki fenolowe występujące w nasionach stanowią barierę przeciwutleniającą dla wytłoczonych z nich na zimno olejów, bogatych w polienowe kwasy tłuszczowe z rodziny n-3.

Materiał do badań stanowiły nasiona lnu, lnianki, konopi i żmijowca. Badaniom poddano oleje wytłoczone na zimno, oleje pozbawione natywnych związków fenolowych oraz oleje wzbogacone w hydrofobową frakcję związków fenolowych wyizolowanych z odolejonych nasion. Związki fenolowe ekstrahowano 70 % etanolem na gorąco, a surowy ekstrakt oczyszczano w układzie rozpuszczalników polarnych i niepolarnych.

Nasiona charakteryzowały się zróżnicowaną zawartością związków fenolowych, które w niewielkich ilościach przenikały do oleju podczas tłoczenia na zimno. Usunięcie związków fenolowych z olejów skutkowało wyraźnym obniżeniem ich stabilności oksydacyjnej w teście Rancimat oraz aktywności antyrodnikowej względem rodnika DPPH. Dodatek hydrofobowych związków fenolowych wyizolowanych z nasion poprawiał stabilność oksydacyjną i potencjał antyrodnikowy wytłoczonych z nich olejów. Siła ochronna i antyrodnikowa polifenoli nie była jednak duża. Skuteczność działania tych związków była zróżnicowana w zależności od rodzaju oleju i stosowanej dawki. Najwyższy współczynnik ochronny (0,52) uzyskano w przypadku oleju żmijowcowego, przy zastosowaniu maksymalnej dawki 1500 ppm. Największy wzrost aktywności antyrodnikowej względem rodnika DPPH miał miejsce w oleju lniankowym.

Słowa kluczowe: związki fenolowe, nasiona oleiste, oleje tłoczone na zimno, stabilność oksydacyjna, aktywność antyrodnikowa, PUFA n-3

Dr hab. K. Mińkowski, prof. IBPRS, dr inż. S. Ptasznik, mgr inż. A. Kalinowski, Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego, Oddział Technologii Mięsa i Tłuszczu, ul. Jubilerska 4, 04-190 Warszawa, dr K. Zawada, Zakład Chemii Fizycznej, Wydz. Farmaceutyczny, Warszawski Uniwersytet Medyczny, ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa

Wprowadzenie

Oleje roślinne bogate w polienowe kwasy tłuszczowe z rodziny n-3 (PUFA n-3) stanowią ważną pod względem żywieniowym grupę produktów tłuszczowych. PUFA n-3 pełnią istotną funkcję w profilaktyce niezakaźnych chorób przewlekłych, tzw. cywilizacyjnych chorób metabolicznych. Nie są syntetyzowane w organizmie człowieka i muszą być dostarczone wraz z pożywieniem. Ich wadą jest niska trwałość, a zwłaszcza podatność na procesy oksydacyjne. Oksydacja lipidów w żywności prowadzi do szeregu niekorzystnych zmian sensorycznych, wartości żywieniowej oraz akumulacji składników, które mogą być szkodliwe dla zdrowia konsumentów [28]. Procesy te w olejach tłoczonych na zimno są hamowane przez natywne przeciwutleniacze, głównie lipofilne, takie jak: tokoferole, karotenoidy, skwalen [3, 7, 14], a także przez związki fenolowe przedostające się w niewielkich ilościach do oleju podczas tłoczenia z nasion [22]. Są one obecne tylko w olejach tłoczonych na zimno. Oleje rafinowane praktycznie nie zawierają polifenoli, gdyż są one usuwane na etapie neutralizacji [11].

Wspólną cechą polifenoli jest łatwość włączania się do reakcji redox. Dzięki zdolności do przenoszenia protonów i elektronów nie tylko same łatwo ulegają utlenianiu do chinonów, ale mogą także pośredniczyć w utlenianiu innych związków nie-reagujących bezpośrednio z tlenem [30]. Skuteczność działania związków fenolowych wynika z ich silnej aktywności antyoksydacyjnej [25], a szczególnie antyrodnikowej [10]. Siger i wsp. [22], a także Papadimitriou i wsp. [16] stwierdzili istnienie korelacji pomiędzy zawartością polifenoli w olejach a ich stabilnością oksydacyjną i zdolnością do wygaszania wolnych rodników. Z kolei Espin i wsp. [8] po przebadaniu wygaszania rodnika DPPH[•] przez frakcję polarną (rozpuszczalną w metanolu i zawierającą związki fenolowe) szeregu olejów roślinnych wykazali, że tylko część z nich ma te właściwości. Spośród czynników wpływających na aktywność antyoksydacyjną związków fenolowych wymienia się pozycję i ilość grup hydroksylowych w strukturze cząsteczek, polarność, rozpuszczalność a także ich stabilność w czasie przerobu [6]. Związki te, powszechnie występujące w żywności pochodzenia roślinnego [30], są także obecne w surowcach oleistych, w których obok prostych rozpuszczalnych form występują formy spolimeryzowane – taniny oraz nierozpuszczalne – ligniny. Naturalne polifenole obecne w surowcach oleistych wykazują znaczącą aktywność antyoksydacyjną po ich wyodrębnieniu, która zależy od polarności stosowanego ekstrahenta i surowca, z którego pochodzą [13, 21, 29].

Celem pracy było wykazanie, czy i w jakim stopniu naturalne związki fenolowe występujące w nasionach stanowią barierę przeciwutleniającą dla wytłoczonych z nich na zimno olejów bogatych w polienowe kwasy tłuszczowe z rodziny n-3.

Material i metody badań

Material wyjściowy stanowiły nasiona: lnu (*Linum usitatissimum L.*), lnianki (*Camelina sativa L.*), konopi (*Cannabis sativa L.*) i żmijowca pospolitego (*Echium vulgare L.*). Nasiona lnu, lnianki i konopi pochodziły z Instytutu Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich w Poznaniu, a nasiona żmijowca ze Specjalistycznego Gospodarstwa Nasiennego i Przetwórczego SemCo ze Śmiłowa. Badaniom poddano tłoczone na zimno z nasion oleje: lniany, lniankowy, konopny i żmijowcowy. Tłoczenie oleju prowadzono w warunkach laboratoryjnych (w temp. nieprzekraczającej 45 °C) za pomocą prasy ślimakowej Farnet, typ UNO SE, produkcji czeskiej, stosując dyszę o średnicy 8 mm. Oleje w trakcie prowadzenia badań przechowywano w temp. -20 ± 2 °C.

Ekstrakcja związków fenolowych z nasion

Nasiona wstępnie odtłuszczano poprzez ekstrakcję n-heksanem w aparacie Soxhleta w ciągu 6 h. Związki fenolowe z odtłuszczonych próbek ekstrahowano trzykrotnie za pomocą 80 % metanolu [15]. Próbki mieszano z rozpuszczalnikiem (w proporcji 1 : 3) i wytrząsano przez 30 min, po czym całość filtrowano i odparowywano rozpuszczalnik w temp. nieprzekraczającej 50 °C, przy obniżonym ciśnieniu. Pozostałość rozpuszczano w 80 % metanolu.

Ekstrakcja związków fenolowych z olejów

Olej (3 g) rozpuszczano w 15 ml heksanu i ekstrahowano związki fenolowe za pomocą metanolu (3 × 5 ml) przez wytrząsanie po 2 min przy każdej ekstrakcji [9]. Połączone ekstrakty zostawiano na 16 h. Po rozdziale frakcję metanolową przemywano 25 ml heksanu w celu usunięcia resztek oleju.

Otrzymywanie preparatu związków fenolowych z wytłoków

Nasiona poddawano tłoczeniu na zimno za pomocą prasy ślimakowej. Otrzymane wytłoki po rozdrobnieniu w młynku udarowym odtłuszczano za pomocą eteru naftowego w aparacie Soxhleta w ciągu 6 h. Odolejone wytłoki zalewano 70 % etanolem (1 : 8), po czym prowadzono ekstrakcję związków fenolowych w reaktorze (poj. 1 l) z płaszczem grzejnym, pod chłodnicą zwrotną, z zastosowaniem mieszania mechanicznego (50 obr./min) w temp. 50 °C, w ciągu 1 h. Po sklarowaniu (16 h) wyciąg alkoholowy dodatkowo poddawano wirowaniu (3500 obr./min, 10 min). Z wyciągu usuwano rozpuszczalnik w wyparce pod obniżonym ciśnieniem, w temp. poniżej 50 °C. Resztki wody usuwano za pomocą suszarki próżniowej, w temp. poniżej 50 °C i otrzymywano surowy ekstrakt związków fenolowych.

Surowy ekstrakt oczyszczano za pomocą rozpuszczalników polarnych i niepolarnych [32]. Po rozpuszczeniu ekstraktu w mieszaninie chloroformu, metanolu oraz wody (1 : 1 : 1) i rozdziale faz odrzucano frakcję chloroformową, a z frakcji metanolowo-

wodnej usuwano metanol pod zmniejszonym ciśnieniem. Z pozostałości ekstrahowano związki fenolowe za pomocą eteru etylowego. Następnie usuwano rozpuszczalnik i ważono uzyskane związki fenolowe. Otrzymany preparat po rozpuszczeniu w eterze etylowym dodawano do odpowiednich olejów, po czym usuwano rozpuszczalnik przy obniżonym ciśnieniu w wyparce z przedmuchem azotu. Stosowano trzy poziomy dodatki preparatu do oleju: 600, 1000 i 1500 ppm.

Oznaczanie zawartości związków fenolowych ogółem w nasionach i olejach

Oznaczenie zawartości związków fenolowych ogółem wykonywano metodą z użyciem odczynnika Folina-Ciocalteu'a [23]. Próbki metanolowego ekstraktu nasion (0,025 ml) lub olejów (0,2 ml) przenoszono do kolbki pojemności 10 ml, do której dodawano 0,5 ml odczynnika Folina-Ciocalteu'a. Całość wytrząsano i zostawiano na 3 min. Następnie dodawano 1 ml nasyconego roztworu węgla sodu i uzupełniano wodą destylowaną do 10 ml. Po 1 h mierzono absorbancję roztworu przy długości fali $\lambda = 725$ nm w odniesieniu do próby kontrolnej, z zastosowaniem spektrofotometru U-2900 prod. Hitachi High-Tech, Tokio, Japonia. Całkowitą zawartość związków fenolowych określano z krzywej kalibracyjnej, jako ekwiwalent kwasu ferulowego (FAE).

Oznaczenie zawartości wody w nasionach i olejach

Oznaczenie zawartości wody w nasionach wykonywano metodą grawimetryczną wg PN-EN ISO 665:2004 [18], natomiast w olejach wg PN-EN ISO 662:2001. Metoda A [17].

Oznaczanie stabilności oksydacyjnej wykonywano wg PN-EN ISO 6886:2009 [20]. Test przyspieszonego utleniania prowadzono w aparacie Rancimat 679 firmy Metrohm, Szwajcaria. Stosowano następujące parametry testu: temperatura – $100 \pm 0,1$ °C, przepływ powietrza – 20 l/h, masa próbki oleju – 2,5 g, objętość wody w naczyniu konduktometrycznym – 60 ml.

Właściwości antyoksydacyjne preparatów związków fenolowych wyrażano za pomocą współczynnika ochronnego W_o , który wyliczano z równania:

$$W_o = \frac{OI_A - OI_K}{OI_K}$$

gdzie:

OI_A – okres indukcji próby z dodatkiem preparatu [h],

OI_K – okres indukcji próby kontrolnej [h].

Oznaczanie składu kwasów tłuszczowych wykonywano metodą GC wg PN-EN ISO 5508:1996 [19], z wykorzystaniem chromatografu HP 6890 II z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym. Do rozdzielu estrów stosowano wysokopolarną kolumnę kapilarną BPX 70 (60 m \times 0,25 mm, 25 μ m). Warunki analizy: temp. kolumny pro-

gramowana w zakresie 140 - 210 °C, temp. dozownika 210 °C, temp. detektora 250 °C, gaz nośny hel.

Oznaczenie aktywności antyrodnikowej wykonywano metodą spektrometrii elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR) [27]. Badania wykonywano metodą pośrednią, obserwując zmniejszanie się intensywności sygnału pochodzącego od dodanego do próbki wolnego trwałego rodnika DPPH (1,1 difenyl-2 pikrylohydrazyl) w wyniku działania substancji antyrodnikowej. Porównawczą zdolność wygaszania rodnika DPPH (Z_p) określano z równania:

$$Z_p = \frac{I_o - I}{I_o} 100 \%$$

gdzie:

I – intensywność sygnału rodnika DPPH z próbki badanej (olej wyjściowy + roztwór rodnika lub olej bez związków fenolowych + roztwór rodnika, lub olej wyjściowy + preparat + roztwór rodnika),

I_o – intensywność sygnału rodnika DPPH z próbki przyjętej za wzorec (odpowiednio: roztwór rodnika, roztwór rodnika, olej wyjściowy + roztwór rodnika).

Do próbki (0,5 ml) dodawano 2,5 ml acetonowego roztworu DPPH o stężeniu 0,004 mol/dm³. Do pomiaru pobierano 0,35 ml powstałego w ten sposób roztworu. Pomiar przeprowadzano po 70 min od dodania roztworu DPPH za pomocą spektrometru EPR model MiniScope 200, firmy Magnetech GmbH, Berlin, Niemcy. Stosowane parametry: prąd diody – 50 %, tłumienie – 8 dB, stała czasowa – 0,1 s, faza – 180°, czas przemiatania – 30 s, amplituda modulacji – 0,4 mT, indukcja magnetyczna w centrum zakresu przemiatania – $B = 334$ mT, szerokość przemiatania – $DB = 7,7$ mT. Do całkowania widm EPR stosowano program Analysis firmy Magnetech.

Ocena wpływu związków fenolowych na stabilność oksydacyjną i aktywność antyrodnikową olejów tłoczonych na zimno

Ocenę tę przeprowadzano poprzez porównanie stabilności oksydacyjnej za pomocą testu Rancimat oraz aktywności antyrodnikowej, w odniesieniu do rodnika DPPH metodą EPR, olejów wyjściowych oraz po usunięciu z nich związków fenolowych.

Przygotowanie oleju wolnego od związków fenolowych. Olej (20 g) rozpuszczano w heksanie (1 : 10), po czym związki fenolowe ekstrahowano trzykrotnie za pomocą metanolu (10 : 2, heksan/metanol) w temp. pokojowej [1]. Ekstrakt metanolowy przemywano heksanem (1 : 1). Pozostały po ekstrakcji roztwór heksanowy oleju łączono wraz z heksanem użytym do przemycia roztworu metanolowego. Heksan usuwano pod obniżonym ciśnieniem z użyciem azotu. Przed dalszymi analizami otrzymany olej przechowywano w temp. 20 ± 2 °C.

Ocena aktywności antyoksydacyjnej i antyrodnikowej związków fenolowych wyizolowanych z poszczególnych gatunków nasion

Ocenę tę przeprowadzano poprzez porównanie stabilności oksydacyjnej, za pomocą testu Rancimat, oraz aktywności antyrodnikowej, w odniesieniu do rodnika DPPH metodą EPR, olejów wyjściowych oraz po dodaniu do nich preparatu związków fenolowych wyizolowanych z odpowiadających im nasion.

Analizę statystyczną wyników prowadzono za pomocą programu komputerowego Statgraphics Plus for Windows, wersja 4.0, Statistical Graphics Corp., na poziomie istotności $p = 0,05$. Do oceny zależności pomiędzy wybranymi zmiennymi wykorzystano analizę regresji prostej.

Wyniki i dyskusja

Wyniki dotyczące zawartości natywnych związków fenolowych w badanym materiale zamieszczono w tab. 1.

Tabela 1

Zawartość związków fenolowych ogółem w nasionach i olejach.
Content of total phenolic compounds in seeds and oils.

Rodzaj surowca Variety of raw material	Zawartość związków fenolowych ogółem* Total content of phenolic compounds*	
	nasiona [mg/100 g smb.] seeds [mg/100 g ddm.]	oleje [mg/100 g] oils [mg/100g]
Len / Flax	989 ^a ± 48	1,17 ^a ± 0,05
Lnianka / Camelina	1107 ^b ± 56	3,95 ^b ± 0,13
Konopie / Hemp	831 ^c ± 41	4,11 ^c ± 0,14
Żmijowiec / Echium	1540 ^d ± 61	3,56 ^d ± 0,09

Objaśnienia: / Explanatory notes:

wartość średnia ± odchylenie standardowe / mean value ± standard deviation; $n = 6 (3 \times 2)$;

* zawartość związków fenolowych ogółem wyrażona jako ekwiwalent kwasu ferulowego / total content of phenolic compounds expressed as equivalent of ferulic acid;

smb. – sucha masa beztluszczowa / ddm. – dry defatted matter;

wartości średnie z różnymi indeksami w kolumnach różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) / mean values with different indexes in columns differ statistically significantly ($p \leq 0.05$).

Zawartość związków fenolowych ogółem w nasionach zależała od ich rodzaju i wynosiła od 831 mg/100 g smb w nasionach konopi do 1540 mg/100 g smb w nasionach żmijowca. Są to ilości zbieżne z danymi literaturowymi [2, 5, 26]. Spośród nasion oleistych szczególnie bogate w związki fenolowe są nasionach rzepaku [32]. Przy po-

równywaniu wyników należy mieć na uwadze istotny wpływ, jaki wywiera rodzaj stosowanego rozpuszczalnika i sposób ekstrakcji [2], a także niespecyficzność powszechnie stosowanej metody oznaczania zawartości związków fenolowych ogółem z użyciem odczynnika Folina-Ciocalteu'a [24]. W próbce mogą występować również inne składniki wykazujące właściwości redukujące, takie jak aminokwasy (alanina, cysteina, glicyna, tryptofan) czy cukry (fruktoza, glukoza, sacharoza) reagujące z odczynnikiem.

Wśród olejów najwięcej związków fenolowych zawierał olej konopny (4,11 mg/100 g), w oleju lniankowym i żmijowcowym było ich nieznacznie mniej, natomiast w oleju lnianym aż 4-krotnie mniej. W literaturze publikowane są zbliżone [11, 23], ale też wyraźnie wyższe dane [4].

Podczas tłoczenia naturalne antyoksydanty zawarte w nasionach ulegają rozdzielności na frakcję rozpuszczalną w tłuszczach (głównie tokoferole, karotenoidy, sterole), przechodzącą do oleju oraz frakcję hydrofilną (głównie polarne związki polifenolowe) pozostającą w wytlókach. Niektóre ze związków polifenolowych o średniej polarności wykazują pewne cechy lipofilności [5, 12] i mogą także znajdować się w fazie olejowej. Według Czapllickiego [5] powyżej 50 % związków fenolowych nasion żmijowca stanowią związki o charakterze hydrofobowym.

W wyniku tłoczenia do olejów przechodzą z nasion niewielkie ilości wody (tab. 2), w której mogą się rozpuszczać związki polifenolowe o wyższej polarności. Ich ilość zależy od rodzaju obróbki surowca przed tłoczeniem (temperatura, wilgotność, rozdrobnienie) a także warunków samego tłoczenia [3].

Tabela 2

Zawartość wody w nasionach i olejach.

Content of water in seeds and oils.

Rodzaj surowca Variety of raw material	Zawartość wody / Content of water [%]	
	nasiona / seeds	oleje / oils
Len / Flax	7,7 ± 0,1	0,41 ± 0,02
Lnianka / Camelina	7,8 ± 0,1	0,42 ± 0,02
Konopie / Hemp	7,3 ± 0,1	0,38 ± 0,03
Żmijowiec / Echium	7,6 ± 0,1	0,39 ± 0,01

Objaśnienia: / Explanatory notes:

wartość średnia ± odchylenie standardowe / mean value ± standard deviation; n = 6 (3 × 2).

Nasiona będące przedmiotem badań charakteryzowały się typową, niezbyt zróżnicowaną wilgotnością. Proces tłoczenia prowadzono w porównywalnych warunkach, a zawartość wody w poszczególnych olejach była zbliżona. Można na tej podstawie

przyjąć, że o zawartości związków fenolowych w olejach decydowały przede wszystkim cechy gatunkowe nasion.

Wpływ natywnych związków fenolowych na stabilność oksydacyjną olejów określono poprzez porównanie okresów indukcji procesu autooksydacji olejów w teście Rancimat przed oraz po usunięciu z nich związków fenolowych. Uzyskane wyniki zamieszczono w tab. 3.

Tabela 3

Okres indukcji autooksydacji olejów przed oraz po usunięciu związków fenolowych.
Induction time of auto-oxidation of oils before and after removal of polyphenols compounds.

Rodzaj oleju Oil type	Okres indukcji / Induction time [h]			
	lniany flax	lniankowy camelina	konopny hemp	zmijowcowy echium
Wyjściowy / Initial	4,35 ^a ± 0,19	10,26 ^b ± 0,26	6,10 ^c ± 0,21	3,90 ^d ± 0,14
Po usunięciu polifenoli After removal of polyphenols	3,41 ^a ± 0,12	8,43 ^b ± 0,25	4,72 ^c ± 0,14	2,90 ^d ± 0,10

Objaśnienia: / Explanatory notes:

wartość średnia ± odchylenie standardowe / mean value ± standard deviation; n = 6 (3 × 2);

wartości średnie z różnymi indeksami w rzędach różnią się statystycznie istotnie (p ≤ 0,05) / mean values with different indexes in the rows differ statistically significantly (p ≤ 0.05).

Czasy indukcji procesu autooksydacji, zarówno w grupie olejów wyjściowych, jak i olejów po usunięciu polifenoli były zróżnicowane w sposób statystycznie istotny. Najbardziej labilny wśród olejów wyjściowych był olej zmijowcowy (3,90 h), a stabilność innych wzrastała w następującej kolejności: lniany < konopny < lniankowy. Czynnikiem decydującym o trwałości olejów jest przede wszystkim skład kwasów tłuszczowych oraz obecność naturalnych przeciwutleniaczy. Wśród kwasów tłuszczowych szczególnie ważna jest zawartość polienowych kwasów tłuszczowych o budowie dienowej, trienowej i tetraenowej, bardzo pożądanym, ale jednocześnie mało stabilnym. Spośród nich trieny utleniają się 2 - 4 razy szybciej niż dieny, a tetraeny szybciej niż trieny [7]. Najmniej stabilny olej zmijowcowy charakteryzował się jednocześnie najwyższą zawartością trienów i tetraenów (tab. 4).

Olej konopny pomimo mniejszej zawartości trienów i tetraenów okazał się mniej stabilny niż olej lniankowy, gdyż zawierał kilkakrotnie więcej dienów. Uzyskane wyniki są zbliżone do publikowanych w tym zakresie w literaturze [1, 14]. W porównaniu z takimi olejami, jak rzepakowy czy oliwkowy materiał badawczy był wyjątkowo nietrwały [31].

Tabela 4

Zawartość polienowych kwasów tłuszczowych (PUFA) w olejach [%].
Content of polyenic fatty acids (PUFA) in oils [%].

Kwasy tłuszczowe Fatty acids	Rodzaj oleju / Oil type			
	lniany flax	lniankowy camelina	konopny hemp	zmijowcowy echium
C18:2 n-6	16,2 ± 0,6	15,6 ± 0,3	52,0 ± 1,5	17,6 ± 0,6
C 18:3 n-6	0,0	0,0	3,8 ± 0,3	10,6 ± 0,4
C18:3 n-3	52,8 ± 1,7	36,1 ± 1,2	21,8 ± 0,7	31,2 ± 1,2
C18:4 n-3	0,0	0,0	1,9 ± 0,1	12,4 ± 0,2
Suma / Sum	69,0	51,7	79,5	71,8

Objaśnienia: / Explanatory notes:

wartość średnia ± odchylenie standardowe / mean value ± standard deviation; n = 6 (3 × 2).

Usunięcie niewielkich ilości związków fenolowych skutkowało skróceniem czasów indukcji olejów w granicach od 17,8 do 25,6 %, czyli wyraźnym zmniejszeniem stabilności oksydacyjnej. Świadczy to o wysokiej aktywności antyoksydacyjnej tych związków. Obserwacje te są zbieżne z ustaleniami Terpinca i wsp. [26], według których związki fenolowe obecne w oleju lniankowym tłoczonym na zimno charakteryzują się wyższą aktywnością antyoksydacyjną niż związki wyodrębnione z nasion bądź wytłoków. Usunięcie związków fenolowych eliminuje je z roli synergenta w odniesieniu do tokoferoli, co dodatkowo zmniejsza stabilność olejów. Współczynnik korelacji pomiędzy skróceniem czasu indukcji w teście Rancimat (y) a ilością usuniętych związków fenolowych (x) wynosił $r = 0,6443$ przy poziomie istotności $p = 0,36$. Równanie prostej regresji tych zmiennych miało postać:

$$y = 0,666 + 0,0195 x$$

Wpływ natywnych związków fenolowych na aktywność antyrodnikową olejów określono poprzez porównanie siły wygaszania rodnika DPPH przez oleje przed oraz po usunięciu z nich związków fenolowych. Uzyskane wyniki zamieszczono w tab. 5. Skuteczność wygaszania rodnika DPPH przez oleje wyjściowe była dość zróżnicowana, a olej lniankowy wygaszał rodnik blisko dwukrotnie silniej niż olej lniany. Jeszcze większe zróżnicowanie występuje pomiędzy takimi olejami, jak: rzepakowy, słonecznikowy i sojowy [22]. W olejach roślinnych związkami unieczynnającymi wolne rodniki są tokoferole, tokotrienole, karotenoidy, niektóre sterole a także związki fenolowe [14]. Usunięcie związków fenolowych w przypadku każdego z olejów skutkowało zmniejszeniem siły wygaszania rodnika DPPH. W największym stopniu nastąpiło ono w oleju lniankowym (17,1 %), a w pozostałych kształtowało się następująco:

Tabela 5

Zdolność wygaszania rodnika DPPH przez oleje przed oraz po usunięciu związków fenolowych.
Scavenging ability of DPPH radical before and after removal of phenolic compounds.

Rodzaj oleju Oil type	Wygaszanie / Scavenging [%]			
	lniany flax	lniankowy camelina	konopny hemp	zmijowcowy echium
Wyjściowy / Initial	16,8 ^a ± 0,2	29,3 ^b ± 0,3	27,0 ^c ± 0,2	24,7 ^d ± 0,3
Po usunięciu polifenoli After removal of polyphenols	14,7 ^a ± 0,1	24,3 ^b ± 0,2	22,9 ^c ± 0,2	22,8 ^d ± 0,2

Objaśnienia: / Explanatory notes:

wartość średnia ± odchylenie standardowe / mean value ± standard deviation; n = 6 (3 × 2);

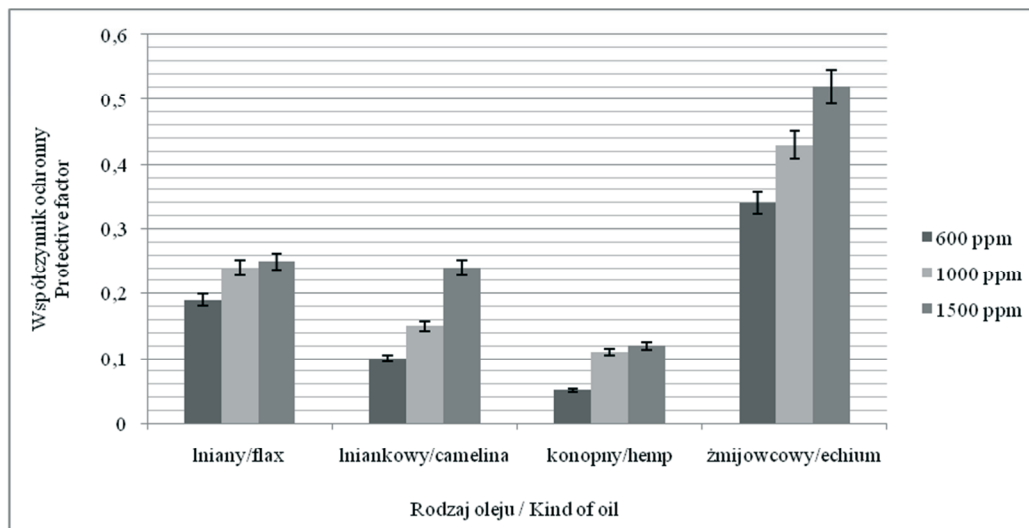
wartości średnie z różnymi indeksami w rzędach różnią się statystycznie istotnie (p ≤ 0,05) / mean values with different indexes in the rows differ statistically significantly (p ≤ 0.05).

konopny > lniany > zmijowcowy. Zmniejszenie siły wygaszania rodnika DPPH (y) było skorelowane z ilością usuniętych związków fenolowych (x). Współczynnik korelacji liniowej pomiędzy tymi zmiennymi wynosił r = 0,6294 przy poziomie istotności p = 0,37. Równanie prostej regresji tych zmiennych miało postać:

$$y = 0,629 + 0,070 x$$

Według Abyzaytoun i Shahidi [1] ekstrakty metanolowe związków fenolowych z oleju konopnego mają większą siłę wygaszania rodnika DPPH niż ekstrakty z oleju lnianego. Espin i wsp. [8] w badaniach wygaszania rodnika DPPH przez frakcję polarną (rozpuszczalną w metanolu i zawierającą związki fenolowe) szeregu olejów roślinnych wykazali, że tylko część z nich ma te właściwości.

Dodatek preparatów związków fenolowych o charakterze hydrofobowym do olejów powodował zróżnicowane wydłużenie okresu indukcji, zależne od rodzaju oleju i zastosowanej dawki. Największe wydłużenie okresu indukcji stwierdzono w przypadku oleju zmijowcowego, najslabiej reagował olej konopny. Na podstawie czasów indukcji, przed i po dodatku preparatów, wyliczono współczynniki ochronne olejów, a ich zależność od zastosowanej dawki przedstawiono na rys. 1.



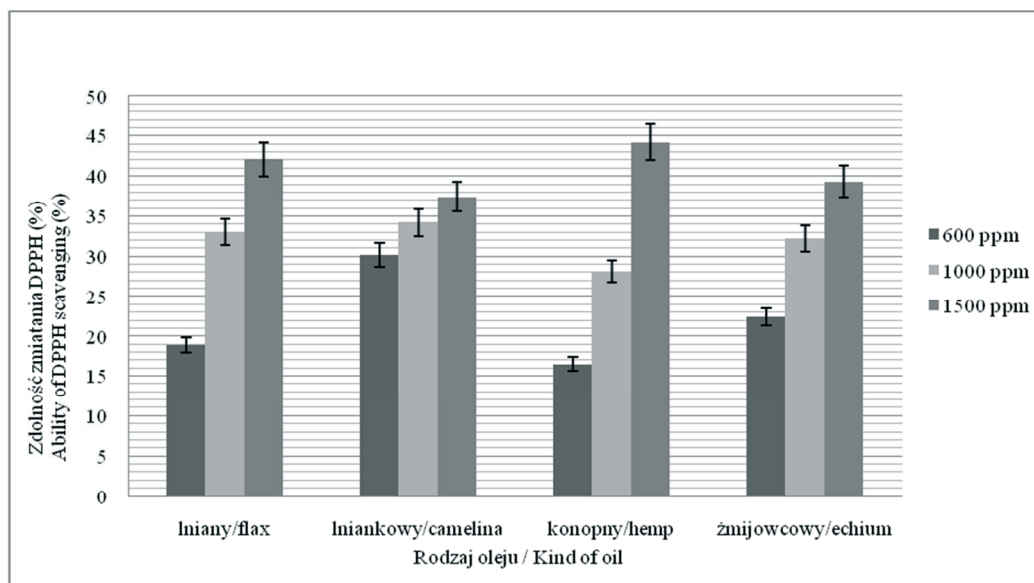
Objaśnienia: / Explanatory notes:
 n = 6 (3 × 2)

Rys. 1. Aktywność antyoksydacyjna preparatów związków fenolowych w olejach wyznaczona testem Rancimat.

Fig. 1. Antioxidant activity of preparations of phenolic compounds in oils as determined by Rancimat test.

Siła ochronna stosowanych preparatów nie była zbyt wysoka. Maksymalny współczynnik ochronny (0,52) uzyskano w przypadku oleju zmijowcowego przy dawce 1500 ppm. Olej ten okazał się także najbardziej wrażliwy na stosowaną dawkę. Aktywność przeciwutleniająca preparatu związków fenolowych wyizolowanych z nasion zmijowca była dwukrotnie niższa niż handlowego preparatu związków fenolowych wyizolowanych z rozmarynu przy ich dodatku do oleju zmijowcowego [14]. Pozostałe oleje reagowały na dodatki preparatów jeszcze słabiej, a maksymalne współczynniki ochronne kształtowały się następująco: lniany – 0,25, lniankowy – 0,24, konopny – 0,12. Tak niskie współczynniki ochronne świadczą o niskiej aktywności antyoksydacyjnej dodawanych związków fenolowych o charakterze hydrofobowym, wyraźnie słabszej od tych, które przedostają się z nasion do oleju podczas tłoczenia, mających charakter zarówno litofilny, jak i hydrofilny. O niższej aktywności antyoksydacyjnej związków fenolowych izolowanych z nasion lnianki a także z wycieków, w porównaniu z aktywnością związków izolowanych z oleju tłoczonego na zimno, informują Terpinc i wsp. [26]. Badane oleje prawdopodobnie zawierały układ natywnych antyoksydantów bliski optymalnemu i dlatego słabo reagowały na dodatkowe ilości związków fenolowych.

Dodatek preparatów związków fenolowych o charakterze hydrofobowym do olejów każdorazowo powodował wzrost zdolności wygaszania rodnika DPPH, ale skuteczność ich działania nie była duża. Wpływ dodatku preparatów w poszczególnych olejach przedstawiono na rys. 2.



Objaśnienia: / Explanatory notes: n = 6 (3 × 2)

Rys. 2. Zdolność wygaszania rodnika DPPH przez preparaty związków fenolowych w olejach.

Fig. 2. Ability of scavenging of DPPH radical by preparations of phenolic compounds in oils.

Maksymalny przyrost siły wygaszania rodnika DPPH nastąpił w oleju konopnym (44 %), a w pozostałych kształtował się następująco: lniany > żmijowcowy > lniankowy. Badane oleje w zróżnicowany sposób reagowały na stosowane dawki preparatów. Najsilniej reagował olej lniany, a najmniej wrażliwy był olej lniankowy, w którym przy 2,5-krotnym zwiększeniu dawki z 600 do 1500 ppm nastąpił przyrost siły wygaszania rodnika DPPH tylko o 7,3 %.

W badaniach prowadzonych na ekstraktach związków fenolowych otrzymanych z pozostałości po odolejeniu 8 różnych tradycyjnych surowców oleistych [14] nie stwierdzono istotnej korelacji pomiędzy zawartością związków fenolowych ogółem a zdolnością wygaszania rodnika DPPH. Według autora wynikało to ze znacznych różnic w aktywności antyoksydacyjnej poszczególnych związków fenolowych. Antyrodnikowa aktywność ekstraktów związków fenolowych może się także zmieniać w zależności od rodzaju rodnika stosowanego do badań [29]. Na działanie związków fenolowych dodawanych do olejów może się nakładać aktywność naturalnych nietria-

cyloglicerolowych substancji obecnych w oleju, takich jak: fosfolipidy, tokoferole, tokotrienole, barwniki (chlorofile, karotenoidy), sterole, stanole, wolne kwasy tłuszczowe, mono- i diacyloglicerole, woski, skwalen i inne węglowodory, a także synergizm i antagonizm pomiędzy nimi samymi oraz dodawanymi związkami polifenolowymi. Szczególnie dotyczy to środowiska olejów tłoczonych na zimno, w których zawartość składników nietriacyloglicerolowych może dochodzić do 5 %. Dlatego też jednoznaczna interpretacja uzyskanych wyników jest utrudniona.

Wnioski

1. Związki fenolowe ogółem stanowiące 0,8 - 1,5 % suchej masy beztłuszczowej nasion lnu, lnianki, konopi i żmijowca tylko w niewielkich ilościach (1,2 - 4,1 mg/100 g) przenikają do tłoczonych z nich na zimno olejów bogatych w PUFA n-3.
2. Obecność związków fenolowych w olejach korzystnie wpływa na ich stabilność oksydacyjną i potencjał antyrodnikowy. Ich usunięcie powodowało wyraźne skrócenie okresu indukcji w teście Rancimat oraz zmniejszenie aktywności antyrodnikowej względem rodnika DPPH.
3. Dodatek związków fenolowych wyizolowanych z nasion zwiększa stabilność oksydacyjną i potencjał antyrodnikowy wytłoczonych z nich na zimno olejów bogatych w PUFA n-3. Ich siła ochronna i antyrodnikowa nie była jednak wysoka.
4. Skuteczność działania związków fenolowych była zróżnicowana w zależności od rodzaju oleju i stosowanej dawki. Najwyższym współczynnikiem ochronnym (0,52) charakteryzował się olej żmijowcowy przy zastosowaniu maksymalnej dawki 1500 ppm. Największy wzrost aktywności antyrodnikowej względem rodnika DPPH miał miejsce w oleju lniankowym.

Praca finansowana ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego w latach 2010 - 2011 jako projekt badawczy nr N N312 130038 pt. Wykorzystanie naturalnych przeciwutleniaczy nasion do podwyższenia stabilności oksydacyjnej i aktywności przeciwrodnikowej olejów bogatych w polienowe kwasy tłuszczowe z rodziny n-3.

Literatura

- [1] Abyzaytoun R., Shahidi F.: Oxidative stability of flax and hemp oils. J. Am. Oil Chem. Soc., 2006, **83**, 855-861.
- [2] Anwar F., Przybylski R.: Effect of solvents extraction on total phenolics and antioxidant activity of extracts from flaxseed (*Linum usitatissimum L.*). Acta Sci. Pol. Technol. Aliment., 2012, **11 (3)**, 293-301.
- [3] Boskou D.: Olive oil composition. In: Olive Oil. Chemistry and Technology. Ed. Boskou D., AOCS Press, Champaign, Illinois, USA, 1996, pp. 52-83.

- [4] Choo W.S., Birch J., Dufour J.P.: Physicochemical and characteristics of cold-pressed flaxseed oils. *J. Food Comp. Anal.*, 2006, **20**, 202-211.
- [5] Czaplicki S., Zadernowski R., Nowak-Polakowska H.: Związki fenolowe żmijowca zwyczajnego (*Echium vulgare L.*). *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2011, **XLIV (3)**, 815-821.
- [6] Decker E.A.: Antioxidant mechanism. In: *Food Lipids (C.C/ Akoh and D.B. Mini eds.)* Marcel Dekker, New York, N.Y., 1998, pp. 397-421.
- [7] Drozdowski B.: Lipidy. Charakterystyka ogólna tłuszczów jadalnych. W: *Chemia żywności. Sacharydy, lipidy, białka*. Red. Z.E. Sikorski, Wyd. 5. WNT, Warszawa 2007, ss. 73-164.
- [8] Espin J.C., Soler-Rivas C., Wichers H.J.: Characterization of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fractions using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, **48**, 648-656.
- [9] Haiyan Z., Bedgood D.R., Bishop A.G., Prenzler P.D., Robards K.: Endogenous biophenyl, fatty acid and volatile profiles of selected oils. *Food Chem.*, 2007, **100**, 1544-1551.
- [10] Karamać M., Kosińska A., Pegg R.B.: Comparison of radical-scavenging activities for selected phenolic acids. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2005, **14/55**, 165-170.
- [11] Koski A., Pekkarinen S., Hopia A., Wähälä K., Heinonen M.: Processing of rapeseed oil: effects on sinapic acid derivative content and oxidative stability. *Eur. Food Res. Technol.*, 2003, **217**, 110-114.
- [12] Materska M.: Evaluation of the lipophilicity and stability of phenolic compounds in herbal extracts. *Acta. Sci. Pol. Technol. Aliment.*, 2010, **9 (1)**, 61-69.
- [13] Matthäus B.: Antioxidant activity of extracts obtained from residues of different oilseeds. *J. Agric. Food Chem.* 2001, **50**, 3444-3452.
- [14] Mińkowski K.: Studia nad stabilnością oksydacyjną olejów roślinnych bogatych w polienowe kwasy tłuszczowe o budowie trienowej. *Rozpr. hab. Roczn. Inst. Przem. Mięś. i Tł.*, 2008, **46**, 1-121.
- [15] Nogala-Kalucka M., Rudzińska M., Zadernowski R., Siger A., Krzyzostaniak I.: Phytochemical content and antioxidant properties of seeds of unconventional oil plants. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2010, **87**, 1481-1487.
- [16] Papadimitriou V., Sotiroudis T.G., Xenakis A., Sofikiti N., Stavyiannoudaki V., Chaniotakis N.A.: Oxidative stability and free radical scavenging activity of extra virgin olive oils: An electron paramagnetic resonance spectroscopy study. *Anal. Chim. Act.*, 2006, **573**, 453-458.
- [17] PN-EN ISO 662:2001. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie zawartości wody i substancji lotnych.
- [18] PN-EN ISO 665:2004. Nasiona oleiste. Oznaczanie wilgotności i zawartości substancji lotnych.
- [19] PN-EN ISO 5508:1996. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Analiza estrów metylowych kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej.
- [20] PN-EN ISO 6886:2009. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie stabilności oksydacyjnej (test przyspieszonego utleniania).
- [21] Schmidt S., Pokorny J.: Potential application of oilseeds as sources of antioxidants for food lipids. *Czech. J. Food Sci.*, 2006, **23 (3)**, 93-102.
- [22] Siger A., Nogala-Kalucka M., Lampart-Szczapa E., Hoffman A.: Antioxidant activity of phenolic compounds of selected cold-pressed and refined plant oils. *Rośliny Oleiste*, 2005, **26**, 549-559.
- [23] Siger A., Nogala-Kalucka M., Lampart-Szczapa E.: The content and antioxidant activity of phenolic compounds in cold-pressed plant oils. *J. Food Lipids*, 2008, **15**, 137-149.
- [24] Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M.: Analysis of total phenols and other oxidation substances and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.*, 1999, **288**, 152-178.
- [25] Sz wajgier D., Pielecki J., Targoński Z.: Antioxidant activities of cinnamic and benzoil acid derivatives - *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.* 2005, **4 (2)**, 129-142.

- [26] Terpinic P., Polak T., Makuc D., Poklar Ulrich N., Abramovič H.: The occurrence and characterization of phenolic compounds in *Camelina sativa* seeds, cake and oil. *Food Chem.*, 2011, **131** (2), 580-589.
- [27] Wasek M., Nartowska J., Wawer I., Tudruj T.: Electron spin resonance assessment of the antioxidant potential of medicinal plants. P.1. Contribution of anthocyanosides and flavonoids to the radical scavenging ability of fruit and herbal teas. *Acta Pol. Pharm.*, 2001, **58**, 283-288.
- [28] Wąsowicz E., Gramza A., Heś M., Jeleń H., Korczak J., Małecka M., Mildner-Szkudlarz S., Rudzińska M., Samotyja U., Zawirska-Wojtasiak R.: Oxidation of lipids in food. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2004, **13/54**, 87-100.
- [29] Wettasinghe M., Shahidi F.: Scavenging of reactive-oxygen species and DPPH free radicals by extracts of borage and evening primrose meals. *Food Chem.*, 2000, **70**, 17-26.
- [30] Wilska-Jeszka J.: Polifenole, glukozytolany i inne związki prozdrowotne i antyżywniowe. W: *Chemia żywności. Składniki żywności*. Red. Z.E. Sikorski, Wyd. 5. WNT, Warszawa 2007, ss. 203-226
- [31] Wroniak M., Kwiatkowska M., Krygier K.: Charakterystyka wybranych olejów tłoczonych na zimno. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **2** (47), 46-58.
- [32] Zadernowski R., Nowak H., Kozłowska H.: Charakterystyka substancji przeciwutleniających izolowanych z nasion rzepaku. *Zesz. Probl. IHAR. Rośliny Oleiste. Wyniki badań za rok 1990*. 1991., (I), 165-168.


EFFECT OF PHENOLIC COMPOUNDS IN SEEDS ON OXIDATIVE STABILITY AND ANTIRADICAL ACTIVITY OF n-3-PUFA-RICH OILS PRESSED FROM THEM

S u m m a r y

The objective of the study was to prove if and how far the natural phenolic compounds in seeds constitute an antioxidant barrier for oils extruded from them and rich in polyenic fatty acids from an n-3 family.

The research materials were seeds of flax, camelina, hemp, and echium. Investigated were cold pressed oils, oils with native phenolic compounds removed, and oils enriched with hydrophobic fraction of phenolic compounds that were isolated from de-oiled seeds. Phenolic compounds were hot extracted by 70 % ethanol, and a raw extract was purified in a system of polar and non-polar solvents.

The seeds were characterized by differentiated contents of phenolic compounds, the small quantities of which passed into oils during the cold pressure process. The effect of having removed phenolic compounds from oils was an express decrease in their oxidative stability in a Rancimat test and a clear decrease in their antiradical activity towards the DPPH radical. The addition of phenolic compounds, isolated from the seeds, improved the oxidative stability and antiradical potential of oils pressed from those seeds. However, the protecting and antiradical power of polyphenols was not high. The effectiveness of the activity of those compounds depended on the kind of oil and dose applied. The highest protection factor (0.52) was obtained in the case of echium oil with the maximal dose of 1500 ppm used. The greatest increase in the antiradical activity towards the DPPH radical occurred in the camelina oil.

