



# ŻYWNOŚĆ

*Nauka Technologia Jakość*

---

# FOOD

*Science Technology Quality*

Nr 6 (91)

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:** 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), prof. dr hab. Józef Korolczuk (Francja), prof. dr hab. Henryk Kostyra, prof. dr hab. Andrzej Lenart, prof. dr hab. Zdzisława Libudzisz, prof. dr Marian Naczk (Kanada), prof. dr hab. Małgorzata Nogala-Kałużka, prof. dr hab. Jan Oszmiański, prof. dr Jan Pokorny (Czechy), prof. dr Roman Przybylski (Kanada), prof. dr hab. Piotr Przybyłowski, prof. dr hab. Bogusław Staniewski, dr Alina Surmacka-Szcześniak (USA), prof. dr hab. Krzysztof Surówka, prof. dr hab. Zdzisław E. Sikorski, dr Andrzej Sośnicki (USA), prof. dr hab. Zdzisław Targoński, prof. dr hab. Tadeusz Trziszka, prof. dr hab. Stanisław Tyszkiewicz, prof. dr hab. Erwin Wąsowicz, prof. dr hab. Dorota Witrowa-Rajchert, dr John Wojciak (Kanada), prof. dr hab. Maria Wojtatowicz

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

**WYDAWCA:**

POLSKIE TOWARZYSTWO TECHNOLOGÓW ŻYWNOSCI, WYDAWNICTWO NAUKOWE PTTŻ

W latach 1994 - 1999 wydawcą kwartalnika był Oddział Małopolski PTTŻ

© Copyright by Polskie Towarzystwo Technologów Żywności, Kraków 2013  
Printed in Poland

Wydawanie publikacji dofinansowane przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego

**ISSN 1425-6959**

Czasopismo w postaci wydrukowanej jest wersją główną (pierwotną)

**ADRES REDAKCJI:**

30-149 KRAKÓW, ul. Balicka 122

Nakład: 600 egz.

**SKŁAD I DRUK:**



Wydawnictwo Naukowe „Akapit”, Kraków  
tel./fax (012) 280-71-51; www.akapit.krakow.pl  
e-mail: wn@akapit.krakow.pl

# ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość

Organ naukowy PTTŻ – dwumiesięcznik

Nr 6 (91)