Key words: phenolic compounds, oilseeds, cold pressed oils, oxidative stability, antiradical activity, n-3 PUFA 

MAŁGORZATA WRONIAK, ANNA CHLEBOWSKA-ŚMIGIEL

WPLYW CZYSTOŚCI NASION RZEPAKU I SPOSOBU OCZYSZCZANIA OLEJU NA WYBRANE WŁAŚCIWOŚCI OLEJÓW TŁOCZONYCH NA ZIMNO

Streszczenie

Celem pracy była ocena wpływu czystości nasion rzepaku i sposobu oczyszczania oleju na wskaźniki chemiczne i jakość mikrobiologiczną olejów tłoczonych na zimno. Zakres pracy obejmował: analizę podstawowych wyróżników jakości 11 partii przemysłowych nasion rzepaku odmian „00”, tłoczenie w prasie ślimakowej, oczyszczanie olejów przez naturalną sedimentację i dekantację lub odwirowanie oraz analizę jakości wytłoczonych olejów świeżych i przechowywanych. W próbkach nasion oznaczano: zawartość wody, tłuszczu i zanieczyszczeń, a w próbkach olejów: stopień hydrolizy, pierwotny i wtórny stopień utlenienia lipidów, wskaźnik Totox i stabilność oksydacyjną w teście Rancimat. Zarówno w nasionach, jak i olejach określano ogólną liczbę drobnoustrojów oraz liczbę grzybów. Dodatkowo zidentyfikowano wyizolowane rodzaje pleśni.

Poszczególne partie nasion rzepaku charakteryzowały się zróżnicowaną jakością pod względem zawartości tłuszczu, wody oraz zanieczyszczeń użytecznych i nieużytecznych. Zanieczyszczenie mikrobiologiczne nasion wynosiło 10^3 - 10^4 jtk/g. Stwierdzono dodatnią liniową korelację ($p \leq 0,01$) pomiędzy zawartością zanieczyszczeń a jakością mikrobiologiczną nasion. Oleje rzepakowe tłoczone na zimno charakteryzowały się średnim stopniem hydrolizy i utlenienia lipidów. Jakość olejów uzależniona była od zanieczyszczenia nasion. Oleje wirowane były wyższej jakości niż oleje dekantowane. Sposób oczyszczania wpływał na właściwości chemiczne i mikrobiologiczne olejów w czasie przechowywania. Przechowywanie przez 6 miesięcy olejów oczyszczanych przez dekantowanie, w porównaniu z olejami wirowanymi, powodowało większe obniżenie ich jakości. Wzrósł stopień hydrolizy i utlenienia lipidów oraz nastąpił wzrost ogólnej liczby drobnoustrojów. Jednak zanieczyszczenie mikrobiologiczne olejów tłoczonych na zimno było bardzo małe (na poziomie 10^1 do 10^2 jtk/cm³), tj. od 10 do 1000 razy mniejsze niż zanieczyszczenie nasion rzepaku. Na nasionach oraz w olejach stwierdzono obecność bakterii przetrwalnikujących, drożdży oraz pleśni. Wśród grzybów dominującą mikroflorę stanowiły pleśnie z rodzaju *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Rhizopus*, *Aspergillus* i *Cladosporium*.

Słowa kluczowe: nasiona rzepaku, tłoczenie na zimno, olej rzepakowy, wskaźniki chemiczne, jakość mikrobiologiczna

Dr inż. M. Wroniak, Katedra Technologii Żywności, dr inż. A. Chlebowska-Śmigiel, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa

Wprowadzenie

Rzepak jest jedynym surowcem oleistym przetwarzanym w Polsce na skalę przemysłową. Pod względem wielkości produkcji nasion i oleju zajmuje trzecie miejsce na świecie wśród surowców oleistych, po palmie oleistej i soi. Roczna światowa produkcja oleju rzepakowego to ponad 22 mln ton (2012 r.). Największymi producentami ozimych odmian rzepaku są kraje Unii Europejskiej (głównie: Niemcy, Francja, Wielka Brytania i Polska), a jarych: Chiny, Kanada, Indie i Stany Zjednoczone. W Polsce rzepak zajmuje 97 % powierzchni upraw roślin oleistych, a jego zbiór roczny wynosi średnio około 2 mln ton nasion, z czego produkuje się do 1 mln ton oleju rzepakowego [4].

W ostatnich latach olej rzepakowy uznawany jest za najzdrowszy z olejów jadalnych. Do takiej opinii skłania skład jego kwasów tłuszczowych, tj. mały udział nasyconych (6 - 7 %) i duży polienowych kwasów tłuszczowych (30 %), optymalny pod względem żywieniowym stosunek kwasów z rodzin n-6 do n-3 (2 : 1), a także obecność naturalnych związków bioaktywnych m.in. tokoferoli i steroli [3, 11].

Oleje tłoczone na zimno stanowią znikomą część rynku olejów, jednak zdobywają coraz więcej zwolenników wśród konsumentów wybierających żywność tradycyjną, nieprzetworzoną. Niezmiennie istotne jest jednak bezpieczeństwo zdrowotne tych olejów, szczególnie zanieczyszczenia chemicznego i mikrobiologicznego (obecności mikotoksyn, pozostałości metali, środków ochrony roślin, polichlorowanych bifenyli, WWA) [1, 9]. Jakość olejów tłoczonych na zimno determinowana jest głównie jakością nasion użytych do tłoczenia. Niska jakość surowca, m.in. wysoka wilgotność, duży udział zanieczyszczeń (w tym drobnoustrojów), nasion uszkodzonych, niedojrzałych czy obcych wpływa negatywnie na jakość oleju [8, 14, 15, 16, 30]. Oleje te w odróżnieniu od produkowanych masowo olejów rafinowanych nie są chemicznie oczyszczane po tłoczeniu, a dopuszczone metody fizyczne: naturalna sedimentacja, filtracja czy odwirowanie zanieczyszczeń stałych [2] nie zmniejszają znacząco poziomu potencjalnych zanieczyszczeń.

Czystość mikrobiologiczna nasion jest ważnym czynnikiem wpływającym na bezpieczeństwo olejów tłoczonych na zimno ze względu na obecność zarówno saprofitycznych, jak i patogennych drobnoustrojów na powierzchni nasion. Nasiona rzepaku charakteryzują się wysokim stopniem zanieczyszczenia mikrobiologicznego. Na ich powierzchni mogą występować liczne bakterie, drożdże i pleśnie. Szczególnie niebezpieczne są grzyby pleśniowe z rodzaju: *Penicillium* spp., *Fusarium* spp., *Alternaria* spp., *Cladosporium* spp., gdyż mogą wytwarzać wtórne metabolity – mikotoksyny [9, 10]. Niewłaściwe magazynowanie nasion wilgotnych i porażonych przez pleśnie może sprzyjać tworzeniu mikotoksyn działających mutagennie, rakotwórczo i toksycznie na organizm człowieka. W ostatnich latach prowadzi się coraz więcej badań dotyczących mikrobiologicznego zanieczyszczenia nasion rzepaku m.in. pleśniami toksynotwór-

czymi oraz bada się oleje rafinowane i śrutę poekstrakcyjną pod względem obecności w nich toksyn [6, 9, 10, 34]. Badania Karlovits i wsp. [9], przeprowadzone w Zakładach Tłuszczowych „Kruszwica”, na obecność mikotoksyn w nasionach rzepaku, oleju surowym i rafinowanym oraz produktach ubocznych (lecytyna, śruta) wykazały bardzo małe zanieczyszczenie na każdym etapie produkcji. Wykryto w rzepaku aflatoksynę B1 na poziomie od 0,06 do 0,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (maks. dopuszczone skażenie to 8,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$), a sumę aflatoksyn (B1, B2, G1, G2) na poziomie od 0,2 do 0,4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (15 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Badania te odnoszą się do rzepaku polskiego. Inny stan może być w surowcu importowanym (ze względu na warunki klimatyczne i transport), analogicznie jak w zbożach pochodzących z klimatu tropikalnego, w których występuje ochratoksyna A (*Aspergillus* spp) niewykrywana w nasionach polskich zbóż.

W związku z tym oleje tłoczone na zimno z nasion rzepaku dobrej jakości są prawdopodobnie bezpieczne pod względem mikrobiologicznym i wolne od mikotoksyn. Oleje jadalne, nawet otrzymywane bez klasycznej rafinacji, charakteryzują się śladową ilością wody i w związku z tym nie są środowiskiem sprzyjającym rozwojowi drobnoustrojów. Bezpośrednie użycie tych olejów do celów kulinarnych (bez obróbki termicznej) może jednak stwarzać zagrożenie mikrobiologiczne [12, 36].

Celem badań była ocena wpływu jakości nasion rzepaku i sposobu oczyszczania oleju na właściwości chemiczne i jakość mikrobiologiczną uzyskiwanego oleju tłoczonego na zimno.

Material i metody badań

Materiałem do badań były nasiona rzepaku przemysłowego odmian „00” pobrane z 11 różnych elewatorów rozmieszczonych na terenie Polski oraz uzyskany z nich olej rzepakowy tłoczony w prasie ślimakowej UNO, firmy Farnet (Czechy). Temperatura oleju wypływającego z prasy wynosiła 38 - 42 °C. Otrzymane oleje poddawano naturalnej sedymentacji przez 96 h i dekantacji lub oczyszczano przez odwirowywanie przy 10 000 obr./min przez 10 min. Jakość olejów analizowano w ciągu tygodnia od wytłoczenia, a następnie po 6 miesiącach przechowywania (w temp. 4 °C w brązowych butelkach szklanych o poj. 65 ml).

W nasionach rzepaku oznaczano zawartość: wody [21], tłuszczu [20] oraz zanieczyszczeń użytecznych i nieużytecznych [26]. W próbkach olejów oznaczano: stopień hydrolizy lipidów jako liczbę kwasową LK [24], pierwotny stopień utlenienia jako liczbę nadtlenkową LOO [23], wtórny stopień utlenienia – liczbę anizydynową LAN [22], wyliczano wskaźnik Totox (2LOO + LAN) i stabilność oksydacyjną w temp. 120 °C, w teście Rancimat [25]. Ocena jakości mikrobiologicznej nasion i olejów obejmowała oznaczanie: ogólnej liczby drobnoustrojów mezofilnych tlenowych [19] na podłożu PCA w temp. 30 °C przez 72 h oraz liczby grzybów na podłożu Sabourauda

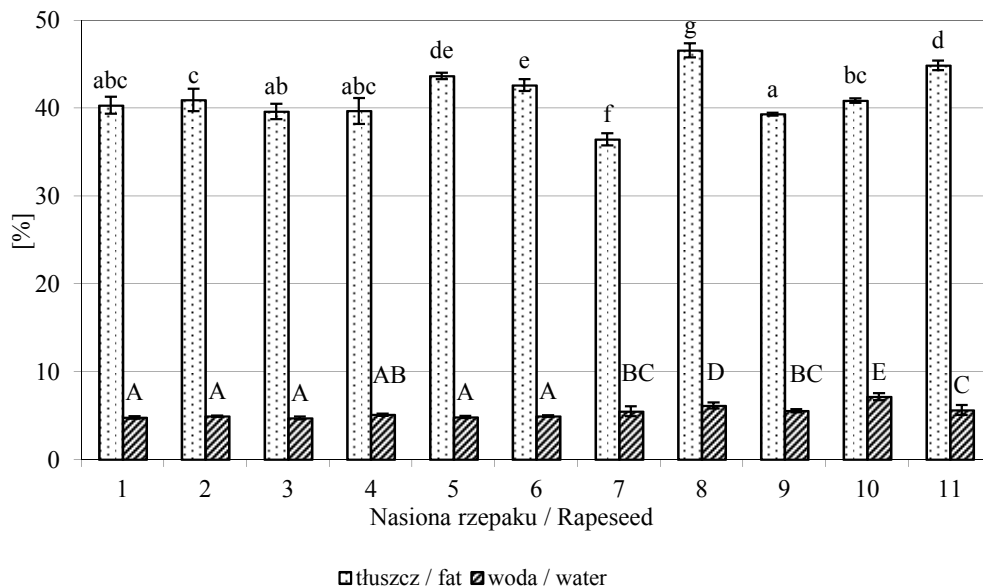
z chloramfenikolem w temp. 25 °C przez 72 h. Do przygotowania płynów do rozcieńczeń użyto 8 cm³ płynu Ringera i 1 cm³ Tweenu 80. W posiewie bezpośrednim olejów zastosowano 1 cm³ 25 % Tweenu 80 [36]. W celu identyfikacji wyizolowanych drobnoustrojów przeprowadzono ocenę makro- i mikroskopową wyrosłych kolonii. Obserwacje mikroskopowe prowadzono w mikroskopie świetlnym firmy Opta Tech (Polska), przy powiększeniu 150× i 600×. Przy identyfikacji pleśni korzystano z dostępnych pozycji literaturowych [5, 18] Do identyfikacji drożdży używano pasków diagnostycznych API 20 C AUX [BioMerieux].

Wyniki oznaczeń stanowią średnią arytmetyczną z czterech powtórzeń ($n = 2 \times 2$). Wyliczono odchylenia standardowe, dodatkowo w przypadku olejów podano wartość minimalną i maksymalną. Wyniki opracowano statystycznie, stosując analizę wariancji jednoczynnikowej (nasiona) i wieloczynnikowej (oleje) (ANOVA, test Dunкана, przy $p \leq 0,05$) oraz analizę korelacji ($p \leq 0,01$) przy wykorzystaniu programu Statgraphics 5.1. Statystycznie istotne różnice między poszczególnymi grupamiznaczono na wykresach, wykorzystując odmienne oznaczenia literowe.

Wyniki i dyskusja

Po przeanalizowaniu wyników 11 partii przemysłowych nasion rzepaku stwierdzono typową dla tego typu nasion zawartość tłuszczu, która wahała się od 36,5 do 46,7 % (rys. 1). Wartość technologiczna poszczególnych partii nasion rzepaku determinowana jest głównie przez wilgotność, stopień dojrzałości, stopień uszkodzenia oraz zawartość zanieczyszczeń [27, 28, 29, 30, 32, 33].

Użyte w pracy nasiona charakteryzowały się zróżnicowaną, ale małą zawartością wody w granicach od 4,8 do 7,1 % (rys. 1), optymalną dla długiego przechowywania nasion. Jednak biorąc pod uwagę zawartość zanieczyszczeń (od 0,9 do 12,8 %), jakość badanych nasion rzepaku była niska (rys. 2). Duży udział zanieczyszczeń, nie tylko użytecznych (nasiona połamane, obłuskane, niewykształcone), ale też nieużytecznych (obecność nasion obcych, łusek łodyg), nie gwarantuje możliwości długiego przechowywania nasion bez strat jakości i nie gwarantuje uzyskania w wyniku tłoczenia na zimno olejów o wysokiej jakości sensorycznej i odpowiednich właściwościach fizykochemicznych. Zanieczyszczenia i uszkodzenia nasion wywierają niekorzystny wpływ na zawartość w nich tłuszczu, mniejszą wydajność tłoczenia, uzyskanie oleju o niższej jakości, co obniża ich wartość technologiczną, a w skali przemysłowej powoduje wyższe koszty rafinacji olejów [8, 15, 16, 27]. Jednymi z czynników powodujących wzrost zawartości zanieczyszczeń użytecznych czy też nasion uszkodzonych są: zbiór kombajnowy, sposób suszenia, wilgotność nasion i temperatura suszenia [8, 28]. Niekorzystne warunki klimatyczne oraz niski poziom zabiegów agrotechnicznych w okresie wegetacji i zbioru dodatkowo zwiększają ilość zanieczyszczeń (nasion spleśniałych, chwastów i szkodników) [30].



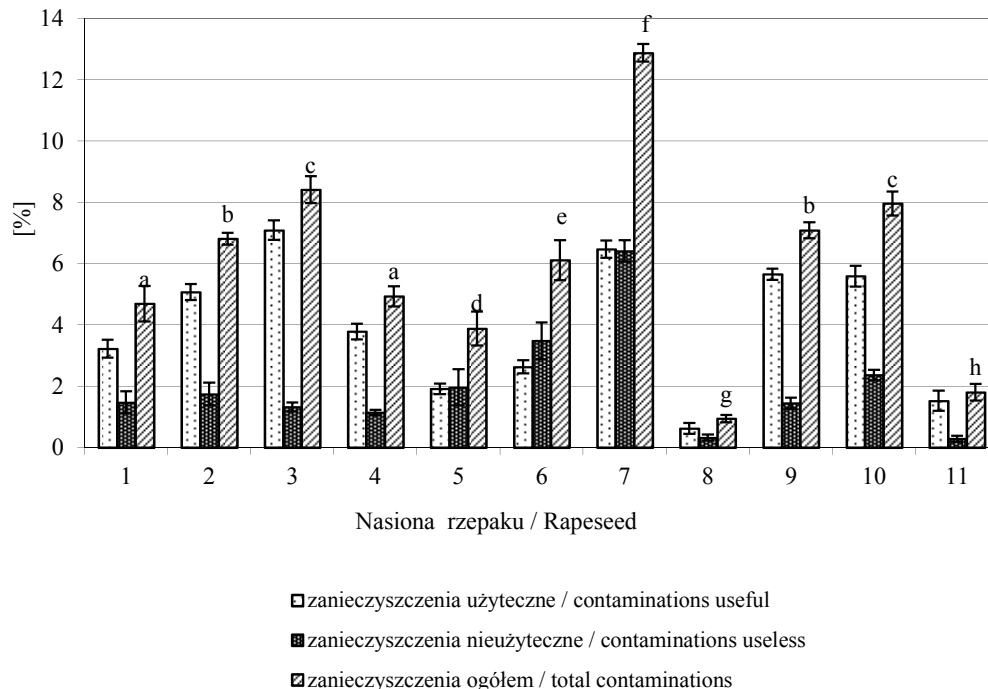
Objaśnienia: / Explanatory notes:

a, b, c, ..., A, B, C, ... – wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) / mean values in the columns and denoted by different letters vary statistically significantly among themselves ($p \leq 0.05$).

Rys. 1. Zawartość tłuszczu i wody w analizowanych nasionach rzepaku [%].

Fig. 1. Content of fat and water in rapeseed analyzed [%].

Po przeanalizowaniu jakości mikrobiologicznej analizowanych partii rzepaku stwierdzono, że ogólna liczba drobnoustrojów wynosiła od $1,86 \times 10^3$ do $1,85 \times 10^4$ jtk/g nasion, a liczba drożdży i pleśni od $3,98 \times 10^2$ do $2,71 \times 10^3$ jtk/g nasion (rys. 3). Z próbek nasion wyizolowano i zidentyfikowano bakterie przetrwalnikujące z rodzaju *Bacillus* sp. oraz drożdże: *Candida utilis*, *Candida lipolytica*, *Kloeckera apiculata*, *Rhodotorula* sp., *Saccharomyces cerevisiae*. Zdecydowanie największą grupę stanowiły szczepy pleśni z rodzaju *Penicillium* sp. Były one obecne we wszystkich badanych próbkach. Wyizolowano również szczepy pleśni należące do rodzajów *Cladosporium* sp., *Rhizopus* sp., *Alternaria* sp., *Fusarium* sp. i *Aspergillus* sp.



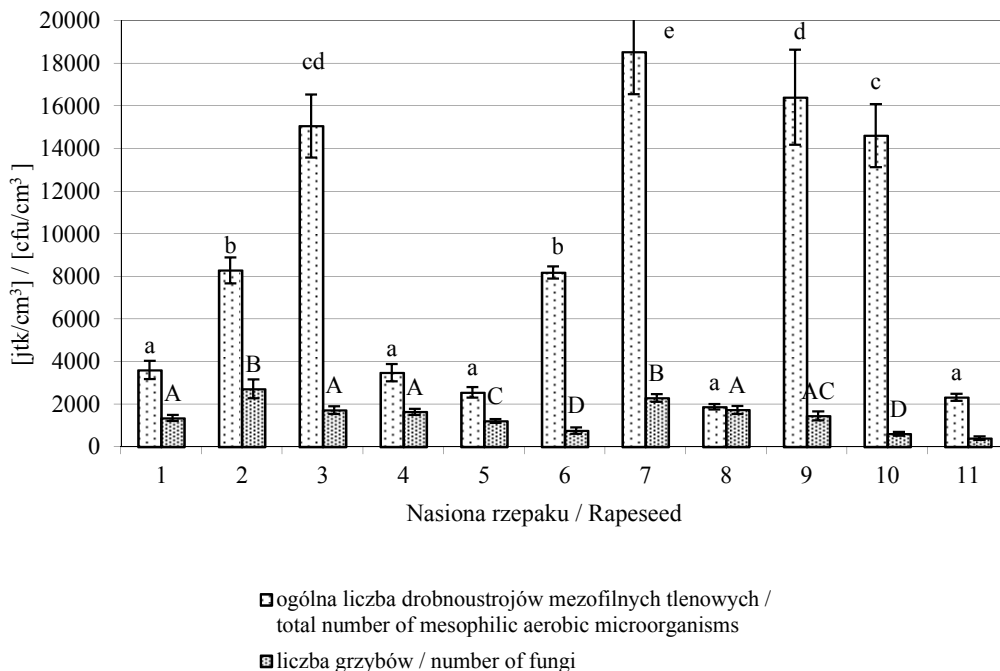
Objaśnienia: / Explanatory notes:

a, b, c ... – wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) / mean values in the columns and denoted by different letters vary statistically significantly among themselves ($p \leq 0.05$).

Rys. 2. Zawartość zanieczyszczeń w analizowanych nasionach rzepaku [%].

Fig. 2. Content of contaminations in rapeseed analyzed [%].

Łaniewska-Moroz i wsp. [12] stwierdzili w nasionach rzepaku ogólną liczbę drobnoustrojów na poziomie $2,2 \times 10^4$ jtk/g, grzybów 2×10^3 jtk/g, *Bacillus* 2×10^2 jtk/g, *Enterobacteriaceae* $3,4 \times 10^2$ jtk/g. Jednak wymienieni autorzy badali wyselekcjonowaną partię siewną, nie do końca odzwierciedlającą rzeczywiste zanieczyszczenie surowca, które uzależnione jest od wyjściowej wilgotności nasion oraz okresu i warunków przechowywania. Ogólna liczba drobnoustrojów na nasionach rzepaku była niewielka w porównaniu z nasionami zbóż, na których zanieczyszczenie mikrobiologiczne może być rzędu $10^6 - 10^7$ jtk/g.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

a, b, c ..., A, B, C, ... – wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) / mean values in the columns and denoted by different letters vary statistically significantly among themselves ($p \leq 0.05$).

Rys. 3. Ogólna liczba mezofilnych drobnoustrojów tlenowych i liczba grzybów w analizowanych nasionach rzepaku [jtk/cm³].

Fig. 3. Total amount of mesophilic aerobic microorganisms and count of fungi in rapeseed analyzed [cfu/cm³].

Gwiazdowski i Wickiel [6] stwierdzili w nasionach jarych i ozimych odmian rzepaku obecność pleśni z rodzaju m.in. *Alternaria* spp., *Stemphylium* sp., *Cladosporium* spp., *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Phoma* sp., *Fusarium* spp., *Mucor* spp., *Rhizopus* spp., które stanowiły mikroflorę zewnętrzną i zasiedlającą głębsze warstwy nasion. Porażenie nasion rzepaku przez grzyby z rodzaju *Alternaria* spp. nie było jednak równoznaczne z wystąpieniem w nich mikotoksyn. Stwierdzono niski lub bardzo niski ich poziom w nasionach rzepaku ozimego. Zawartość mikotoksyn była większa w partiach nasion rzepaku odmian jarych niż ozimych. Wickiel i wsp. [34] w rezultacie analizy mikologicznej różnych odmian rzepaku ozimego również odnotowali występowanie drobnoustrojów pasożytniczych i saprofitycznych. Najczęściej były to pleśnie z rodzajów: *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Alternaria* spp., *Phoma* sp., *Botrytis* sp., *Fusa-*

rium spp., *Mucor* spp., *Rhizopus* spp., *Cladosporium* spp. i innych niezarodnikujących. Odnotowano niewielkie porażenie pleśniami z rodzaju *Penicillium* spp. i *Aspergillus* spp. (0,5 - 4 jtk/g). Natomiast analiza zawartości mikotoksyn wykazała bardzo niski (czasem poniżej granicy oznaczalności) poziom ochratoksyny A w nasionach bezpośrednio po zbiorze, jak i po przechowywaniu.

Wg danych literaturowych zawartość zarodników pleśni w zdrowym ziarnie zbóż i nasion roślin oleistych nie przekracza 10^4 jtk/g, natomiast w ziarnie silnie porażonym może znajdować się ich nawet 10^6 jtk/g. Nie bez znaczenia jest wilgotność nasion i temperatura przechowywania. W temp. 15 °C i przy wilgotności od 15 do 24 % rozwój grzybów pleśniowych i tworzenie toksyn trwa od 2 tygodni do kilku miesięcy [7]. Badane nasiona rzepaku nie miały oznak porażenia pleśniowego. Oznaczona liczba grzybów nie przekraczała 10^4 jtk/g, a wilgotność wynosiła poniżej 15 %, stąd można wnioskować, że ewentualna zawartość mikotoksyn nie przekraczała dopuszczalnego poziomu.

Stwierdzono wysoką dodatnią korelację liniową między zawartością zanieczyszczeń ogółem w nasionach rzepaku a ogólną liczbą drobnoustrojów (współczynnik korelacji $r = 0,875$ przy $p \leq 0,01$) i niższą korelację przy liczbie grzybów ($r = 0,389$ przy $p \leq 0,01$).

W celu określenia jakości uzyskanych olejów rzepakowych tłoczonych na zimno wykonano typowe dla olejów oznaczenia chemiczne (tab. 1). Wszystkie analizowane oleje wykazywały dobrą jakość i spełniały wymagania określone w Codex Alimentarius [2] – zarówno oleje świeże dekantowane i wirowane, jak i po 6 miesiącach przechowywania. Oleje charakteryzowały się średnim stopniem hydrolizy lipidów, przy czym był on niższy w olejach wirowanych niż dekantowanych. Liczba kwasowa (LK) w olejach dekantowanych wahała się od 0,52 do 4,71, natomiast w olejach wirowanych od 0,34 do 4,30 mg KOH/g, w jednym przypadku nieznacznie przekraczając wartość podaną w Codex Alimentarius (≤ 4 mg KOH/g) [2]. Pierwotny stopień utlenienia lipidów wyrażony liczbą nadtlenną (LOO) również był podwyższony szczególnie w przypadku nasion bardzo zanieczyszczonych i wahał się w olejach dekantowanych od 1,12 do 4,37 meq/kg, natomiast przy wirowanych od 0,94 do 4,33 meq/kg (przy normie $LOO \leq 15$).

Poziom wtórnych produktów utlenienia w analizowanych olejach był bardzo niski (LAN od 0,40 do 1,55 w olejach dekantowanych i 0,35 do 1,64 w olejach wirowanych). Niska LAN jest typowa dla świeżych olejów szczególnie tłoczonych na zimno, w odróżnieniu od zdecydowanie wyższej w olejach po przechowywaniu lub przetworzonych o zaawansowanym stopniu utlenienia. Podobne wartości LK, LOO i LAN w olejach tłoczonych na zimno publikowane są w literaturze [13, 31, 35]. W badanych olejach zarówno poziom pierwotnych (LOO), jak i wtórnych (LAN) produktów utlenienia był niski, dlatego również wyliczony wskaźnik Totox był mały i wahał się w olejach

dekantowanych od 3,0 do 9,3 i w wirowanych od 2,4 do 9,1. Analizowane oleje wykazywały bardzo zróżnicowaną, stosunkowo niską stabilność oksydacyjną. Czas indukcji w teście Rancimat wahał się w olejach dekantowanych od 3,55 do 4,69 h, a w wirowanych od 3,48 do 4,64 h. Otrzymane wartości były zbliżone do przedstawionych w literaturze dotyczącej olejów tłoczonych na zimno [13, 35].

Tabela 1

Wskaźniki jakości olejów dekantowanych i wirowanych.
Quality characteristics of decanted and centrifuged rapeseed oils.

Oleje Oils	LK / AV [mg KOH/g]		LOO / PV [meq/kg]		LAn / AnV		Totox / Totox		Czas indukcji Induction time [h]	
	\bar{x}	$\pm s /$ SD	\bar{x}	$\pm s /$ SD	\bar{x}	$\pm s /$ SD	\bar{x}	$\pm s /$ SD	\bar{x}	$\pm s /$ SD
Dekantowane po tłoczeniu / Decanted after pressing										
1d	2,71	$\pm 0,12$	3,23	$\pm 0,09$	0,64	$\pm 0,08$	7,10	$\pm 0,13$	3,55	$\pm 0,10$
2d	1,62	$\pm 0,02$	2,36	$\pm 0,32$	0,56	$\pm 0,10$	5,28	$\pm 0,58$	4,35	$\pm 0,10$
3d	2,58	$\pm 0,24$	2,58	$\pm 0,38$	0,40	$\pm 0,17$	5,56	$\pm 0,93$	3,82	$\pm 0,20$
4d	2,01	$\pm 0,18$	2,57	$\pm 0,13$	0,61	$\pm 0,08$	5,75	$\pm 0,21$	4,09	$\pm 0,14$
5d	0,78	$\pm 0,09$	4,37	$\pm 0,03$	0,56	$\pm 0,09$	9,31	$\pm 0,11$	3,90	$\pm 0,04$
6d	1,25	$\pm 0,04$	3,54	$\pm 0,09$	0,61	$\pm 0,12$	7,69	$\pm 0,27$	3,56	$\pm 0,10$
7d	4,71	$\pm 0,05$	3,59	$\pm 0,40$	1,55	$\pm 0,28$	8,74	$\pm 1,01$	3,77	$\pm 0,08$
8d	0,52	$\pm 0,03$	1,12	$\pm 0,07$	0,77	$\pm 0,14$	3,01	$\pm 0,12$	4,66	$\pm 0,08$
9d	1,39	$\pm 0,04$	2,50	$\pm 0,23$	0,54	$\pm 0,31$	5,54	$\pm 0,75$	4,69	$\pm 0,13$
10d	1,96	$\pm 0,06$	2,70	$\pm 0,04$	0,69	$\pm 0,16$	6,08	$\pm 0,09$	3,91	$\pm 0,13$
11d	1,10	$\pm 0,08$	2,23	$\pm 0,26$	0,52	$\pm 0,17$	4,98	$\pm 0,68$	4,21	$\pm 0,17$
Min	0,52		1,12		0,40		3,01		3,55	
Max	4,71		4,37		1,55		9,31		4,69	
\bar{x} dek	1,88		2,80		0,68		6,28		4,04	
Wirowane po tłoczeniu / Centrifuged after pressing										
1w	2,53	$\pm 0,05$	2,92	$\pm 0,26$	0,64	$\pm 0,08$	6,49	$\pm 0,53$	3,63	$\pm 0,09$
2w	1,28	$\pm 0,15$	2,06	$\pm 0,28$	0,53	$\pm 0,13$	4,65	$\pm 0,65$	4,40	$\pm 0,06$
3w	2,22	$\pm 0,06$	1,74	$\pm 0,65$	0,57	$\pm 0,09$	4,05	$\pm 1,35$	3,63	$\pm 0,22$
4w	1,40	$\pm 0,13$	2,31	$\pm 0,30$	0,56	$\pm 0,12$	5,17	$\pm 0,53$	3,95	$\pm 0,05$
5w	0,73	$\pm 0,07$	4,33	$\pm 0,36$	0,46	$\pm 0,05$	9,13	$\pm 0,75$	3,86	$\pm 0,11$
6w	1,20	$\pm 0,02$	3,61	$\pm 0,16$	0,58	$\pm 0,11$	7,80	$\pm 0,42$	3,48	$\pm 0,06$
7w	4,30	$\pm 0,35$	3,21	$\pm 0,16$	1,64	$\pm 0,11$	8,05	$\pm 0,31$	3,74	$\pm 0,06$
8w	0,34	$\pm 0,12$	0,94	$\pm 0,06$	0,54	$\pm 0,08$	2,42	$\pm 0,16$	4,64	$\pm 0,07$
9w	1,31	$\pm 0,11$	2,45	$\pm 0,27$	0,35	$\pm 0,07$	5,25	$\pm 0,57$	4,61	$\pm 0,11$
10w	1,28	$\pm 0,13$	2,19	$\pm 0,26$	0,68	$\pm 0,16$	5,05	$\pm 0,54$	4,04	$\pm 0,06$
11w	0,89	$\pm 0,14$	2,10	$\pm 0,24$	0,54	$\pm 0,12$	4,74	$\pm 0,45$	4,03	$\pm 0,10$
Min	0,34		0,94		0,35		2,42		3,48	
Max	4,30		4,33		1,64		9,13		4,64	
\bar{x} w	1,59		2,53		0,64		5,71		4,00	

c.d. tab. 1

Dekantowane po przechowywaniu przez 6 miesięcy w temp. 4 °C/ Decanted after 6 month storage at 4 °C										
1d	3,14	± 0,13	3,57	± 0,27	0,70	± 0,09	7,84	± 0,50	3,51	± 0,06
2d	1,57	± 0,46	3,64	± 0,13	0,69	± 0,08	7,96	± 0,23	3,92	± 0,06
3d	3,91	± 0,30	3,35	± 0,16	0,72	± 0,13	7,42	± 0,27	3,64	± 0,06
4d	3,05	± 0,07	3,55	± 0,12	0,72	± 0,14	7,81	± 0,21	3,85	± 0,06
5d	1,06	± 0,15	6,06	± 0,16	0,59	± 0,13	12,71	± 0,45	3,79	± 0,06
6d	1,61	± 0,13	5,25	± 0,25	0,82	± 0,28	11,33	± 0,24	3,52	± 0,11
7d	5,02	± 0,25	4,32	± 0,22	1,88	± 0,08	10,51	± 0,46	3,62	± 0,08
8d	0,78	± 0,13	1,79	± 0,09	0,67	± 0,08	4,25	± 0,16	4,54	± 0,13
9d	1,78	± 0,09	3,02	± 0,10	0,85	± 0,09	6,89	± 0,25	4,49	± 0,12
10d	1,73	± 0,13	3,57	± 0,19	1,00	± 0,10	8,14	± 0,44	3,98	± 0,06
11d	1,28	± 0,11	2,55	± 0,16	0,94	± 0,17	6,04	± 0,44	3,69	± 0,05
Min	0,78		1,79		0,59		4,25		3,51	
Max	5,02		6,06		1,88		12,71		4,54	
\bar{x}	2,26		3,70		0,87		8,26		3,87	
Wirowane po przechowywaniu przez 6 miesięcy w temp. 4 °C/ Centrifuged after 6 month storage at 4 °C										
1w	2,65	± 0,11	4,28	± 0,38	0,71	± 0,08	9,26	± 0,70	3,52	± 0,06
2w	1,03	± 0,14	4,58	± 0,14	0,90	± 0,10	10,06	± 0,25	3,90	± 0,07
3w	2,27	± 0,08	4,80	± 0,15	0,78	± 0,45	10,39	± 0,61	3,96	± 0,13
4w	1,45	± 0,11	5,24	± 0,59	0,82	± 0,14	11,30	± 1,07	3,84	± 0,12
5w	0,90	± 0,06	5,34	± 0,18	0,66	± 0,12	11,34	± 0,29	3,85	± 0,12
6w	1,54	± 0,12	4,98	± 0,28	0,59	± 0,08	10,56	± 0,59	3,58	± 0,05
7w	4,00	± 0,12	4,18	± 0,08	1,79	± 0,20	10,14	± 0,26	3,64	± 0,11
8w	0,78	± 0,12	1,79	± 0,09	0,77	± 0,14	4,36	± 0,23	4,59	± 0,05
9w	1,33	± 0,13	2,32	± 0,26	0,47	± 0,07	5,12	± 0,51	4,48	± 0,11
10w	1,30	± 0,07	6,01	± 0,50	0,74	± 0,19	12,75	± 0,82	3,62	± 0,09
11w	0,95	± 0,12	3,62	± 0,14	0,83	± 0,13	8,07	± 0,19	3,66	± 0,08
Min	0,78		1,79		0,47		4,36		3,52	
Max	4,00		6,01		1,79		12,75		4,59	
\bar{X}	1,65		4,29		0,82		9,39		3,88	

Objaśnienia: / Explanatory notes:

 \bar{x} - wartość średnia / mean value; s / SD - odchylenie standardowe / standard deviation (n = 2 × 2).

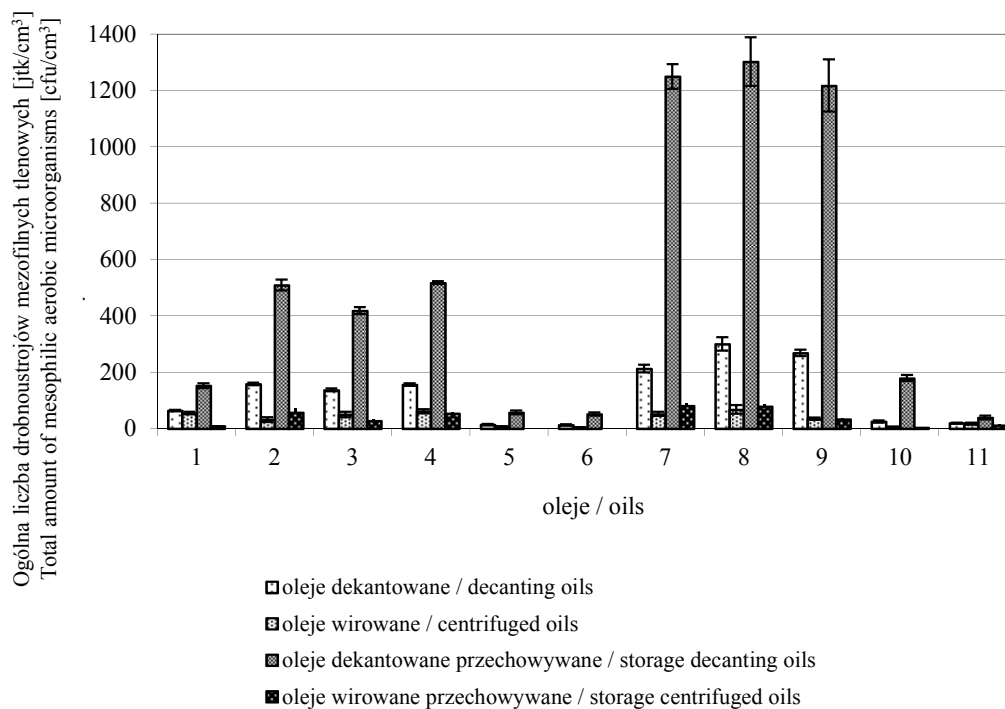
Stwierdzono wysoką dodatnią korelację liniową między zawartością zanieczyszczeń ogółem w nasionach rzepaku a podstawowymi parametrami jakości uzyskanych z nich olejów (LK r = 0,780, LOO r = 0,649 (przy p ≤ 0,01), z wyjątkiem stabilności oksydacyjnej.

Wymagania odnoszące się do jakości olejów tłoczonych na zimno nie obejmują czystości mikrobiologicznej. Brakuje odpowiednich norm i metod badań tego typu produktów, a istniejące w literaturze doniesienia nie są wystarczające. Dlatego podjęto próbę oceny jakości mikrobiologicznej olejów rzepakowych tłoczonych na zimno.

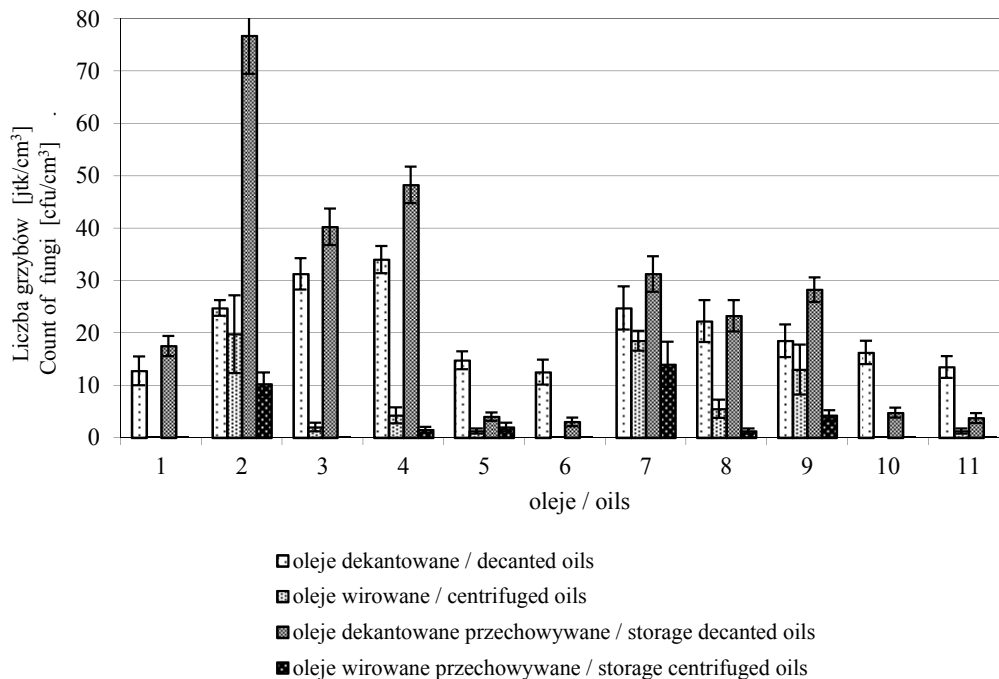
W chwili rozpoczęcia badań w olejach dekantowanych ogólna liczba drobnoustrojów była niewielka i wynosiła od $1,35 \times 10^1$ jtk/cm³ do $3,01 \times 10^2$ jtk/cm³. Po 6 mie-

siącach przechowywania zaobserwowano wzrost ogólnej liczby drobnoustrojów we wszystkich badanych próbkach oleju (rys. 4). Najwyższą wartość ogólnej liczby drobnoustrojów po przechowywaniu zaobserwowano w oleju nr 8 ($1,30 \times 10^3$ jtk/cm³) oraz nr 7 i 9, (odpowiednio $1,25 \times 10^3$ i $1,22 \times 10^3$ jtk/cm³), które otrzymano z nasion o wysokim stopniu zanieczyszczenia. W przypadku olejów wirowanych początkowa wartość ogólnej liczby drobnoustrojów wynosiła od $3,0 \times 10^0$ do $6,8 \times 10^1$ jtk/cm³. Podczas 6 miesięcy przechowywania nie zaobserwowano dużych zmian tej liczby.

Pod względem liczby grzybów obecnych w badanych olejach stwierdzono, że również uległa istotnym zmianom podczas przechowywania (rys. 5). Początkowa liczba grzybów w olejach dekantowanych wynosiła od $1,25 \times 10^1$ do $3,4 \times 10^1$ jtk/cm³. Po 6 miesiącach przechowywania zaobserwowano nawet trzykrotny wzrost tej liczby (olej nr 2). Niewielki wzrost wystąpił w olejach 1, 3, 4, 7 i 9. W czterech olejach (5, 6, 10 i 11) liczba grzybów po przechowywaniu była niższa niż w momencie rozpoczęcia badań. W olejach po wirowaniu liczba grzybów była na istotnie niższym poziomie (rys. 5). W świeżych olejach wynosiła od 0 do $2,0 \times 10^1$ jtk/cm³, natomiast po przechowywaniu nie uległa istotnym zmianom (od 0 do $1,4 \times 10^1$ jtk/cm³).



Rys. 4. Ogólna liczba drobnoustrojów mezofilnych tlenowych w analizowanych olejach [jtk/cm³].
Fig. 4. Total amount of mesophilic aerobic microorganisms in oils analyzed [cfu/cm³].



Rys. 5. Liczba grzybów w analizowanych olejach [jtk/cm³].

Fig. 5. Count of fungi in oils analyzed [cfu/cm³].

Wartości początkowe ogólnej liczby drobnoustrojów oraz liczby grzybów nie były wysokie, zarówno w olejach wirowanych, jak i poddanych dekantacji. Wzrost oznaczanych liczb po 6 miesiącach przechowywania może świadczyć o tym, że w środowisku oleju teoretycznie niesprzyjającym rozwojowi mikroorganizmów pewne grupy drobnoustrojów mogły znaleźć warunki do rozwoju. Wzrost ogólnej liczby drobnoustrojów i niewielki wzrost liczby grzybów mogły być związane z obecnością przetrwalnikujących bakterii tlenowych, wykazujących właściwości lipolityczne, dla których środowisko o wysokiej zawartości tłuszczu nie stanowiło przeszkody w rozwoju.

Przeprowadzono także identyfikację pleśni. Zdecydowanie największą grupę stanowiły szczepy z rodzaju *Penicillium* sp. obecne we wszystkich olejach. Z próbek olejów wirowanych i dekantowanych wyizolowano również szczepy pleśni należące do rodzaju *Cladosporium* sp., *Alternaria* sp., *Rhizopus* sp., *Fusarium* sp. i *Aspergillus* sp.

Na zróżnicowaną jakość mikrobiologiczną badanych olejów miał wpływ stopień zanieczyszczenia surowca, higiena otrzymywania olejów i metoda oczyszczania. Nie bez znaczenia był stan mikrobiologiczny nasion rzepaku, z którego otrzymano oleje.

W olejach zanieczyszczenie było od 10 do 1000 razy mniejsze niż w nasionach. Nie wielkie skażenie olejów można tłumaczyć warunkami niesprzyjającymi rozwojowi drobnoustrojów w tych produktach.

Podobne wyniki uzyskali także inni autorzy. Według Łaniewskiej-Moroz i wsp. [12] wytłoczone z nasion rzepaku oleje wykazywały od 10 do 100 razy mniejsze zanieczyszczenie drobnoustrojami, czyli ogólna liczba drobnoustrojów wynosiła $1,5 \times 10^3$ jtk/g, grzybów $2,4 \times 10^2$ jtk/g, przetrwalników *Bacillus* $3,0 \times 10^2$ jtk/g, *Enterobacteriaceae* 1×10^2 jtk/g. Podobny poziom zanieczyszczenia mikrobiologicznego olejów stwierdzili Wroniak i wsp. [36]: w olejach rynkowych tłoczonych na zimno i oliwie *extra virgin* oznaczyli drobnoustroje na poziomie $10^2 - 10^3$ jtk/cm³. Nie wykryli obecności pleśni, bakterii beztlenowych i lipolitycznych. Wyższe zanieczyszczenie w próbkach oleju palmowego oznaczyli Okechal i wsp. [17] ($1,61 \times 10^4$ do $9,4 \times 10^4$ jtk/cm³). Wykryli oni szczepy z rodzaju *Enterobacter* sp., *Bacillus* sp., *Proteus* sp., *Micrococcus* sp., *Candida* sp., *Mucor* sp., i *Penicillium* sp. oraz gatunków: *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus*. Niektóre powodują psucie żywności, a ze względu na właściwości lipolityczne mogą pogarszać jakość oleju w czasie przechowywania.

Wyniki wieloczynnikowej analizy wariancji, której poddano średnie wartości wskaźników olejów przedstawiono w tab. 2. Wykazano, że takie czynniki, jak: rodzaj nasion rzepaku, metoda oczyszczania oleju i przechowywanie statycznie istotnie wpływały na oceniane parametry jakości olejów rzepakowych tłoczonych na zimno. Wyjątkiem było tylko przechowywanie olejów, które nie wpłynęło istotnie na zmiany liczby anizydynowej i stabilności oksydacyjnej olejów (przy $p < 0,05$).

Podsumowując można stwierdzić, że czystość nasion rzepaku decydowała o jakości uzyskiwanych olejów tłoczonych na zimno. Sposób oczyszczania olejów wpływał na wskaźniki chemiczne i jakość mikrobiologiczną po przechowywaniu. Odwirowanie osadu dawało lepszy efekt oczyszczenia oleju z zanieczyszczeń stałych i mikrobiologicznych niż długotrwała naturalna sedymentacja w ciągu 96 h i dekantacja. Zanieczyszczenie mikrobiologiczne nasion i olejów było na niskim poziomie i nie odbiegało od wyników publikowanych w literaturze. Jednak stwierdzona obecność pleśni potencjalnie toksynotwórczych wydaje się niepokojąca, ponieważ w czasie niewłaściwego przechowywania nasion rzepaku istnieje możliwość dalszego rozwoju pleśni i wytwarzania mikotoksyn, niepożądanych ze względu na bezpieczeństwo zdrowotne oleju tłoczonego na zimno.

Tabela 2

Zestawienie wyników wieloczynnikowej analizy wariancji dotyczącej wpływu rodzaju nasion, sposobu oczyszczania i przechowywania na jakość oleju.

Summary of the results of multifactor analysis of variance on the effect of seed type, method of treatment and storage on oil quality.

Źródło zmienności Source of variation	Stopnie swobody Degree of freedom	Wartość p / p value						
		LK AV	LOO PV	LA AV	Totox Totox	Czas indukcji Induction time	Ogólna liczba drobnoustrojów Total count of microorganisms	Liczba grzybów (drożdży i pleśni) Count of fungi (yeast and molds)
A: nasiona / seeds	10	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,0000*
B: metoda oczyszczania purification method	1	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,0085*
C: przechowywanie storage	1	0,0000*	0,0001*	0,0899	0,0007	0,2640	0,0000*	0,0000*
interakcje / interactions								
A x B	10	0,0000*	0,0000*	0,1740	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,0000*
A x C	10	0,0000*	0,0000*	0,0218*	0,0000*	0,2234	0,0000*	0,0000*
B x C	1	0,0000*	0,0000*	0,7978	0,0000*	0,0645	0,0000*	0,0000*
A x B x C	10	0,0000*	0,0000*	0,0653	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,0000*

Objaśnienia: / Explanatory notes: * różnice statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) / statistically significant differences ($p \leq 0.05$).

Wnioski

1. Nasiona rzepaku charakteryzowały się zróżnicowaną jakością pod względem zawartości tłuszczu, wody i zanieczyszczeń użytecznych i nieużytecznych. Ogólna liczba drobnoustrojów wynosiła od 10^3 do 10^4 jtk/g. Stwierdzono dodatnią korelację liniową pomiędzy zawartością zanieczyszczeń a jakością mikrobiologiczną nasion.
2. Oleje rzepakowe tłoczone na zimno charakteryzowały się dobrymi wartościami wskaźników chemicznych, tj. średnim stopniem hydrolizy i utlenienia lipidów, ale jakością uzależnioną od zanieczyszczenia nasion.

3. Oleje wirowane charakteryzowały się wyższą jakością niż oleje dekantowane. Metoda oczyszczania wpływała na jakość chemiczną i mikrobiologiczną olejów w czasie przechowywania. Wykazano, że zanieczyszczenie mikrobiologiczne olejów tłoczonych na zimno było bardzo niskie (na poziomie od 10^1 do 10^2 jtk/cm³), tj. od 10 do 1000 razy niższe niż nasion rzepaku.
4. Przechowywanie przez 6 miesięcy olejów oczyszczanych przez dekantowanie powodowało większe obniżenie jakości niż olejów wirowanych. Wzrósł stopień hydrolizy i utlenienia lipidów oraz nastąpił przyrost ogólnej liczby drobnoustrojów.

Badania w ramach projektu finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki - N N312 256740.

Literatura

- [1] Ciecierska M., Obiedziński M.W.: Zanieczyszczenie olejów roślinnych wielopierścieniowymi węglowodorami aromatycznymi. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **2** (47) supl., 48-55.
- [2] CODEX STAN 210-1999. Codex standard for named vegetable oil. Codex Alimentarius. Amendment 2005, 2011
- [3] Dubois V., Breton S., Linder M., Fanni J., Parmentier M.: Fatty acid profiles of 80 vegetable oils with regard to their nutritional potential. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2007, **109**, 710-732.
- [4] FAOSTAT, [online] [dostęp 25.12.2012]. Dostępna w Internecie: <http://faostat.fao.org/site/636/DesktopDefault.aspx?PageID=636#ancor>;
<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>.
- [5] Fassatióvá O.: Grzyby mikroskopowe w mikrobiologii technicznej. WNT, Warszawa 1983.
- [6] Gwiazdowski R., Wickiel G.: Występowanie mikotoksyn alternaryjnych w nasionach rzepaku w zależności od odmian. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin*, 2009, **49** (2), 934-937.
- [7] Goroszkiewicz-Janka J., Jajor E., Korbas M.: Wpływ grzybów toksynotwórczych na wybrane cechy jakościowe plonu zbóż i rzepaku. *Progress in Plant Protection/ Postępy w Ochronie Roślin*. 2008, **48** (3), 1039 – 1047.
- [8] Kachel-Jakubowska M.: Ocena jakości nasion rzepaku ozimego pod względem stopnia zanieczyszczeń. *Inżynieria Rolnicza*, 2008, **100** (2), 75-81.
- [9] Karlovits G., Kozakiewicz E., Jankowska S, Teresinski P.: From farm to fork - screening of the mycotoxin contamination in vegetable oil factory Kruszwica (Poland). In: *Advances in research and technology of rapeseed oil. Monograph part 3*, Toruń 2011, pp. 123-139.
- [10] Korbas M., Jajor E., Danielewicz J., Wickiel G.: Fungi of oilseed rape seeds – occurrence and importance. In: *Advances in research and technology of rapeseed oil*. Ed. E. Szlyk, Monograph part 3, Wyd. Nauk. Uniw. M. Kopernika, Toruń 2011, pp. 141-154.
- [11] Krzymański J. (red): *Olej rzepakowy – nowy surowiec, nowa prawda*. Polskie Stowarzyszenie Producentów Oleju, Warszawa 2009, p. 120.
- [12] Łaniewska-Moroz Ł., Warmińska-Radyko I., Nowak-Polakowska H., Zadernowski R.: Mikroflora oleju rzepakowego tłoczonego na zimno. *Rośliny Oleiste*, 1995, **16**, 2, 267-273.
- [13] Matthäus B., Brühl L.: Quality of cold-pressed edible rapeseed oil in Germany. *Nahrung/Food*, 2003, **6** (47), 413-419.

- [14] Matthäus B., Brühl L.: Why is it so difficult to produce high-quality virgin rapeseed oil for human consumption?, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2008, **110**, 611-617.
- [15] Matthäus B.: Oil Technology. In: *Technological Innovations in Major World Oil Crops*. Ed. S.K. Gupta, Springer Science + Business Media, Volume 2: Perspectives, 2012, pp. 23-92.
- [16] Niewiadomski H.: *Technologia nasion rzepaku*. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 1983, ss. 153-285.
- [17] Okechalu J.N., Dashen M.M., Lar P.M., Okechalu B., Gushop T.: Microbiological quality and chemical characteristics of palm oil sold within Jos Metropolis, Plateau State. Nigeria *J. Microbiol. Biotech. Res.*, 2011, **1 (2)**, 107-112.
- [18] Pitt J.I., Hocking A.D.: *Fungi and Food Spoilage*. Springer Science + Business Media, Third Edition, 2009.
- [19] PN-EN ISO 4833:2004. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów. Metoda płytkowa w temperaturze 30 °C.
- [20] PN-EN ISO 659:1999. Nasiona oleiste. Oznaczanie zawartości oleju (Metoda odwoławcza).
- [21] PN-EN ISO 665:2004. Nasiona oleiste. Oznaczanie wilgotności i zawartości substancji lotnych.
- [22] PN-EN ISO 6885:2001. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby anizydynowej.
- [23] PN-ISO 3960:1996. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczenie liczby nadtlenkowej.
- [24] PN-ISO 660:1998. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczenie liczby kwasowej i kwasowości.
- [25] PN-ISO 6886:1997. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczenie stabilności oksydacyjnej. Test przyspieszonego utleniania.
- [26] PN-R-66160:1991. Rośliny przemysłowe oleiste. Oznaczanie zanieczyszczeń i szkodników w ziarnie rzepaku i rzepiku.
- [27] Skiba K., Szwed G., Tys J.: Zmiany cech jakościowych zanieczyszczonych nasion rzepaku podczas procesu przechowywania. *Acta Agrophysica*, 2005, **6 (3)**, 785-795.
- [28] Stępniewski A., Szot B., Sosnowski S.: Uszkodzenia nasion rzepaku w pozbiorowym procesie obróbki *Acta Agrophysica*, 2003, **2 (1)**, 195-203.
- [29] Szot B., Tys J.: Straty ilościowe i jakościowe nasion rzepaku powodowane terminem zbioru. *Acta Agrophysica*, 2003, **2 (1)** 205-211.
- [30] Tańska M., Rotkiewicz D.: Wpływ różnych czynników na jakość nasion rzepaku. *Rośliny Oleiste*, 2003, **34**, 595-616.
- [31] Tynek M., Pawłowicz R., Gromadzka J., Tylingo R. Wardecki W., Karlovits G.: Virgin rapeseed oils obtained from different rape varieties by cold pressed method – their characteristics, properties and differences. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2012, **114**, 357-366.
- [32] Tys J., Szwed G., Strobel W.: Wartość technologiczna nasion rzepaku uzależniona od technologii zbioru i warunków przechowywania. *Rośliny Oleiste*, 2000, **21**, 135-143.
- [33] Tys J., Szwed G., Strobel W.: Wpływ zanieczyszczeń na cechy jakościowe przechowywanych nasion rzepaku. *Rośliny Oleiste*, 1999, **20**, 487- 493.
- [34] Wickiel G., Gwiazdowski R., Marcinkowska K.: Ryzyko skażenia nasion rzepaku ozimego ochrotoksyną A w zależności od warunków ich przechowywania *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin*, 2012, **52 (3)**, 757-759.
- [35] Wroniak M., Krygier K., Kaczmarczyk M.: Comparison of the quality of cold pressed and virgin rapeseed oils with industrially obtained oils. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2008, **58**, 85-89.
- [36] Wroniak M., Lipińska E., Błażej S.: Próby oceny jakości mikrobiologicznej rynkowych olejów tłoczonych na zimno. *Bromatol. Chemia Toksykol.*, 2012, **45**, 874-880.

IMPACT OF PURITY OF RAPESEED AND OIL PURIFICATION METHOD ON SELECTED PROPERTIES OF COLD-PRESSED OILS

Summary

The objective of the research study was to assess the impact of purity of rapeseed and oil purification method on chemical characteristics and microbiological quality of cold pressed oils. The research scope comprised: analysis of basic quality characteristics of 11 industrial batches of "00" rapeseed varieties, pressing in an expeller, oil purification using a natural settling and decanting or centrifuging methods, and quality analysis of fresh pressed and stored oils. In the seed samples studied, contents of water, fat, and contaminations were determined, and in the oil samples: degree of hydrolysis, primary and secondary degree of lipid oxidation, Totox ratio, and oxidative stability in a Rancimat test. The total number of microorganisms and the amount of fungi were determined in the seeds and oils. In addition, isolated types of mold were identified.

The individual batches of rapeseed were characterized by a varying quality as regards their contents of fat, water, and useful and useless contaminations. The microbial contamination of seeds was at a level of $10^3 - 10^4$ cfu/g. A positive linear correlation was found between the content of contaminants and the microbiological quality of seeds. The cold-pressed rapeseed oils were characterized by a medium degree of hydrolysis and oxidation of lipids. The quality of oils depended on the seed contamination. The quality of the centrifuged oils was higher than that of the decanted oils. The treatment method affected the chemical and microbiological quality of the oils during storage. A 6 month storage of oils purified by decantation caused a higher reduction in their quality compared to the centrifuged oils. The degree of hydrolysis and oxidation of lipids increased and the total count of microorganisms increased. However, the microbiological contamination of cold-pressed oils was very low (at a level of 10^1 to 10^2 cfu/cm³), i.e. from 10 to 1000 times lower than the contamination of rapeseed. Spore-forming bacteria, yeast, and mold were found on the seeds and in the oils studied. Among the fungi, a prevailing microflora were molds of the genus *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Rhizopus*, *Aspergillus*, and *Cladosporium*.

Key words: rapeseeds, cold pressed oil, rapeseed oil, chemical characteristics, microbiological quality ☒

HANNA M. BARANOWSKA, RYSZARD REZLER

DYNAMIKA MOLEKULARNA WODY W EMULSJACH TYPU TŁUSZCZ W WODZIE, EMULGOWANYCH SKROBIĄ ZIEMNIACZANĄ

Streszczenie

Na poziomie molekularnym analizowano wpływ skrobi ziemniaczanej na proces emulgowania tłuszczu wieprzowego. Materiał badawczy stanowiły emulsje typu tłuszcz w wodzie. Badania prowadzono na próbach zawierających 3 części wody i 1 część tłuszczu. Skrobię dodawano w proporcjach 1 : 1; 0,8 : 1; 0,5 : 1 i 0,4 : 1 w stosunku do zawartości tłuszczu. Analizowano zmiany dynamiki molekularnej wody w tych emulsjach w ciągu 8 h od chwili uzyskania przez układ temperatury pomiaru. Badania prowadzono techniką NMR w niskich polach. Przeprowadzone badania wykazały, że emulsje charakteryzują się dwoma składowymi czasami relaksacji: T_1 i T_2 . Oznacza to, że w układzie są obecne dwie frakcje protonów relaksujące z różnymi szybkościami oraz że pomiędzy tymi frakcjami protonów wymiana chemiczna jest dużo wolniejsza niż czas relaksacji. Długie składowe (T_{12} i T_{22}) odzwierciedlają procesy relaksacyjne frakcji protonów związanych głównie z żelem biopolimerowym. Wartości T_{12} i T_{22} wzrastają ze zmniejszaniem zawartości skrobi w układzie, tak jak w żelach bez tłuszczu. Oznacza to, że ta frakcja zawiera dużo tłuszczu. Dodatkowo stwierdzono zdecydowane różnice w dynamice molekularnej wody w układach o małej i dużej zawartości skrobi. Jest to związane z etapami tworzenia struktur lamelarnych tłuszczu oraz z retrogradacją skrobi. Obserwacja czasowych zależności parametrów relaksacyjnych wykazała, że największe zmiany w wiązaniu wody występują w czasie od około 2 do 5 h od chwili przygotowania żelu.

Słowa kluczowe: czasy relaksacji, dynamika molekularna, emulsja, niskopolowy NMR, skrobia ziemniaczana

Wprowadzenie

Skrobia natywna jest biopolimerem często wykorzystywanym do produkcji przetworów mięsnych i dobrym zamiennikiem części tłuszczu w artykułach o obniżonej kaloryczności [5, 8]. Prowadzono wcześniej badania nad wpływem dodatku tłuszczu wieprzowego na właściwości żeli skrobi ziemniaczanej [2]. Na ich podstawie wykaza-

no, że obecność tłuszczu wieprzowego zmienia właściwości mechaniczne i wiązanie wody w takich układach [15].

Magnetyczny rezonans jądrowy w niskich polach jest metodą badania wielu układów biologicznych, w tym składników żywności [13, 14]. Znajduje też zastosowanie w analizie dynamiki molekularnej modelowych układów żeli biopolimerowych [6, 11].

Podjęto badania mające na celu śledzenie zmian dynamiki molekularnej protonów w układach emulsji tłuszczowo-wodnych i analizę wpływu obecności skrobi ziemniaczanej na stabilność takich układów.

Material i metody badań

Materiałem do badań były emulsje typu tłuszcz w wodzie uzyskiwane przez emulgowanie skrobią ziemniaczaną (Trzemeszno Sp. z.o.o). Zastosowano tłuszcz wieprzowy (Morliny, Polska) o znanym składzie kwasów tłuszczowych. Około 47 % zawartości stanowiły łącznie kwas stearynowy i palmitynowy, a 42 % - kwas oleinowy. Badania prowadzono na próbach zawierających 3 części wody (w) i 1 część tłuszczu (f) (m/m). Skrobię (s) do emulsji dodawano w proporcjach: 3 : 1 : 1; 3 : 1 : 0,8; 3 : 1 : 0,5 i 3 : 1 : 0,4. Układ kontrolny stanowił żel skrobiowy przygotowany w proporcjach (w : s m/m): 3 : 1; 3 : 0,8; 3 : 0,5 i 3 : 0,4. Emulsje oraz zawiesiny skrobiowe poddawano obróbce termicznej w stałej temp. 90 °C, w łaźni wodnej przez 1 h w warunkach stałego mieszania za pomocą mieszadła mechanicznego. Wybór wysokiej temperatury przygotowania żeli i emulsji gwarantował, że skrobia ulegnie całkowitemu skleikowaniu, mimo dużego stężenia i dodatku tłuszczu. Tak przygotowane próby umieszczano w próbkach pomiarowych. Przygotowane próbki emulsji lub żeli umieszczano w głowicy pomiarowej spektrometru i tam chłodzono do temperatury pomiarowej.

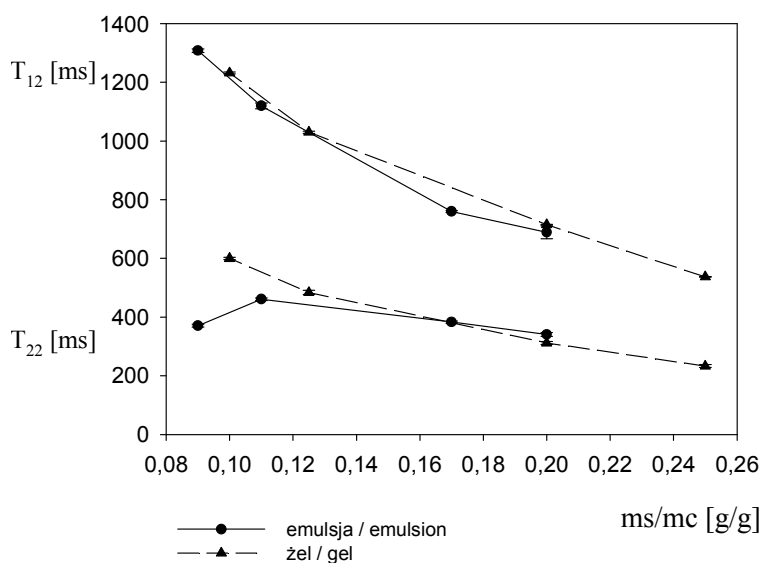
Pomiary czasów relaksacji spin-sieć T_1 i spin-spin T_2 prowadzono przy użyciu impulsowego spektrometru NMR (Ellab, Poznań, Polska) pracującego przy częstotliwości 15 MHz, wyposażonego w integralny układ kontroli temperatury. Do pomiarów T_1 wykorzystano sekwencję odwrócenia i odrostu ($\pi-\tau-\pi/2$) [9]. Odległości między impulsami (τ) zmieniano od 2 do 2000 ms w przypadku prób o największej zawartości skrobi i od 10 do 6800 ms – prób o najmniejszej zawartości skrobi. Każdorazowo generowano 32 sekwencje impulsów i zbierano 119 punktów na każdym sygnale zaniku swobodnej precesji rejestrowanym po impulsie $\pi/2$. Czas repetycji pomiędzy kolejnymi sekwencjami impulsów wynosił 15 s. Czasy relaksacji spin-sieć obliczano korzystając z programu CracSpin [19] umożliwiającego obliczenie wieloeksponencjalnego odrostu magnetyzacji. Pomiary T_2 wykonano stosując ciąg impulsów CPMG ($\pi/2-\tau-\pi$) [7, 12]. Odległość pomiędzy echemi spinowymi (2τ) w przypadku prób o największej i najmniejszej zawartości skrobi wynosiła odpowiednio 3 i 6 ms. Zastosowano 5 akumulacji sygnałów ciągu ech spinowych. Obliczeń czasów relaksacji dokonywano, dopasowując zarejestrowane zaniki amplitud ech spinowych do formuły

uwzględniającej wieloeksponencjalny zanik [4, 17]. Pomiary przeprowadzono w temp. $25,0 \pm 0,5$ °C. Wykonywano je przez 8 h od chwili uzyskania przez układ temperatury pomiarowej.

Wyniki i dyskusja

Żele skrobiowe charakteryzują się jednym czasem relaksacji spin-sieć T_1 i jednym czasem relaksacji spin-spin T_2 w całym analizowanym przedziale czasowym. Oznacza to szybką wymianę chemiczną pomiędzy molekułami wody hydratującej biopolimer a molekułami wody znajdującej się w przestrzeniach między siecią polimerową [3].

W emulsjach skrobiowo-wodno-tłuszczowych stwierdzono, że czasy relaksacji T_1 i T_2 opisane są dwoma składowymi. Taki wynik wskazuje, że w badanym układzie protony znajdują się we frakcjach, które relaksują z różnymi czasami, dłuższymi niż wartość odpowiedniej składowej czasu relaksacji [10, 16]. Na rys. 1. przedstawiono zależności długich składowych czasów relaksacji w emulsjach i czasów relaksacji w żelach zmierzone po uzyskaniu przez układ temperatury 25 °C.

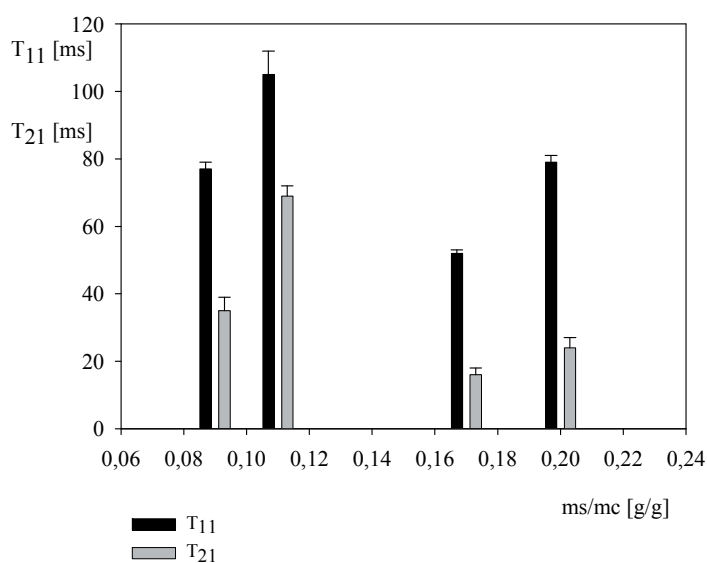


Rys. 1. Zmiany wartości długich składowych czasów relaksacji spin-sieć T_{12} i spin-spin T_{22} w emulsjach wodno-tłuszczowych z udziałem skrobi oraz zmiany wartości czasów relaksacji spin-sieć T_1 i spin-spin T_2 w żelach skrobiowych w zależności od zawartości skrobi w układzie.

Fig. 1 Changes in values of long-time components of relaxation times: T_{12} spin-lattice and T_{22} spin-spin in water-fat emulsions with starch, and changes in values of relaxation times: T_1 spin-lattice and T_2 spin-spin in starch gels depending on starch content in system.

Wartości T_{12} i T_{22} były zbliżone do otrzymanych w odpowiednich próbach kontrolnych. Podobny przebieg charakteryzował badane układy w całym analizowanym przedziale czasowym.

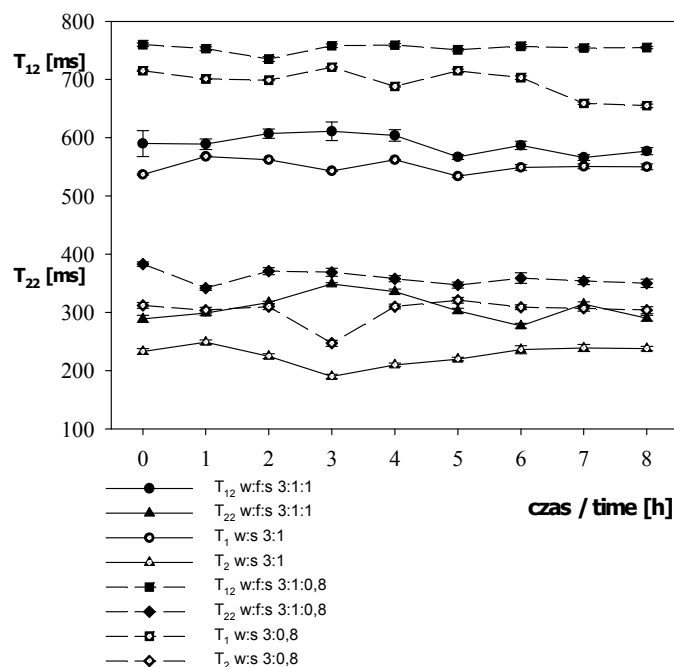
Krótkie składowe czasów relaksacji spin-sieć i spin-spin w emulsjach odzwierciedliły procesy relaksacji molekuł wody we frakcji tłuszczowej emulsji. Wartości tych parametrów wyznaczone po schłodzeniu emulsji do temp. 25 °C przedstawiono na rys. 2. W tej frakcji emulsji wartości składowych czasów relaksacji były około dziesięciokrotnie mniejsze niż wartości długich składowych.



Rys. 2. Zmiany wartości krótkich składowych czasów relaksacji spin-sieć T_{11} i spin-spin T_{21} w emulsjach wodno-tłuszczowych z udziałem skrobi w funkcji zawartości skrobi w układzie.

Fig. 2. Changes in values of short-time components of relaxation times: T_{11} spin-lattice and T_{21} spin-spin in water-fat emulsions with starch as function of starch content in system.

Metodę niskopolowego NMR zastosowano do analizy czasowych zmian parametrów relaksacyjnych w emulsjach. Badania prowadzono przez 8 h od chwili uzyskania przez układ temperatury pomiarów. Badane emulsje zmieniły swoje właściwości wraz ze zmianą zawartości skrobi (rys. 2). Interpretację czasowych zmian przeprowadzono osobno dla emulsji o dużej (3 : 1 : 1 i 3 : 1 : 0,8) i małej (3 : 1 : 0,5 i 3 : 1 : 0,4) zawartości skrobi w układzie. Na rys. 3. i 4. przedstawiono czasowe zmiany wartości długich składowych czasów relaksacji w emulsjach wodno-tłuszczowych z udziałem skrobi oraz zmiany czasów relaksacji żeli skrobiowych.

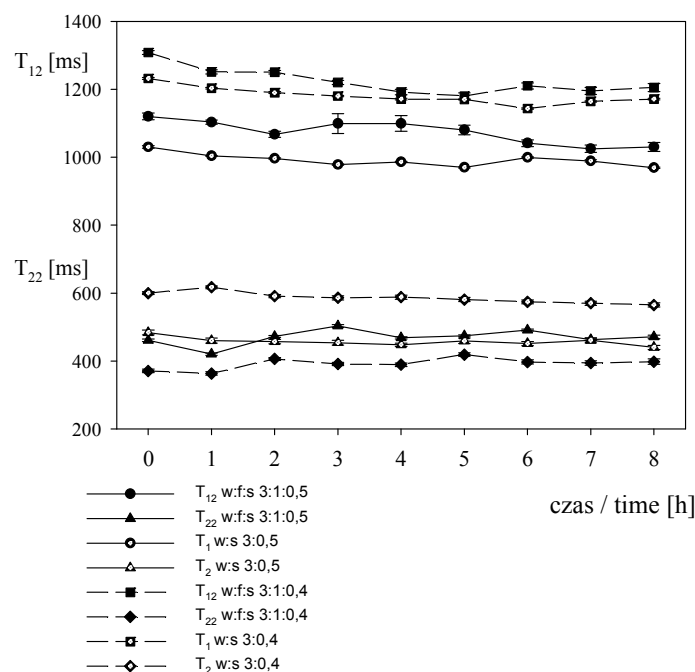


Rys. 3. Czasowe zmiany długich składowych czasów relaksacji spin-sieć T_{12} i spin-spin T_{22} w układach zawierających wodę, tłuszcz i skrobię (w : f : s) w proporcjach 3 : 1 : 1 i 3 : 1 : 0,8 oraz czasowe zmiany czasów relaksacji spin-sieć T_1 i spin-spin T_2 w żelach skrobiowych zawierających wodę i skrobię (w : s) w proporcjach 3 : 1 i 3 : 0,8.

Fig. 3. Time-related changes of long-time components of relaxation times: T_{12} spin-lattice and T_{22} spin-spin in systems containing water, fat, and starch (w:f:s) in proportions of 3 : 1 : 1 and 3 : 1 : 0.8, as well as time-related variations of T_1 spin-lattice and T_2 spin-spin in starch gels containing water (w : s) in proportions of 3 : 1 and 3 : 0.8.

Przy dużych zawartościach skrobi (rys. 3) czasy relaksacji były dłuższe w emulsjach w porównaniu z żelami skrobiowymi. Zmiany wartości czasów relaksacji odzwierciedlające zmiany wiązania wody w układzie obserwuje się w ciągu od 2 do 5 h od chwili uzyskania temperatury pomiaru. W obu układach po 3 h od przygotowania żelu skrobiowego obserwowano obniżenie wartości czasów relaksacji.

W emulsjach i żelach skrobiowych o małej zawartości skrobi (rys. 4) obserwowano zmiany wartości czasów relaksacji sugerujące zmiany ilości wody wolnej w stosunku do związanej. Zmiany te stwierdzono w ciągu od 2 do 5 h po osiągnięciu przez układ stanu równowagi termicznej. Przy małej zawartości skrobi zarówno żele, jak i emulsje charakteryzowały się obniżeniem wartości czasów w ciągu do 8 h od chwili uzyskania temp. 25 °C. Takiej wyraźnej zmiany nie znaleziono w układach o dużej zawartości skrobi.

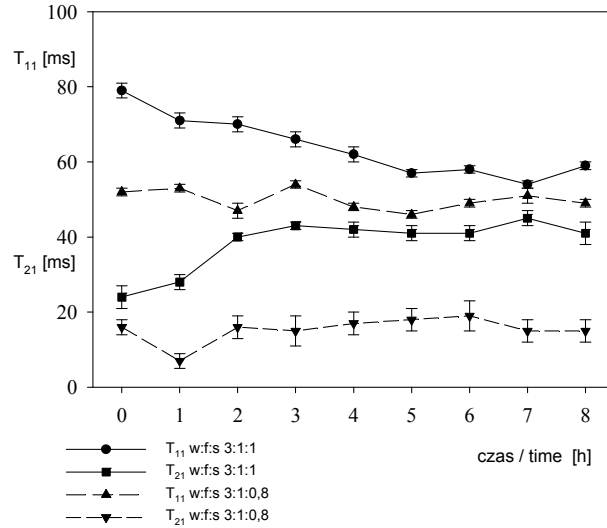


Rys. 4. Czasowe zmiany długich składowych czasów relaksacji spin-sieć T_{12} i spin-spin T_{22} w układach zawierających wodę, tłuszcz i skrobię (w : f : s) w proporcjach 3 : 1 : 0,5 i 3 : 1 : 0,4 oraz czasowe zmiany czasów relaksacji spin-sieć T_1 i spin-spin T_2 w żelach skrobiowych zawierających wodę i skrobię (w : s) w proporcjach 3 : 0,5 i 3 : 0,4.

Fig. 4. Time-related changes of long-time components of relaxation times: T_{12} spin-lattice and T_{22} spin-spin in systems containing water, fat, and starch (w : f : s) in proportions of 3 : 1 : 0.5 and 3 : 1 : 0.4 and time-related variations of relaxation times: T_1 spin-lattice and T_2 spin-spin in starch gels containing water (w : s) in proportions of 3 : 0.5, and 3 : 0.4.

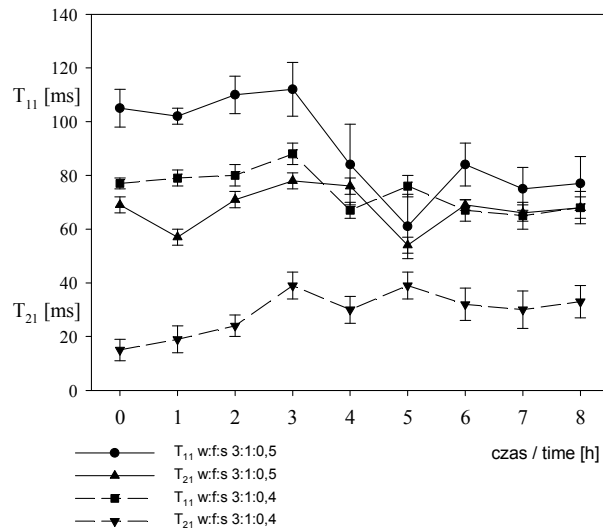
Czasowe zmiany krótkich składowych czasów relaksacji we frakcjach tłuszczowych badanych układów przedstawiono na rys. 5. i 6.

W emulsjach o największej zawartości skrobi obserwowano obniżanie wartości składowej czasów relaksacji spin-sieć przy jednoczesnym wzroście wartości składowej czasów relaksacji spin-spin. Oznacza to, że w czasie maleje ilość wody wolnej w stosunku do wody związanej. Jednak z czasem wzrasta mobilność molekuł wody. Przy zmniejszeniu zawartości skrobi w emulsji krótkie składowe czasów relaksacji wykazują zmiany wartości w ciągu do około 5 h od chwili uzyskania temperatury pomiarowej. Potem układ jest stabilny pod względem wiązania wody.



Rys. 5. Czasowe zmiany krótkich składowych czasów relaksacji spin-sieć T_{12} i spin-spin T_{22} w układach zawierających wodę, tłuszcz i skrobię (w : f : s) w proporcjach 3 : 1 : 1 i 3 : 1 : 0,8.

Fig. 5. Time-related changes in short-time components of relaxation times: T_{12} spin-lattice and T_{22} spin-spin in systems containing water, fat, and starch (w : f : s) in proportions of 3 : 1 : 1, and 3 : 1 : 0.8.



Rys. 6. Czasowe zmiany krótkich składowych czasów relaksacji spin-sieć T_{11} i spin-spin T_{21} w układach zawierających wodę, tłuszcz i skrobię (w : f : s) w proporcjach 3 : 1 : 0,5 i 3 : 1 : 0,4.

Fig. 6. Time-related changes in short-time components of relaxation times: T_{12} spin-lattice and T_{22} spin-spin in systems containing water, fat, and starch (w : f : s) in proportions of 3 : 1 : 0.5 and 3 : 1 : 0.4.

Obecne w emulsjach dwie frakcje protonów pod względem makroskopowym odpowiadały frakcji żelu skrobiowego oraz frakcji tłuszczowej. Długie składowe czasów relaksacji opisały relaksację w żelu skrobiowym, jednak przy małych zawartościach skrobi wartości T_{22} były zdecydowanie mniejsze niż w żelu (rys. 1). Należy zatem wnioskować, że w tej frakcji znajdowała się nieznaczna ilość tłuszczu, który modyfikował relaksację w układzie. Takie same wyniki uzyskano z badań relaksacyjnych żeli skrobiowo-tłuszczowych o małej zawartości tłuszczu i dużej zawartości skrobi [1]. Podczas ochładzania układu zestalenie tłuszczu powoduje tworzenie fazy lamelarnej, w której są zamknięte molekuly wody, tworząc uporządkowaną strukturę. Relaksacja spin-spin odbywa się w krótkim czasie, co oznacza uporządkowanie struktury wody między łańcuchami kwasów tłuszczowych. Przy dużych stężeniach skrobi w układzie ten efekt przestał znacząco wpływać na całkowity czas relaksacji, ponieważ zawartość tłuszczu była mała w porównaniu z zawartością skrobi. Relaksacja spin-sieć opisuje oddziaływanie spinów z otoczeniem. Zatem za czasy relaksacji T_{12} odpowiadały głównie protony wody zawartej w sieci biopolimerowej.

Znaczne skrócenie wartości krótkich składowych związanych z frakcją tłuszczową (rys. 2) oznacza, że parametry relaksacyjne określają dynamikę molekularną protonów w układzie zawierającym głównie tłuszcz emulgowany skrobią. W zależności od udziału skrobi w emulsji rozróżnić można dwa obszary zmienności. W układach o niskim stężeniu skrobi obserwowano większe wartości krótkich składowych czasów relaksacji niż w tych o mniejszej zawartości biopolimeru. Obniżenie wartości T_{11} i T_{21} oznacza wzrost uporządkowania układu frakcji tłuszczowej emulsji.

Analiza wyników pomiarów czasowych zmian parametrów relaksacyjnych związanych z frakcją skrobiową wykazała, że w porównaniu z żelami skrobiowymi emulsje charakteryzowały się dłuższymi czasami relaksacji. Wydłużenie czasu spin-sieć oznaczało wzrost ilości wody wolnej w stosunku do wody związanej w układzie. Tłuszcz wiązał się w miejscach sorpcji z biopolimerem i usuwał wodę. Emulsje były bardziej stabilne czasowo niż żele skrobiowe. W czasie tworzenia sieci polimerowej molekuly wody były chwilowo zamknięte w węzłach sieci. Wzrost wartości czasów relaksacji po tym czasie oznaczał usunięcie molekul wody z węzłów. W emulsjach w całym badanym przedziale czasu zmiany wartości czasów relaksacji były bardzo niewielkie. Świadczy to o stabilności układu z uwagi na wiązanie wody w żelu.

O właściwościach dynamicznych wody we frakcji emulsji zawierającej głównie tłuszcz świadczyły wartości krótkich składowych czasów relaksacji (rys. 5 i 6). Rozpatrywana frakcja zawierała głównie tłuszcz, który w trakcie ochładzania przechodził ze stanu ciekłego w stały. W trakcie tego procesu następowało usztywnienie łańcuchów kwasów tłuszczowych. W obecności skrobi i wody tworzyły się układy lamelarne o strukturze żelu.

Układy o małych zawartościach skrobi charakteryzowały się zmianami dynamiki molekularnej przejawiające się zmianami wartości krótkich składowych obu czasów relaksacji. Miało to związek z formowaniem się struktur ciała stałych frakcji tłuszczowej. Pod wpływem niewielkiej ilości żelu skrobiowego łańcuchy tłuszczowe zestawiają się w konfiguracji α -krystalicznej [18]. Po czasie tworzą zaś strukturę żelową z udziałem wody.

Wnioski

1. Udział natywnej skrobi ziemniaczanej w emulsji typu tłuszcz w wodzie utworzonej z tłuszczu wieprzowego powodował powstanie dwóch frakcji żelu skrobiowego i żelu tłuszczowego.
2. Obie frakcje były obserwowane jedynie na poziomie molekularnym. Makroskopowo nie obserwowano rozdzielania faz w ciągu do 8 h od chwili osiągnięcia przez układ równowagi termicznej z otoczeniem.
3. Analiza zmian dynamiki molekuł zawierających protony pozwalała rejestrować zmiany wiązania wody w żelu. Stwierdzono, że frakcja żelu skrobiowego zawierała znikome ilości tłuszczu, frakcja żelu tłuszczowego zawierała fazy lamelarne.
4. Przy dużych zawartościach skrobi czasowe zmiany wiązania wody we frakcji żelu skrobiowego występowały w ciągu od 2 do 5 h od chwili uformowania struktury.
5. Przy małych zawartościach skrobi frakcja żelu skrobiowego była stabilna w czasie. Zmiany czasowe obserwowano we frakcji żelu tłuszczowego w ciągu od 2 do 5 h od chwili uformowania struktury.
6. Uzyskane wyniki wskazują, że skrobia ziemniaczana może być wykorzystywana jako emulgator tłuszczu wieprzowego.

Praca naukowa finansowana ze środków budżetowych na naukę w latach 2010/2012 jako projekt badawczy N N312 038939.

Literatura

- [1] Baranowska H.M.: Correlation times of water molecules in potato starch fat gel. In: Starch. Recent progress in biopolymer and enzyme technology. Ed. P. Tomasik, E. Bertoff, A. Blennow. Wyd. PTTŻ. Kraków 2008, pp. 177-182.
- [2] Baranowska H.M., Rezler R., Poliszko S.: Temperature changes of the mechanical and dynamic parameters in the water-fat-starch systems. *Acta Agrophys.*, 2004, **4 (2)**, 249-255.
- [3] Belton P.S.: NMR and the mobility of water in polysaccharide gels. *Int. J. Biol. Macromolec.*, 1997, **21**, 81-88.
- [4] Bertram H.C., Wu Z., van der Berg F., Andersen H.J.: NMR relaxometry and differential scanning calorimetry during meat cooking. *Meat Sci.*, 2006, **74**, 684-689.
- [5] Bilka A., Uchman W., Kowalczyńska Z.: Skrobia jako dodatek funkcjonalny w przemyśle mięsny. W: *Dodatki funkcjonalne w przetwórstwie mięsny*. Red. W. Uchman, Poznań 1998, ss. 78-91.

- [6] Brennan C.S., Suter M., Luethi T., Matia-Merino L., Qvortrup J.: The relationship between wheat flour and starch pasting properties and starch hydrolysis: Effect of non-starch polysaccharides in a starch gel system. *Starch/Starke*, 2008, **60**, 23-33.
- [7] Carr H.Y., Purcell, E.M.: Effects of diffusion on free precession in nuclear magnetic resonance experiments. *Phys. Rev.*, 1954, **94**, 630-638.
- [8] Dolata W., Piotrowska E., Krzywdzińska-Bartkowiak M.: Wpływ dodatku skrobi ziemniaczanej na jakość farszów i kielbas drobno rozdrobnionych. *Inżynieria Rolnicza*, 2000, **9 (20)**, 61-66.
- [9] Fukushima E., Roeder S.B.W.: *Experimental pulse NMR. A nuts and bolts approach*. Addison-Wesley Publishing Company, London 1981.
- [10] Gajewska-Szczerbal H., Baranowska H.M.: Water holding properties in pork longissimus dorsi muscle due to two different injection techniques. *Fleischwirtschaft Int.*, **25 (3)**, 56-59.
- [11] Goetz J., Koehler P.: Study of the thermal denaturation of selected proteins of whey and egg by low resolution NMR. *LWT*, 2005, **38**, 501-512.
- [12] Meiboom S., Gill D.: Modified spin-echo method for measuring nuclear relaxation times. *Rev. Scient. Instrum.*, 1958, **29**, 688-691.
- [13] Micklander E., Bertram H.C., Marno H., Bak L.S., Andersen H.J., Engelsen S.B., Norgaard L.: Early post-mortem discrimination of water-holding capacity in pig longissimus muscle using new ultrasound method. *LWT*, 2005, **38**, 437-445.
- [14] Pedersen H.T., Berg H., Lundby F., Engelsen S.B.: The multivariate advantage in fat determination in meat by bench-top NMR. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2001, **2**, 87-94.
- [15] Rezler R., Baranowska H.M.: Utilisation of starch preparations in sausage production – rheological properties and water binding. *Fleischwirtschaft Int.*, 2008 **23**, 65-69.
- [16] Sorland G.H., Larsen P.M., Lundby F., Rudi A-P., Guiheneuf T.: Determination of total fat and moisture content in meat using low field NMR. *Meat Sci.*, 2004, **66**, 543-550.
- [17] Stadnik J., Dolatowski Z.J., Baranowska H.M.: Effect of ultrasound treatment on water holding properties and microstructure of beef (*m. semimembranosus*) during ageing. *LWT*, 2008, **41**, 2151-2158.
- [18] Stauffer C.E. *Emulgatory*. WNT, Warszawa 2001.
- [19] Węglarz W.P., Harańczyk H.: Two-dimensional analysis of the nuclear relaxation function in the time domain: The program CracSpin. *J. Physics D: Applied Physics*, 2000, **33**, 1909-1920.