Kraków 2013

Rok 20

## SPIS TREŚCI

Od Redakcji.....	3
EMILIA JANISZEWSKA, DOROTA WITROWA-RAJCHERT, EDWARD RÓJ: Metody i kierunki wykorzystania mikronizacji nadkrytycznej .....	5
GRETA ADAMCZYK, MAGDALENA KRYSZYJAN, ANNA DOBOSZ, MAREK SIKORA: Tikotropowe właściwości skrobi .....	16
JACEK KIJOWSKI, EMILIA KUPIŃSKA: Dylematy ograniczania miopatii mięśni piersiowych typu DPM u kurcząt brojlerów .....	32
KATARZYNA NEFFE-SKOCIŃSKA, DANUTA KOŁOŻYŃ-KRAJEWSKA, ANTONI GORYL: Wpływ dodatku szczepu <i>Lactobacillus casei</i> LOCK 0900 i warunków dojrzewania na jakość fermentowanych poleć podczas przechowywania .....	45
AGNIESZKA STASZOWSKA, PIOTR SKAŁECKI, MARIUSZ FLOREK, ANNA LITWIŃCZUK: Wpływ gatunku i środowiska życia ryb na zawartość ołowiu oraz oszacowanie jego pobrania z tkanki mięśniowej .....	60
JOANNA BARŁOWSKA, ANNA WOLANCIUK, MONIKA KĘDZIERSKA-MATYSEK, ZYGMUNT LITWIŃCZUK: Wpływ sezonu produkcji na podstawowy skład chemiczny oraz zawartość makro- i mikroelementów w mleku krowim i kozim .....	69
MARIOLA KOZŁOWSKA, ANNA ŻBIKOWSKA: Wpływ dodatku ekstraktów z przypraw na jakość i trwałość krakersów .....	79
EWA PIĄTKOWSKA, ANETA KOPEĆ, AGNIESZKA KIDACKA, TERESA LESZCZYŃSKA, ELŻBIETA PISULEWSKA: Zawartość składników odżywczych i właściwości antyoksydacyjne różnych frakcji ziarna wybranych odmian i rodów owsa .....	91
MONIKA KARAŚ, ANNA JAKUBCZYK, EDYTA PACZOS-GRZĘDA: Właściwości przeciwutleniające hydrolizatów białek z ziarna uprawnych i dzikich gatunków owsa ( <i>Avena L.</i> ) .....	106
ANNA CIOŁEK, EWA MAKARSKA, LESZEK RACHOŃ: Wykrywanie dodatku mąki z pszenicy zwyczajnej ( <i>Triticum aestivum L.</i> ) i orkiszu ( <i>Triticum spelta L.</i> ) w produktach makaronowych z mąki pszenicy twardej ( <i>Triticum durum Desf.</i> ) .....	118
ELŻBIETA GUJSKA, JOANNA MICHALAK, MARTA CZARNOWSKA: Wpływ czasu i temperatury przechowywania na stabilność kwasu foliowego i folianów w wybranych sokach owocowych i owocowo-warzywnych .....	130
MAŁGORZATA MATERSKA: Wpływ warunków ekstrakcji na zawartość o-glikozydów kwercetyny w preparatach z owoców papryki .....	139
ADRIAN CZERNIAK, TOMASZ JANKOWSKI: Mikrokapsułkowanie $\alpha$ - tokoferolu wewnątrz komórek drożdży <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	151
KATARZYNA RYMUZA, ELŻBIETA RADZKA: Zastosowanie analiz wielowymiarowych do oceny jakości wody pitnej .....	165
WACŁAW ADAMCZYK, ARTUR JACHIMOWSKI: Wpływ składników biogenych na jakość i eutrofizację powierzchniowych wód płynących, stanowiących źródło wody pitnej Krakowa .....	175
JACEK NOWAK, BARBARA GÓRNA, WŁODZIMIERZ NOWAK: Wykorzystanie grzybów strzępkowych do biodegradacji ścieków z przemysłu ziemniaczanego z jednoczesną produkcją biomasy pleśniowej na cele paszowe .....	191
MAGDALENA NIEWCZAS: Kryteria wyboru żywności .....	204
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA: Interakcje składników żywności .....	219
GRAŻYNA MORKIS: Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym .....	221
MAGDALENA NIEWCZAS: Nowe książki .....	224
Twórcy polskiej nauki o żywności .....	226
<b>Technolog Żywności .....</b>	<b>230</b>
Spis treści czasopisma „Żywność” Nr 86–91 .....	232
Wykaz nazwisk Autorów w 2013 roku .....	239
Wykaz nazwisk Recenzentów w 2013 roku .....	243

*Zamieszczone artykuły są recenzowane*

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

# FOOD. Science. Technology. Quality

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

No 6 (91)