MOLECULAR DYNAMICS OF WATER IN FAT-IN-WATER TYPE OF EMULSIONS EMULSIFIED WITH POTATO STARCH

S u m m a r y

The effect of starch on the pork fat emulsification process was analyzed at the molecular level. The research material consisted of fat-in-water type of emulsions. The experiments were performed on the samples containing 3 parts of water and 1 part of fat. The starch was added in the ratio of 1 : 1, 0.8 : 1, 0.5 : 1, and 0.4 : 1 in relation to the fat content. Analyzed were changes in the molecular dynamics of water in those emulsions during 8 hours from the moment when the system reached the temperature of measurement. The research was performed by a low-field NMR technique. The research accomplished showed that the emulsions were characterized by two components of the T_1 and T_2 relaxation times. This means that there are two fractions of protons in the system, which relax at different rates, and that the chemical exchange between those two fractions of protons is much slower than the relaxation time. The long components (T_{12} and T_{22}) reflect the relaxation processes of proton fractions associated, primarily, with a biopolymer gel. The values of T_{12} and T_{22} increase with the decrease in the starch content in the system much

like in gels without fat. It means that this fraction contains much fat. In addition, definite differences were found in the dynamics of molecular water in the systems with low and high starch content. It is related with the forming stages of lamellar structures of fat and with the starch retrogradation. While observing the time-related dependences between the relaxation parameters, it was found that the greatest changes in water binding occurred about 2 to 5 hours after the gel had been prepared.

Key words: relaxation times, molecular dynamics, emulsion, low-field NMR, potato starch ☒

MAGDALENA GRUDZIŃSKA, KAZIMIERA ZGÓRSKA

WPLYW ZASTOSOWANIA S-KARWONU JAKO NATURALNEGO INHIBITORA WZROSTU KIEŁKÓW ZIEMNIAKA NA JASNOŚĆ BARWY CHIPSÓW ZIEMNIACZANYCH

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu zastosowania S-karwonu jako naturalnego inhibitora wzrostu kiełków na jasność barwy chipsów. Badania prowadzono na dwóch odmianach ziemniaka: 'Asterix' i 'Gracja'. Ziemniaki przechowywano w temperaturze 8 °C bez stosowania inhibitorów kiełkowania (próba kontrolna) oraz z zastosowaniem naturalnego i chemicznego inhibitora. Badania prowadzono w czterech terminach – w styczniu, lutym, marcu i kwietniu. W każdym terminie w surowych ziemniakach oznaczano zawartość suchej masy i cukrów redukujących. Z ziemniaków wykonywano chipsy i oznaczano jasność barwy produktu. Wykazano, że zastosowanie naturalnego inhibitora kiełkowania nie wpłynęło w istotny sposób na zmiany zawartości suchej masy i cukrów redukujących w ziemniakach badanych odmian. Jasność barwy chipsów otrzymanych z ziemniaków zaprawianych naturalnym inhibitorem była odpowiednia, porównywalna z barwą produktu otrzymanego z ziemniaków zaprawianych inhibitorem chemicznym. Niezależnie od zastosowanego inhibitora wzrostu kiełków oraz czasu przechowywania bulw chipsy wyprodukowane z ziemniaków odmiany 'Gracja' były jaśniejsze od otrzymanych z odmiany 'Asterix'.

Słowa kluczowe: ziemniak, S-karwon, inhibitor kiełkowania, jasność barwy, chipsy

Wprowadzenie

Sposób użytkowania ziemniaków w Polsce uległ zmianom. Zmniejszyło się zużycie ziemniaków do bezpośredniej konsumpcji (ze 132 kg/osobę/rok w 2000 r. do 112 kg/osobę/rok w 2011 r.), a wzrosło zapotrzebowanie na surowiec do przetwórstwa spożywczego (w 2005 r. zużycie wyniosło 1569 tys. t, a w 2011 r. 1700 tys. t) [5].

Właściwości surowca uwarunkowane są genetycznie (cecha odmianowa), ale duże znaczenie w kształtowaniu wielu cech jakościowych ziemniaka mają czynniki środowiskowe i uprawy oraz warunki przechowywania. W praktyce ziemniaki do produkcji chipsów przechowywane są aż do czerwca w temp. 6 - 8 °C. Tak długi okres skła-

dowania w podanym zakresie temperatur prowadzi do wzmożonych procesów fizjologicznych bulw, takich jak: oddychanie, transpiracja, kiełkowanie. Konsekwencją tych procesów jest przedwczesne starzenie się ziemniaków [3, 17]. W celu ograniczenia niekorzystnych zmian stosuje się chemiczne środki hamujące te procesy, w których substancją czynną jest chloroprofam. W niektórych krajach europejskich stosowanie tej substancji w przechowalniach ziemniaków do bezpośredniej konsumpcji jest zabronione, a dopuszczone tylko w przechowalniach ziemniaków przeznaczonych do przetworstwa spożywczego [14].

Rozwiązaniem problemu może być zastosowanie zabiegu rekondycjonowania, po którym nie zawsze uzyskuje się pożądane efekty [4, 9, 10, 21]. Innym sposobem jest zastosowanie naturalnych ekstraktów roślinnych, m.in. olejków eterycznych z kminku, mięty pieprzowej, kopru lub goździków, w których substancją czynną jest S-karwon lub L-karwon.

Od kilku lat na całym świecie, m.in. w USA [14], w Sudanie [7], w Izraelu [20], na Litwie [12], we Francji [16], w Republice Czeskiej [1] oraz w Polsce [3, 10, 11] trwają badania nad efektami zastosowania tych inhibitorów w przechowalniach. Przeprowadzone dotychczas badania jednoznacznie wskazywały, że preparaty roślinne hamują kiełkowanie ziemniaków na poziomie zbliżonym do zaprawiania surowca z użyciem środka chemicznego, a ziemniaki są mniej dotknięte chorobami przechowalniczymi [20]. Nie określono natomiast, jaki jest wpływ tych preparatów na jakość uzyskiwanych przetworów ziemniaczanych.

Celem pracy było określenie wpływu zastosowania S-karwonu jako naturalnego inhibitora wzrostu kiełków ziemniaka na jasność barwy chipsów ziemniaczanych.

Materiał i metody badań

Badania prowadzono w Instytucie Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – PIB, Oddział w Jadwisinie, w latach 2009 - 2011. Materiałem doświadczalnym były dwie odmiany ziemniaka jadalnego: ‘Asterix’ i ‘Gracja’. Ziemniaki uprawiano na polu doświadczalnym IHAR Oddział w Jadwisinie. W okresie wegetacji przeprowadzono takie same zabiegi agrotechniczne, jakie stosuje się na plantacjach produkcyjnych. Ziemniaki bezpośrednio po zbiorze (III dekada września) umieszczono w doświadczalnej przechowalni w następujących warunkach: w okresie przygotowawczym przez pierwsze dwa tygodnie po zbiorze utrzymywano temp. 15 °C i wilgotność względną 90 - 95 %. W ciągu następnych dwóch tygodni temp. stopniowo obniżano do 8 °C, zachowując taką samą wilgotność.

Przygotowano następujące warianty doświadczenia:

- ziemniaki przechowywane w temp. 8 °C, niezaprawiane inhibitorem wzrostu kiełków – próba kontrolna;

- ziemniaki przechowywane w temp. 8 °C, zaprawiane inhibitorem chemicznym (substancja czynna chloroprofam) – preparat Luxan Gro Stop 01DP w dawce 2 kg/t, stężenie substancji czynnej w preparacie 300 g/l;
- ziemniaki przechowywane w temp. 8 °C, zaprawiane inhibitorem naturalnym (olejek eteryczny otrzymany z kminku; substancja czynna S-karwon) – preparat Luxan Talent® w dawce 3,5 ml/100 kg ziemniaków w terminach co 7 dni od momentu rozbudzenia bulw.

Badania prowadzono po zbiorze oraz w styczniu, lutym, marcu i kwietniu. Ziemniaki obu odmian rozpoczęły kiełkowanie w styczniu [3], w związku z tym badania prowadzono w wymienionych miesiącach.

Do badań pobierano ok. 5-kilogramowe próby ziemniaków z każdej odmiany i wariantu przechowywania. Umyte i osuszone ziemniaki krojono wzdłuż osi wierzchołek – stolon. Połówki rozdrabniano w malakserze firmy Bosch, a następnie w homogenizatorze firmy Ultra Turrax. Po wymieszaniu miazgi pobierano próby do oznaczeń laboratoryjnych na zawartość suchej masy (metoda suszarkowa) i cukrów redukujących (metoda dwunitrofenolowa) [19]. Każde oznaczenie wykonywano w trzech powtórzeniach.

Do sporządzenia chipsów pobierano po 25 bulw każdej odmiany ziemniaka z każdego terminu i wariantu badań. Bulwy ziemniaków myto, obierano i krojono mechanicznie w plastry o grubości 1,3 mm. Następnie wybierano po 5 plasterów z każdej bulwy i tworzone dwie równoległe próby (powtórzenia) chipsów o masie około 300 g. Próby myto, osuszano na bibule i smażyono w głębokim oleju w temp. 180 °C przez 3 min, do wilgotności około 2 %.

W chipsach gotowych do spożycia mierzono parametr jasność L^* , ($L^* = 0$ oznacza czerń, $L^* = 100$ oznacza biel) przy użyciu aparatu Chroma Meter Minolta CR – 300. W każdej próbie chipsów pomiar jasności wykonywano pięciokrotnie.

Istotność wpływu badanych czynników na analizowane cechy określono przy użyciu trójczynnika analizy wariancji ANOVA. Do testowania różnic ($p < 0,05$) między wartościami średnimi zastosowano test Tukeya. Obliczono odchylenia standardowe między replikacjami.

Wyniki badań i dyskusja

W zależności od kierunku użytkowania bulwy ziemniaka powinny charakteryzować się odpowiednimi cechami zewnętrznymi (wielkość i kształt bulw, głębokość i liczba oczek, grubość skórki), jak i właściwymi cechami mięszu oraz składem chemicznym. O przydatności ziemniaków do przetwarzania na produkty smażone, takie jak chipsy, decyduje zawartość suchej masy (od 20 do 25 %), która nadaje chrupkość i delikatność konsystencji otrzymanej przekąski [15].

W tab. 1. przedstawiono zawartość suchej masy w bulwach badanych odmian ziemniaka przechowywanych przez styczeń - kwiecień w temp. 8 °C, niezaprawianych i zaprawianych inhibitorami wzrostu kiełków.

Tabela 1

Zawartość suchej masy w niezaprawianych i zaprawianych ziemniakach odmian 'Asterix' i 'Gracja' w czasie przechowywania w temperaturze 8 °C.

Content of dry matter in non-treated and treated potatoes of 'Asterix' and 'Gracja' varieties during storage at a temperature of 8 °C.

Odmiana ziemniaka Potato cultivar	Inhibitor wzrostu Sprout Inhibitor	Czas przechowywania [miesiące] Storage period [months]				\bar{x}
		Styczeń January	Luty February	Marzec March	Kwiecień April	
'Asterix'	Próba kontrolna Control sample	22,38 ^a ± 0,54	24,30 ^a ± 0,54	22,80 ^a ± 0,35	24,12 ^a ± 0,60	23,40
	Chloroprofam S-karwon S-carvone	23,22 ^a ± 0,24	22,76 ^a ± 0,24	22,61 ^a ± 0,42	22,50 ^a ± 0,20	23,17
		22,49 ^a ± 0,86	22,85 ^a ± 0,86	24,10 ^a ± 0,23	23,11 ^a ± 0,29	23,74
'Gracja'	Próba kontrolna Control sample	24,11 ^a ± 1,89	23,81 ^a ± 1,96	24,17 ^a ± 1,73	23,16 ^a ± 1,49	23,80
	Chloroprofam S-karwon S-carvone	24,30 ^a ± 1,83	22,70 ^a ± 0,42	24,10 ^a ± 1,47	24,75 ^a ± 1,62	23,95
		23,45 ^a ± 1,62	22,30 ^a ± 0,14	23,82 ^a ± 1,94	24,36 ^a ± 2,48	23,50

Objaśnienia: / Explanatory notes:

wartość średnia z 2 lat ± odchylenie standardowe / mean value for two years ± standard deviation; n = 48; wartości średnie w kolumnach oznaczone tym samym indeksem (a) nie różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$; / mean values in the columns and denoted by the same (a) superscript do not differ statistically significantly at $p \leq 0,05$).

Wykazano, że zastosowanie preparatów hamujących kiełkowanie, zarówno naturalnego jak i chemicznego, nie wpłynęło w istotny sposób na zmiany zawartości suchej masy w ziemniakach badanych odmian.

Podobne wyniki uzyskali Elbashir i wsp. [7]. Po przeprowadzeniu badań na dwóch odmianach ziemniaka: 'Diamant' i 'Sinora' wymienieni autorzy stwierdzili, że zaprawianie ziemniaków naturalnym i chemicznym inhibitorem wzrostu kiełków nie wpływa istotnie na zmiany zawartości suchej masy w ziemniakach w czasie przechowywania. Podobne wnioski sformułowali Jariene i wsp. [12], którzy zastosowawszy dwa naturalne inhibitory kiełkowania ziemniaków (wyciąg z nasion kminku i z kopru) nie stwierdzili istotnych zmian zawartości suchej masy w bulwach w porównaniu z ziemniakami niezaprawianymi. Zgórska i Grudzińska [23] po przebadaniu kilka odmian ziemniaka zaprawianych naturalnym inhibitorem kiełkowania stwierdziły, że zmiany zawartości suchej masy w ziemniakach podyktowane są w głównej mierze

zmianami fizjologicznymi bulw w czasie przechowywania i zależą przede wszystkim od czynnika odmianowego, a nie od zastosowania naturalnych lub chemicznych inhibitorów kiełkowania.

Drugim ważnym parametrem określającym jakość surowca do produkcji chipsów jest zawartość cukrów redukujących. Podczas smażenia cukry redukujące (glukoza, fruktoza) wchodzą w reakcję z wolnymi aminokwasami (reakcja Maillarda), w wyniku której tworzą się związki o brunatnym zabarwieniu [2]. Poziom cukrów redukujących w bulwach nie powinien przekraczać 0,15 % w świeżej masie [6, 8, 15]. Ciemne produkty mają gorzki smak, a ich barwa jest niepożądana, co dyskwalifikuje surowiec do przetwórstwa.

Zawartość cukrów redukujących w bulwach badanych odmian zaprawianych preparatem chemicznym i naturalnym w okresie styczeń – kwiecień nie przekroczyła dopuszczalnego poziomu (0,15 % w św.m.) (tab. 2).

Tabela 2

Zawartość cukrów redukujących [mg/100g świeżej masy] w niezaprawianych i zaprawianych bulwach ziemniaków odmian ‘Asterix’ i ‘Gracja’ w czasie przechowywania w temperaturze 8 °C.

Content of reducing sugars [mg/100g fresh matter] in non-treated and treated potato tubers of ‘Asterix’ and ‘Gracja’ cultivars during storage period at a temperature of 8 °C.

Odmiana ziemniaka Potato cultivar	Inhibitor wzrostu Sprout Inhibitor	Czas przechowywania [miesiące] Storage period [months]				\bar{x}
		Styczeń January	Luty February	Marzec March	Kwiecień April	
‘Asterix’	Próba kontrolna Control sample	0,09 ^a ± 0,01	0,08 ^a ± 0,05	0,06 ^b ± 0,00	0,07 ^b ± 0,04	0,08
	Chloroprofam	0,08 ^a ± 0,00	0,08 ^a ± 0,03	0,07 ^a ± 0,00	0,04 ^b ± 0,02	0,07
	S-karwon S-carvone	0,10 ^a ± 0,03	0,10 ^a ± 0,03	0,09 ^a ± 0,02	0,04 ^b ± 0,03	0,08
‘Gracja’	Próba kontrolna Control sample	0,08 ^a ± 0,02	0,05 ^b ± 0,02	0,03 ^c ± 0,03	0,04 ^b ± 0,01	0,05
	Chloroprofam	0,06 ^b ± 0,04	0,06 ^b ± 0,01	0,03 ^c ± 0,03	0,03 ^c ± 0,01	0,04
	S-karwon S-carvone	0,06 ^b ± 0,01	0,06 ^b ± 0,02	0,03 ^c ± 0,02	0,04 ^b ± 0,00	0,05

Objaśnienia: / Explanatory notes:

wartość średnia z 2 lat ± odchylenie standardowe / mean value for two years ± standard deviation; n = 48; a, b, c – wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi indeksami różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$; / mean values in the columns and denoted by different superscripts differ statistically significantly at $p \leq 0,05$).

Niezależnie od odmiany oraz zastosowanych inhibitorów kiełkowania ziemniaki składowane zawierały w marcu i kwietniu mniej cukrów redukujących niż w styczniu i w lutym. Takie zmiany zawartości cukrów redukujących w bulwach ziemniaka prze-

chowywanych w miesiącach wiosennych wynikają z intensywniejszego procesu oddychania [2, 22]. Glukoza jest głównym substratem w tym procesie.

Jasność barwy chipsów wyprodukowanych z ziemniaków dwóch odmian przechowywanych w temp. 8 °C bez zastosowania inhibitorów wzrostu kiełków (próba kontrolna) oraz z ich zastosowaniem w czasie przechowywania była odpowiednia (parametr jasności L* wyniósł powyżej 60) (tab. 3).

Podobne wyniki otrzymali Kleinkopf i wsp. [14], Elbashir i wsp. [7] oraz Cizkova i wsp. [1], którzy stwierdzili, że niezależnie od zastosowanego inhibitora wzrostu kiełków jasność barwy produktu smażonego wykonanego z takich ziemniaków jest odpowiednia.

Tabela 3

Jasność barwy (L*) chipsów wyprodukowanych z niezaprawianych i zaprawianych ziemniaków odmian 'Asterix' i 'Gracja', przechowywanych w temperaturze 8 °C.

Colour brightness (L*) of chips made from non-treated and treated potatoes of 'Asterix' and 'Gracja' cultivars, stored at a temperature of 8 °C.

Odmiana ziemniaka Potato cultivar	Inhibitor wzrostu Sprout Inhibitor	Czas przechowywania [miesiące] Storage period [months]				\bar{x}
		Styczeń January	Luty February	Marzec March	Kwiecień April	
'Asterix'	Próba kontrolna Control sample	68,94 ^a ± 4,74	68,88 ^a ± 5,31	73,25 ^a ± 2,46	69,52 ^a ± 11,0	70,15
	Chloroprofamid S-karwon	67,89 ^a ± 0,97	67,73 ^a ± 5,96	67,89 ^a ± 0,89	70,31 ^a ± 2,25	68,20
	S-carvone	61,58 ^b ± 8,80	64,90 ^{ab} ± 3,40	68,65 ^a ± 3,54	69,82 ^a ± 2,15	65,24
'Gracja'	Próba kontrolna Control sample	70,06 ^a ± 1,60	69,06 ^a ± 1,36	69,50 ^a ± 1,85	71,38 ^a ± 1,94	70,00
	Chloroprofamid S-karwon	70,48 ^a ± 2,78	69,77 ^a ± 3,78	69,82 ^a ± 1,11	73,72 ^a ± 3,71	70,95
	S-carvone	69,55 ^a ± 2,19	68,79 ^a ± 4,13	70,94 ^a ± 2,03	68,86 ^a ± 0,06	69,53

Objaśnienia: / Explanatory notes:

wartość średnia z 2 lat ± odchylenie standardowe / mean value for two years ± standard deviation; n = 48; a, b – wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi indeksami różnią się istotnie statystycznie przy p ≤ 0,05; / a, b – Mean values in the columns and denoted by different superscripts differ statistically significantly at p ≤ 0.05).

Kalt i wsp. [13] po przechowywaniu ziemniaków zaprawianych środkami, w których substancją czynną były chloroprofamid i S-karwon przez 25 tygodni (odmiana 'Russet Burbank'), nie wykazali istotnych różnic między jasnością barwy produktu smażonego wykonanego z ziemniaków zaprawianych i niezaprawianych. Takie prawidłowości zauważono w chipsach z ziemniaków odmiany 'Gracja'. Przez cały okres przechowywania bulw z zastosowaniem lub bez zastosowania inhibitorów wzrostu

kiełków, jasność (L^*) barwy chipsów z ziemniaków odmiany 'Gracja' kształtowała się na tym samym poziomie (od 68 do 71). Odmiennie wyniki uzyskano z pomiarów bulw odmiany 'Asterix'. W miesiącach zimowych (styczeń i luty) jasność barwy chipsów wykonanych z ziemniaków zaprawianych naturalnym inhibitorem była istotnie ciemniejsza niż z ziemniaków niezaprawianych i zaprawianych inhibitorem chemicznym. W kolejnych miesiącach (marzec i kwiecień) jasność barwy chipsów z tej odmiany była mniej intensywna i nie różniła się istotnie od jasności barwy produktu z ziemniaków pozostałych wariantów.

Według Sowokinosa [18], Coppa i wsp. [2] oraz Grudzińskiej i Zgórskiej [8], im większa jest zawartość cukrów redukujących w bulwach ziemniaka, tym ciemniejsza jest barwa produktów smażonych. Autorzy wykazali istotne ($p < 0,05$) współzależności pomiędzy tymi cechami ($r = -0,84$).

Wnioski

1. Zastosowanie naturalnego inhibitora kiełkowania nie wpłynęło w istotny sposób na zmiany zawartości suchej masy, cukrów redukujących w ziemniakach odmian 'Asterix' i 'Gracja'.
2. Jasność barwy chipsów otrzymanych z ziemniaków zaprawianych naturalnym inhibitorem (S-karwonem) była odpowiednia, porównywalna z barwą produktu otrzymanego z ziemniaków zaprawianych inhibitorem chemicznym (chloroprofmem).
3. Niezależnie od zastosowanego inhibitora wzrostu kiełków chipsy wyprodukowane z ziemniaków odmiany 'Gracja' cechowały się jaśniejszą barwą niż produkt otrzymany z odmiany 'Asterix'.

Literatura

- [1] Cizkova H., Vacek J., Voldrich M., Sevcik R., Kratka J.: Caraway essential oil as potential inhibitor of potato sprouting. *Rostlin Vyr.*, 2000, **46**, 501-507.
- [2] Copp L.J., Blenkinsop R.W., Yada R.Y., Marangoni A.G.: The relationship between respiration and chip color during long – term storage of potato tubers. *Am. J. Potato Res.*, 2000, **77**, 279-287.
- [3] Czerko Z., Zgórska K., Grudzińska M.: Czynniki ograniczające kiełkowanie ziemniaków podczas przechowywania. *Zesz. Post. Nauk. Rol.*, 2010, **577**, 243-252.
- [4] Demeulemeester K., Vandeburie S., Claysse L., Goeminne M., De Proft M., Demeulemeester M.: Cold storage and reconditioning of processing potatoes as an alternative for chemical sprout suppressants. 16th Triennial Conference of the European Association for Potato Research, 2005 Bilbao, Spain, July 17 – 22, pp. 390-394.
- [5] Dzwonkowski W.: Rynek ziemniaka – stan i perspektywy. *Analizy rynkowe, IERiGŻ – PIB*, 2011, **38**, 30.
- [6] Edwards Ch.G., Englar J.W., Brown Ch.R., Peterson J.C., Sorensen E.J.: Changes in color and sugar content of yellow – fleshed potatoes stored at three different temperatures. *Am. Potato Res.*, 2002, **79**, 49-53.

- [7] Elbashir H.A., Ahmed A.H., Yousif K.S.: Effect of Spearmint oil on sprouting and processing quality of Diamant and Sinora potato varieties. *Curr. Res. J. Biol. Sci.*, 2011, **3** (5), 530-534.
- [8] Grudzińska M., Zgórska K.: Wpływ zawartości cukrów w bulwach ziemniaka na barwę chipsów. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **5** (60), 107-115.
- [9] Grudzińska M., Zgórska K.: Wpływ efektywności zabiegu rekondycjonowania wybranych odmian bulw ziemniaka na barwę frytek. *Nauka, Przynr., Technol.*, 2010, **4**, 1-17.
- [10] Grudzińska M., Zgórska K., Czerko Z.: Effect of CIPC and S(+) carvone on sprout inhibition and quality of potato tubers during storage. 18th Triennial Conference of the European Association for Potato Research, Oulu, Finland, 2011, July, 24-29, p. 225.
- [11] Grudzińska M., Zgórska K., Czerko Z.: Wpływ inhibitorów wzrostu kiełków na barwę frytek ziemniaczanych. *Biul. IHAR*, 2012, **265**, 149-155.
- [12] Jariene E., Pranaitiene R., Viškelis P., Gołubowska G.: The ecological aspects in the potato tuber storage. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 2006, **511**, 523-529.
- [13] Kalt W., Prange R.K., Daniels-Lake B.J.: Alternative compounds for the maintenance of processing quality of stored potatoes (*Solanum tuberosum*). *J. Food Proc. Pres.*, 1999, **23**, 71-81.
- [14] Kleinkopf G.E., Oberg N.A., Olsen N.L.: Sprout inhibition in storage: Current status, new chemistries and natural compounds. *Amer. J. Potato Res.*, 2003, **80**, 317-327.
- [15] Lisińska G.: Czynniki surowcowe i technologiczne kształtujące jakość przetworów ziemniaczanych. *Mat. I Konf. Nauk., Polanica Zdrój 2000, 08-11 maja, „Ziemniak spożywczy i przemysłowy oraz jego przetwarzanie”*, ss. 81-57.
- [16] Martin M., Galand P., Bompeix G., Beyssac A.: Mint oil: a new natural sprout suppressant opportunity. 18th Triennial Conference of the European Association for Potato Research, Oulu, Finland, 2011, July 24-29, p.105.
- [17] Sowa-Niedziałkowska G., Zgórska K.: Wpływ czynnika termicznego i odmianowego na zmiany ilościowe w czasie długotrwałego przechowywania bulw ziemniaka. *Pamiętnik Puławski*, 2006, **139**, 233-243.
- [18] Sowokinos J.R.: Biochemical and molecular control of cold induced sweetening in potatoes. *Am. J. Potato Res.*, 2001, **78**, 221-236.
- [19] Talburt W.F., Smith O.: *Potato processing*. (4 th ed.) AVI Publishing Company, Westport, Connecticut USA, 1987, pp. 262-339.
- [20] Teper-Bamnlolker P., Dudai N., Fischer R., Belausov E., Zemach H., Shoseyov O., Eshel D.: Mint essential oil can induce or inhibit potato sprouting by differential alteration of apical meristem. *Planta*, 2010, **232**, 179-186.
- [21] Zgórska K., Czerko Z.: Rekondycjonowanie bulw przechowywanych w niskich temperaturach – metodą ograniczającą zawartość cukrów redukujących w bulwach ziemniaka. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 2006, **511**, 547-556.
- [22] Zgórska K., Czerko Z., Grudzińska M.: Wpływ intensywności oddychania bulw ziemniaka na barwę produktów smażonych. *Biul. Nauk.*, 2009, **30**, 109-113.
- [23] Zgórska K., Grudzińska M.: Wpływ inhibitorów wzrostu kiełków na cechy jakościowe bulw. *Mat. Konf. Nauk.-Szkoł. „Nasiennictwo i ochrona ziemniaka”*, Darłówko 2011, 19-20 maj, ss. 26-28.

EFFECT OF S-CARVONE APPLIED AS NATURAL INHIBITOR OF POTATO SPROUTS ON COLOUR BRIGHTNESS OF POTATO CHIPS

Summary

The objective of the research study was to determine the effect S-carvone applied as a natural sprout inhibitor on the colour brightness of chips. The research was carried out on two potato cultivars: 'Asterix' and 'Gracja'. The potatoes were stored at a temperature of 8 °C without sprout inhibitors applied (control sample) and with a natural and chemical inhibitor applied. The research was performed during four months: January, February, March, and April. In raw potatoes, the contents of dry matter and reducing sugars were determined in each of the four months. Chips were made from the potatoes studied and the colour brightness of the chips manufactured was determined. It was confirmed that the application of natural sprout inhibitor did not significantly impact the changes in the content of dry matter and reducing sugars in the potato varieties analyzed. The colour brightness of chips made from the potatoes treated by the natural inhibitor was proper and comparable to the colour of the product obtained from the potatoes treated with the chemical inhibitor. Irrespective of the sprout inhibitor applied and the time period of storing potato tubers, the chips manufactured from the potatoes of 'Gracja' variety were brighter than the chips from the 'Asterix' variety.

Key words: potato, S-carvone, sprout inhibitor, brightness of the colour, chips ☒

WIKTOR OBUCHOWSKI, MATEUSZ GUTSCHE, AGNIESZKA MAKOWSKA

CZYNNIKI KSZTAŁTUJĄCE CECHY JAKOŚCIOWE MĄKI PRZEZNACZONEJ DO PRODUKCJI WAFLI

Streszczenie

Badano przydatność pszennych mąk pasażowych do produkcji wafli. Ziarno pszenicy 'Slade' przemielono w młynie handlowym. Uzyskano 15 rodzajów mąk pochodzących z pasaży śrutowych, wymiałowych, sortownika oraz rzutnika otrębowego, różniących się składem chemicznym i właściwościami reologicznymi wytwarzanego z nich ciasta. Cechy technologiczne najkorzystniejsze do produkcji wafli w warunkach przemysłowych, czyli długi czas agregacji glutenu i relatywnie małą lepkość wypływową, wykazywały mąki z pierwszych pasaży śrutowych, pierwszych pasaży wymiałowych, a także z sortownika i rzutnika otrębowego. Nie stwierdzono korelacji pomiędzy wydajnością glutenu i jego jakością a czasem jego agregacji i lepkością wypływową. Wykazano, że mała wydajność mokrego glutenu i jego jakość nie są odpowiednimi kryteriami oceny przydatności mąki do produkcji wafli. Stwierdzono ujemną korelację pomiędzy lepkością wypływową i czasem agregacji glutenu a zawartością białka ogólnego oraz stopniem uszkodzenia skrobi. Do produkcji wafli najbardziej przydatne są mąki pasażowe o relatywnie małej zawartości białka ogólnego oraz niskim stopniu uszkodzenia skrobi.

Słowa kluczowe: mąka waflowa, lepkość wypływowa, stopień uszkodzenia skrobi, czas agregacji glutenu

Wprowadzenie

Współcześnie produkcja wyrobów waflowych odbywa się na zautomatyzowanych liniach o bardzo dużej wydajności i potokowym systemie wytwarzania. Bezawaryjna i wysokojakościowa produkcja na tych liniach wymaga dostarczenia do produkcji surowca powtarzalnego i w pełni odpowiadającego wymaganiom technologicznym. Konieczność przetłaczania ciasta waflowego na duże odległości i uwzględnienie równomiernego jego dozowania na płyty wafalarskie sprawia, że mąka do produkcji wafli musi spełniać szczególne wymagania. Dotyczą one małej lepkości wytwarzanego z niej ciasta oraz możliwie długiego przedziału czasu od momentu jego wytworzenia

Prof. dr hab. W. Obuchowski, dr inż. A. Makowska, Instytut Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego, Wydz. Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 Poznań, dr inż. M. Gutsche, Diamant International Polska, Młyny Zbożowe Stanisława Grygiera Sp. z o.o., ul. Bukowska 90, 62-065 Grodzisk Wielkopolski

do chwili, w której następuje agregacja glutenu, czyli czasu, po którym w cieście zaczynają się wytrącać strzępki białek glutenowych [6, 10, 24].

Zastosowanie nieodpowiedniej mąki wymaga podjęcia w procesie produkcyjnym zabiegów technologicznych mających na celu zmniejszenie lepkości oraz utrudnienie powstawania agregatów glutenu z takiego surowca. Do najczęściej stosowanych praktyk należą: zwiększanie udziału wody, wprowadzanie enzymów proteolitycznych oraz stosowanie dodatku skrobi. Zastosowanie zwiększonego udziału wody zagraża strukturze wyrobu gotowego, jak również wymusza zwiększenie nakładów energetycznych potrzebnych do jej odparowania. Dodatek skrobi jest kosztowny, zaś stosowanie enzymów jest niekorzystnie odbierane przez konsumenta, jako zbyt duża ingerencja w naturalny skład i cechy wafli.

Dotychczas nie zostały w pełni wyjaśnione mechanizmy decydujące o przydatności technologicznej mąki do wytwarzania wafli, stąd też kryteria jej oceny wymagają udoskonalenia [4, 10]. Zazwyczaj uważa się, że mąka do produkcji wafli powinna charakteryzować się małą zawartością białka, o możliwie słabym glutenie [15]. Wydaje się jednak, że jest to pogląd mocno uproszczony.

Na liście odmian pszenicy przeznaczonej do celów ciastkarskich w Polsce zarejestrowana jest jedna odmiana – ‘Slade’, charakteryzująca się cechami najbardziej zbliżonymi do oczekiwań producentów wafli [16]. Mąki pasażowe uzyskiwane z przemiału ziarna tej pszenicy wykazują zdecydowanie różną przydatność do wytworzenia ciasta o pożądanych cechach. O ile znaczna część mąk pasażowych z tego ziarna odpowiada wymaganiom producentów, to są także takie, które nie spełniają tych oczekiwań. Wyeliminowanie niektórych mąk pasażowych mogłoby ograniczyć stosowanie w produkcji wafli substancji dodatkowych [5, 6, 10], umożliwiających zmniejszenie lepkości tworzonej masy [4]. Określenie zależności pomiędzy lepkością, czasem agregacji glutenu a niektórymi właściwościami fizykochemicznymi powinno przyczynić się do uzyskania wymiernych korzyści praktycznych przy ustalaniu wymagań odnośnie do cech technologicznych surowca do produkcji wafli.

Celem niniejszej pracy było określenie tych wyróżników fizykochemicznych i reologicznych mąki pasażowej, które mają wpływ na uzyskanie ciasta o cechach odpowiadających wymaganiom producentów wafli.

Material i metody badań

Material doświadczalny stanowiły mąki pasażowe z przemiału ziarna pszenicy ‘Slade’ w młynie handlowym o zdolności przemiałowej 150 t/24 h, wyposażonym w maszyny i urządzenia firmy Buhler. Próby pobierano w kolejnych trzech latach: 2007, 2008 i 2009. Partie ziarna przemiałanego w poszczególnych latach wynosiły po 120 t. Młyn wyposażony był częściowo w mlewniki 8-walcowe typu Newtronic,

umożliwiający dwukrotne rozdrabnianie młewa przed skierowaniem na odsiewacze płaskie.

Schemat przemiałowy młyna obejmował 6 pasaży śrutowych, oznaczonych w dalszym opisie pracy literą B (w tym dwa mławniki z podwójnym rozdrabnianiem), 11 pasaży wymiałowych, oznaczonych literami C (w tym cztery mławniki do podwójnego rozdrabniania, a pierwszy pasaż wymiałowy rozbudowany był o dodatkowy mławnik oznaczony jako C1b, sortownik D1 oraz rzutnik otrębowy MS).

W ocenie towaroznawczej ziarna uwzględniono oznaczenia: wilgotności – wg PN-A-74010:1991P [20], wyrównania ziarna – wg Sadkiewicza i wsp. [18], gęstości ziarna w stanie zsypanym – wg PN-EN ISO 7971-3:2010P [21] i liczby opadania – wg ICC 107 [14].

Analiza mąki obejmowała oznaczenie zawartości: substancji mineralnych – wg ICC 104/1 [11] i białka – wg ICC 105/2 [12] oraz ilości i indeksu jakości glutenu – wg ICC 155 [13], właściwości farinograficznych – wg PN ISO 5530-1 [22]. Oznaczenie stopnia uszkodzenia skrobi wykonywano metodą amperometryczną przy użyciu aparatu SD-matic firmy Chopin i przeliczono zgodnie z metodą AACC 76-30A [1].

Oznaczenie lepkości wypływowej oraz czasu rozdziału glutenu wykonywano zgodnie z instrukcją Bundesanstalt für Getreide, Kartoffel und Fettforschung, Detmold [10].

W celu oznaczenia lepkości wypływowej 500 g mąki o temp. 20 °C mieszano w dzieży miksera z 600 ml wody o temp. 23 °C, początkowo przez 30 s przy 56 obrotach mieszadła/min, następnie obroty zwiększano do 125/min i mieszano przez kolejnych 90 s. Bezpośrednio po wymieszaniu uzyskaną masą napełniano wiskozymetr wypływowy i rozpoczynano pomiar lepkości. Mierzono czas wypływu ciasta w [s] od momentu, gdy jego poziom zrównał się z górnym punktem do momentu, gdy osiągnął dolny punkt na skali wiskozymetru. Drugi pomiar lepkości wykonywano po 30 min leżakowania ciasta. Czas potrzebny do wypłynięcia określonej objętości ciasta przez kapilarę wiskozymetru definiowano jako lepkość wypływową.

W celu oznaczenia czasu agregacji glutenu do zlewki odważano 300 g mąki (temp. 20 °C) i 420 ml wody (temp. 23 °C). Zawartość zlewki energicznie mieszano za pomocą bagietki, a następnie 270 g powstałej mieszaniny przenoszono do przezroczystego naczynia miksera. Włączano mikser, uruchamiając jednocześnie stoper. Stoper zatrzymywano z chwilą pojawienia się widocznych włókien w mieszanym cieście. Moment ten sygnalizuje też zwiększone obciążenie pracy miksera. Czas, po którym pojawiały się strzępki zagregowanych białek glutenowych definiowano jako czas agregacji glutenu.

Analizę statystyczną wyników wykonano w programie Statistica 8.0. Wartości zamieszczone w tabelach przedstawiono jako wyniki średnie poszczególnych analiz. Obliczono współczynniki korelacji pomiędzy wynikami zawartości oznaczanych

składników chemicznych, cech fizykochemicznych i reologicznych poszczególnych mąk pasażowych uzyskanych w poszczególnych latach badań. Istotność korelacji stwierdzano na poziomie $p = 0,01$, korzystając z tabel zawartych w Quality Control for the Food Industry [17].

Wyniki i dyskusja

Wartości wyróżników jakości przemielenych w poszczególnych latach partii pszenicy (tab. 1) były zbliżone, w szczególności pod względem zawartości białka ogólnego i wydajności glutenu mokrego. Nieznacznie większe wartości wydajności glutenu mokrego, indeksu jakości glutenu, a także zawartości popiołu zaobserwowano w przypadku partii ziarna przemielenego w 2009 roku. Wynikały one prawdopodobnie z bardziej suchego okresu wegetacji w tym roku. Partie ziarna charakteryzowały się liczbą opadania w przedziale 280 - 311 s, co wskazuje, że nie uległy one podczas wegetacji procesom porostania.

Tabela 1

Charakterystyka cech fizykochemicznych ziarna pszenicy 'Slade'.
Physical-chemical profile of 'Slade' wheat grain.

Wyróżnik / Parameter	Rok zbioru / Year of harvest		
	2007	2008	2009
Wilgotność / Moisture content [%]	16,3	15,6	15,9
Wyrównanie / Uniformity [%]	79,0	80,8	85,6
Gęstość w stanie zsypanym / Test weight [kg/hl]	72	75	75
Zawartość zw. mineralnych jako popiół Content of mineral compounds as ash [% s.m. / d.m.]	1,69	1,78	1,82
Zawartość białka / Protein content [% s.m. / d.m.]	11,8	11,7	12,0
Wydajność glutenu / Gluten yield [%]	22,8	21,7	23,5
Indeks jakości glutenu / Gluten Index [-]	86	65	88
Liczba opadania / Falling number [s]	280	311	308

Mąki pasażowe poddane ocenie porównawczej stanowiły łącznie ok. 72 % ogólnego wyciągu w stosunku do przemielenego ziarna. Największy udział w mące ogólnej stanowiła mąka z pierwszych trzech pasażów wymiałowych: C1a (mąka 1 i 2M), C1b oraz C2/C3, sortownika (D1) oraz pierwszego pasażu śrutowego (B1/B2). Niewielkie ilości mąki uzyskiwano natomiast z końcowych trzech pasażów śrutowych (0,9 % z pasażów B4/B5 oraz 0,5 % z pasażu B6) oraz trzech wymiałowych (1,4 % z pasażów C9/C10 oraz 1,4 % z pasażu C11). Znaczących ilości (4,3 %) mąki dostarczał rzutnik otrębowy (tab. 2).

Tabela 2

Wydajność mąk pasażowych i ich udział w ogólnej ilości wytwarzanej mąki.

Yield of mill stream flours and its per cent content in the total amount of flour produced.

Symbol pasażu Passage symbol	Wydajność mąki Flour yield [kg/h]	Udział w ogólnej ilości mąki Per cent content in the total amount of flour [%]
Pasaże śrutowe / Break system: B1/B2	255	5,7
B3	141	3,1
B4/B5	42	0,9
B6	24	0,5
Pasaże wymiałowe / Reduction system: C1a 1M	460	10,2
C1a2M	198	4,4
C1b	321	7,1
C2/C3	1209	26,8
C4	147	3,3
C5/C6	552	12,2
C7/C8	126	2,8
C9/C10	63	1,4
C11	63	1,4
Sortownik / Sorter: D1	714	15,8
Rzutnik otrębowy / Bran brusher: MS	195	4,3

Charakterystyka mąk pasażowych z poszczególnych lat (tab. 3, 4 i 5) wskazuje, że przy wyrównanych parametrach jakościowych pszenicy i stabilnym schemacie przemiałowym młyna uzyskano powtarzalne cechy jakościowe mąki, charakterystyczne dla danego pasażu przemiałowego. Przeprowadzona analiza korelacji wykazała, że, z wyjątkiem wydajności glutenu, pozostałe parametry jakościowe mąk pasażowych w poszczególnych latach były wysoce skorelowane – osiągały wartości współczynnika korelacji powyżej $r = 0,72$, a w wielu przypadkach przekraczającego wartość $r = 0,90$ (tab. 5). Cechy technologiczne najkorzystniejsze w produkcji wafli wykazywały mąki z pierwszych pasażów śrutowych (B1/B2 oraz B3) i pierwszych pasażów wymiałowych (C1a1M; C1a2M; C1b oraz C2/C3), a także mąka z sortownika (D1) i rzutnika otrębowego (MS) (tab. 3, 4 i 5). Charakteryzowały się one długim czasem agregacji glutenu i relatywnie małą lepkością wypływową. Mąki te wykazywały natomiast duże zróżnicowanie pod względem wydajności i jakości glutenu, przy czym cechy te nie były skorelowane z czasem agregacji glutenu i lepkością wypływową. W mąkach pasażowych

Tabela 3

Charakterystyka mąk pasazowych uzyskanych z przemiału ziarna pszenicy 'Slade' w 2007 r.
 Characteristics of passage flours obtained from milled grains of 'Slade' variety of wheat in 2007.

Symbol pasażu Passage Symbol	Stopień uszkodzenia skrobi Damage of starch [%]	Zawartość zw. miner jako popiołów Content of mineral compounds as Ash [% d.m.]	Wydajność glutenu Gluten yield [%]	Indeks jakości glutenu Gluten Quality Index [-]	Zawartość białka ogółem Total protein content [% d.m.]	Charakterystyka farinograficzna Farinograph characteristics			Czas agregacji glutenu Gluten aggregation time [s]	Lepkość wyphywowa Batter viscosity after 30 min [s]	Lepkość wyphywowa Batter viscosity [s]
						Wodochłonność Water Absorption [%]	Czas stałości Stability Time [min]	MTI Mixing Tolerance Index [J.F.]			
B1/B2	3,9	0,42	17,7	87	8,6	49,3	1,3	128	396	37	40
B3	5,6	0,71	29,1	70	12,1	55,8	4,3	82	365	98	71
B4/B5	8,3	1,71	21,2	77	12,6	70,1	2,2	103	305	291	313
B6	8,9	2,57	18,6	92	14,8	75,7	2,4	140	277	1123	1048
C1a 1M	5,3	0,44	21	94	9,8	54,6	1,8	118	340	95	80
C1a 2M	5,4	0,43	22,8	97	10,6	56,8	3,1	86	311	172	266
C1b	8,3	0,87	25,9	83	11	64	1,7	127	21	476	536
C2/C3	5,1	0,45	20,2	94	9,9	57	1,4	106	308	149	148
C4	8,2	1,6	18,8	93	12,5	71,2	3,5	140	229	1230	1446
C5/C6	7,1	0,84	27	88	12,5	66,7	3,3	84	204	487	520
C7/C8	8,4	1,43	26,8	77	13,9	74,1	2,9	109	56	2769	2897
C9/C10	8,5	2,12	22,1	62	15,2	74,9	2,1	91	9	2965	3250
C11	9,1	3,4	-	-	15,3	77,1	1,4	173	7	-	-
D1	3,4	0,5	19,2	91	9,4	51,6	0,6	133	392	48	66
MS	9,0	1	29,1	64	13,4	63,7	3,3	84	346	231	184

Tabela 4

Charakterystyka mąk pasazowych uzyskanych z przemiału ziarna pszenicy 'Slade' w 2008 r.
 Characteristics of passage flour obtained from milled grains of 'Slade' variety of wheat in 2008.

Symbol pasazu Passage Symbol	Stożenie uszkodzenia skrobi Damage degree of starch [%]	Zawartość zw. miner jako popiół Content of mineral compounds as Ash [% d.m.]	Wydajność glutenu Gluten yield [%]	Indeks jakości glutenu Gluten Quality Index [-]	Zawartość białka ogółem Total protein content [% d.m.]	Charakterystyka farinograficzna Farinograph characteristics			Czas agregacji glutenu Gluten aggregation time [s]	Lepkość wyphywowa Batter viscosity [s]	Lepkość wyphywowa po 30 min Batter viscosity after 30 min [s]
						Wodochłonność Water Absorption [%]	Czas stałości Stability Time [min]	MTI Mixing Tolerance Index [j.F.]			
B1/B2	3,4	0,35	17,2	85	8,5	50,7	1,2	129	385	23	25
B3	4,6	0,68	24,4	53	11,9	56,3	2,3	82	376	50	56
B4/B5	7,5	1,5	24	29	12,5	63,9	2,2	116	310	150	148
B6	7,7	1,96	21,4	53	14,5	67,6	3,7	121	285	225	211
C1a 1M	4,4	0,38	19,5	85	9,6	55,1	1,1	120	334	68	76
C1a 2M	4,7	0,51	22,3	98	10,4	52,0	1,4	109	300	156	241
C1b	7,6	0,79	22,6	90	10,8	65,7	2,9	96	23	617	689
C2/C3	4,5	0,35	20,6	94	9,8	57,0	1,3	97	299	105	107
C4	7,8	1,69	21,9	92	12,3	70,1	3,6	130	218	1866	1960
C5/C6	6,9	0,92	22,3	76	12,3	65,8	3,5	80	203	389	361
C7/C8	7,0	1,71	23,1	64	13,7	68,5	3,6	127	65	1275	1457
C9/C10	7,3	2,35	21	23	15	71,0	2	166	11	2881	3008
C11	8,5	3,68	-	-	15,3	72,6	0,8	187	6	-	-
D1	3,0	0,48	19,1	89	9,2	53,3	1,2	124	378	40	44
MS	8,4	0,84	24,9	63	13,3	61,7	3,7	72	348	90	76

T a b e l a 5

Charakterystyka mąk pasazowych uzyskanych z przemiału ziarna pszenicy 'Slade' w 2009 r. oraz wartości współczynników korelacji (r) wyróżników pomiędzy poszczególnymi latami.

Characteristics of passage flour obtained in 2009 and correlation coefficients between various years.

Symbol pasazu Passage Symbol	Stożenie uszkodzenia skrobi Damage degree of starch [%]	Zawartość popiołu Ash content [% d.m.]	Wydajność glutenu Gluten yield [%]	Indeks jakości glutenu Gluten Quality Index [-]	Zawartość białka ogółem Total protein content [% d.m.]	Charakterystyka farinograficzna Farinograph characteristics			Czas agregacji glutenu Gluten aggregation time [s]	Lepkość wyphywowa Batter viscosity [s]	Lepkość wyphywowa Batter viscosity after 30 min [s]
						Wodochłonność Water Absorption [%]	Czas stałości Stability Time [min]	MTI Mixing Tolerance Index [J.F.]			
B1/B2	3,8	0,42	17,3	84	8,5	39,0	1,8	126	390	35	38
B3	5,4	0,72	26,0	60	12,0	54,8	6,7	61	304	85	81
B4/B5	8,3	1,70	24,0	58	12,6	64,2	5,4	53	261	382	289
B6	8,9	2,58	23,2	91	14,6	65,2	2,5	97	290	1030	842
C1a 1M	5,2	0,43	20,0	85	9,7	53,3	1,9	101	286	95	92
C1a2M	2,5	0,43	24,0	90	10,5	53,3	4,5	70	260	196	378
C1b	7,3	0,44	24,4	69	10,8	59,9	2,4	94	225	131	140
C2/C3	8,9	0,87	22,7	81	9,8	54,8	1,7	91	64	473	500
C4	7,2	1,59	23,8	82	12,3	71,2	5,2	66	38	2244	1942
C5/C6	7,6	0,84	22,7	71	12,3	64,9	5,1	59	55	536	603

c.d. tab. 5

C7/C8	8,3	1,43	23,4	69	13,7	69,3	5,6	64	43	1114	1685
C9/C10	9,0	2,12	22,5	22	15,1	64,8	3,4	94	14	2791	2946
C11	8,8	2,31	-	-	15,2	73,2	2,6	114	33	2288	2274
DI	3,2	0,49	21,6	74	9,2	50,3	1,9	109	329	64	69
MS	8,9	1,01	25,5	80	13,3	62,3	4,7	56	292	260	250
2007:2008 r	0,994	0,920	0,847	0,725	0,999	0,914	0,626	0,656	0,736	0,940	0,957
2007:2009 r	0,991	0,971	0,497(NS)	0,735	0,999	0,914	0,879	0,599(NS)	0,727	0,826	0,931

NS – wartości nieistotne na poziomie $p = 0,01$ / insignificant values at the level of $p = 0,01$.

wraz ze wzrostem numeracji pasażu następował wzrost zawartości białka ogólnego i związków mineralnych w postaci popiołu ogólnego. Jest to typowa tendencja odnotowywana we wcześniejszych badaniach [9, 19, 24], która świadczy o tym, że kolejne mąki pasażowe pozyskiwane są z coraz bardziej peryferyjnych fragmentów ziarna, zbliżonych do okrywy. Warstwy te bogatsze są m.in. w hemicelulozy, substancje o wysokiej wodochłonności, przyczyniające się do wzrostu lepkości tworzonego ciasta.

Tabela 6

Współczynniki korelacji pomiędzy oznaczonymi wyróżnikami mąk pasażowych a parametrami jakości mąki jako surowca do produkcji wafli.

Correlation coefficients among determined discriminants of passage flours and flour quality parameters as raw material to produce wafers.

Wyróżnik Discriminant	Czas agregacji glutenu Gluten aggregation time [s]	Lepkość wypływowa Batter viscosity [s]	Lepkość wypływowa po 30 min Batter viscosity after 30 min [s]
Zawartość popiołu ogólnego Total ash content [% sm]	- 0,471	0,717	0,687
Wydajność glutenu Gluten yield [%]	- 0,222 (NS)	0,087 (NS)	0,073 (NS)
Indeks jakości glutenu Gluten Quality Index [-]	0,227 (NS)	- 0,259 (NS)	- 0,255 (NS)
Zawartość białka ogólnego Total protein content [%]	- 0,493	0,656	0,649
Stopień uszkodzenia skrobi Damage degree of starch [%]	-0,550	0,535	0,515
Wodochłonność mąki Flour water absorption [%]	-0,603	0,658	0,652
Stażność ciasta Dough stability [min]	-0,289 (NS)	0,170(NS)	0,177 (NS)
MTI [j.F.] Mixing Tolerance Index	0,152 (NS)	0,152(NS)	0,151 (NS)

n = 42; $r_{tab_{0,01}} = 0,393$; NS – wartości nieistotne / insignificant values

Wraz ze wzrostem zawartości popiołu w kolejnych mąkach pasażowych zwiększała się zawartość białka ogólnego, nie odnotowano natomiast wzrostu wydajności mokrego glutenu z tych mąk. Świadczy to o tym, że w mąkach z kolejnych pasaży zwiększał się udział białek nieglutenowych. Niezależnie od wzrastającej ogólnej za-

wartości białka, mąki te charakteryzowały się nieproporcjonalną do zawartości białka ogólnego ilością białek tworzących gluten. Jest to szczególnie zauważalne w przypadku mąki odbieranej z pasażu B6 oraz C9/C10 (w latach 2007 i 2008). Mąki te miały największą, sięgającą 15 % zawartość białka ogólnego i charakteryzowały się małą, zaledwie 18- do 22-procentową wydajnością glutenu mokrego, a w przypadku mąki z pasażu C11 nawet brakiem możliwości jego wymycia. Wskazuje to, że w mąkach pasażowych odbieranych z coraz wyższych pasażu przemiałowych, w ogólnej ilości białka zwiększał się udział białek nieglutenowych. Porównanie tych wyników z odpowiednimi dla danej mąki pasażowej wyróżnikami, takimi jak lepkość wypływową i czas agregacji glutenu wskazuje, że w przypadku mąki przeznaczonej do produkcji wafli ani mała wydajność glutenu, ani jego jakość nie są kryteriami gwarantującymi odpowiednią jakość surowca.

Charakterystycznym dla danego pasażu przemiałowego wskaźnikiem był także stopień uszkodzenia skrobi w mące. Stwierdzono wzrost uszkodzenia skrobi wraz ze wzrostem numeru pasażu. Największe wartości stopnia uszkodzenia skrobi miały mąki z ostatnich pasażu śrutowych i ostatnich pasażu wymiałowych. Pewne odstępstwo od tego trendu występowało w przypadku pasażu wymiałowego C2/C3, co prawdopodobnie było wynikiem większej granulacji mąki uzyskiwanej z tego pasażu. Potwierdzają to przypuszczenie wyniki badań Górniaka [7] oraz Ceglińskiej i wsp. [3], którzy wskazują na zależność stopnia uszkodzenia skrobi od granulacji. Podatność skrobi na uszkodzenie podczas przemiału związana jest z twardością ziarna i uznawana za cechę odmianową [8, 23], jednak badania Gutsche i wsp. [9] oraz Obuchowskiego i wsp. [19] wykazały, że w przypadku pszenic miękkich, a do takich należy odmiana 'Slade', większy wpływ na stopień uszkodzenia skrobi mają warunki przemiału ziarna. Stopień uszkodzenia skrobi ma ogromne znaczenie w przemyśle piekarskim i makaronowym. Wpływa na poziom wodochłonności mąki oraz na podatność skrobi na działanie enzymów amylolitycznych [2, 5]. Nadmienia się także o jego roli w produkcji wafli [10, 24].

Na podstawie porównania poszczególnych wyróżników fizykochemicznych i technologicznych mąk pasażowych z czasem wytrącania glutenu oraz lepkością ciasta waflowego wykazano (tab. 6), że, z wyjątkiem wydajności i jakości glutenu, pozostałe wskaźniki były z nimi wysoko istotnie skorelowane. Zawarte w tej tabeli ujemne wartości współczynników korelacji pomiędzy zawartością białka ogólnego oraz stopniem uszkodzenia skrobi z jednej strony a czasem agregacji glutenu i lepkością wypływową z drugiej strony wskazują, że aby opóźnić czas wytrącania glutenu, należy dobierać mąki pasażowe o możliwie małej zawartości białka ogólnego i małym uszkodzeniu skrobi. Wpływ uszkodzenia skrobi na czas wytrącania glutenu można tłumaczyć tym, że uszkodzona skrobia wykazuje bardzo duże powinowactwo do wody w tworzonym cieście, zwiększa gęstość ciasta i ułatwia substancjom białkowym wytworzenie typ-

wego glutenu. Zestawienie wskaźnika czasu agregacji glutenu z zawartością popiołu ogólnego wskazuje, że lepsze byłyby mąki jasne, pochodzące z pierwszych pasaży śrutowania i wymiałowych.

Wysoki dodatni współczynnik korelacji liniowej zawartości białka, poziomu uszkodzenia skrobi, a także zawartości popiołu (świadczące, że mąka pochodzi z frakcji ziarna bogatych również w polisacharydy nieskrobiowe) z lepkością ciasta waflowego bezpośrednio utworzonego oraz po 30-minutowym odstaniu wskazuje, że czynniki te mogą wyraźnie zwiększać lepkość ciasta podczas jego wytwarzania. Podobnie niekorzystne pod względem przydatności do produkcji wafli jest oddziaływanie uszkodzonej skrobi. Zwiększa ona lepkość ciasta i, tym samym, ułatwia oraz przyspiesza szybkość tworzenia glutenu, nawet przy niewielkiej jego ilości. Z tego też względu na wyróżnik ten należy zwrócić szczególną uwagę przy ocenie przydatności mąki do produkcji wafli.

Wnioski

1. Czas agregacji glutenu w przypadku mąki waflovej jest zależny przede wszystkim od ogólnej ilości białka oraz stopnia uszkodzenia skrobi. Z uwagi na czas agregacji glutenu zdecydowanie większą przydatność wykazują mąki z początkowych pasaży przemiałowych, zarówno śrutowych jak i wymiałowych, o małej zawartości białka ogółem i relatywnie niskim stopniu uszkodzenia skrobi.
2. Większa zawartość białka ogólnego oraz duży stopień uszkodzenia skrobi w mące z końcowych pasaży przemiałowych są przyczyną zbyt dużej lepkości ciasta waflowego i z tego względu przydatność mąki z tych pasaży jako surowca do produkcji wafli jest zdecydowanie ograniczona.

Literatura

- [1] AACC Approved Methods. 76-30A. Determination of Damaged Starch. 10-th Edition, 2000.
- [2] Achremowicz B., Berski W., Gambuś H.: Wykorzystanie metody SRC (Solvent Retention Capacity) do oceny jakości technologicznej mąk pszennych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **6 (73)**, 34-45.
- [3] Ceglińska A., Szajewska A., Haber T.: Mechaniczne uszkodzenie skrobi a wartość wypiekowa mąki. *Przegl. Zboż. Młyn.*, 2007, **10**, 13-14.
- [4] Dzugasova J., Dodok L., Varga S., Gajdosikova M.: FlieBeigenschaften von Waffelteigen. *Die Nahrung*, 1989, **33 (10)**, 957-964.
- [5] Fortuna T., Gałkowska D.: Wpływ dodatku sacharydów na właściwości reologiczne skrobi modyfikowanych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **4 (49)**, 5-18.
- [6] Gluszczyński M., Hanneforth U., Lindhauer M.G., Brummer J.M.: Backergebnisse bei Flachwaffeln und Hartkeksen nach Vorbeurteilung der Massen durch den Glutenaggregatiestest. (Bundesanstalt für Getreide, Kartoffel und Fettforschung, Detmold) *Getreide Mehl und Brot*, 2001, **55 (5)**, 299-306.

- [7] Górniak W.: Określenie korelacji między stopniem rozdrobnienia mąki pszennej a stopniem uszkodzenia skrobi. *Przegl. Zboż.-Młyn.*, 2006, **12**, 24-26.
- [8] Grundas S., Hnilica P.: Typ endospermu ziarna pszenicy a jego właściwości mechaniczne. *Zesz. Problem. Post. Nauk Roln.*, 1987, **320**, 127-133.
- [9] Gutsche M., Obuchowski W., Makowska A.: Ocena przydatności mąk pasażowych z przemiału pszenicy do produkcji wafli. *Aparatura Badawcza i Dydaktyczna, COBRABiD*, 2008, **4**, 62-67.
- [10] Hanneforth U., Zwingelberg H., Gebhard M.: Mehle für besondere Verwendungszwecke. 3. Mitteilung: Untersuchung zur Charakterisierung von Weizenmehlen zur Herstellung von Flachwaffeln. *Getreide Mehl und Brot*, 1997, **51 (4)**, 227-231.
- [11] ICC STANDARD No. 104/1. Determination of Ash in Cereals and Cereal Products.
- [12] ICC STANDARD No. 105/2. Determination of Crude Protein in Cereals and Cereal Products for Food and for Feed.
- [13] ICC STANDARD No. 155. Determination of Wet Gluten Quantity and Quality of Whole Wheat Meal and Wheat Flour.
- [14] ICC STANDARD No. 107/1. Determination of the "Falling Number" according to Hagberg–Perten as a Measure of the Degree of Alpha-Amylase Activity in Grain and Flour.
- [15] Jurga R. Charakterystyka jakościowa i zasady produkcji mąk pszennych o specjalnym przeznaczeniu. *Przegl. Zboż. Młyn.*, 2008, **3**, 38-40.
- [16] Klockiewicz-Kamińska E.: Pszenica ciastkowa. *Przegl. Zboż. Młyn.*, 2003, **12**, 6-7.
- [17] Kramer A., Twigg B.A.: *Quality Control for the Food Industry*. The AVI Publ. Comp. Inc., Westport, Conn. 1970.
- [18] Sadkiewicz K., Sadkiewicz J., Sadkiewicz J.: *Bydgoska aparatura do badania zboża, mąki i pieczywa*. Wyd. ATR, Bydgoszcz, 2004
- [19] Obuchowski W., Salmanowicz B., Banaszak Z., Adamski T., Surma M., Kaczmarek Z., Majcher M., Ługowska B., Kuczyńska A., Krystkowiak K.: Grain hardness of wheat bred in Poland and its relationship to starch damage during milling. *Int. Agrophysics*, 2010, **1**, 69-74.
- [20] PN-A-74010:1991P. Ziarno zbóż i przetwory zbożowe. Oznaczanie wilgotności (rutynowa metoda odwoławcza).
- [21] PN-EN ISO 7971-3:2010P. Ziarno zbóż. Oznaczanie gęstości w stanie zsypanym, zwanej masą hektolitrową. Część 3: Metoda rutynowa.
- [22] PN ISO 5530-1. Mąka pszenna. Fizyczne właściwości ciasta. Oznaczanie wodochłonności i właściwości reologicznych za pomocą farinografu.
- [23] Salmanowicz B.P., Adamski T., Surma M., Kaczmarek Z., Krystkowiak K., Kuczyńska A., Banaszak Z., Ługowska B., Majcher M., Obuchowski W.: The Relationship between grain hardness, dough mixing parameters and bread-making quality in winter wheat. *Int. J. Molec. Sci.*, 2012, **(13)**, 4186-4201.
- [24] Tiefenbacher K., Dobrovics M.: Mehle für die Waffelherstellung. *Getreide, Mehl und Brot*, 1999, **53, (6)**, 349- 353.

FACTORS TO SHAPE QUALITY CHARACTERISTICS OF FLOUR FOR WAFER PRODUCTION

S u m m a r y

The usefulness of wheat passage flours for wafer production was studied. Grains of a 'Slade' variety of wheat were milled in a commercial mill. 15 streams of flour were obtained from the following passage flours: break flours, reduction flours, sorter flour, and flour from bran brusher. The flours obtained dif-

ferred in their chemical composition and in the rheological properties of the dough made thereof. The flours from the first breaks and the first reduction rolls as well as the flours from the sorter and bran brusher showed the most convenient technological characteristics for the industrial production of wafers, i.e. long time of gluten aggregation and a relatively low batter viscosity. No correlations were found among the gluten yield and its quality, and the time of gluten aggregation and batter viscosity. It was proved that the low efficiency of wet gluten and its quality are not the appropriate criteria for assessing flour usefulness for wafer production. A negative correlation was found among the batter viscosity and gluten aggregation time, and the content of total protein and the damage degree of starch. To produce wafers, those passage flours are the most useful that show a relatively low protein content and a low damage degree of starch.

Key words: wafer flour, batter viscosity, damage degree of starch, gluten aggregation ☒

KATARZYNA SUJKA, PIOTR KOCZOŃ, AGATA GÓRSKA,
MAGDALENA WIRKOWSKA, MAGDALENA REDER

SENSORYCZNE I SPEKTRALNE CECHY WYBRANYCH WYROBÓW SPIRYTUSOWYCH PODDANYCH PROCESOWI LIOFILIZACJI

Streszczenie

Celem przeprowadzonych badań była ocena sensoryczna i spektralna wyrobów spirytusowych typu: wódka, gin, whisky oraz brandy poddanych procesowi liofilizacji. Zamrożone próbki (-80 °C) poddawano liofilizacji w liofilizatorze ALPHA1-4 LDC-1m firmy Christ. Proces prowadzono przy stałych parametrach: ciśnienie 63 Pa, ciśnienie bezpieczeństwa 103 Pa, czas 1,5 h. Przeprowadzono analizę sensoryczną metodą profilowania z wykorzystaniem jednobiegunowych skal kategorii. Zarejestrowano widma w podczerwieni otrzymanych liofilizatów techniką transmisyjną w filmie przy użyciu płytek wykonanych z kryształów KRS w zakresie spektralnym 4000 - 370 cm^{-1} . Dane spektralne analizowano wykorzystując moduł analizy dyskryminacyjnej w programie OMNIC 8. Przy zastosowanych parametrach procesu w pierwszej kolejności parował etanol, co skutkowało otrzymaniem mieszanin bezalkoholowych. Proces liofilizacji może być więc łagodnym sposobem pozbywania się etanolu i wody z mieszaniny z zachowaniem innych ważnych składników, takich jak: barwniki, substancje smakowe czy aromaty.

Słowa kluczowe: liofilizacja, wyroby spirytusowe, spektroskopia FT-IR

Wprowadzenie

Liofilizacja jest procesem polegającym na usunięciu wody z zamrożonego produktu w wyniku sublimacji lodu. Proces przebiega w temperaturze poniżej 0 °C i pod zmniejszonym ciśnieniem. Usuwanie wody następuje poniżej punktu potrójnego [9, 16].

Suszenie sublimacyjne jest procesem złożonym. Pierwszy etap obejmuje zamrożenie pod ciśnieniem atmosferycznym materiału przeznaczonego do suszenia. Dalej następuje zmniejszenie ciśnienia oraz dostarczenie ciepła do podtrzymania sublimacji lodu, a finalnym etapem jest dosuszenie materiału do żądanej wilgotności końcowej [4]. Usunięcie wody z materiału przy niskiej temperaturze powoduje, że większość

Mgr inż. K. Sujka, dr hab. P. Koczoń, dr A. Górską, dr inż. M. Wirkowska, mgr inż. M. Reder, Katedra Chemii, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159C, 02-776 Warszawa

reakcji chemicznych i mikrobiologicznych zostaje zahamowana, dzięki czemu uzyskuje się produkt o dobrej jakości i trwałości [14, 18]. Najważniejszymi parametrami wpływającymi na jakość produktów liofilizowanych, takich jak barwa i właściwości fizyczne, są: zadane ciśnienie, temperatura płyt grzejnych oraz szybkość mrożenia materiału [7, 17].

Liofilizację stosuje się głównie do obróbki owoców i warzyw ze względu na znacznie lepszą jakość produktu końcowego w porównaniu z suszeniem konwekcyjnym tych surowców. Na skalę przemysłową technika ta znalazła zastosowanie w produkcji kawy rozpuszczalnej i przypraw. Podstawową przeszkodą w jej upowszechnieniu w przemyśle są względy ekonomiczne (duże koszty oraz długi czas prowadzenia procesu) [17, 20]. W licznych publikacjach autorzy informują o laboratoryjnym zastosowaniu liofilizacji m.in. do suszenia truskawek [6, 17], jabłek [7], pomidorów [5] czy selera [11]. Produkty liofilizowane stosowane są jako dodatki smakowe oraz składniki takich potraw, jak: słodycze, jogurty, sosy, dressingi, zupy błyskawiczne. Wykorzystywane są także w gastronomii i w żywieniu żołnierzy [20]. Brak jest natomiast danych o zastosowaniu liofilizacji w przetwórstwie wyrobów spirytusowych. Pod względem chemicznym interesujące jest, czy i jakie zmiany następują w wyrobach spirytusowych pod wpływem suszenia sublimacyjnego, z tego względu zasadne jest podjęcie tego tematu.

Wyroby spirytusowe są produktami składającymi się z wody i etanolu oraz składników będących pozostałością po procesie destylacji lub dodawanych w trakcie procesu technologicznego. W produktach alkoholowych występują związki z grupy aldehydów, alkoholi wyższych (fuzli) oraz estrów. Whisky i brandy zawierają także charakterystyczne związki aromatyczne i smakowe (z grupy aldehydów, ketonów, kwasów karboksylowych czy fenoli) oraz barwniki, ekstrahowane z beczek dębowych, w których napoje były przechowywane w trakcie leżakowania. W produkcji ginów stosowane są przyprawy, takie jak: anyż, kminek, arcydzięgiel, kardamon, liść laurowy czy lukrecja, które determinują cechy sensoryczne i jakość wyrobu końcowego. Obecność związków z poszczególnych grup wyrobów spirytusowych determinuje ich jakość, w tym walory smakowo-zapachowe [2, 10, 12, 15].

Celem niniejszej pracy było określenie cech sensorycznych i spektralnych produktów otrzymanych w wyniku liofilizacji wyrobów spirytusowych typu: wódka, gin, whisky i brandy. W badaniach sprawdzono, czy otrzymane liofilizaty można dyskryminować za pomocą modeli statystycznych obliczonych na podstawie danych uzyskanych za pomocą spektroskopii FT-IR.

Material i metody badań

Materiał do badań stanowiły wyroby spirytusowe typu: wódka czysta (14 rodzajów), whisky (12 rodzajów), gin (4 rodzaje) oraz brandy (4 rodzaje), zakupione w war-

szawskich sklepach. Próbkki zostały zakodowane, w przypadku wódek czystych zastosowano oznaczenia: w1 - w14, natomiast próbki ginów, brandy i whisky oznaczono odpowiednio: g1 - g4, b1 - b4, wh1 - wh12.

Przed procesem liofilizacji badane napoje spirytusowe zamrażano w zamrażarce komorowej w temp. $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ przez 24 h. Następnie poddawano je liofilizacji w liofilizatorze ALPHA1-4 LDC-1m firmy Christ. Proces prowadzono przy stałych parametrach: ciśnienie 63 Pa, ciśnienie bezpieczeństwa 103 Pa, czas 1,5 h.

Analizę sensoryczną prowadzono metodą profilowania z wykorzystaniem jednobiegunowych skal kategorii (ocena smaku i zapachu). Ocenę przeprowadzał zespół składający się z 5 przeszkolonych osób [1, 13]. W metodzie profilowania zastosowano 7-punktową skalę kategorii, w której najwyższe noty na skali oznaczały najwyższą intensywność badanej cechy [8].

W kolejnym etapie badań zarejestrowano w podczerwieni widma liofilizatów techniką transmisyjną w filmie przy użyciu kryształu z KRS (nazwa handlowa, pod względem chemicznym jest to jodobromek talu, TlBrI) w zakresie spektralnym $4000 - 370\text{ cm}^{-1}$. Do rejestracji zastosowano spektrometr Perkin Elmer System 2000 sterowany za pomocą programu GRAMS Research, rozdzielczość wynosiła 4 cm^{-1} . Z każdej próbki zarejestrowano 10 widm, a w każdym procesie rejestracji wykonywano 25 skanów.

Do analizy uzyskanych danych spektralnych wykorzystano moduł analizy dyskryminacyjnej w programie OMNIC 8. Program wykorzystywany jest do przetwarzania danych spektralnych, tzn. do konstrukcji oraz walidacji modelu statystycznego i jest niezbędny każdorazowo do analizy nieznannej próbki, poprzez wprowadzenie do opracowanego modelu zarejestrowanych dla niej danych spektralnych.

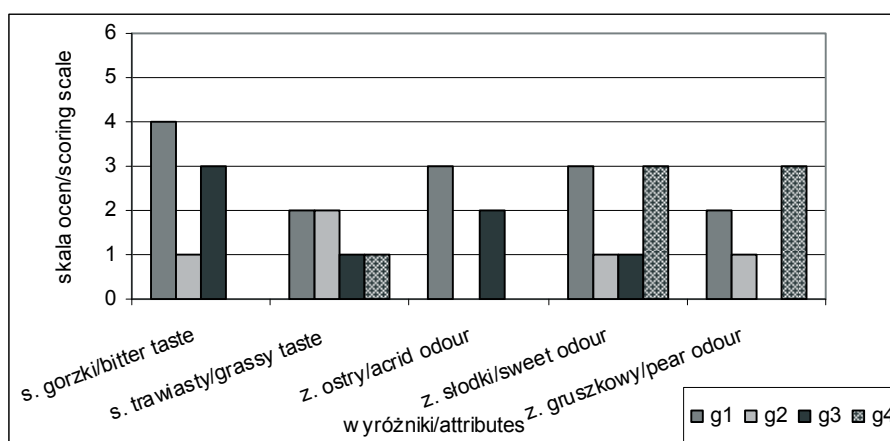
Wyniki i dyskusja

W trakcie procesu liofilizacji napoje spirytusowe przyjmowały postać ciała stałego o puszystej, porowatej strukturze. Wyroby spirytusowe w temperaturze pokojowej zawierają głównie składniki ciekłe, dlatego liofilizaty po zakończeniu procesu i wyjęciu z urządzenia przybierały postać ciekłą. Ze względu na skład napojów alkoholowych proces ich suszenia sublimacyjnego wymaga krótkiego czasu. Występują w nich związki o temp. wrzenia niższych od wody, tj. etanol ($78,3\text{ }^{\circ}\text{C}$), metanol ($64,5\text{ }^{\circ}\text{C}$) czy akroleina ($52,7\text{ }^{\circ}\text{C}$). Po całkowitym usunięciu wody z badanych próbek ich pozostałość byłaby za mała do przeprowadzenia analizy. Z tego powodu proces liofilizacji zakończono po 1,5 h. Umieszczenie próbek liofilizatów w zamrażarce (o temp. mrożenia $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$) powodowało ich szybkie zamarznięcie, co świadczy o znacznym podwyższeniu temperatury zamarzania w porównaniu z roztworem przed liofilizacją.

Produkty barwne (whisky, brandy) nabrały wyraźnie intensywniejszej barwy, co było spowodowane zmniejszeniem objętości próbek, a tym samym wzrostem stężenia

barwników. Ponadto, w czasie liofilizacji w niektórych częściach badanej próbki zaobserwowano wyraźne zbrunatnienie.

Wyroby spirytusowe poddane liofilizacji oceniono sensorycznie, metodą profilowania, pod względem smaku i zapachu. W ginach zidentyfikowano dwa wyróżniki smaku: gorzki i trawiasty oraz trzy wyróżniki zapachu: ostry, słodki i gruszkowy. Wyniki oceny sensorycznej ginów przedstawiono na rys. 1.



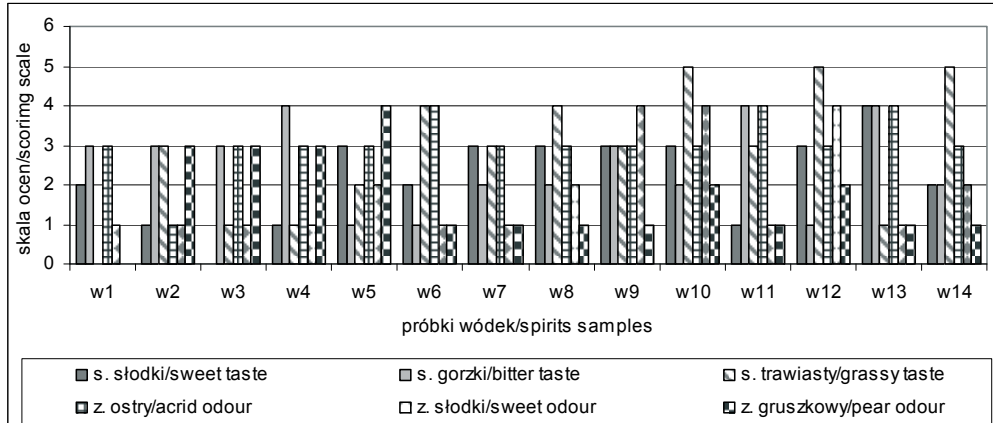
Rys. 1. Wyniki oceny sensorycznej ginów, s – smak, z – zapach, g1-g4 kody próbek ginów.

Fig. 1. Results of sensory assessment of gins, s – taste, z – odour, g1-g4 codes of gin samples.

Liofilizaty ginów charakteryzowały się słabo wyczuwalnym smakiem i zapachem. Podczas analizy profilowej ginu stwierdzono największą intensywność smaku gorzkiego w próbce ginu g1, natomiast w ginie g4 smak ten nie został zidentyfikowany. W próbkach ginu g2 i g4 nie zidentyfikowano zapachu ostrego, a w przypadku ginu g3 zapachu gruszkowego.

Wyniki analizy profilowej wódek czystych przedstawiono na rys. 2. W tej grupie liofilizatów określono trzy wyróżniki smaku: słodki, gorzki i trawiasty oraz trzy wyróżniki zapachu: ostry, słodki i gruszkowy.

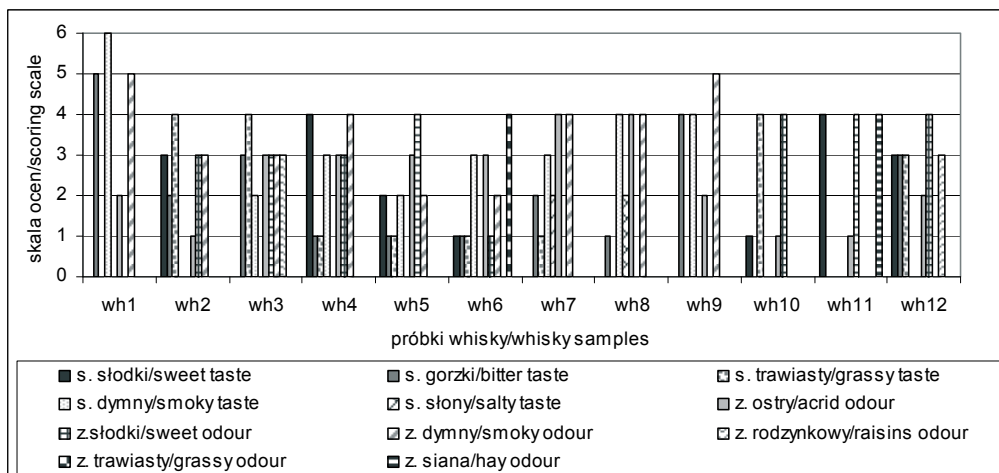
Wódki czyste charakteryzowały się intensywniejszymi właściwościami smakowo-zapachowymi niż giny. Najbardziej wyczuwalny był smak trawiasty, natomiast w przypadku wyróżników zapachu dominował ostry. Deskryptor smaku trawiastego został najwyżej oceniony (po 5 pkt) w próbkach wódki w10, w12 oraz w14, natomiast najintensywniejszy zapach ostry zanotowano w wódkach w6 i w11.



Rys. 2. Wyniki oceny sensorycznej wódek czystych, s – smak, z – zapach, w1-w14 kody próbek wódek czystych.

Fig. 2. Results of sensory assessment of vodka, s – taste, z – odour, w1-w14 codes of vodka samples.

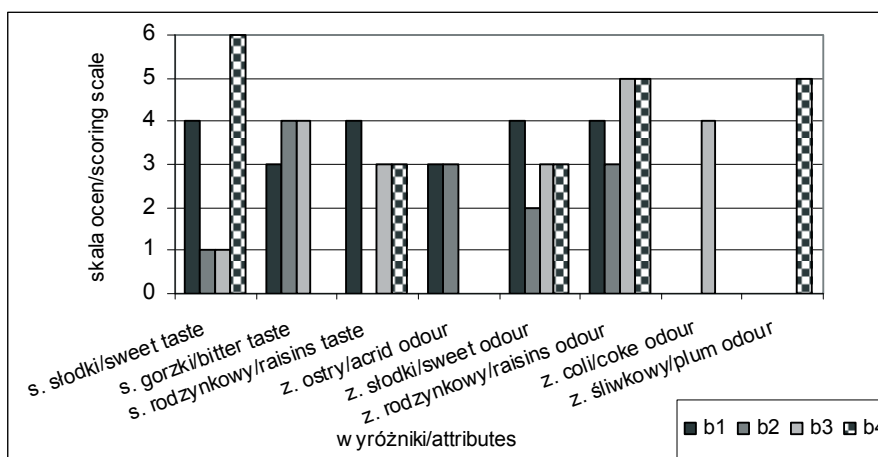
Oceniając whisky wyróżniono pięć deskryptorów smaku: słodki, gorzki, trawiasty, dymny, słony oraz sześć deskryptorów zapachu: ostry, słodki, dymny, rodzynkowy, trawiasty i siana. Natomiast w brandy określono trzy deskryptory smaku: słodki, gorzki, rodzynkowy oraz pięć deskryptorów zapachu: ostry, słodki, rodzynkowy, zapach coli i śliwkowy. Wyniki analizy profilowej produktów typu whisky i brandy przedstawiono na rys. 3. i 4.



Rys. 3. Wyniki oceny sensorycznej whisky, s – smak, z – zapach, wh1-wh12 kody próbek whisky.

Fig. 3. Results of sensory assessment of whisky, s – taste, z – odour, wh1-wh12 codes of whisky samples.

W próbkach whisky dominował smak słodki. W dziewięciu spośród dwunastu badanych rodzajów whisky dodatkowo zaobserwowano smak dymny o różnym nasileniu, charakterystyczny dla szkockiej whisky. W próbkach whisky wh7 i wh8 stwierdzono smak słony (2 pkt dla każdej z próbek). W przypadku wyróżników zapachu najwyższe noty przypisano zapachowi dymnemu w próbkach whisky wh1 i wh9 (5 pkt). Deskryptory zapachu rodzynekowego, trawiastego i siana były wyczuwalne tylko w niektórych próbkach whisky. Zapach rodzynekowy został zidentyfikowany w whisky wh3 i wh12 na poziomie 3 pkt. Zapach trawiasty wyróżniono w whisky wh6 (4 pkt), natomiast zapachem siana charakteryzowała się whisky wh11 (4 pkt).



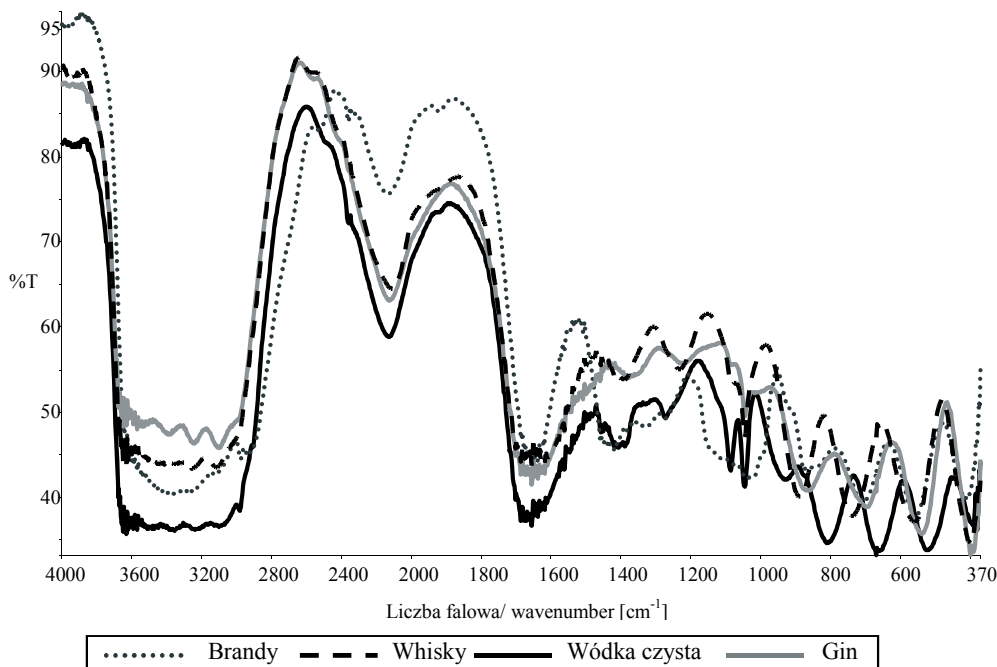
Rys. 4. Wyniki oceny sensorycznej brandy, s – smak, z – zapach, b1-b4 kody próbek brandy.

Fig. 4. Results of sensory assessment of brandy, s – taste, z – odour, b1-b4 codes of brandy samples.

W produktach typu brandy dominował smak i zapach słodki oraz rodzynekowy. Próbkę brandy b2 i b3 charakteryzowały się smakiem gorzkim (4 pkt). Zapach coli został zidentyfikowany wyłącznie w produkcie b3 (4 pkt), natomiast intensywnym zapachem śliwkowym charakteryzowała się próbka b4.

Smak i zapach ostry oraz trawiasty w wyrobach spirytusowych przypisywany jest występowaniu w nich związków sześciowęglowych [3]. Z kolei smak słodki występujący w wyrobach typu whisky i brandy może być związany z obecnością karmelu, który jest w nich dozwolony jako środek barwiący [19].

Próbki uzyskane w wyniku liofilizacji analizowano za pomocą spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FT-IR). Na rys. 5. przedstawiono przykładowe widma w podczerwieni badanych mieszanin. Otrzymane widma umożliwiły wizualną ocenę w celu znalezienia fragmentów, które mogą odpowiadać za zmienność i różnorodność poszczególnych napojów spirytusowych.



Rys. 5. Widma w podczerwieni analizowanych czterech typów wyrobów spirytusowych w zakresie spektralnym 4000 - 370 cm^{-1} , %T – transmitancja.

Fig. 5. IR spectra of four types of analyzed spirit beverages in spectral range of 4000–370 cm^{-1} , %T – transmittance.

Widma podzielono na 4 grupy i dla każdej z nich utworzono dyskryminacyjny model statystyczny, w którym analizowano wybrane zakresy spektralne, podane poniżej. Do utworzenia każdego modelu zastosowano procedurę z walidacją krzyżową polegającą na pozostawieniu jednego widma jako nieznanego. W przypadku próbek whisky (łącznie 120 widm) wykorzystano zakres 1240 - 1109 cm^{-1} oraz 842 - 390 cm^{-1} , brandy (łącznie 40 widm) 750 - 400 cm^{-1} , ginów (łącznie 40 widm) 935 - 405 cm^{-1} , a próbek wódek czystych (łącznie 140 widm) 855 - 371 cm^{-1} . Otrzymano cztery niezależne modele statystyczne nazwane WHISKY, BRANDY, WÓDKA, GIN. W tab. 1. przedstawiono parametry charakteryzujące każdy z modeli.

Analiza dyskryminacyjna służy do identyfikacji lub określenia jakości nieznannej próbki. Opracowany model dyskryminacyjny wskazuje na statystycznie istotne podobieństwo lub brak podobieństwa do próbek użytych przy konstrukcji modelu. Potwierdzenie przynależności nieznannej próbki do jednej z utworzonych grup następuje na podstawie odległości Mahalanobisa. W tab. 2. przedstawiono wyniki dotyczące zastosowania opracowanych modeli do identyfikacji nieznanek próbek.

Tabela 1

Parametry charakteryzujące poszczególne modele dyskryminacyjne.
Parameters to characterize individual discriminant models.

Model	Liczba czynników Number of factors	F. Test (rev)	[%] wariacji [%] of variance	Wartość własna macierzy Eigen value of matrix
GIN	4	0,9978	93,93	$2,53 \times 10^{-7}$
WÓDKA / VODKA	4	0,9999	98,15	$4,26 \times 10^{-7}$
BRANDY	5	0,9955	99,82	$1,03 \times 10^{-8}$
WHISKY	4	0,9989	96,73	$4,68 \times 10^{-7}$

Tabela 2

Udział próbek odrzuconych (NIE) lub zaakceptowanych (TAK) do danej grupy liofilizatów przez opracowane modele [%].
Per cent content of samples rejected (NO) or accepted (YES) to given lyophilized products group by models developed [%].

Model	Gin		Wódka Vodka		Brandy		Whisky	
	Nie No	Tak Yes	Nie No	Tak Yes	Nie No	Tak Yes	Nie No	Tak Yes
GIN	0	100	75	20	95	2	80	10
WÓDKA / VODKA	97	1	0	100	100	0	73	8
BRANDY	99	0	63	18	0	100	58	17
WHISKY	71	18	70	15	60	30	0	100

Suma w poszczególnych przypadkach nie zawsze wynosi 100, co oznacza, że pozostałe próbki były zakwalifikowane jako niepewne / In some cases the sum is lower than 100, which means that the rest samples were qualified as possible.

Najlepsze wyniki uzyskano w przypadku modelu WÓDKA, który sklasyfikował prawidłowo wszystkie próbki należące do tej grupy liofilizatów. Odrzucił natomiast 97 % liofilizatów ginów, 100 % brandy oraz 73 % whisky. Charakteryzował się zatem największą siłą przewidywania. Wynika to prawdopodobnie z dużej liczby próbek użytych do konstrukcji tego modelu.

Model GIN sklasyfikował 100 % liofilizatów ginów jako próbki należące do tej grupy. W przypadku liofilizatów wódek czystych, brandy i whisky błędnie zaakceptował odpowiednio 20, 2 i 10 % próbek.

Modele BRANDY i WHISKY właściwie akceptowały próbki należące do tych grup (100 %). 18 % wódek i 17 % whisky zostało nieprawidłowo sklasyfikowanych jako liofilizaty brandy, natomiast model WHISKY mylił się w przypadku 18 % ginów, 15 % wódek i aż 30 % brandy.