Kraków 2013

Vol. 20

## CONTENTS

From the Editor.....	3
EMILIA JANISZEWSKA, DOROTA WITROWA-RAJCHERT, EDWARD RÓJ: Methods and trends of applying supercritical micronization.....	5
GRETA ADAMCZYK, MAGDALENA KRYSZYJAN, ANNA DOBOSZ, MAREK SIKORA: Thixotropic properties of starch.....	16
JACEK KIJOWSKI, EMILIA KUPIŃSKA: Dilemmas of limitation of DPM-type pectoral muscle myopathy in broiler chickens.....	32
KATARZYNA NEFFE-SKOCIŃSKA, DANUTA KOŁOŻYŃ-KRAJEWSKA, ANTONI GORYL: Effect of <i>Lactobacillus casei</i> ŁOCK 0900 probiotic strain addition and ripening conditions on quality of dry fermented pork loins during storage.....	45
AGNIESZKA STASZOWSKA, PIOTR SKAŁECKI, MARIUSZ FLOREK, ANNA LITWIŃCZUK: Impact of fish species and their living environment on concentration of lead and estimated intake thereof from muscle tissue.....	60
JOANNA BARŁOWSKA, ANNA WOLANCIUK, MONIKA KĘDZIERSKA-MATYSEK, ZYGMUNT LITWIŃCZUK: Effect of production season on basic chemical composition and content of macro- and microelements in cow's and goat's milk.....	69
MARIOLA KOZŁOWSKA, ANNA ŻBIKOWSKA: Effect of herbs extracts on quality and stability of crackers.....	79
EWA PIĄTKOWSKA, ANETA KOPEĆ, AGNIESZKA KIDACKA, TERESA LESZCZYŃSKA, ELŻBIETA PISULEWSKA: Content of nutrients and antioxidant properties of different grain fractions of selected oat cultivars and varieties.....	91
MONIKA KARAŚ, ANNA JAKUBCZYK, EDYTA PACZOS-GRZEBA: Antioxidant properties of protein hydrolysates ( <i>Avena</i> L.) from grains of cultivated and wild oat species.....	106
ANNA CIOŁEK, EWA MAKARSKA, LESZEK RACHOŃ: Detecting common wheat ( <i>Triticum aestivum</i> L.) and spelt ( <i>Triticum spelta</i> L) flour addition in durum wheat ( <i>Triticum durum</i> Desf.) pasta products.....	118
ELŻBIETA GUJSKA, JOANNA MICHALAK, MARTA CZARNOWSKA: Effect of time and temperature of storage on stability of folic acid and folates in some selected fruit and fruit-vegetable juices.....	130
MAŁGORZATA MATERSKA: Effect of extraction conditions on content of quercetin $\alpha$ -glycosides in extracts from pepper fruit.....	139
ADRIAN CZERNIAK, TOMASZ JANKOWSKI: Microencapsulation of $\alpha$ -tocopherol inside <i>Saccharomyces cerevisiae</i> yeast cells.....	151
KATARZYNA RYMUZA, ELŻBIETA RADZKA: Applying multidimensional analyses to assess drinking water quality.....	165
WACŁAW ADAMCZYK, ARTUR JACHIMOWSKI: Impact of biogenic components on quality and eutrophication of flowing surface waters constituting the source of drinking water for the city of Kraków....	175
JACEK NOWAK, BARBARA GÓRNA, WŁODZIMIERZ NOWAK: Applying filamentous fungi to biodegradation of wastewater from potato industry with simultaneous production of mould biomass for forage.....	191
MAGDALENA NIEWCZAS: Food choice criteria.....	204
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA: Interactions among food components.....	219
GRAŻYNA MORKIS: Food problems in Polish and EU legislation.....	221
MAGDALENA NIEWCZAS: Book reviews.....	224
Creators of the Polish food science.....	226
<b>The Food Technologist.....</b>	<b>230</b>
Annual contents.....	232
Index of Authors.....	239
Index of Reviewers.....	243

*Only reviewed papers are published*

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

## OD REDAKCJI

Szanowni Czytelnicy,

przekazujemy Państwu **6 (91)** numer dwumiesięcznika *Żywność*, w którym zamieściliśmy różnorodnie tematycznie artykuły naukowe, prezentujące dorobek kilku krajowych ośrodków nauki o żywności. Jak w każdym numerze, zamieściliśmy także interesujące informacje w stałych działach.