Wnioski

1. Przy zastosowanych parametrach suszenia sublimacyjnego w pierwszej kolejności parował etanol, co skutkowało otrzymaniem produktów bezalkoholowych. Proces ten może być łagodnym sposobem pozbywania się etanolu i wody z produktu, zachowując składniki aromatyczne. Zastosowanie suszenia sublimacyjnego do wyrobów spirytusowych wymaga krótkiego czasu prowadzenia procesu.
2. Po procesie liofilizacji otrzymuje się produkt o smaku whisky, brandy czy ginu, który może posłużyć do produkcji napojów bezalkoholowych lub innych wyrobów. Wykorzystanie suszenia sublimacyjnego stwarza także możliwość regulowania zawartości etanolu, np. w produkcji napojów o obniżonej zawartości alkoholu.
3. Najintensywniejszym smakiem i zapachem charakteryzowały się liofilizaty brandy i whisky. W przypadku brandy dominował smak i zapach słodki, rodzynekowy, co związane jest z możliwością dodawania do tej grupy wyrobów spirytusowych karmelu. Z kolei w liofilizatach whisky najwyraźniej odczuwalny był smak i zapach dymu. Produkty otrzymane po liofilizacji ginów i wódek cechowały się walorami smakowo-zapachowymi o niższej jakości. Dominował smak gorzki, trawiaisty, a intensywność określonych deskryptorów smaku i zapachu była mniejsza.
4. Liofilizacja może przyczynić się do poprawy siły przewidywania modeli dyskryminacyjnych. Usunięcie większości wody i etanolu pozwala na uwidocznienie pasm związanych z występowaniem związków charakterystycznych dla danej grupy produktu czy producenta.

Badania były finansowane z projektu NCN nr: N N312 463440.

Literatura

- [1] Barylko-Pikielna N., Matuszewska I.: *Sensoryczne badania żywności. Podstawy – metody – zastosowania.* Wyd. Nauk. PTTŻ, Kraków 2009.
- [2] Dragone G., Mussatto S.I., Oliveira J.M., Teixeira J.A.: Characterization of volatile compounds in an alcoholic beverage produced by whey fermentation. *Food Chem.*, 2009, **112**, 929-935.
- [3] Dziekońska U., Balcerek M.: Niekorzystne składniki spirytusów i napojów alkoholowych. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2010, **6**, 29-31.
- [4] Gawlik P.: Liofilizacja żywności w aspekcie przemian fazowych roztworów amorficznych. [online]. PPR.pl [dostęp: 5.06.2012]. Dostępna w internecie: <http://www.ppr.pl/arttykul-liofilizacja-zywnosci-w-aspekcie-przemian-fazowych-2901.php>


- [5] Georgé S., Tourniaire F., Gautier H., Goupy P., Rock E., Caris-Veyrat C.: Changes in the contents of carotenoids, phenolic compounds and vitamin C during technical processing and lyophilisation of red and yellow tomatoes. *Food Chem.*, 2011, **124**, 1603-1611.
- [6] Hammami C., Rene F.: Determination of Freeze-drying Process Variables for Strawberries. *J. Food Engin.*, 1997, **32**, 133-154.
- [7] Hammami Ch., René F., Marin M.: Process-quality optimization of the vacuum freeze-drying of apple slices by the response surface method. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 1999, **34 (2)**, 145-160.
- [8] Jaworska D., Świdzki F.: Zastosowanie metody profilowania sensorycznego w kontroli jakości i stabilności chipsów ziemniaczanych. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 2005, **246 (4)**, 193-204.
- [9] Kondratowicz J., Burczyk E., Janiak: Liofilizacja jako sposób utrwalania żywności. *Chłodnictwo*, 2009, **54, 1-2**, 58-61.
- [10] Kotarska K., Żakowicz A., Czupryński B.: Ocena zawartości produktów ubocznych weryfikujących jakość spirytusu surowego. *Inż. Ap., Chem.*, 2011, **50, 3**, 41-42.
- [11] Kozak P, Lis T.: Wpływ temperatury płyt grzejnych liofilizatora na cechy jakościowe suszu z selera. *Zesz. Nauk. Polit. Łódz.*, 1999, **821**, 63-68.
- [12] MacNamara K., Lee M., Robbat Jr. A.: Rapid gas chromatographic analysis of less abundant compounds in distilled spirits by direct injection with ethanol-water venting and mass spectrometric data deconvolution. *J. Chromatogr. A*, 2010, **1217**, 136-142.
- [13] Matuszewska I.: Przydatność sensorycznej metody profilowej w interpretacji preferencji konsumenckich wybranych produktów. *Żywność. Technologia. Jakość*, 1998, **1 (14)**, 5-21.
- [14] Mellor J.D., Bell G.A.: Freeze-drying. In: *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* (eds. B Caballero, LC Trugo, PM Finglas). Academic Press Elsevier Science Ltd., Oxford, UK, 2003.
- [15] Mosedale J.R., Puech J-L.: Wood maturation of distilled beverages. *Trends Food Sci. Technol.*, 1998, **9**, 95-101.
- [16] Pijanowski E, Dłużewski M, Dłużewska A, Jarczyk A.: *Ogólna technologia żywności*. WNT, Warszawa 2004.
- [17] Piotrowski D., Biront J., Lenart A.: Barwa i właściwości fizyczne odwadnianych osmotycznie i suszonych sublimacyjnie truskawek. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **4 (49)**, 216-226.
- [18] Ratti C.: Hot air and freeze drying of high value foods. *J. Food Eng.*, 2001, **49**, 311-319.
- [19] Rozporządzenie (WE) nr 110/2008 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 15 stycznia 2008 r. w sprawie definicji, opisu, prezentacji, etykietowania i ochrony oznaczeń geograficznych napojów spirytusowych oraz uchylające rozporządzenie Rady (EWG) nr 1576/89. *Dz.U. UE L 39*, s. 16-54, z 13.2.2008.
- [20] Rząca M., Witrowa-Rajchert D.: Suszenie żywności w niskiej temperaturze. *Przem. Spoż.*, 2007, **4**, 30-35.

SENSORY AND SPECTRAL CHARACTERISTICS OF SELECTED FREEZE-DRIED SPIRIT BEVERAGES

S u m m a r y

The objective of this study was the sensory and spectral assessment of spirits beverages, such as vodka, gin, whisky, and brandy that underwent a process of lyophilisation. Freezed samples of spirit beverages (-80 °C) were lyophilized in an ALPHA1-4 LDC-1m (Christ company) lyophilizator. The process parameters were constant, i.e.: pressure: 63 Pa; safety pressure: 103 Pa; time: 1.5 h. The sensory analysis was conducted using a profiling method with uni-polar category scale. Infrared spectra of freeze-dried liquid materials were registered by a transmittance method with the use of KRS crystal plates in the classic spec-

tral range of 4000 - 370 cm^{-1} . The spectral data were analyzed by a discriminant analysis module of the Omnic 8 software. With the process parameters applied, ethanol was the first to evaporate and, therefore, the obtained mixtures were alcohol-free. Thus, the lyophilisation process can be a gentle way to remove ethanol and water from a mixture and, at the same time, to save other important ingredients, such as dyes, flavours, or aromas.

Key words: freeze-drying, spirit beverages, FT-IR spectroscopy 

BEATA ŚLASKA-GRZYWNA, DARIUSZ ANDREJKO,
IZABELA KUNA-BRONIOWSKA, AGNIESZKA SAGAN,
AGATA BLICHARZ-KANIA

KSZTAŁTOWANIE WYBRANYCH WŁAŚCIWOŚCI TEKSTURALNYCH DYNI OPTYMALIZOWANĄ OBRÓBKĄ CIEPLNĄ

Streszczenie

W pracy określono wpływ obróbki cieplnej prowadzonej w piecu konwekcyjno-parowym przy różnych parametrach ogrzewania na zmiany wybranych właściwości teksturalnych dyni odmiany 'Aura F1'. Próbki miąższu ogrzewano w piecu w temperaturze 80 i 100 °C, przy różnym dodatku pary wodnej (od 0 do 100 %) przez 5, 10, 15, 20 i 25 min. Następnie poddawano je badaniom wytrzymałościowym, mierząc twardość, sprężystość i żujność.

Stwierdzono, że efektem ogrzewania w piecu konwekcyjno-parowym były zmiany właściwości teksturalnych miąższu dyni, tj. twardości, sprężystości i żujności. Zakres i charakterystyka tych zmian były uzależnione od przyjętych w programie badawczym parametrów procesu, tj. temperatury i czasu ogrzewania oraz ilości dodawanej pary wodnej. Już po 5-minutowej obróbce cieplnej obserwowano zmniejszenie wartości badanych właściwości miąższu dyni. Na podstawie drzew klasyfikacyjnych i regresyjnych stwierdzono, że największy wpływ na zmiany twardości, żujności i sprężystości miąższu dyni miała dodawana para wodna, w mniejszym stopniu czas i temperatura ogrzewania. Twardość miąższu dyni ulegała znaczącemu zmniejszeniu pod wpływem nawet najmniejszego (20-procentowego) dodatku pary wodnej. Dalszy wzrost ilości dodawanej pary wodnej nie powodował tak radykalnego zmniejszania twardości. Podobne zależności stwierdzono w przypadku żujności miąższu dyni – 20-procentowy dodatek pary wodnej wpływał na zmniejszenie żujności niezależnie od temperatury i czasu ogrzewania. Dalsze zwiększanie ilości pary wodnej nie powodowało statystycznie istotnych zmian wartości tego parametru. Przy pomiarze sprężystości nie stwierdzono tak jednoznacznego wpływu parametrów ogrzewania. Podobnie, jak w przypadku twardości i żujności, największy wpływ na zmiany sprężystości miała ilość dodawanej pary wodnej, jednak przebieg tych zmian był niejednoznaczny.

Słowa kluczowe: dynia, obróbka cieplna, piec konwekcyjno-parowy

Dr hab. inż. B. Ślaska-Grzywna, prof. dr hab. inż. D. Andrejko, dr A. Sagan, mgr inż. A. Blicharz-Kania, Katedra Biologicznych Podstaw Technologii Żywności i Pasz, Wydz. Inżynierii Produkcji, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Doświadczalna 50 A, 20-236 Lublin, dr hab. I. Kuna-Broniowska, Katedra Zastosowań Matematyki i Statystyki, Wydz. Inżynierii Produkcji, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin

Wprowadzenie

Dynia olbrzymia (*Cucurbita maxima* Duch.) jest gatunkiem charakteryzującym się dużą plennością w polskich warunkach klimatycznych. Owoce są dobrym, niskokalorycznym surowcem do przetwórstwa, bogatym przede wszystkim w karotenoidy. Poza tym zawierają znaczną ilość witamin: C, E, B₆, a także pierwiastki: potas, fosfor, magnez, żelazo i selen [7, 20]. Owoce dyni można wykorzystać zarówno do produkcji przetworów słonych, jak i słodkich. Duża zawartość karotenoidów, mała zdolność do wiązania azotanów i metali ciężkich oraz brak konieczności stosowania w jej uprawie herbicydów sprawiają, że dynia jest cennym surowcem dla przemysłu spożywczego [5, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 18].

Przed spożyciem owoce dyni poddawane są różnym zabiegom, najczęściej cieplnym, w efekcie których ich właściwości (np. sensoryczne, teksturalne) ulegają zmianom. Do pomiaru mechanicznych właściwości tekstury żywności stosuje się test podwójnego ściskania (TPA), do którego opracowania przyczynili się Friedman i wsp. [2] oraz Szcześniak [16] i Bourne [1]. Prowadzone dotychczas badania wskazują na wysoką korelację pomiędzy wynikami badań sensorycznych i instrumentalnych, szczególnie tych o charakterze modelowym. Surmacka-Szcześniak [15] zwraca uwagę na szczególnie wysokie wartości korelacji pomiędzy parametrami sensorycznymi a parametrami uzyskanymi w teście TPA.

Celem pracy była ocena wpływu parametrów obróbki cieplnej miąższu dyni na wybrane właściwości teksturalne. Analizowano zmiany twardości, sprężystości i żuźności miąższu dyni spowodowane ogrzewaniem prowadzonym w zmiennym czasie, zmiennej temperaturze i przy zmiennej ilości dodawanej pary wodnej.

Material i metody badań

Material do badań stanowił miąższ dyni odmiany Aura F1, pobrany z 10 owoców pochodzących z własnej hodowli. Eksperyment przeprowadzono bezpośrednio po zbiorze, w listopadzie 2011 roku. Do badań wybrano owoce dojrzałe, zdrowe, bez uszkodzeń mechanicznych. Owoce tej odmiany są kuliste, osiągają masę 3 - 4 kg. Mają pomarańczową skórkę oraz gruby, żółto-pomarańczowy miąższ. Jest to odmiana mająca istotne znaczenie w przemyśle spożywczym oraz w gospodarstwach domowych.

Dynię poddawano obróbce wstępnej: myto ją, obierano i pozbawiano pestek. Z tak przygotowanego surowca wykrawano plastry o grubości 1 cm, a następnie, za pomocą kalibrownika, ze środkowej części plastrów wycinano walce o wymiarach: $\varnothing = 2$ cm i $h = 1$ cm. Do badań wybierano po 10 reprezentatywnych próbek (walców) do każdej z sześciu serii pomiarowych oraz dla każdego czasu obróbki cieplnej dyni. Obróbkę prowadzono w piecu konwekcyjno-parowym (model XV 303G firmy Unox) w temp. 80 i 100 °C, w następujących wariantach:

- I seria: 0 % dodatku pary w stosunku do początkowej wilgotności powietrza w komorze pieca, czas obróbki: 5, 10, 15, 20, 25 min;
- II seria: 20 % dodatku pary, czas obróbki: 5, 10, 15, 20, 25 min;
- III seria: 40 % dodatku pary, czas obróbki: 5, 10, 15, 20, 25 min;
- IV seria: 60 % dodatku pary, czas obróbki: 5, 10, 15, 20, 25 min;
- V seria: 80 % dodatek pary, czas obróbki: 5, 10, 15, 20, 25 min;
- VI seria: 100 % dodatku pary, czas obróbki 5, 10, 15, 20, 25 min.

Bezpośrednio po ogrzewaniu ciepłe próbki poddawano badaniom wytrzymałościowym. Pomiar siły ściskania próbek dyni prowadzono w teksturometrze TA.XT plus, współpracującym z komputerem. Surowiec poddawano podwójnemu ściskaniu przy prędkości przesuwu głowicy $50 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$. Proces ściskania prowadzono przy stałej deformacji próbek wynoszącej 50 % ich wysokości, natomiast czas pomiędzy seriami wynosił 5 s. Pomiar przeprowadzono w 10 powtórzeniach. Na podstawie uzyskanych pomiarów w postaci teksturogramów w układzie dwóch współrzędnych siła – czas wyznaczano następujące parametry tekstury: twardość, sprężystość, żujność.

Uzyskane wyniki pomiarów poddano analizie statystycznej (macierz korelacji, MANOVA, drzewa klasyfikacyjne) przy użyciu programów Texture Exponent 32 i Statistica 8.0.

Badania doświadczalne mięszu dyni przeprowadzono w układzie klasyfikacji trójczynnikowej krzyżowej z 1 obiektem kontrolnym. Czynniki doświadczalnymi w tym doświadczeniu były:

- A – temperatura obróbki [$^{\circ}\text{C}$]: 80, 100;
- B – dodatek pary [%]: 0, 20, 40, 60, 80, 100;
- C – czas obróbki [min]: 5, 10, 15, 20, 25.

Obiekt kontrolny stanowiły próbki mięszu dyni bezpośrednio po wykrojeniu.

Dla każdej kombinacji czynników $A \times B \times C$ mierzono wartości 3 cech: twardości, sprężystości i żujności. W pierwszej kolejności, obliczając współczynniki korelacji, sprawdzono, czy między badanymi cechami próbek dyni występuje zależność liniowa. Wielowymiarowym testem Wilksa w analizie MANOVA sprawdzono istotność zróżnicowania wartości przynajmniej jednej z badanych cech pod wpływem różnych poziomów czynników doświadczalnych i ich interakcji. Następnie testami jednowymiarowymi sprawdzano, które z tych cech podlegały istotnemu zróżnicowaniu wartości. Przeprowadzono również dwa rodzaje porównań:

1. Porównanie między średnimi wartościami twardości, elastyczności oraz żujności próbek kontrolnych a wartościami tych parametrów próbek poddanych obróbce termicznej bez dodatku pary;
2. Porównanie między średnimi wartościami twardości, elastyczności oraz żujności próbek kontrolnych a wartościami tych parametrów próbek poddanych obróbce termicznej z dodatkiem pary.

Wyniki i dyskusja

Zależność między twardością a żujnością oraz między żujnością a elastycznością okazała się statystycznie istotna ($p = 0,05$). Wartości współczynników korelacji liniowej wynosiły odpowiednio: $r = 0,88$ i $r = 0,15$. Nie stwierdzono istotnej ($p = 0,05$) korelacji między sprężystością miąższu dyni a jego twardością.

Tabela 1

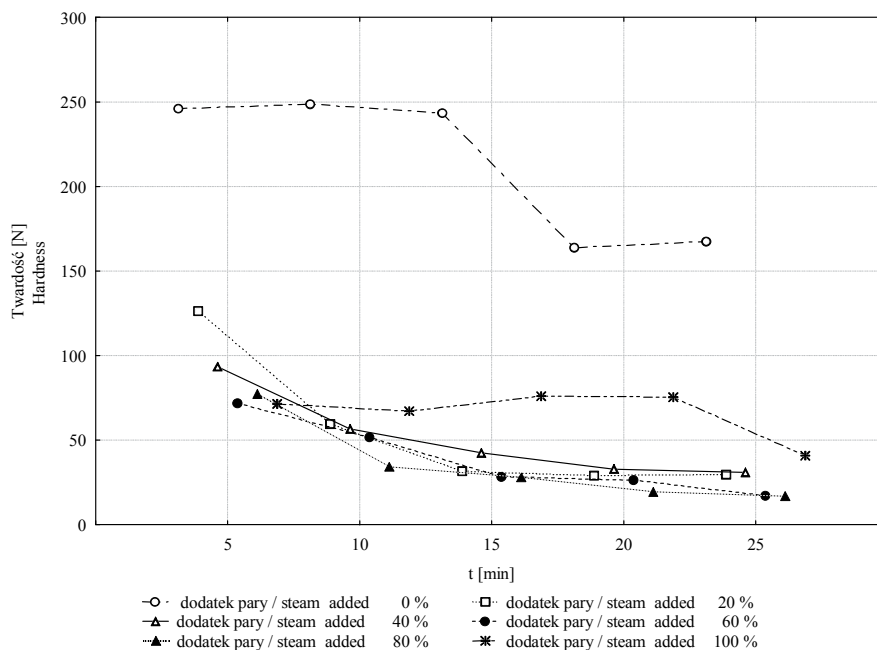
Testy jednowymiarowe F-Snedecora trójczynnikowej analizy wariancji.
One-dimensional F-Snedecor tests of three-factorial analysis of variance.

Efekt / Effect	Zmienna / Variable		
	Twardość [N] Hardness	Sprężystość [F] Elasticity	Żujność [N] Chewiness
Wyraz wolny / Intercept	5581,98	19405,14	814,08
Temperatura / Temperature	40,21	14,09	20,60
Dodatek pary / Steam added	1327,86	4,17	552,14
Czas / Time	117,19	7,15	43,23
Temperatura × dodatek pary Temperature × steam added	66,09	18,31	6,28
Temperatura × czas Temperature × time	2,41	2,78	2,53
Dodatek pary × czas Steam added × time	8,12	8,25	25,69
Temperatur a × dodatek pary × czas Temperature × steam added × time	1,83	1,44	2,25

Ze względu na skorelowanie badanych parametrów miąższu dyni przeprowadzono testy Wilksa – wielowymiarowej analizy wariancji. Wszystkie badane czynniki (temperatura, dodatek pary i czas obróbki) oraz interakcja między tymi czynnikami istotnie ($p = 0,05$) różnicowały przynajmniej jedną z badanych cech. W celu sprawdzenia, czy różnicowały się wartości poszczególnych cech, przeprowadzono również testy jednowymiarowe. Każda z trzech badanych cech miąższu dyni ulegała istotnemu zróżnicowaniu pod wpływem różnej temperatury obróbki, różnych ilości dodawanej pary oraz różnych czasów tej obróbki. Stwierdzono istotność ($p = 0,05$) interakcji między czynnikami doświadczalnymi, dlatego aby uzyskać pożądane wartości twardości,

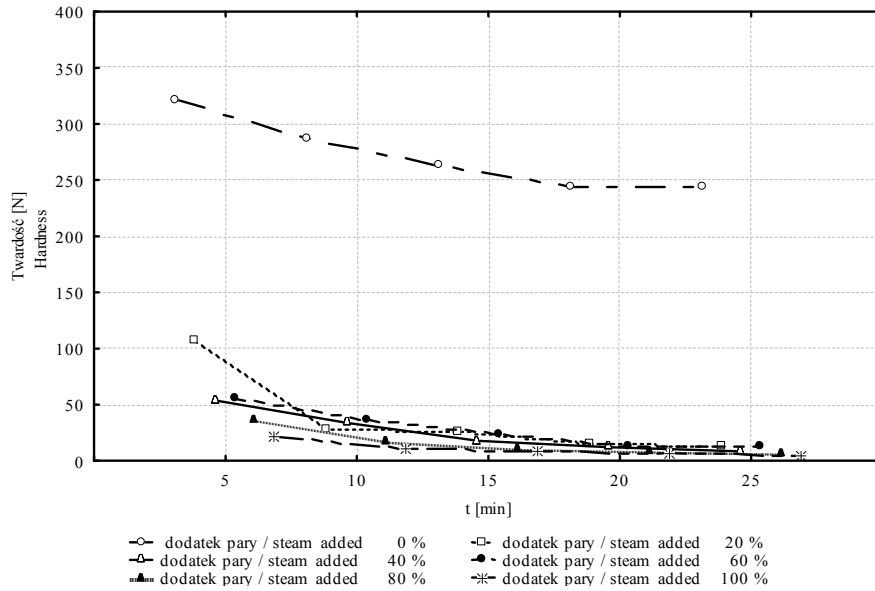
elastyczności czy też żujności miąższu dyni, należy dla każdego poziomu jednego czynnika oddzielnie dobierać poziom drugiego czynnika (tab. 1).

Na rysunkach 1 - 6 przedstawiono zmiany badanych wyróżników tekstury, tj. twardości, sprężystości i żujności próbek dyni w funkcji czasu ogrzewania w temp. 80 i 100 °C przy różnym dodatku pary wodnej. Jednoznacznie należy stwierdzić, że dodatek pary wodnej był przyczyną zmniejszenia twardości i żujności, nie stwierdzono wpływu dodatku pary wodnej na sprężystość dyni.



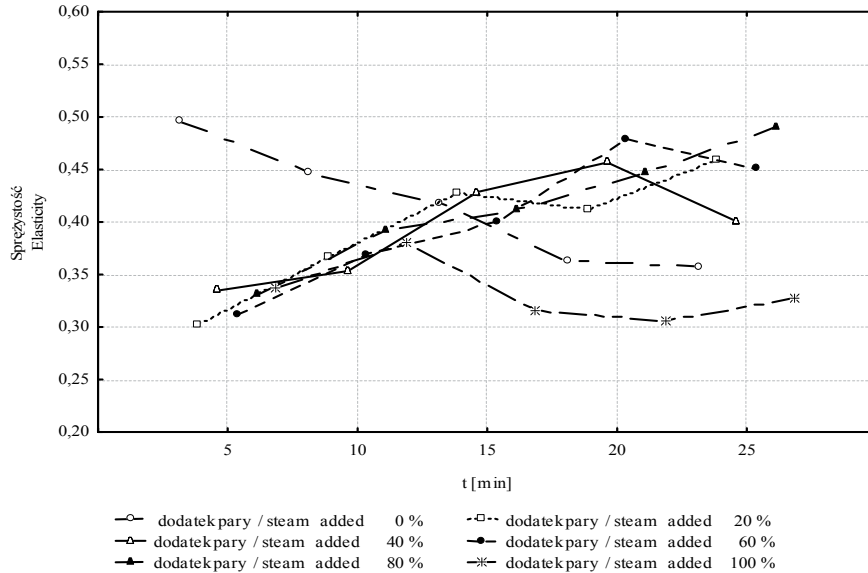
Rys. 1. Zmiany twardości dyni ogrzewanej w temperaturze 80 °C przy różnym dodatku pary wodnej w zależności od czasu ogrzewania.

Fig. 1. Changes in hardness of pumpkin heated at 80 °C with varying addition of steam depending on heating time.



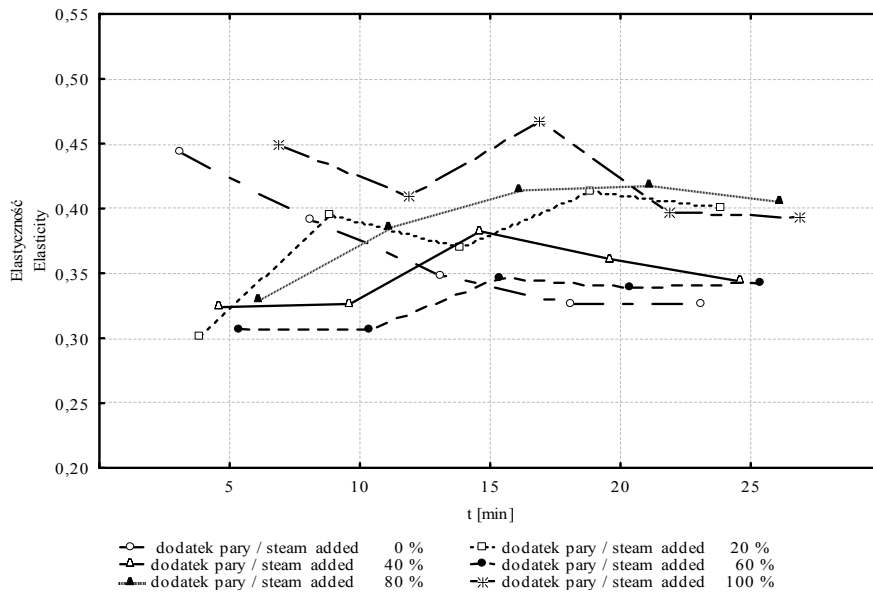
Rys. 2. Zmiany twardości dyni ogrzewanej w temperaturze 100 °C przy różnym dodatku pary wodnej w zależności od czasu ogrzewania.

Fig. 2. Changes in hardness of pumpkin heated at 100 °C with varying addition of steam depending on heating time.



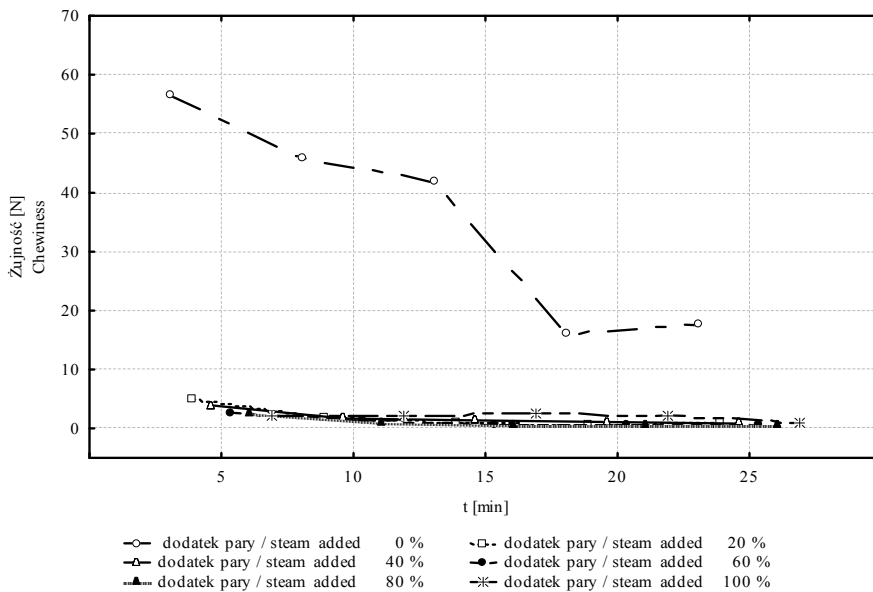
Rys. 3. Zmiany sprężystości dyni ogrzewanej w temperaturze 80 °C przy różnym dodatku pary wodnej w zależności od czasu ogrzewania.

Fig. 3. Changes in elasticity of pumpkin heated at 80 °C with varying addition of steam depending on heating time.



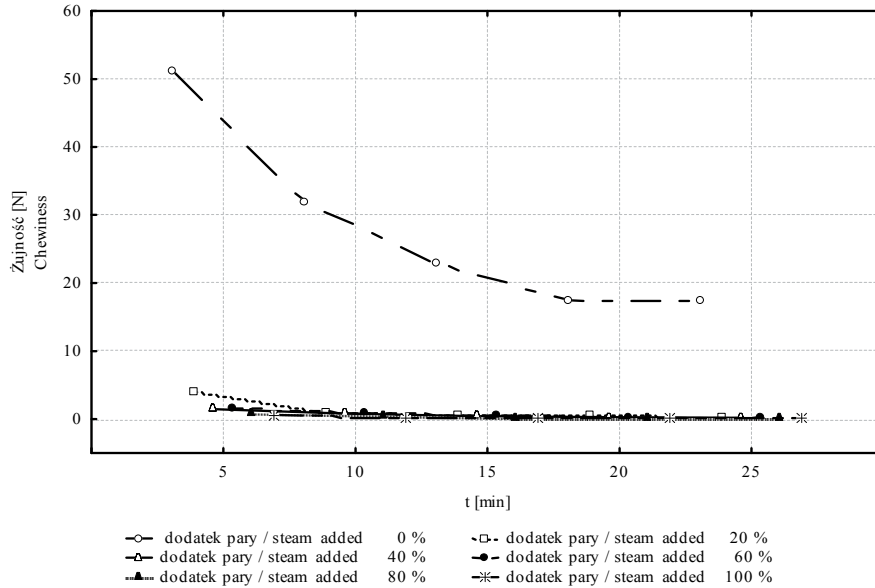
Rys. 4. Zmiany sprężystości dyni ogrzewanej w temperaturze 100 °C przy różnym dodatku pary wodnej w zależności od czasu ogrzewania.

Fig. 4. Changes in elasticity of pumpkin heated at 100 °C with varying addition of steam depending on heating time.



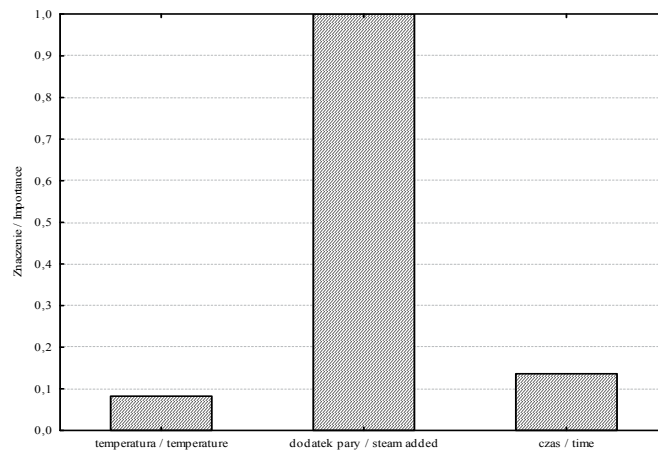
Rys. 5. Zmiany żujności dyni ogrzewanej w temperaturze 80 °C przy różnym dodatku pary wodnej w zależności od czasu ogrzewania.

Fig. 5. Changes in chewiness of pumpkin heated at 80 °C with varying addition of steam depending on heating time.



Rys. 6. Zmiany żujności dyni ogrzewanej w temperaturze 100 °C przy różnym dodatku pary wodnej w zależności od czasu ogrzewania.

Fig. 6. Changes in chewiness of pumpkin heated at 100 °C with varying addition of steam depending on heating time.

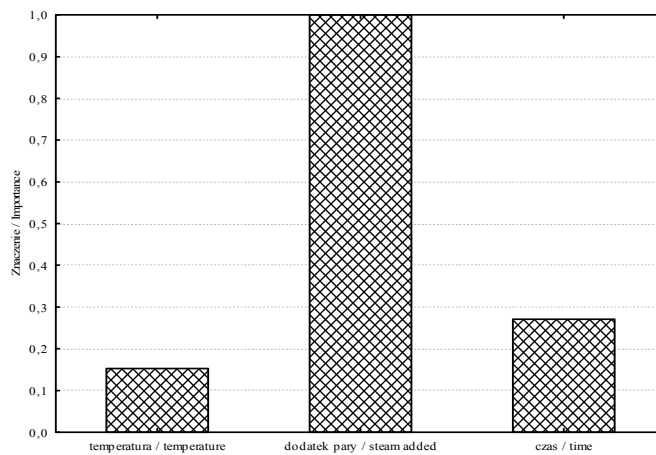


Rys. 7. Ranking ważności predyktorów w przypadku twardości miąższu dyni.

Fig. 7. Validity ranking of predictors for pumpkin pulp hardness.

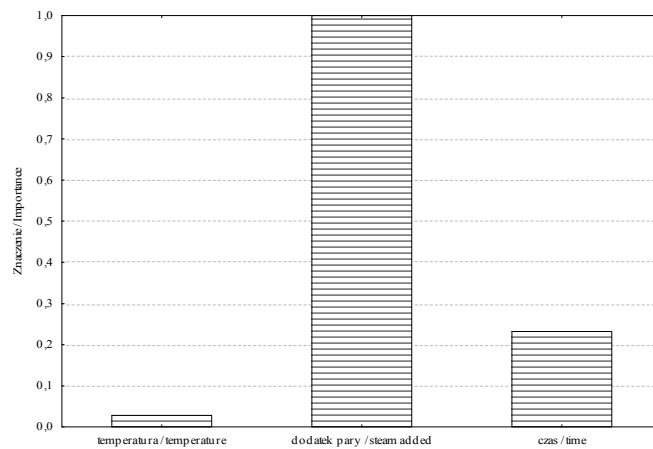
Szukając odpowiedzi na pytanie, który z badanych czynników obróbki termicznej miał największy wpływ na właściwości teksturalne miąższu dyni, określono znaczenie tych czynników dla drzew klasyfikacyjnych i regresyjnych poszczególnych cech miąż-

szu dyni (rys. 7 - 9). Na ich podstawie stwierdzono, że analizowane właściwości teksturalne miąższu dyni ulegały zmianie głównie ze względu na ilość dodawanej pary, dużo mniejszy wpływ na te właściwości miały: czas i temperatura ogrzewania.



Rys. 8. Ranking ważności predyktorów w przypadku sprężystości miąższu dyni.

Fig. 8. Validity ranking of predictors for pumpkin pulp elasticity.

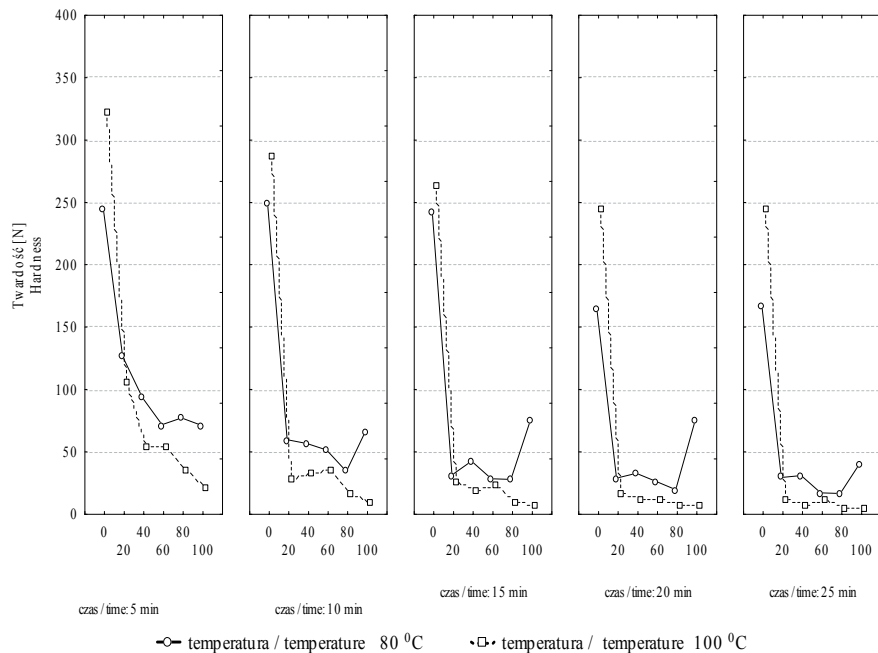


Rys. 9. Ranking ważności predyktorów w przypadku żujności miąższu dyni.

Fig. 9. Validity ranking of predictors for pumpkin pulp chewiness.

Przyjęta w programie badawczym ilość pary wodnej skutkowała obniżeniem twardości miąższu dyni (rys. 10). Dalszy wzrost ilości dodawanej pary wodnej nie powodował tak radykalnego obniżenia twardości. Ponadto, w trakcie ogrzewania w

temp. 80 °C i przy 100-procentowym dodatku pary zaobserwowano wzrost twardości miąższu dyni.

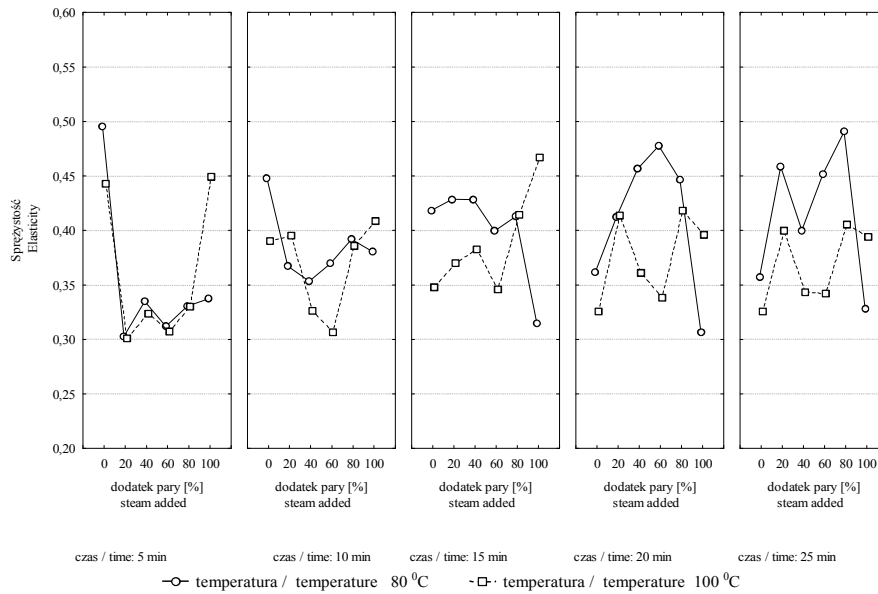


Rys. 10. Zmiany twardości miąższu dyni podanej obróbce termicznej w temp. 80 oraz 100 °C w zależności od dodatku pary i różnych czasów tej obróbki.

Fig. 10. Changes in hardness of thermally heated pumpkin pulp at temperatures of 80 and 100 °C depending on addition of steam and on different times of heat treatment.

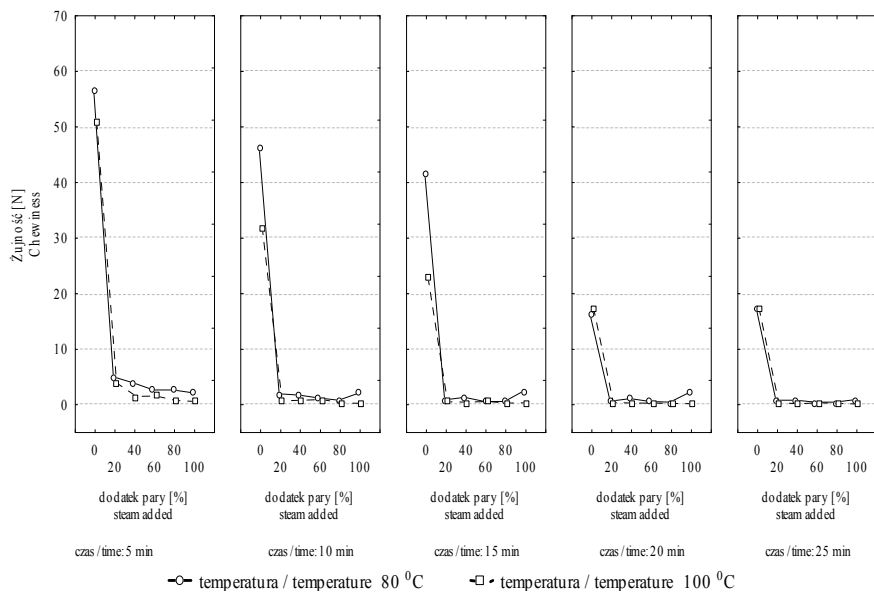
W przypadku pomiaru sprężystości nie zaobserwowano jednoznacznych zależności między parametrami procesu ogrzewania a mierzoną wielkością (rys. 11). Zmiany sprężystości miąższu dyni były różne w temp. 80 i 100 °C – tylko po 5-minutowym ogrzewaniu stwierdzono podobne przebiegi zmian sprężystości w obu temperaturach zastosowanych w badaniach.

Podobnie, jak przy pomiarze twardości, żujność miąższu dyni ulegała zmianie wskutek dodatku pary wodnej: 20-procentowy dodatek pary powodował zmniejszenie żujności niezależnie od temperatury i czasu ogrzewania. Dalsze zwiększanie ilości pary wodnej nie powodowało statystycznie istotnych ($p = 0,05$) zmian żujności (rys. 12).



Rys. 11. Zmiany sprężystości miąższu dyni podanej obróbce termicznej w temp. 80 oraz 100 °C w zależności od dodatku pary i różnych czasów tej obróbki.

Fig. 11. Changes in elasticity of thermally treated pumpkin pulp at temperatures of 80 and 100 °C depending on addition of steam and on different times of heat treatment.



Rys. 12. Zmiany zujności miąższu dyni podanej obróbce termicznej w temp. 80 oraz 100 °C w zależności od dodatku pary i różnych czasów tej obróbki.

Fig. 12. Changes in chewiness of thermally treated and on different times of heat treatment.

Wyniki zaplanowanych porównań z obiektem kontrolnym:

$$\mu_k - \frac{1}{10} \left(\sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^5 \mu_{ij0} \right), \quad (1)$$

gdzie:

μ_k – średnia wartość badanej cechy miąższu dyni bez obróbki termicznej,

μ_{ij0} – średnia wartość badanej cechy miąższu dyni z obróbką termiczną bez dodatku pary w i-tej temp. (80, 100 °C) przez j-ty czas (5, 10, 15, 20 i 25 min).

Utworzone 95-procentowe przedziały ufności badanych cech wskazały na brak istotnych różnic między średnią twardością miąższu dyni bez obróbki termicznej a tą cechą miąższu dyni poddanej obróbce termicznej bez dodatku pary. Natomiast sprężystość i żujność miąższu dyni uległa istotnemu zmniejszeniu po takiej obróbce: twardość (-6,34; 2,34 N), sprężystość (0,10; 0,19), żujność (29,03; 36,34 N).

$$\mu_k - \frac{1}{50} \left(\sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^5 \sum_{k=1}^5 \mu_{ijk} \right), \quad (2)$$

gdzie:

μ_{ijk} – średnia wartość badanej cechy miąższu dyni z obróbką termiczną w i-tej temp. (80, 100 °C) przez j-ty czas (5, 10, 15, 20 i 25 min) z k-tym dodatkiem pary (20, 40, 60, 80, 100 %).

Utworzone 95-procentowe przedziały ufności badanych cech wskazały na istotne różnice między twardością, sprężystością oraz żujnością miąższu dyni bez obróbki termicznej a tymi cechami miąższu dyni poddanej obróbce termicznej z dodatkiem pary: twardość (200,77; 230,35 N), sprężystość (0,11; 0,19), żujność (59,91; 66,94 N).

Twardość miąższu dyni poddanej obróbce z dodatkiem pary była mniejsza niż bez obróbki średnio o co najmniej 200,77 N i o co najwyżej 230,35 N, sprężystość również była mniejsza o co najmniej 0,11 i o co najwyżej 0,19. Obróbka termiczna z dodatkiem pary zmniejszyła również żujność miąższu, średnio o co najmniej 59,91 N i o co najwyżej 66,94 N.

Zmiany właściwości teksturalnych spowodowane obróbką cieplną obserwowano również w trakcie wcześniejszych badań dotyczących m.in. cukinii [18]. Na ich podstawie stwierdzono, że wydłużenie czasu obróbki w piecu konwekcyjno-parowym i zwiększenie ilości dodawanej pary wodnej mają istotny wpływ na właściwości teksturalne cukinii, powodują zmniejszenie twardości, sprężystości i żujności. Charakterystyka tych zmian była zbliżona, jak w przypadku miąższu dyni. Vu i wsp. [20] badali wpływ temperatury i czasu ogrzewania na twardość marchwi. Według uzyskanych wyników zarówno wzrost temperatury ogrzewania, jak i wydłużenie jego czasu są przyczyną zmniejszenia twardości marchwi.

Wpływ obróbki cieplnej warzyw (m.in. ziemniaków, marchwi i słodkich ziemniaków) na ich właściwości teksturalne badali również Guzek i wsp. [3], Guzek i wsp. [4] oraz Sasaki i wsp. [14]. Stwierdzili, że zastosowanie różnych wartości temperatury w procesie blanszowania niskotemperaturowego pozwoliło na wskazanie istotnych różnic parametrów teksturalnych zależnych od zastosowanej temperatury.

Wnioski

1. Ogrzewanie w piecu konwekcyjno-parowym powoduje zmiany analizowanych właściwości tekstury mięszu dyni, takich jak: twardość, sprężystość i żujność.
2. Zakres i charakter tych zmian jest uzależniony od zastosowanych parametrów obróbki cieplnej, tj. od temperatury i czasu ogrzewania oraz od ilości dodawanej pary wodnej. Już po 5-minutowej obróbce cieplnej obserwuje się zmniejszenie twardości, sprężystości i żujności mięszu dyni.
3. Na podstawie drzew klasyfikacyjnych i regresyjnych stwierdzono, że twardość, żujność i sprężystość mięszu dyni ulegają zmianie głównie pod wpływem dodatku pary wodnej, w mniejszym stopniu pod wpływem czasu i temperatury ogrzewania.
4. Dodatek pary wodnej jest przyczyną zmniejszenia twardości i żujności mięszu dyni, a w znacznie mniejszym stopniu sprężystości.

Literatura

- [1] Bourne M.C.: Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement. Academic Press, New York 1982.
- [2] Friedman H.H., Whitney J.E., Szcześniak A.S.: The texturometer – a new instrument for objective measurement. J. Food Sci., 1963, **28**, 390-396.
- [3] Guzek D., Wojtasik-Kalinowska I., Wierzbicka A.: Analiza wpływu warunków niskotemperaturowego blanszowania na wyróżniki tekstury i barwy marchwi. Post. Techn. Przetw. Spoż., 2010, **20** (2), 56-59.
- [4] Guzek D., Głabska D., Wierzbicka A.: Analiza wpływu parametrów procesu niskotemperaturowego blanszowania na wyróżniki tekstury ziemniaków. J. Res. Agric. Eng., 2012, **57** (1), 59-62.
- [5] Korzeniewska A., Kosicka A., Niemirowicz-Szczytt K., Seroczyńska A.: Zróżnicowanie zawartości suchej masy w owocach wybranych form dyni olbrzymiej (*Cucurbita maxima Duch.*) Zesz. Probl. Post. Nauk Roln., 2007, **517**, 661-668.
- [6] Lindman, H.R.: Analysis of variance in complex experimental designs. Ed. W.H. Freeman, San Francisco 1974.
- [7] Nawirska-Olszańska A., Biesiada A., Kucharska A. Z., Sokół-Lętowska A.: Wpływ sposobu przygotowania i warunków przechowywania przetworów z owoców dyni olbrzymiej z dodatkiem owoców pigwowca i derenia na ich właściwości fizykochemiczne. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2012, **3** (82), 168-178.
- [8] Niewczas J., Kamionkowska M., Mitek M.: Zawartość azotanów (III) i (V) w owocach dyni olbrzymiej (*Cucurbita maxima*). Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2006, **2** (47) Supl., 234-241.

- [9] Niewczas J., Mitek M.: Wpływ przechowywania nowych odmian dyni olbrzymiej – *Cucurbita maxima* na wybrane parametry składu chemicznego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **5** (54), 155-164.
- [10] Niewczas J., Mitek M.: Zawartość składników mineralnych w owocach pięciu odmian dyni olbrzymiej (*Cucurbita maxima*). *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **5** (72), 77-84.
- [11] Niewczas J., Mitek M.: Zmiany zawartości sacharydów podczas przechowywania owoców dyni olbrzymiej (*Cucurbita maxima*). *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **3** (40) Supl., 166-174.
- [12] Niewczas J., Szweda D., Mitek M.: Zawartość wybranych składników prozdrowotnych w owocach dyni olbrzymiej (*Cucurbita maxima*). *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **2** (43) Supl., 147-155.
- [13] Ratnayake R.M.S., Hurst P.L., Melton L.D.: Texture and cell wall polysaccharides of buttercup squash "Delica" (*Cucurbita maxima*). *NZ. J. Crop Hort. Sci.*, 1999, **27**, 133-143.
- [14] Sasaki A., Kishigami Y., Fuchigami M.: Firming of cooked sweet potatoes as affected by alum treatment. *J. Food Sci.*, 1999, **64** (1), 111-115.
- [15] Surmacka-Szcześniak A.: Texture is a sensory property. *Food Qual. Pref.*, 1963, **13**, 215-225.
- [16] Szcześniak A.S.: Classification of texture characteristic. *J. Food Sci.*, 1963, **28**, 385-389.
- [17] Szydłowska A., Kołożyn-Krajewska D.: Zastosowanie bakterii potencjalnie probiotycznych do fermentacji przecieru z dyni. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **6** (73), 109-119.
- [18] Ślaska-Grzywina B., Starek A.: Wpływ obróbki cieplnej na jakość cukinii. *Inżynieria Rolnicza*, 2011, **6** (131), 223-229.
- [19] USDA National Nutrient Database for Standard Reference. Nutritional value of pumpkin and winter squash. 2004, Release 17.
- [20] Vu T.S., Smout C., Sila D.N., LyNguyen B., van Loey A.M.L., Hendricks M.E.G.: Effect of pre-heating on thermal degradation kinetics of carrot texture. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2004, **5** (1), 37-44.


SHAPING SOME SELECTED TEXTURAL PROPERTIES OF PUMPKIN (*CUCURBITA MAXIMA* DUCH.) BY OPTIMIZED HEAT TREATMENT

S u m m a r y

In the paper, the effect was determined of thermal treatment, run in a convection-steam oven at different heating parameters, on changes in some textural properties of the Aura F1 variety of pumpkin. The samples of pumpkin pulp were heated in a convection-steam oven at temperatures of 80 and 100 °C, with different steam amounts added (0 to 100 %), during 5, 10, 15, 20, and 25 minute periods. Next, the samples underwent strength tests and hardness, elasticity, and chewiness were measured.

It was found that the heating in the convection-steam oven caused the textural properties of pumpkin pulp, i.e. hardness, elasticity, and chewiness to change. The extent and the profile of those changes depended on the process parameters applied under the research program, i.e. the temperature and heating time, and the amount of the steam added. Already 5 minutes after the thermal treatment began a decrease in the analysed parameter values of the pumpkin pulp was reported. On the basis of the classification and regression trees it was found that the steam added had the greatest effect on the changes in the pulp hardness, whereas the time and temperature of heating affected those changes to a lesser extent. The addition of even the smallest amount of steam (20 %) caused the hardness of the pumpkin pulp to essentially decrease. A further increase in the amount of the added steam did not cause such a radical reduction in the hardness. Similar correlations were found in the case of the chewiness of the pumpkin pulp; a 20% addi-

tion of the steam caused the chewiness to decrease irrespective of the temperature and time of heating. A further increase in the amount of steam added did not cause statistically significant changes in this parameter. While measuring the elasticity, no clear-cut effect of the heating parameters was reported. Similar to the hardness and chewiness, the amount of the steam added had the greatest impact on the changes in the elasticity; however, the course of those changes was inconsistent.

Key words: pumpkin, heat treatment, convection-steam oven 

AGATA MARZEC, HANNA KOWALSKA, BEATA OŁDAK

WPLYW TECHNIKI SUSZENIA WIŚNI NA WŁAŚCIWOŚCI TEKSTURALNE SUSZU OCENIANE METODĄ AKUSTYCZNĄ I MECHANICZNĄ

Streszczenie

Celem pracy była analiza wpływu techniki i parametrów procesu suszenia wiśni na właściwości teksturalne suszu oceniane metodami emisji akustycznej i mechanicznej. Wiśnie drylowane i mrożone suszono różnymi metodami: konwekcyjną, mikrofalową, próżniową oraz liofilizacyjną. Oznaczono wilgotność i aktywność wody oraz porowatość suszy. Wykonano testy ściskania pojedynczych owoców suszonych wiśni, rejestrując jednocześnie emisję akustyczną (EA) metodą kontaktową. Technika i parametry procesu suszenia wiśni wpływały na ich właściwości teksturalne ocenione na podstawie analizy deskryptorów emisji akustycznej i parametrów mechanicznych. Stwierdzono występowanie trzech grup suszy różniących się właściwościami teksturalnymi. Zwiększenie temperatury procesu suszenia liofilizacyjnego z 30 do 50 °C spowodowało zwiększenie liczby zdarzeń EA i pracy ściskania. Wzrost temperatury z 50 do 70 °C podczas suszenia konwekcyjnego spowodował istotne zwiększenie amplitudy dźwięku i zmniejszenie liczby zdarzeń EA oraz wzrost siły i pracy ściskania. Podwyższenie mocy mikrofal ze 100 do 300 W spowodowało, podczas testu ściskania suszonych wiśni, generację emisji akustycznej o malejącej amplitudzie i rosnącej liczbie zdarzeń EA oraz o istotnie mniejszej sile i pracy ściskania. Deskryptory EA i parametry mechaniczne wiśni suszonych różnymi technikami korelowały ujemnie z wilgotnością suszy.

Słowa kluczowe: wiśnie, suszenie, tekstura, emisja akustyczna, właściwości mechaniczne

Wprowadzenie

Sezonowość produkcji surowców roślinnych często prowadzi do powstawania nadwyżki owoców. Z tego względu dąży się do opracowania efektywnej metody ich utrwalania. Różne metody suszenia umożliwiają utrwalanie owoców z zachowaniem odpowiedniej ich jakości [2]. Susze owocowe są produktami zachowującymi w znacznym stopniu skład chemiczny surowca, z wyjątkiem zawartości wody i składników lotnych [5]. Zawierają skoncentrowane składniki odżywcze i nawet jeśli nastąpiła

Dr hab. inż. A. Marzec, dr inż. H. Kowalska, mgr inż. B. Ołdak, Katedra Inżynierii Żywności i Organizacji Produkcji, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa

w czasie suszenia ich częściowa degradacja, to produkt i tak charakteryzuje się zawartością bioaktywnych związków przekraczającą ich poziom w surowych tkankach (w przeliczeniu na jednostkę masy), przez co może stać się produktem o cechach prozdrowotnych [13]. Dlatego import suszonych owoców stale wzrasta [1]. Najczęściej stosowaną metodą jest suszenie konwekcyjne, jednak wysoka temperatura oddziałująca na produkt, długi czas procesu i prędkość przepływającego powietrza są głównymi czynnikami ograniczającymi jej stosowanie na szerszą skalę. Poszukuje się nowych technologii umożliwiających otrzymanie produktu o wysokiej jakości przy niskich kosztach (inwestycji i eksploatacji). Alternatywną metodą zagospodarowania owoców wiśni może być suszenie z zastosowaniem energii mikrofalowej, umożliwiającej poprawę tekstury suszu [7]. Energia mikrofalowa jest bezpośrednio absorbowana przez suszony materiał, a efekt silnego jej pochłaniania pozwala bardzo szybko nagrzać wodę w całej objętości materiału oraz szybko ją odparować [14]. Skrócenie czasu suszenia w porównaniu z suszeniem konwekcyjnym oraz nagrzewanie produktu w całej objętości powoduje większe zachowanie składników aromatycznych i substancji biologicznie czynnych oraz poprawę cech sensorycznych [9]. Wśród nowoczesnych metod suszenia ważne miejsce zajmuje liofilizacja, stosowana szczególnie do materiałów wrażliwych na działanie wysokiej temperatury. Podstawową zaletą suszenia liofilizacyjnego jest dobre zachowanie właściwości chemicznych, fizycznych i biologicznych w porównaniu z surowcem. Jednak nieumiejętne poprowadzenie suszenia może doprowadzić do obniżenia jakości produktu [3]. Nierównomierne lub zbyt gwałtowne ogrzewanie może powodować miejscowe przypalanie materiału suszonego. Zachodzi więc konieczność optymalizacji różnych metod suszenia wiśni w celu zapewnienia jak najlepszej wydajności procesu oraz uzyskania produktu końcowego o najwyższej jakości.

Cechy jakościowe suszy, takie jak: wygląd, tekstura, barwa, zapach, smak, należy oceniać sensorycznie, ale ze względu na wygodę i obiektywizm konieczne jest stosowanie instrumentalnych metod tej oceny. Jedną z najważniejszych cech jakościowych suszy, obok barwy i smaku, jest tekstura, którą można oceniać instrumentalnie metodami emisji akustycznej (EA) i mechaniczną. Metoda emisji akustycznej polega na rejestracji dźwięku generowanego podczas deformacji produktu. Wykazano, że metoda EA może być stosowana do oceny jakości świeżych jabłek [15], suszy jabłkowych [6, 7], a w połączeniu z metodą mechaniczną dobrze opisuje zmiany tekstury pieczywa chrupkiego w wyniku sorpcji pary wodnej [8].

Celem pracy było określenie wpływu techniki i parametrów procesu suszenia wiśni na właściwości teksturalne suszu oceniane metodami emisji akustycznej i mechaniczną.

Material i metody badań

Material do badań stanowiły wiśnie odmiany „Łutówka” zakupione na rynku lokalnym, drylowane, mrożone i przechowywane w temp. $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ przez 3 miesiące (wrzesień – listopad). Przed suszeniem próbki wiśni zamrożonych o masie $225 \pm 5\text{ g}$ pozostawiano w temp. $20 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, przez 24 h, w celu ich rozmrożenia. Następnie oddzielano wyciek rozmrażalniczy i delikatnie osuszano materiał bibułą. Tak przygotowane wiśnie suszono w warunkach laboratoryjnych. Suszenie konwekcyjne wiśni przeprowadzono w temp.: 50, 60 i $70\text{ }^{\circ}\text{C}$, przy przepływie powietrza $v = 1,5\text{ m/s}$. Suszenie mikrofalowe wiśni wykonywano w suszarce PROMIS - μLAB („PROMIS” Firma Projektowo-Produkcyjna, Wrocław, Polska) w temp. $40\text{ }^{\circ}\text{C}$, przy mocy mikrofal: 100, 200 i 300 W. Próżniowo w temp. $70\text{ }^{\circ}\text{C}$, przy ciśnieniu 4 kPa suszono wiśnie bezpośrednio po ich rozmrożeniu oraz poddaniu wstępnej obróbce osmotycznej w 60-procentowym roztworze sacharozy w temp. $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ przez 3 h. Suszenie liofilizacyjne wiśni nierozmrażanych prowadzono przy zmiennej temp. półek grzejnych liofilizatora: 30, 40 i $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ oraz przy stałych parametrach: ciśnienie 63 Pa, ciśnienie bezpieczeństwa 103 Pa w liofilizatorze ALPHA 1-4 (Martin Christ, Osterode, Niemcy). Sygnały pomiarowe z wagi i termopar były rejestrowane co 5 min. Suszenie owoców prowadzono do wyrównania wskazań wagi lub do niskiego poziomu zawartości wody w suszu (poniżej 10%). Każde suszenie wykonywano w dwóch powtórzeniach.

Suszone wiśnie scharakteryzowano oznaczając: gęstość piknometrem helowym Stereopycnometer (Quantochrome Instruments, Boynton Beach, USA), aktywność wody w aparacie Hygroscope DT2 (Rotronic AG, Basserdorf, Szwajcaria) z dokładnością $\pm 0,001$, w temp. $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ oraz wilgotność metodą wagową [10]. Oznaczenia te wykonano w czterech powtórzeniach.

Wykonano testy ściskania pojedynczych owoców suszonych wiśni tłokiem o średnicy 15 mm, w maszynie wytrzymałościowej ZWICK 1445 (ZWICK GmbH, Baden-Württemberg, Niemcy) z prędkością przesuwu głowicy 20 mm/min. Jednocześnie rejestrowano emisję akustyczną (EA) metodą kontaktową, sensorem drgań typu 1381 (Brüel&Kjær, Narum, Dania). Sygnał emisji akustycznej wzmacniano (40 dB) w liniowym wzmacniaczu niskosumowym, a następnie zapisywano w pamięci komputera PC, stosując kartę przetwarzania analogowo-cyfrowego Adlink PCI 9112 (Adlink Technology Inc., Taipei, Tajwan) z częstotścią próbkowania 44,1 kHz. Zastosowano 16-bitowy zapis sygnału emisji akustycznej.

Testy akustyczne i mechaniczne wykonano w 40 powtórzeniach, z czego do analizy wybierano 20 o podobnym czasie deformacji około 10 s. Wyznaczono deskryptory EA: amplitudę, liczbę zdarzeń EA, energię zdarzenia EA, czas trwania zdarzenia EA oraz parametry mechaniczne: siłę i pracę ściskania.

Gęstość rzeczywistą obliczano na podstawie składu chemicznego wiśni według zależności podanej przez Domian i Lenarta [4], która posłużyła do obliczenia porowa-

tości z zależności: $\varepsilon = (1 - \rho_p/\rho) \cdot 100$ [%], gdzie ρ_p – gęstość pozorna wiśni oznaczona piknometrycznie [g/cm^3], ρ – gęstość rzeczywista [g/cm^3].

Analizę statystyczną wyników wykonano w programie Statistica 9.0 Pl. Istotność różnic między średnimi wartościami wyznaczonych parametrów określono za pomocą testu Duncana przy poziomie $p \leq 0,05$, grupy jednorodne oznaczono literami: a, b, c, d, e, f. Przeprowadzono również analizę wszystkich uzyskanych wyników wielowymiarową metodą składowych głównych z klasyfikacją (PCA).

Wyniki i dyskusja

Suszone wiśnie charakteryzowały się małą wilgotnością i aktywnością wody. Zaobserwowane różnice były statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) (tab. 1). Stwierdzono również istotny wpływ techniki i parametrów suszenia na średnie wartości porowatości ($p \leq 0,05$) (tab. 1). Wiśnie suszone konwekcyjnie w temp. 60 i 70 °C, mikrofalowo o mocy 100 i 300 W oraz próżniowo wykazywały porowatość około 9 %. Najniższą porowatością około 2 % charakteryzowały się wiśnie wstępnie odwadniane osmotycznie i suszone próżniowo. Największą porowatość wynoszącą 13 % uzyskały wiśnie suszone liofilizacyjnie w temp. 50 °C. Suszenie wiśni w liofilizatorze, ale w temp. 30 i 40 °C spowodowało małą porowatość suszu.

Slade i Levine [11] wykazali, że najbardziej niekorzystnym zjawiskiem, które może się pojawić podczas sublimacji jest możliwość załamania się wewnętrznej struktury materiału. W liofilizacji bardzo ważne jest dobranie optymalnych parametrów procesu (temperatury oraz ciśnienia), ponieważ to one mają wpływ na końcową barwę, strukturę, smak i właściwości sorpcyjne produktu [3].

Metoda i parametry suszenia wpływały istotnie na właściwości akustyczne wiśni (rys. 1 i 2). Niezależnie od metody suszenia wszystkie uzyskane produkty charakteryzowały się dużą zmiennością analizowanych deskryptorów, o czym świadczą wartości odchyień standardowych. Zróżnicowanie uzyskanego materiału niezależnie od metody suszenia było trudne do wyeliminowania. Wiśnie wydrylowane, a następnie zamrożone miały zniszczoną pierwotną strukturę. W efekcie po suszeniu uzyskano zdeformowane owoce o różnym kształcie.

Najwyższymi wartościami amplitudy dźwięku charakteryzowały się wiśnie suszone konwekcyjnie w temperaturze 70 °C (971 μV) oraz wstępnie odwadniane i suszone próżniowo (758 μV).

Należy podkreślić, że susze te charakteryzowały się najmniejszą wilgotnością. Najmniejszą amplitudę dźwięku zaobserwowano podczas deformacji suszy otrzymanych metodą liofilizacyjną (30 i 40 °C), odpowiednio 216 μV i 368 μV (rys. 1).

Tabela 1

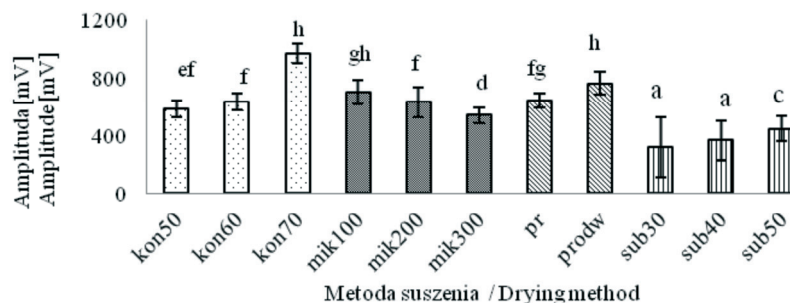
Średnie wartości wilgotności i aktywności wody oraz porowatości suszonych wiśni wraz z odchyleniami standardowymi.

Mean values of moisture and water activity as well as porosity of dried sour cherries including standard deviations.

Metoda i parametry procesu suszenia Method and parameters of drying process		Kod próbki Kode sample	Czas suszenia [h] Drying time [h]	Wilgotność [%] Moisture [%]	Aktywność wody Water activity	Porowatość [%] Porosity [%]
Konwekcyjna Convective drying 1,5 m/s	50 °C	kon50	6	2,67 ± 0,81 ^f	0,199 ± 0,004 ^{cd}	5,2 ± 0,1 ^{abc}
	60 °C	kon60	6	0,90 ± 0,06 ^{ab}	0,147 ± 0,004 ^{bcd}	9,7 ± 0,9 ^{bcd}
	70 °C	kon70	6	0,83 ± 0,16 ^{ab}	0,177 ± 0,001 ^{bcd}	8,8 ± 1,4 ^{cd}
Mikrofalowa Microwave drying 40 °C	100 W	mik100	5	2,18 ± 0,07 ^d	0,136 ± 0,002 ^{ab}	9,7 ± 0,9 ^a
	200 W	mik200	5	1,85 ± 0,47 ^{cd}	0,223 ± 0,002 ^d	2,9 ± 1,4 ^{bcd}
	300 W	mik300	4,5	1,30 ± 0,12 ^c	0,151 ± 0,002 ^{abc}	9,4 ± 0,5 ^{bcd}
Próżniowa Vacuum drying 70 °C, 4 kPa	–	pr	24	1,36 ± 0,29 ^{bc}	0,150 ± 0,002 ^{bc}	9,1 ± 0,9 ^{bcd}
	obróbka osmot. osmotic dehydration	prodw	22,5	0,42 ± 0,06 ^a	0,101 ± 0,001 ^a	1,9 ± 0,9 ^a
Liofilizacyjna Freezedrying 63 Pa	30 °C	sub30	24	3,51 ± 0,10 ^e	0,181 ± 0,003 ^e	3,6 ± 3,2 ^{ab}
	40 °C	sub40	24	3,90 ± 0,22 ^f	0,119 ± 0,002 ^f	2,9 ± 1,4 ^a
	50 °C	sub50	24	4,28 ± 0,08 ^g	0,209 ± 0,004 ^g	13,0 ± 3,7 ^d

Objaśnienia: / Explanatory notes:

a, b, c, d, e, f – wartości średnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$, $n = 4$) / mean values designated by the same letters do not differ statistically significantly ($p \leq 0,05$, $n = 4$).

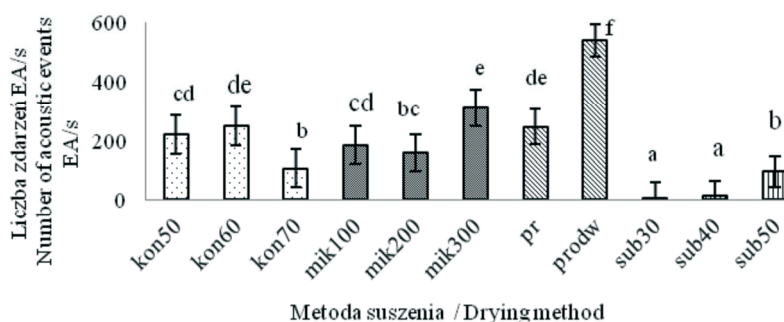


Objaśnienia: / Explanatory notes: kod próbki w tabeli 1 / Kode sample in table 1

a, b, c, d, e, f – wartości średnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$, $n = 20$) / mean values designated by the same letters do not differ statistically significantly ($p \leq 0.05$, $n = 20$).

Rys. 1. Amplituda dźwięku generowanego podczas ściskania wiśni suszonych różnymi technikami.

Fig. 1. Amplitude of signal generated during compression test on sour cherries dried using different techniques.



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

Rys. 2. Liczba zdarzeń EA generowanych podczas ściskania wiśni suszonych różnymi metodami.

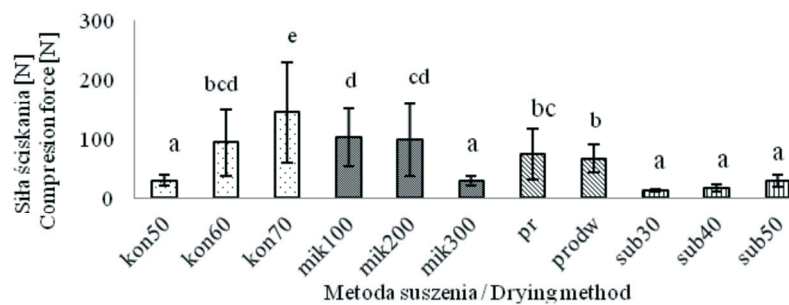
Fig. 2. Number of EA acoustic events generated during compression of sour cherries dried using different techniques.

Podwyższenie temperatury procesu suszenia liofilizacyjnego spowodowało zwiększenie wartości amplitudy dźwięku i liczby zdarzeń. Jednak tylko wiśnie suszone w temp. 50 °C charakteryzowały się statystycznie różnymi właściwościami akustycznymi (rys. 1 i 2). Natomiast w suszeniu konwekcyjnym podwyższenie temp. procesu wpłynęło na zwiększenie amplitudy dźwięku oraz zmniejszenie liczby zdarzeń EA generowanych podczas ściskania materiału. Istotne różnice we właściwościach akustycznych wiśni suszonych konwekcyjnie zaobserwowano przy zastosowaniu temp. procesu 70 °C (rys. 1 i 2).

W przypadku suszenia mikrofalowego wiśni wraz ze zwiększaniem mocy mikrofal ze 100 do 300 W stwierdzono statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) obniżenie amplitudy dźwięku oraz zwiększenie liczby zdarzeń EA niż suszonych konwekcyjnie (rys. 1 i 2). Podczas suszenia próżniowego badano wpływ zastosowania obróbki wstępnej (odwadniania osmotycznego) wiśni na ich właściwości akustyczne. Odwadnianie osmotyczne wiśni przed suszeniem próżniowym spowodowało istotne zwiększenie wartości deskryptorów akustycznych (rys. 1 i 2). W literaturze opisano korzystny wpływ wstępnego osmotycznego odwadniania jabłek w roztworze sacharozy na właściwości teksturalne materiału po suszeniu konwekcyjnym [6].

Na rys. 3. i 4. przedstawiono wpływ techniki i parametrów procesu suszenia na wartości siły i pracy ściskania wiśni. Zaobserwowano bardzo duże wartości odchyłeń standardowych od średnich wartości analizowanych parametrów mechanicznych, podobnie jak w przypadku właściwości akustycznych. Stwierdzono jednak istotny wpływ techniki i parametrów procesu suszenia na analizowane cechy ($p \leq 0,05$).

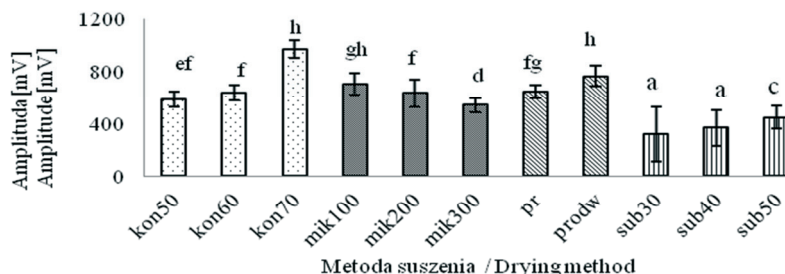
Podwyższenie temperatury suszenia konwekcyjnego z 50 do 70 °C spowodowało istotny wzrost wartości siły i pracy ściskania. Suszenie liofilizacyjne wiśni w temp. 50 °C spowodowało wzrost pracy ściskania, zaś w niższych temp. 30 i 40 °C nie stwierdzono istotnych zmian parametrów mechanicznych ($p \leq 0,05$).



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

Rys. 3. Siła ściskania wiśni suszonych różnymi metodami.

Fig. 3. Compression force applied to compress sour cherries dried using different techniques.



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

Rys. 4. Praca ściskania wiśni suszonych różnymi metodami.

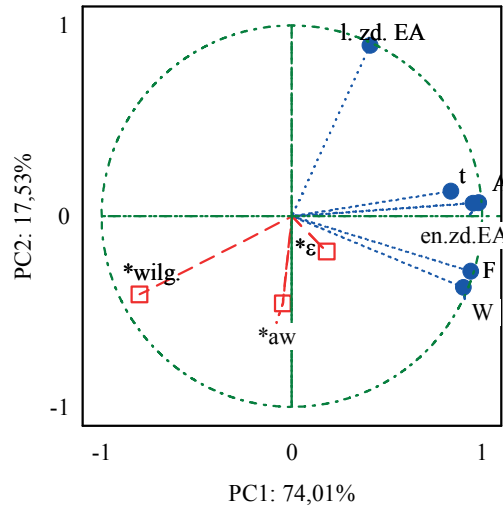
Fig. 4. Compression work when compress sour cherries dried using different techniques.

Największymi wartościami siły i pracy ściskania charakteryzowały się wiśnie suszone konwekcyjnie w temp. 70 °C i mikrofalowo przy mocy 200 W, najmniejszymi natomiast wiśnie liofilizowane w temp. 30 i 40 °C (rys. 3 i 4).

Podobne zależności opisano w przypadku jabłek [5]. Wykazano, że susz sublimacyjny charakteryzował się najmniejszą wytrzymałością mechaniczną. Czynniki istotnie wpływającymi na cechy mechaniczne i reologiczne produktów suszarniczych są: metoda suszenia, obróbka wstępna oraz czas przechowywania suszy [6, 12].

Analiza składowych głównych (PCA) pozwala w łatwy i czytelny sposób przedstawić współzależności między badanymi parametrami tekstury (akustycznymi i mechanicznymi) suszonych wiśni. Ponadto obrazuje podobieństwa i różnice między produktami uzyskanymi w wyniku zastosowania różnych metod i parametrów procesu suszenia. Dwie składowe główne (PC1 i PC2) wyjaśniały łącznie około 90 % zmienności tekstury suszonych wiśni. Składowa pierwsza (PC1) była tworzona przez deskryptory emisji akustycznej (amplitudę, czas trwania dźwięku i energię zdarzeń EA) oraz parametry mechaniczne (siłę i pracę ściskania), zaś składowa druga (PC2) tworzona była tylko przez liczbę zdarzeń EA (rys. 5). Składowa PC1 wyjaśniała 74,0 %, a PC2 17,5 % zmienności tekstury suszonych wiśni (rys. 5). Tak więc zastosowanie deskryptorów emisji akustycznej do oceny tekstury wydaje się celowe.

Deskryptory emisji akustycznej (amplituda dźwięku i energia zdarzenia EA) silnie dodatnio korelowały z parametrami mechanicznymi (siłą i pracą ściskania). Ponadto, analizowane parametry akustyczne i mechaniczne zależały od wilgotności suszy, stwierdzone korelacje były ujemne. Natomiast nie stwierdzono istotnych współzależności pomiędzy parametrami akustycznymi i mechanicznymi a porowatością badanych suszy (rys. 5, tab. 2).



Rys. 5. Projekcja PCA deskryptorów emisji akustycznej i parametrów mechanicznych suszonych wiśni (parametry aktywne/a: l. zd. EA – liczba zdarzeń EA, t – czas trwania zdarzenia, A – amplituda, en. zd. EA – energia zdarzenia EA, F – siła, W – praca. Parametry dodatkowe: * ϵ - porowatość, *aw – aktywność wody, *wilg. – wilgotność).

Fig. 5. PCA projection of EA descriptors and mechanical properties of dried sour cherries (active parameters: l. EA event – number of EA events; t – time of event duration; A – amplitude; en. zd. EA – EA event energy; F – force; W – Work. Additional parameters: * ϵ - porosity; *aw – water activity, *wilg. – humidity).

Tabela 2

Wartości współczynników korelacji liniowej między wyróżnikami charakteryzującymi teksturę badanych suszonych wiśni.

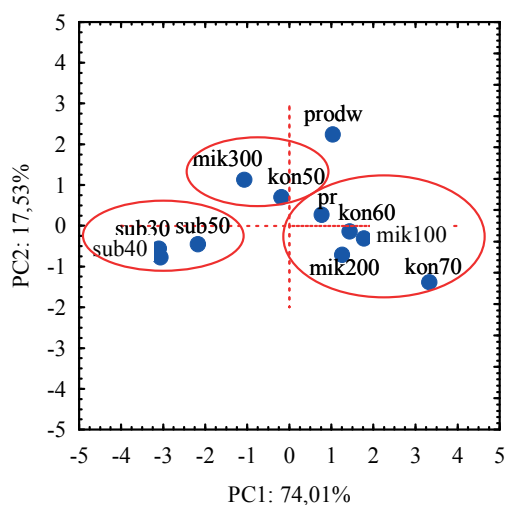
Matrixes of correlation coefficients of linear regression for parameters obtained for sour cherries of dried.

Wyróżniki tekstury Features of texture	F [N]	W [J]	A [mV]	En. zd. EA	t [μ s]	L. zd. EA/s
W [J]	0,970*	1,000	–	–	–	–
A [mV]	0,807*	0,750*	1,000	–	–	–
En. zd. EA	0,794*	0,761*	0,981*	1,000	–	–
t [μ s]	0,553*	0,594*	0,712*	0,824*	1,000	–
L. zd. EA/s	0,120	0,049	0,481	0,487	0,450	1,000
ϵ [%]	0,138	0,217	0,250	0,257	0,275	0,008
aw*	0,001	0,146	-0,099	-0,066	0,066	-0,439
wilg. [%]	-0,659*	-0,595*	-0,766*	-0,756*	-0,601	-0,713

*istotne zależności przy $p \leq 0,05$, * significant dependences at $p \leq 0.05$

Objaśnienie jak na rys. 5 / Explanatory notes as in Fig. 5.

Usytuowanie w diagramie PCA próbek suszonych wiśni obok siebie świadczy o podobieństwie ich właściwości teksturalnych ocenianych na podstawie analizy deskryptorów akustycznych i parametrów mechanicznych, a dystans między nimi – o wielkości i charakterze różnic (rys. 6). Wśród próbek suszonych wiśni stwierdzono występowanie 3 grup produktów o różnych właściwościach teksturalnych. W pierwszej grupie były wiśnie suszone konwekcyjnie w temp. 60 i 70 °C, mikrofalowo (moc 100 i 200 W) oraz próżniowo, charakteryzujące się najwyższymi wartościami amplitudy, energii zdarzeń i czasu trwania zdarzeń EA oraz największą wytrzymałością (pracą i siłą ściskania). W drugiej grupie były wiśnie suszone konwekcyjnie w temp. 50 °C oraz mikrofalowo przy mocy 300 W, cechujące się silniejszą emisją akustyczną spowodowaną generowaniem dużej liczby zdarzeń EA i istotnie mniejszą wytrzymałością (pracą i siłą ściskania) niż grupa pierwsza. W trzeciej natomiast znajdowały się wiśnie liofilizowane w temp. 30, 40 i 50 °C charakteryzujące się najslabszą emisją akustyczną oraz wytrzymałością, taką jak susze z grupy drugiej. Wiśni wstępnie odwadnianych osmotycznie i suszonych próżniowo nie można było zaliczyć do żadnej z wyodrębnionych grup (rys. 6).



Rys. 6. Projekcja PCA podobieństw i różnic tekstury wiśni suszonych różnymi metodami.

Fig. 6. PCA projection of similarities and differences in texture of sour cherries drying using different techniques

Wnioski

1. Technika suszenia wiśni wpływała istotnie na ich właściwości teksturalne ocenione na podstawie analizy deskryptorów emisji akustycznej i parametrów mechanicznych. Stwierdzono wystąpienie trzech grup suszy różniących się

- właściwościami teksturalnymi. Grupa pierwsza składa się z wiśni suszonych konwekcyjnie w temp. 60 i 70 °C, mikrofalowo (moc 100 i 200 W) i próżniowo, charakteryzujących się najmocniejszą emisją akustyczną i największą wytrzymałością (pracą i siłą ściskania), druga to wiśnie suszone konwekcyjnie w temp. 50 °C oraz mikrofalowo przy mocy 300 W, cechujące się silniejszą emisją akustyczną oraz mniejszą wytrzymałością niż grupa pierwsza. W grupie trzeciej znajdowały się natomiast wiśnie liofilizowane w temp. 30, 40 i 50 °C charakteryzujące się najslabszą emisją akustyczną oraz wytrzymałością, taką jak susze z grupy drugiej.
2. Parametry procesu suszenia również wpływały na właściwości teksturalne wiśni. Zwiększenie temp. procesu suszenia liofilizacyjnego z 30 do 50 °C, spowodowało zwiększenie liczby zdarzeń EA i pracy ściskania. W suszeniu konwekcyjnym zwiększenie temp. procesu z 50 do 70 °C spowodowało istotne zwiększenie amplitudy dźwięku i zmniejszenie liczby zdarzeń EA oraz istotny wzrost siły i pracy ściskania. Wzrost mocy mikrofal ze 100 do 300 W spowodował uzyskanie suszu generującego podczas ściskania emisję akustyczną o malejącej amplitudzie i rosnącej liczbie zdarzeń EA oraz o istotnie mniejszej sile i pracy ściskania.
 3. Deskryptory EA i parametry mechaniczne wiśni suszonych różnymi metodami korelowały silnie ujemnie z wilgotnością suszonych wiśni.

Literatura


- [1] Analizy rynkowe: Popyt na żywność. Stan i perspektywy. Instytut Ekonomiki Rolnictwa i Gospodarki Żywnościowej – PIB. Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi, 2008, **9** (12), 32.
- [2] Chua K.J., Chou S.K.: Low-cost drying methods for developing countries. *Trends Food Sci. Technol.*, 2003, **14**, 519-528.
- [3] Ciurzyńska A., Lenart A., Siemiątkowska M.: Wpływ odwadniania osmotycznego na barwę i właściwości mechaniczne liofilizowanych truskawek. *Acta Agrophysica*, 2011, **17** (1), 17-32.
- [4] Domian E., Lenart A.: Właściwości fizyczne żywności sypkiej. W: *Właściwości fizyczne*. Red. Z. Pałacha, I. Sitkiewicz, WNT, Warszawa 2010, ss. 298-334.
- [5] Lewicki P.P., Jakubczyk E.: Effect of hot air temperature on mechanical properties of dried apples. *J. Food Engin.*, 2004, **64**, 307-314.
- [6] Marzec A., Kowalska H.: Wpływ osmotycznego odwadniania na właściwości akustyczne jabłek suszonych konwekcyjnie. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, 2010, **552**, 149-158.
- [7] Marzec A., Kowalska H., Zadrożna M.: Analysis of instrumental and sensory texture attributes of microwave-convective dried apples. *J. Texture Studies*, 2010, **41** (4), 417-439.
- [8] Marzec A., Lewicki P.P., Ranachowski Z.: Influence of water activity on acoustic properties of flat extruded bread. *J. Food Eng.*, 2007, **79**, 410-422.
- [9] Nijhuis H.H., Torringa H.M., Muresan S., Yuksel D., Leguijt C., Kloek W.: Approaches to improving the quality of dried fruit and vegetables. *Trends Food Sci. Technol.*, 1998, **9**, 13-20.
- [10] PN-ISO 1026:2000. Produkty owocowe i warzywne. Oznaczanie zawartości suchej substancji w wyniku suszenia przy obniżonym ciśnieniu i zawartości wody w wyniku destylacji azeotropowej.
- [11] Slade L., Levine H.: Water and the glass transition - dependence of the glass transition on composition and chemical structure: special implications for flour functionality in cookie baking. *J.*

- Food Eng., 1995, **24**, 431-509.
- [12] Stępień B.: Modyfikacja cech mechanicznych i reologicznych wybranych warzyw pod wpływem różnych metod suszenia. Wyd. Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, Wrocław 2009.
- [13] Tarhan S., Ergunes G., Taser F.: Selection of chemical and thermal pretreatment combination to reduce the dehydration time of sour cherry (*Prunus cerasus* L.). J. Food Engin., 2006, **29**, 651-663.
- [14] Zhang M., Tang J., Mujumdar A.S., Wang S.: Trends in microwave related drying of fruits and vegetables. Trends Food Sci. Technol., 2006, **17**, 524-534.
- [15] Zdunek A., Cybulska J., Konopacka D., Rutkowski K.: Evaluation of apple texture with contact acoustic emission detector: A study on performance of calibration models. J. Food Eng., 2011, **106**, 80-87.

EFFECT OF SOUR CHERRIES DRYING TECHNIQUE ON TEXTURAL PROPERTIES OF DRIED FRUIT ASSESSED USING ACOUSTIC AND MECHANICAL METHODS

S u m m a r y

The objective of this study was to analyze the effect of sour cherries drying technique and process parameters on textural properties of dried fruits assessed using acoustic and mechanical methods. The stoned and frozen sour cherries were dried using different techniques: convection, microwave, vacuum, and sublimation. Determined were the moisture and water activity as well as the porosity of the fruits dried. Compression tests were performed on each single dried cherry fruit and, at the same time, the acoustic emission (AE) was registered by a contact method. The technique and parameters of the process of sour cherries drying impacted their textural properties, which were assessed based on the analysis of acoustic emission descriptors and mechanical parameters. The occurrence of three groups of dried sour cherries was found; those groups differed in their textural properties. The increase in the temperature of the freeze drying process from 30 to 50 °C caused the number of EA events and the compression work to increase. During the convective drying process, the increase in the temperature from 50 to 70 °C caused the amplitude of the sound to significantly increase, the number of EA events to decrease, and the compression force and work to increase. During the compression test on dried cherries, the raise in the microwave power from 100 to 300 W caused the generation of acoustic emission that had decreasing amplitude, increasing number of EA events, and a significantly lower compression work and force. The EA descriptors and mechanical properties of the sour cherries dried using various drying techniques were negatively correlated with the humidity of dried cherry fruits.

Key words: sour cherries, drying, texture, acoustic emission, mechanical properties 

HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA

INTERAKCJE SKŁADNIKÓW ŻYWNOŚCI

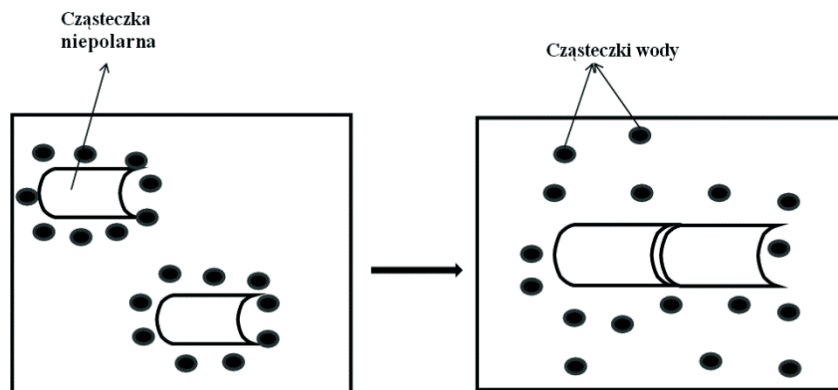
Prezentujemy 16. część cyklu nt.: „Interakcje składników żywności”. Druk materiałów z tego cyklu rozpoczęliśmy w *Żywności* nr 1 (74), 2011.

Pytanie: co to są oddziaływania hydrofobowe, jaka jest ich fizykochemiczna natura i w jaki sposób wpływają na strukturę konformacyjną biopolimerów?

Poza wiązaniami wodorowymi, oddziaływania hydrofobowe odgrywają istotną rolę w kształtowaniu struktury konformacyjnej związków organicznych, a w szczególności biopolimerów. Oddziaływania hydrofobowe występują zwykle w cząsteczkach, które nie mają elektrycznego momentu dipolowego, czyli dwóch ładunków o tych samych wartościach bezwzględnych, ale przeciwnych znakach, np. cząsteczka wody. Oddziaływania hydrofobowe polegają na łączeniu się grup hydrofobowych w celu ochrony cząsteczki przed oddziaływaniem na nie cząsteczek wody. Za powierzchnię hydrofobową cząsteczki uznaje się taki jej obszar, który słabiej oddziałuje z cząsteczką wody niż średnie oddziaływania cząsteczki wody ze sobą. Powierzchnie hydrofobowe cząsteczek w środowisku wodnym spontanicznie się do siebie zbliżają. Przyczyna tego zbliżenia nie tkwi bezpośrednio w przyciąganiu samych tych powierzchni, ale w strukturze wody otaczających powierzchnie hydrofobowe (rys. 1).

Głębsze zrozumienie tego zjawiska wymaga przypomnienia podstawowych pojęć termodynamiki. Pierwszym z nich jest pojęcie entropii (S), która jest miarą przypadkowości i nieuporządkowania układu. Entropia jest więc miarą niezdolności energii układu do wykonania pracy (rys. 2).

Na zakończenie warto nawiązać do żywej komórki, podlegającej także drugiemu prawu termodynamiki. Można go przedstawić w kategoriach prawdopodobieństwa i stanu układu, który zmienia się spontanicznie w kierunku stanu o największym prawdopodobieństwie. Opisany stan przedstawiono na rys. 3.



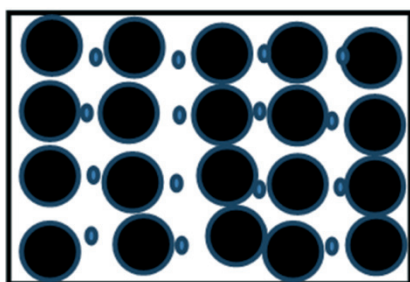
Rys. 1. Agregacja grup niepolarnych w wodzie.



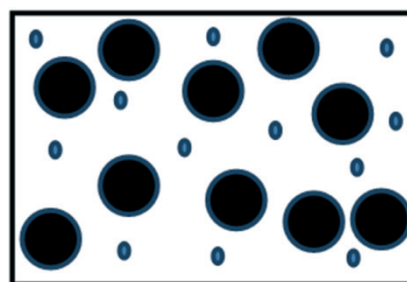
Lód – wysoki stopień uporządkowania, niska entropia (S)



Woda – niski stopień uporządkowania, wysoka entropia (S)

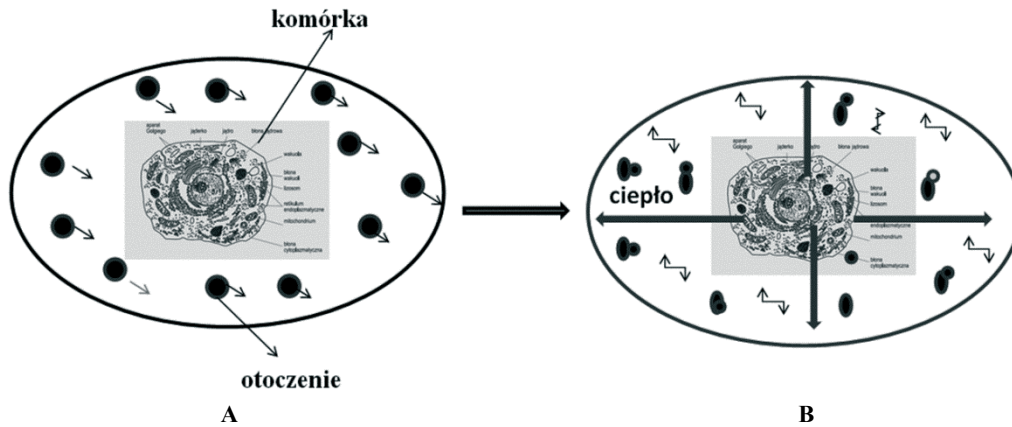


NaCl (krystaliczny) – wysoki stopień uporządkowania, niska entropia (S)



Na⁺ (rozpuszczona) Cl⁻ - niski stopień uporządkowania, wysoka entropia (S)

Rys. 2. Przykłady substancji o wysokim i niskim stopniu uporządkowania, niskiej i wysokiej entropii (S).



Rys. 3. Żywa komórka a drugie prawo termodynamiki.

Na rys. 3A przedstawiono zarówno komórkę, jak i jej otoczenie (wszechświat) w stanie względnego nieuporządkowania. Natomiast na rys. 3B przedstawiono tę samą komórkę po procesie odżywienia, w wyniku czego zaszło szereg reakcji egzoergicznych (wydzielających ciepło), co spowodowało uporządkowanie cząsteczek zawartych w komórce. Natomiast wydzielone ciepło zwiększyło stan nieuporządkowania w środowisku wokół komórki, zwiększając tym samym jego entropię. Oznacza to, że w czasie wzrostu i podziału komórki zostaje spełnione drugie prawo termodynamiki, które głosi, że nieuporządkowanie we wszechświecie musi zawsze wzrastać (c.d.n.). ☒

GRAŻYNA MORKIS

PROBLEMATYKA ŻYWNOŚCIOWA W USTAWODAWSTWIE POLSKIM I UNIJNYM

Publikujemy kolejny przegląd aktów prawnych, które ukazały się w Dzienniku Ustaw RP i Dzienniku Urzędowym UE. Poniższe zestawienie zawiera akty prawne dotyczące szeroko omawianej problematyki żywnościowej wg stanu na dzień 30 sierpnia 2013 r.

Polskie akty prawne

1. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 9 lipca 2013 r. w sprawie wprowadzenia zakazu prowadzenia połowów szprota w podobszarach 22-32 Morza Bałtyckiego (Dz. U. 2013 r., poz. 806).
Do dnia 31 grudnia 2013 r. obowiązuje zakaz prowadzenia przez armatorów statków rybackich o polskiej przynależności połowów szprota w podobszarach 22-32 Morza Bałtyckiego.
2. Rozporządzenie ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 12 lipca 2013 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie zawartości substancji niepożądanych w paszach (Dz. U. 2013 r., poz. 900).
Ustalono nową maksymalną zawartość melaminy w paszach.
3. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 2 kwietnia 2007 r. w sprawie mieszanek paszowych dietetycznych (tekst jednolity) (Dz. U. 2013 r., poz. 923).
Przeznaczenie mieszanek paszowych dietetycznych, w tym gatunki lub kategorie zwierząt, u których można je stosować, właściwości pokarmowe tych mieszanek, dodatkowe wymagania, jakie powinny spełniać oznakowanie mieszanek oraz zalecenia, zgodnie z którymi mają być stosowane te mieszanki, zostały określone w załączniku do niniejszego rozporządzenia.

Unijne akty prawne

1. Rozporządzenie Wykonawcze Komisji (UE) NR 544/2013 z dn. 14 czerwca 2013 r. dotyczące zezwolenia na stosowanie preparatu *Bifidobacterium animalis* ssp. *animalis* DSM 16284, *Lactobacillus alivarius* ssp. *salivarius* DSM 16351 i *Enterococcus faecium* DSM 21913 jako dodatku paszowego dla kurcząt rzeźnych (posiadacz zezwolenia Biomin GmbH) (Dz. Urz. UE L 2013 r., Nr 163, s. 13).

Wyszczególnione w załączniku, należące do kategorii „dodatki zootechniczne” i do grupy funkcjonalnej „stabilizatory flory jelitowej”, zostały dopuszczone jako dodatki do stosowania w żywieniu zwierząt zgodnie z warunkami określonymi w ww. załączniku.
2. Rozporządzenie Wykonawcze Komisji (UE) NR 775/2013 z dn. 12 sierpnia 2013 r. dotyczące zezwolenia na stosowanie preparatu *Enterococcus faecium* DSM 7134 jako dodatku paszowego dla kurcząt odchowywanych na kury nioski i gatunków podrzędnych drobiu innych niż wykorzystywane jako nioski (posiadacz zezwolenia: Lactosan GmbH & Co KG) (Dz. Urz. UE L 2013 r., nr 217, s. 32).

Preparat *Enterococcus faecium* DSM 7134 wyszczególniony w załączniku, należący do kategorii „dodatki zootechniczne” i do grupy funkcjonalnej „stabilizatory flory jelitowej”, zostaje dopuszczony jako dodatek stosowany w żywieniu zwierząt zgodnie z warunkami określonymi w załączniku.
3. Rozporządzenie Komisji (UE) NR 509/2013 z dn. 3 czerwca 2013 r. zmieniające załącznik II do rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1333/2008 w odniesieniu do stosowania kilku dodatków w niektórych napojach alkoholowych (Dz. Urz. UE L 2013 r., nr 150, s. 13).

Na wniosek Polski został zmieniony załącznik II do rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1333/2008 w odniesieniu do stosowania kilku dodatków w niektórych napojach alkoholowych, umożliwiającą stosowanie kilku dodatków do produkowanych w Polsce napojów alkoholowych, określonych w polskiej ustawie z dnia 12 maja 2011 r. o wyrobie i rozlewie wyrobów winiarskich, obrocie tymi wyrobami i organizacji rynku wina. Aromatyzowane napoje alkoholowe objęte polską ustawą o wyrobach winiarskich nie były bowiem objęte rozporządzeniem Rady (WE) nr 1234/2007 z dnia 22 października 2007 r. ustanawiającym wspólną organizację rynków rolnych oraz przepisy szczegółowe dotyczące niektórych produktów rolnych – nie wchodzą w zakres kategorii produktów winiarskich wymienionych w załączniku XIb do tego rozporządzenia.
4. Rozporządzenie Wykonawcze Komisji (UE) NR 597/2013 z dn. 19 czerwca 2013 r. zatwierdzające nieznaczna zmianę specyfikacji nazwy zarejestrowanej w rejestrze chronionych nazw pochodzenia i chronionych oznaczeń geograficznych [Rogal świętomarciński (ChOG)] (Dz. Urz. UE L 2013 r., nr 172, s. 4).

Komisja UE rozpatrzyła wniosek Polski o zatwierdzenie zmiany specyfikacji chronionego oznaczenia geograficznego „Rogal świętomarciński”, zarejestrowanego na mocy rozporządzenia Komisji (WE) nr 1070/2008. Wniosek miał na celu zmianę specyfikacji w celu obniżenia dolnej granicy masy produktu.

W specyfikacji chronionego oznaczenia geograficznego „Rogal świętomarciński” zatwierdzono następującą zmianę, tj. obniżono dolną granicę masy „Rogała świętomarcińskiego”, która będzie wynosić 150 g i tym samym masa rogała będzie kształtowała się od 150 g do 250 g.

Proponowana zmiana jest podyktowana zmianami w przyzwyczajeniach konsumentów, którzy od pewnego czasu zgłaszają postulaty zmniejszenia masy rogali. Zwyczaje żywieniowe uległy zmianie i rogale w obecnej wielkości stanowią zbyt dużą porcję słodczy, zwłaszcza że „Rogale świętomarcińskie” są obecnie wypiekane i spożywane na co dzień, a nie tylko od święta. Obniżenie dolnej granicy masy rogała pozwoli na zwiększenie popytu, a tym samym przyczyni się do rozszerzenia grona konsumentów, co powinno przyczynić się również do rozpowszechniania informacji na temat systemu Chronionych Oznaczeń Geograficznych. ☒

NOWE KSIĄŻKI

Biotechnology in Agriculture and Food Processing: Opportunities and Challenges

[Biotechnologia w rolnictwie i przetwórstwie żywności: szanse i wyzwania]

Panesar P. S., Marwaha S. S.

Wydawnictwo: CRC Press, 2013, ISBN 9781439888360, stron 637, cena 127,00 £

Zamówienia: www.crcpress.com

W książce podjęto problematykę jakości oraz produktywności płodów rolnych i wyrobów spożywczych przy udziale biotechnologii. Scharakteryzowano takie zagadnienia, jak: żywność GMO, enzymy, produkcja składników żywności. Charakteryzując zagadnienia rolnictwa i przetwórstwa żywności, podkreślono znaczenie zastosowania biotechnologii w łańcuchu „od pola do stołu”. W pierwszej części omówiono podstawową charakterystykę biotechnologii w produkcji rolnej i spożywczej, m.in. komórki roślinne czy zmiana właściwości zbóż. Podjęto tematykę biotechnologii w przetwórstwie żywności: produkcja żywności fermentowanej, żywność funkcjonalna, enzymy w przetwórstwie żywności, produkcja polisacharydów, słodzików, barwników, substancji smakowych i żywności genetycznie zmodyfikowanej. Scharakteryzowano zagadnienia zagospodarowania odpadów poprodukcyjnych.

Mycotoxins in Foodstuffs

[Mikotoksyny w żywności]

Weidenbörner M.

Wydawnictwo: Springer, 2013, ISBN 978-1-4614-8726-5, stron 1035, cena 139,09 €

Zamówienia: www.springer.com

Mikotoksyny stanowią zagrożenie dla zdrowia ludzi i zwierząt, wpływając negatywnie na funkcjonowanie różnych organów. Książka zawiera charakterystykę mikotoksyn najczęściej występujących w żywności. Wymieniono produkty, które w sposób szczególny narażone są na działanie mikotoksyn, podano stopnie zanieczyszczenia oraz kraje, w których najczęściej wykrywano zanieczyszczenia żywności tymi związkami.

Food Oxidants and Antioxidants: Chemical, Biological, and Functional Properties

[Oksydanty i antyoksydanty w żywności: chemiczne, biologiczne i funkcjonalne właściwości]

Bartosz G.

Wydawnictwo: CRC Press, 2013, ISBN 9781439882412, stron 568, cena 108 £

Zamówienia: www.crcpress.com

Antyoksydanty odgrywają w żywności ważną rolę w zapewnianiu jej jakości i trwałości podczas przetwarzania oraz przechowywania. W książce omówiono zagadnienia wpływu naturalnie występujących oraz dodawanych prooksydantów i antyoksydantów na różne aspekty jakości żywności. Uwzględniono właściwości sensoryczne, odżywcze i zdrowotne żywności. Opisano następujące zagadnienia: potencjał oksydacyjny, mechanizmy oksydacji, pomiar aktywności antyoksydacyjnej głównych składników żywności (białek i tłuszczów).

Sustainable Dairy Production

[Zrównoważona produkcja nabiału]

de Jong P. (ed.)

Wydawnictwo: Wiley-Blackwell, 2013, ISBN 978-0-470-65584-9, stron 280, cena 156 €

Zamówienia: www.wiley.com

W książce scharakteryzowano wiedzę z zakresu zrównoważonej produkcji nabiału w ujęciu całościowym. Zrównoważenie można osiągnąć poprzez: nowe technologie, analizę cyklu życia, ulepszanie i optymalizację używanych linii produkcyjnych. Ważne jest również stymulowanie innowacji procesów produkcyjnych, biorąc pod uwagę aspekty środowiskowe, ekonomiczne oraz korzyści wizerunkowe dla przedsiębiorstw.

Innovations in Food Packaging

[Innowacje w opakowaniu żywności]

Han J. (ed.)

Wydawnictwo: Academic Press, 2013, ISBN 978-12-394601-0, stron 606, cena 149,96 \$

Zamówienia: www.store.elsevier.com

Opakowanie spełnia funkcje w zakresie ochrony, dystrybucji i sprzedaży produktów. W książce scharakteryzowano opakowanie żywności jako dziedzinę, która ma wpływ na trwałość i bezpieczeństwo żywności. Zawarto informacje naukowe na temat opakowań, materiałów opakowaniowych, ich ulepszenia i utylizacji. Ponadto książka zawiera studia przypadku dotyczące nowych systemów, mających zastosowanie do szybko psujących się produktów spożywczych.

Opracowała: Magdalena Niewczas

TWÓRCY POLSKIEJ NAUKI O ŻYWNOSCI

POLSCY UCZENI PO II WOJNIE ŚWIATOWEJ PROF. DR HAB. STEFAN POZNAŃSKI (1922 - 1982)



Profesor Stefan Poznański urodził się 5 stycznia 1922 roku w Rzezawie koło Bochni. Po ukończeniu szkoły podstawowej pomagał rodzicom w prowadzeniu gospodarstwa rolnego. W czasie okupacji pracował w Zakładzie Mleczarskim w Bochni, a po zakończeniu wojny pełnił funkcję kierownika Zakładu Mleczarskiego w Gliwicach.

Zainteresowany procesami technologicznymi w mleczarstwie ukończył Szkołę Mleczarską w Rzeszowie, a następnie po uzyskaniu matury w Studium Wstępnym podjął studia I stopnia w Państwowej Wyższej Szkole Gospodarstwa Wiejskiego w Cieszynie, a od 1950 r. kontynuował je w Wyższej Szkole Rolniczej w Olsztynie. Studia ukończył w 1952 r. Będąc wyróżniającym się studentem, jeszcze w czasie studiów został zatrudniony najpierw w Katedrze Chemii Ogólnej, a następnie w Katedrze Technologii Mleczarskiej. Kolejne stopnie naukowe uzyskał w SGGW w Warszawie: magistra – 1953 r., doktora – 1961 r., doktora habilitowanego - 1965 r. Opiekunem naukowym w okresie pogłębiania wiedzy i umiejętności był prof. dr hab. Eugeniusz Pijanowski. Tytuł profesora nadzwyczajnego nadała Stefanowi Poznańskiemu Rada Państwa w 1971 r. W 1977 r. Profesor został wybrany na członka korespondenta PAN.

Główne efekty działalności naukowo-badawczej, dydaktycznej i organizacyjnej znajdują potwierdzenie w rozwoju uczelni olsztyńskiej (WSR, ART) oraz Wydziału Mleczarskiego, a następnie Technologii Żywności ART w Olsztynie. Profesor Stefan Poznański pełnił w latach 1969 - 1975 funkcję dziekana Wydziału Technologii Żywności, a następnie prorektora ówczesnej Akademii Rolniczo-Technicznej (1975 - 1980). W latach 1966 - 1969 kierował Katedrą Technologii Mleczarskiej. Był współtwórcą i dyrektorem Instytutu Inżynierii i Biotechnologii Żywności (1969 - 1972).

Profesor Stefan Poznański był posłem na Sejm VII (1976 - 1980) i VIII kadencji (1980 - 1985). Był wiceprzewodniczącym Senackiej Komisji Rolnictwa i Przemysłu

Spożywczego. Był wieloletnim członkiem Rady Naukowej przy Ministrze Przemysłu Spożywczego i Skupu oraz członkiem Prezydium Komitetu Chemii i Technologii Żywności PAN.

Działalność naukowo-badawczą prof. Stefana Poznańskiego charakteryzowały dynamizm, innowacyjność oraz umiejętność i przekonanie o niezbędności rozwiązywania problemów badawczych w pełnym cyklu, tj. wdrażaniu wyników badań podstawowych w praktyce. Szeroki zakres zainteresowań naukowych Profesora dotyczył głównie chemii i inżynierii białek mleka, ich modyfikacji mikrobiologicznej, enzymatycznej oraz technologii pełniejszego wykorzystania w produkcji tradycyjnych i nowych produktów spożywczych przede wszystkim serów i preparatów białkowych.

Problematyka prowadzonych badań obejmowała następujące zagadnienia:

- badanie budowy i właściwości białek mleka oraz charakterystyka ich zmian w procesach enzymatycznych,
- studia nad wymuszoną koagulacją białek mleka i ciągłym wyrobem serów,
- studia nad pełniejszym wydzielaniem białek i tłuszczu z mleka,
- opracowanie technologii oraz wdrożenia nowych rodzajów serów twarogowych, preparatów białkowych i napojów fermentowanych,
- badania nad modyfikacją właściwości fizykochemicznych, funkcjonalnych i żywieniowych białek mleka metodą ekstruzji,
- opracowanie technologii otrzymywania oraz charakterystyka kazeinianów i możliwości modyfikacji ich składu i właściwości funkcjonalnych,
- badania uwarunkowań techniczno-technologicznych zastosowania procesu ultrafiltracji w przemyśle mleczarskim.

Z perspektywy minionych lat można stwierdzić, że Profesor trafnie przewidział rozwój biotechnologii żywności, w tym głównie znaczenie procesów enzymatycznych. W tym zakresie w zespole prof. Poznańskiego prowadzone były badania, które dotyczyły między innymi:

- otrzymywania i stosowania enzymów koagulujących białka mleka,
- charakterystyki aktywności enzymatycznej mezofilnych i termofilnych bakterii fermentacji mlekowej,
- doboru i charakterystyki preparatów enzymatycznych przyspieszających proces dojrzewania serów,
- otrzymywania, charakterystyki, właściwości oraz zastosowania preparatów β -D-galaktozydazy.

W celu pełniejszego wykorzystania składników mleka z żywności lub w paszach prowadzono badania mierzące do zastosowania serwatki w produkcji, m.in.:

- preparatów białkowych,
- koncentratów cukrowych,

- kwasów organicznych głównie mlekowego i propionowego,
- biomas bakterii, drożdży i pleśni.

Zakres zainteresowań badawczych Profesora poparty był głęboką wiedzą, a także intuicją sprzyjającą wysokiej wartości merytorycznej i praktycznej otrzymanych wyników badań.

W ujęciu ilościowym dorobek prof. Stefana Poznańskiego obejmuje ponad 200 prac opublikowanych w czasopismach krajowych oraz w renomowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Na szczególne podkreślenie zasługuje współautorstwo 23 patentów oraz efekty działalności wdrożeniowej, głównie w przemyśle mleczarskim.

W jubileuszowym opracowaniu (przygotowanym przez uczniów) wydanym w 2002 roku napisaliśmy między innymi: „*Pamiętamy Profesora Poznańskiego jako człowieka niezwykle pracowitego i czynnego, a zarazem oddanego bez reszty reprezentowanej dyscyplinie naukowej. Realizowana przez Niego z twórczym uporem działalność badawcza pozwoliła stworzyć wokół Niego trwałą i znaczącą szkołę naukową z zakresu technologii żywności w tym szczególnie mleczarstwa*”.

Rozpoczęte przez prof. Stefana Poznańskiego dzieło staramy się kontynuować z przekonaniem, że powinno ono dobrze służyć rozwojowi nauk o żywności.

W imieniu uczniów Profesora
Prof. dr hab. Włodzimierz Bednarski

**XVIII SESJA NAUKOWA SEKCJI MŁODEJ KADRY NAUKOWEJ
POLSKIEGO TOWARZYSTWA TECHNOLOGÓW ŻYWNOSCI –
II SESJA MIĘDZYNARODOWA - *QUO VADIS ALIMENTUM?*
14-16 maja 2013 roku - Poznań/Puszczykowo**

Tradycyjnie w maju, już po raz 18. spotkali się młodzi naukowcy na corocznej konferencji organizowanej przez Polskie Towarzystwo Technologów Żywności. Temat przewodni: *Quo Vadis Alimentum?* miał skłaniać do dyskusji nad najnowszymi trendami produkcji oraz nad bezpieczeństwem żywności.

Organizowana przez Oddział Wielkopolski PTTŻ konferencja odbyła się w dniach 14 - 16 maja 2013 r., po raz drugi w Puszczykowie koło Poznania. Celem corocznych spotkań jest wymiana doświadczeń oraz integracja środowiska doktorantów i młodych adeptów nauki z wielu ośrodków polskich i zagranicznych, których zainteresowania badawcze związane są z dziedzinami mającymi wpływ na rozwój nauki o żywności i żywieniu. Tegoroczna Sesja objęta była patronatem: J. M. Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu – prof. dr hab. Grzegorza Skrzypczaka, dziekana Wydziału Nauk o Żywności i Żywieniu Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu – prof. dr hab. Jana Michniewicza, przewodniczącego prezydium Komitetu Nauk o Żywności PAN – prof. dr hab. Andrzeja Lenarta oraz marszałka województwa wielkopolskiego – Marka Woźniaka.

Zgromadzonych gości powitał dziekan Wydziału Nauk o Żywności i Żywieniu - prof. dr hab. Jan Michniewicz, prezes PTTŻ – prof. dr hab. Edward Pospiech, a następnie prorektor ds. Studiów prof. dr hab. Monika Kozłowska w imieniu Kolegium Rektorów uroczyste otworzyła XVIII Sesję Sekcji Młodej Kadry Naukowej.

W konferencji uczestniczyli naukowcy z ośrodków w Polsce, Kanadzie i Francji, uświetniając tegoroczną Sesję wykładami plenarnymi: prof. Roman Przybylski (University of Lethbridge, Kanada), dr Didier Montet (UMR Qualisud, CIRAD Montpellier, Francja), dr Hocquette Jean-François (French National Institute for Agricultural Research, Francja), prof. dr hab. Henryk Jeleń (Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu). Wykład inauguracyjny wygłosił prof. dr hab. Jan Gawęcki z Uniwersytetu Przyrodniczego. Wśród zaproszonych gości była także prof. dr hab. Nina Baryłko-Pikielna,

która wraz z prof. dr Antonim Rutkowskim (nieobecnym w tym roku), zapoczątkowała te spotkania i od wielu lat w nich uczestniczy, będąc mentorem kolejnych pokoleń młodych naukowców.

W Puszczykowie zebrało się blisko 140 naukowców z Polski i z zagranicy. W ciągu trzech dni wysłuchano: 37 referatów, zaprezentowano 95 posterów oraz 8 e-posterów, które z racji technologicznej tematyki otrzymały wyróżnienia w postaci publikacji w czasopiśmie *Aparatura Badawcza i Dydaktyczna*. Komitet Naukowy nagrodził najlepszych mówców. Laureatem pierwszej nagrody (laptop ufundowany przez firmę WESSLING Polska sp. z o.o.) w sesji anglojęzycznej został Artur Wiktor z SGGW. Drugie miejsce przyznano Paulinie Pawłowskiej z Politechniki Łódzkiej, a trzecie Gintare Zakariene z Lithuanian University of Health Sciences. W sesjach tematycznych wyróżniono następujące osoby: Mariusza Lesieckiego (UP w Poznaniu), Emilię Kupińską (UP w Poznaniu) oraz Aleksandrę Fijałkowską (SGGW). Nagrodzono najlepsze plakaty autorstwa: Magdaleny Olszewskiej (UWM w Olsztynie), Eweliny Mroczek (UP w Poznaniu), Dominiki Kulig (UP we Wrocławiu). Laureaci pierwszych miejsc w każdej z sesji zostali wyróżnieni przez Komitet Nauk o Żywności PAN publikacją w: *Zeszytach Problemowych Postępów Nauk Rolniczych* oraz *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*. Wszystkim nagrodzonym gratulujemy.

Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu UP miał liczną grupę reprezentantów, nie tylko z uwagi na organizację Sesji, ale tych, którzy znaleźli się w gronie laureatów Sesji tematycznych i posterowych. W gronie uhonorowanych e-posterów znalazły się prace uczestników Wydziałowego Studium Doktoranckiego: Adriana Czerniaka (III rok), Pauliny Góreckiej (I rok) oraz Dągmary Leśniak (II rok).

Komitet Organizacyjny pragnie podziękować Pani prof. dr hab. Małgorzacie Nogali-Kałużkiej oraz Pani dr hab. Dorocie Piaseckiej-Kwiatkowskiej za wsparcie oraz cenne rady.

Dziękujemy także wszystkim sponsorom, bez których nie udałooby się zorganizować tak udanej pod każdym względem konferencji - firmie NESTLE (sponsor główny) oraz pozostałym: Kompanii Piwowarskiej, COBRABiD, WESSLING Polska, Pepsi-Cola General Bottlers Poland, Merck Millipore, Good Food Products, Hochland Polska, Amco, Leco, Strauss Cafe oraz Fawor.

Na kolejną XIX Sesję Naukową Młodej Kadry Naukowej zapraszają organizatorzy z Warszawy, licząc, że zainteresowanie młodych naukowców przyszłą konferencją będzie jeszcze większe.

Dagmara Leśniak

**XLI SESJA NAUKOWA KOMITETU NAUK O ŻYWNOSĆCI PAN
„INNOWACYJNOŚĆ W NAUCE O ŻYWNOSĆCI I ŻYWIENIU”
Kraków, 2-3 lipca 2013 r.**

W dniach 2 - 3 lipca 2013 r. w Centrum Kongresowym Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie odbyła się XLI Sesja Naukowa Komitetu Nauk o Żywności Polskiej Akademii Nauk pod nazwą „Innowacyjność w nauce o żywności i żywieniu”. Organizatorami konferencji byli: Komitet Nauk o Żywności PAN, Wydział Technologii Żywności Uniwersytetu Rolniczego im. H. Kołłątaja w Krakowie oraz Oddział Małopolski Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności.

Celem konferencji było stworzenie forum do prezentacji najnowszych prac oraz osiągnięć naukowych i technologicznych w dziedzinie technologii żywności i żywienia człowieka, jak również wymiana poglądów oraz doświadczeń pracowników jednostek naukowych i przedstawicieli przemysłu spożywczego.

W konferencji uczestniczyło 210 osób z wielu ośrodków naukowych Polski, najliczniej reprezentowane były: Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie i Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, jak również Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski i Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN w Olsztynie, Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego w Warszawie, Zachodniopomorski Uniwersytet Techniczny w Szczecinie oraz Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu.

W imieniu Komitetu Organizacyjnego wszystkich uczestników Sesji powitała dziekan Wydziału Technologii Żywności prof. dr hab. Teresa Fortuna i przedstawiła zaproszonych gości.

Konferencję uroczyście otworzył J.M. Rektor Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie prof. dr hab. inż. Włodzimierz Sady, który życzył wszystkim owocnych obrad. Następnie głos zabrał przewodniczący Komitetu Nauk o Żywności PAN, prof. dr hab. Andrzej Lenart, witając uczestników XLI Sesji. Z kolei prezes Zarządu Głównego Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności, prof. dr hab. Edward Pospiech, wręczył Dyplom Honorowego Członka PTTŻ prof. dr. hab. Januszowi Czapskiemu z Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu oraz Złote Odznaki PTTŻ prof. dr. hab.

Henrykowi Kostyrze z IRZiBŻ PAN w Olsztynie i dr Ewie Ślawnickiej, sekretarz redakcji czasopisma *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*. Następnie do uczestników konferencji słowa przywitania skierował prof. dr dr h.c. multi Antoni Rutkowski, członek rzeczywisty PAN i założyciel Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności.

Pierwsza część konferencji rozpoczęła się od sesji plenarnej, której przewodniczyli prof. dr hab. Zdzisław Targoński oraz prof. dr hab. Erwin Wąsowicz. Wykład plenarny pt. „Sztuczna inteligencja” wygłosił, w sposób niezwykle interesujący, prof. dr hab. Ryszard Tadeusiewicz z Akademii Górniczo-Hutniczej w Krakowie. Następnie prof. dr hab. Józef Korczak z Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu przedstawił bardzo ciekawy referat pt. „Innowacyjna linia produktów spożywczych o zaprogramowanych właściwościach prozdrowotnych”. Po sesji plenarnej odbyły się obrady referatowe w dwóch równoległych sekcjach, których tematami przewodnimi były „Nowoczesne techniki i technologie w przetwórstwie i utrwalaniu żywności” oraz „Żywność fermentowana i napoje”. W ramach tych sekcji wygłoszono łącznie dwadzieścia trzy referaty, w których poruszono wiele zajmujących zagadnień i aspektów związanych z technologią żywności. Zakończeniem każdej z sekcji była otwarta dyskusja nad wygłoszonymi prezentacjami.

Zwieńczeniem pierwszego dnia konferencji była uroczysta kolacja odbywająca się w Centrum Konferencyjno-Bankietowym Preston Centre przy Rynku Głównym w Krakowie. Niewątpliwą atrakcją niniejszego spotkania był niezapomniany koncert Zbigniewa Wodeckiego.

W drugim dniu konferencji, 3 lipca 2013 r., sesja plenarna, otwarta przez prof. dra hab. Mariusza Piskulę oraz prof. dra hab. Władysława Migdała, zaczęła się od wygłoszonego przez prof. dra hab. Wiesława Kopcia z Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu referatu pt. „Innowacyjne technologie w przetwórstwie jaj”. Autor przedstawił wykorzystywane obecnie w przemyśle jajczarskim metody i technologie służące pozyskiwaniu cennych składników treści jaj i produkcji innowacyjnych produktów znajdujących zastosowanie m.in. w segmencie suplementów diety. Następnie uczestnicy konferencji wysłuchali referatu prof. dra hab. Mirosława Grzesika zatytułowanego „Rola hydrokolidów nieskrobiowych w kształtowaniu właściwości mechanicznych żywności”. W kolejnej części Sesji odbyły się sekcje referatowe, w ramach pierwszej z nich nt. „Nowych trendów w żywieniu człowieka” wygłoszono siedem wykładów, natomiast w drugiej sekcji pt. „Bezpieczeństwo i jakość żywności i żywienia” referaty przedstawiło ośmiu prelegentów.

Zarówno w pierwszym, jak i w drugim dniu konferencji miały miejsce sesje posterowe, w ramach których uczestnicy zaprezentowali łącznie 214 komunikatów naukowych.

Dopełnieniem konferencji był przeprowadzony 3 lipca br. panel dyskusyjny „Innowacyjność a jakość żywności”, który prowadzili prof. dr hab. Barbara Baraniak,

prof. dr hab. Włodzimierz Bednarski, prof. dr hab. Grażyna Jaworska oraz prof. dr hab. Tadeusz Tuszyński. W dyskusji brali udział uczestnicy i zaproszeni goście, a była ona okazją do wymiany poglądów związanych z bezpieczeństwem i jakością żywności oraz innowacyjnością.

XLI Sesję Naukową KNoŻ PAN podsumowała i uroczystie zakończyła przewodnicząca Komitetu Organizacyjnego Sesji i dziekan Wydziału Technologii Żywności UR w Krakowie, prof. dr hab. Teresa Fortuna. W tym miejscu miało miejsce ogłoszenie wyróżnień dla uczestników Sesji za najlepsze komunikaty naukowe.

Za wystąpienia ustne wyróżnieni zostali:

1. Ewa Brychcy, Natalia Ulbin-Figlewicz, Dominika Kulig i Andrzej Jarmoluk (Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Nauk o Żywności, Katedra Technologii Surowców Zwierzęcych i Zarządzania Jakością) za komunikat pt. „Zmienność struktury i rozpuszczalności jadalnych filmów ochronnych wytwarzanych z użyciem zjonizowanych form wody”.
2. Anna Sip (Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu, Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności) za komunikat pt. „Potencjał przeciwlisteryjny mikrobioty serów regionalnych wytwarzanych w okolicy tatrzańskim”.
3. Magdalena Zielińska-Dawidziak (Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu, Katedra Biochemii i Analizy Żywności) za komunikat pt. „Czy ferrytyna roślinna jest dobrym suplementem diety?”

Wyróżniono również następujące komunikaty w formie posterowej:

1. „Wpływ obróbki ultradźwiękami na zawartość polifenoli i aktywność przeciwutleniającą suszonej bazylii” (Magdalena Ślędź, Dorota Witrowa-Rajchert – SGGW w Warszawie).
2. „Szacowanie biodostępności mioinozytolu w pieczywie wzbogaconym w fitazy przy zastosowaniu symulacji trawienia *in vitro* z udziałem komórek Caco-2” (Łukasz Byczyński, Małgorzata Pierchalska, Emilia Cielecka, Robert Duliński – Uniwersytet Rolniczy w Krakowie).
3. „Bioróżnorodność bakterii fermentacji mlekowej w zakwasach piekarskich z mąk niechlebowych – selekcja szczepów bakterii do kultur starterowych” (Katarzyna Piasecka-Józwiak, Beata Chabłowska, Michał Świątek, Joanna Rozmierska, Monika Kliszcz – Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego w Warszawie).
4. „Wpływ kwasów tłuszczowych z żółtek jaj wzbogaconych w CLA na aktywację receptorów PPAR w komórkach rakowych gruczołu krokowego” (Aneta Koronowicz, Adam Master, Jakub Chwastek, Beata Szymczyk, Teresa Leszczyńska – Uniwersytet Rolniczy w Krakowie).

5. „Wpływ dodatku ekstraktu polifenolowego z wyłoków rzepakowych na stabilność oleju rzepakowego podczas smażenia czipsów ziemniaczanych” (Agnieszka Kita, Magda Aniołowska, Ewa Górnicka – Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu).
6. „Badanie wpływu dodatku preparatów z rozmarynu na ocenę sensoryczną i stabilność oksydacyjną olejów rzepakowych tłoczonych na zimno” (Małgorzata Wroniak, Katarzyna Ratusz – SGGW w Warszawie).
7. „Jakość mikrobiologiczna i stabilność oksydacyjna preparatu suszonego rozpyłowo zawierającego immobilizowane bakterie probiotyczne i NNKT” (Agnieszka Bednarczyk-Drag, Alicja Tarnowiecka-Kuca, Wioletta Krawczyńska, Sebastian Żywicki, Elżbieta Bogusławska-Wąs, Magdalena Roznowska, Agnieszka Hrebień-Filisińska, Marta Rogalewska, Grzegorz Bienkiewicz, Artur Bartkowiak, Waldemar Dąbrowski – Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie).

W imieniu przewodniczącego Komitetu Nauk o Żywności PAN słowa podziękowania dla organizatorów Sesji przekazała prof. dr hab. Dorota Witrowa-Rajchert.

prof. dr hab. Teresa Fortuna

dr inż. Dorota Gałkowska

Z ŻAŁOBNEJ KARTY

PROF. DR HAB. JACEK KIJOWSKI 1948 - 2013



Dnia 23 lipca 2013 roku zmarł, po długiej i ciężkiej chorobie, prof. dr hab. Jacek Kijowski, nauczyciel akademicki Katedry Zarządzania Jakością Żywności Wydziału Nauk o Żywności i Żywieniu Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.

Urodził się 5 kwietnia 1948 roku w Poznaniu. W roku 1971 ukończył studia na Wydziale Technologii Rolno-Spożywczej Wyższej Szkoły Rolniczej w Poznaniu, uzyskując tytuł mgr inż. technologii rolno-spożywczej. W tym samym roku podjął pracę na stanowisku asystenta stażysty w Instytucie Technologii Żywności Pochodzenia Zwierzęcego AR w Poznaniu. W tymże Instytucie Pan prof. dr hab. Jacek

Kijowski przeszedł pierwsze etapy rozwoju swojej kariery naukowej: najpierw jako asystent (1972-1978), potem, po uzyskaniu stopnia doktora nauk technicznych, jako adiunkt (1978-1984). W 1987 roku uzyskał stopień doktora habilitowanego na Wydziale Technologii Żywności naszej uczelni, a w 1996 r. otrzymał tytuł profesora nauk rolniczych.

Profesor Kijowski odbył staże naukowe w kraju i za granicą (RFN-stypendium FAO, USA, Wielka Brytania, Holandia), a nawet, w latach 1984-1986, pracował jako samodzielny pracownik naukowy Food Science Department, Pennsylvania State University w USA.

Przez wiele lat pełnił funkcję kierownika: w latach 1988-1991 – Zakładu Technologii Drobiarstwa, 1991-2002 – Katedry Technologii Produktów Drobiarskich, a od 2002 – Katedry Zarządzania Jakością Żywności.

Był członkiem Sekcji Technologii i Chemii Białka Komitetu Technologii i Chemii Żywności PAN, członkiem Komitetu Technologii i Chemii Żywności PAN, wiceprzewodniczącym Komitetu Technologii i Chemii Żywności PAN, członkiem Komite-

tu Nauk o Żywności PAN, członkiem Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności oraz wielu zagranicznych towarzystw naukowych: World Poultry Science Association, European Federation (WPSA-EF), Working Group IV Egg and Egg Products Quality, Working Group V – Poultry Meat Quality, Institute of Food Technologists, Chicago, USA, American Poultry Science Association.

Prof. dr hab. Jacek Kijowski brał udział w pracach redakcyjnych: „Polish Journal of Food and Nutritional Science” i „Żywność. Nauka. Technologia. Jakość” oraz działał w Radach Programowych „Polskiego Drobniarstwa” i „Przemysłu Spożywczego”.

Za wybitne zasługi uzyskał szereg nagród, wyróżnień i odznaczeń: nagrodę w konkursie na najlepszy artykuł w „Gospodarce Mięsnej”, nagrodę indywidualną i dyplom Ministra Przemysłu Spożywczego i Skupu za wyróżniającą się pracę naukową VIII Sesji Naukowej KTiChŻ PAN, świadectwo uznania i nagrodę za współautorstwo i wysoki poziom naukowy pracy FGPO – 282 pt. „Biochemiczne, żywieniowe, technologiczne właściwości mięsa kurcząt z objawami dystrofii mięśniowej” – wydane przez Ministerstwo Rolnictwa USA; nagrodę zespołową I stopnia Ministra Nauki, Szkolnictwa Wyższego i Techniki za osiągnięcia z dziedziny badań naukowych z zakresu biofizykochemii i technologii mięsa brojlerów z objawami zmian PSE i DFD; nagrodę zespołową Ministra Edukacji Narodowej za osiągnięcia w dziedzinie technologii produktów drobiarskich; indywidualne i zespołowe nagrody Rektora AR i UP w Poznaniu, wyróżnienie i statuetkę przyznaną przez Krajową Radę Drobniarstwa - Izbę Gospodarczą w Warszawie za twórczą pracę w unowocześnianiu technologii przetwórstwa mięsa drobiowego oraz przewodniczenie przez wiele lat zespołowi ekspertów Ogólnopolskiego Konkursu Drobniarskiego; Złoty Krzyż Zasługi, odznaczenie Zasłużony dla Politechniki Łódzkiej, Medal Komisji Edukacji Narodowej.

Zainteresowania, główne kierunki naukowe i osiągnięcia Profesora to przede wszystkim: technologia żywności pochodzenia zwierzęcego, biochemia i higiena drobiu oraz jaj i produktów z surowców drobiarskich, zarządzanie jakością i bezpieczeństwem zdrowotnym żywności.

Prof. dr hab. Jacek Kijowski był wybitnym specjalistą z zakresu technologii, chemii oraz biochemii żywności pochodzenia zwierzęcego (mięsa drobiowego i jaj) zwłaszcza białek tych surowców, jak również z zakresu systemowego zarządzania bezpieczeństwem żywności oraz integracji systemów zarządzania jakością realizowanych w przemyśle, obrocie i dystrybucji. Z tych dwóch obszarów tematycznych był jednym z nielicznych uznanych specjalistów w kraju i zagranicą. Jest autorem licznych i bardzo wartościowych publikacji, książek i podręczników akademickich – łącznie ponad 340 pozycji. Pod Jego kierunkiem zrealizowano szereg prac doktorskich i magisterskich.

Z wielkim żalem pożegnaliśmy śp. Profesora Jacka Kijowskiego, zachowując o Nim serdeczną pamięć.

Pogrzeb Profesora odbył się 29 lipca 2013 r., po nabożeństwie w kościele pw. św. Jana Vianneya na Sołacz, na cmentarzu parafialnym przy ul. Lutyckiej w Poznaniu.

Prof. dr hab. Jan Michniewicz
Dziekan Wydziału Nauk o Żywności i Żywieniu
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

TECHNOLOG ŻYWNOSCI

INFORMATOR POLSKIEGO TOWARZYSTWA TECHNOLOGÓW ŻYWNOSCI

Rok 23 Nr 4

sierpień 2013

DZIAŁALNOŚĆ TOWARZYSTWA

Zarząd Główny

Polskie Towarzystwo Technologów Żywności jako lider konsorcjum wygrało konkurs na projekt z Inowacji społecznych, który będzie realizowany przy współpracy: Federacji Polskich Banków Żywności, Centralnego Ośrodka Badawczo-Rozwojowego Opakowań, Instytutu Ekonomiki Rolnictwa i Gospodarki Żywnościowej – Państwowego Instytutu Badawczego i Spółdzielni Mleczarskiej Mlekovita. Przedstawiony projekt został najwyższej oceniony.

Tytuł projektu: MODEL OGRANICZANIA STRAT I MARNOWANIA ŻYWNOSCI Z KORZYSCIĄ DLA SPOŁECZEŃSTWA (MOST)

WAŻNIEJSZE MIĘDZYKRAJOWE I KRAJOWE KONFERENCJE NAUKOWE W 2013 r.

Wrzesień

- 11 - 13 PAPENDAL, The Netherlands = NIZO Dairy Conference: Functional Enzymes for Dairy Applications
Kontakt: <http://www.nizodairyconference.com/>
- 16 - 20 MUNIC, Germany = Drink Tec 2013
Kontakt: www.drinktec.de
- 19 - 20 SKOPJE, Macedonia = Conference on Food Quality and Safety and Hygienic Engineering and Design
Kontakt: www.jhed.mk/categories/view/436
- 29.09 – 02.10 NOORDWIJKERHOUT, The Netherlands = First International Conference on Global Food Security
Kontakt: www.globalfoodsecurityconference.com

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 ŻYWNOCI

Przy Zarządzie Głównym: **TCHIBO – WARSZAWA Sp. z o.o. Marki, BUNGE POLSKA Sp. z o.o. Karczew, HORTIMEX Plus Spółka komandytowa Konin.**
Przy Oddziale Małopolskim: **ZAKŁADY PRZEMYSŁU TŁUSZCZOWEGO BIELMAR Sp. z o.o., Bielsko-Biała.**

Material zawarty w Nr 4 (89)/2013 Biuletynu podano według stanu informacji do 15 sierpnia 2013 r. Materiały do Nr 5 (90)/2013 prosimy nadsyłać do 1 października 2013 r. 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
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
Dr hab. Joanna Leszczyńska Oddział Łódzki	PL, ul. Stefanowskiego 4/10, 90-924 ŁÓDŹ e-mail: joanna.leszczyńska@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
Dr hab. Małgorzata Dżugan, prof. nadzw. Oddział Podkarpacki	UR w Rzeszowie, ul. M. Ćwiklińskiej 2, 35-601 RZESZÓW Tel. 17 872 17 22; e-mail: mdzugan@univ.rzeszow.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
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	WSliZ, ul. Rakowiecka 32, 02-532 WARSZAWA Tel.: 22 646 20 60; e-mail: krajewski@wsiiz.pl
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 hab. Magdalena Rudzińska Chemii i Technologii Tłuszczów	UP, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ Tel.: 61 848 72 76; e-mail: magdar@up.poznan.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, prof. nadzw. 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