Miło nam poinformować, że czasopismo **Żywność. Nauka. Technologia. Jakość** pozytywnie przeszło kolejny proces ewaluacji, tym razem **IC Journals Master List**, której wynikiem jest przyznanie wskaźnika **ICV** (Index Copernicus Value) w wysokości **9,80 pkt.** Mamy nadzieję, że obecność **Żywności** w bazie IC Journals Master List przyczyni się do zwiększenia zasięgu naszego czasopisma.

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

**W Nowym 2014 Roku wszystkim naszym Autorom, Recenzentom, Czytelnikom i Przyjaciółom życzymy wszelkiej pomyślności!**

Kraków, grudzień 2013 r.

Redaktor Naczelny



*Tadeusz Sikora*



EMILIA JANISZEWSKA, DOROTA WITROWA-RAJCHERT, EDWARD RÓJ

## METODY I KIERUNKI WYKORZYSTANIA MIKRONIZACJI NA DKRYTYCZNEJ

### Streszczenie

Mikronizacja nadkrytyczna jest procesem wykorzystującym rozpuszczalnik w stanie nadkrytycznym, najczęściej ditlenek węgla, do zamknięcia substancji aktywnych w osłonkach. W pracy scharakteryzowano proces mikronizacji nadkrytycznej, omówiono jego podstawy teoretyczne oraz sposoby prowadzenia. Dokonano podziału procesu mikronizacji ze względu na sposób użycia nadkrytycznego CO<sub>2</sub>. W wyniku podziału wyodrębniono mikronizację, w której CO<sub>2</sub> w stanie nadkrytycznym używany jest jako rozpuszczalnik (Rapid Expansion of Supercritical Solution - RESS) lub jako antyrozpuszczalnik (Supercritical Anti-Solvent –SAS, Particles from Gas Saturated Solutions – PGSS, Aerosol Solvent Extraction System - ASES). Każdy z tych procesów może być zastosowany do mikronizacji w przemyśle spożywczym. Jednak większość metod mikronizacji jest do tej pory w sferze badań laboratoryjnych, jedynie opatentowany proces PGSS znalazł zastosowanie przemysłowe.

**Słowa kluczowe:** mikronizacja, płyny nadkrytyczne, barwniki, RESS, SAS, ASES, PGSS

### Wprowadzenie

W przemyśle spożywczym obserwuje się zwiększone zainteresowanie rozpuszczalnikiem w postaci ditlenku węgla w warunkach nadkrytycznych. Ze względu na właściwości oraz łatwą usuwalność z produktu, procesy, w których używa się nadkrytycznego ditlenku węgla, zaliczane są do „zielonej chemii”, co dodatkowo korzystnie wpływa na bezpieczeństwo produktu i wizerunek firmy, która ten związek stosuje [20, 25, 26].

### Płyny nadkrytyczne

Stan nadkrytyczny danej substancji osiągany jest wtedy, gdy jej temperatura i ciśnienie są wyższe niż krytyczne wartości tych parametrów. W zakresie krytycznych

---

*Dr inż. E. Janiszewska, prof. dr hab. D. Witrowa-Rajchert, Katedra Inżynierii Żywności i Organizacji Produkcji, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa, dr hab. prof. nadzw. E. Rój, Zakład Ekstrakcji Nadkrytycznej, Instytut Nawozów Sztucznych, Al. Tysiąclecia Państwa Polskiego 13 A, 24-110 Puławy*

wartości temperatury i ciśnienia zmieniają się właściwości płynu. Zmiany te następują powoli, wraz ze zbliżaniem się do punktu określanego mianem krytycznego. Po przekroczeniu tego punktu zanika granica faz między stanem ciekłym i gazowym, a powstała jedna faza wykazuje właściwości pośrednie pomiędzy właściwościami cieczy i gazu. Wysoka ściśliwość płynów nadkrytycznych powoduje, poprzez zmiany temperatury i ciśnienia, że łatwo można sterować ich gęstością i zdolnością rozpuszczania substancji, co umożliwi frakcjonowanie rozpuszczalnych w tych płynach substancji [8, 25]. Dzięki właściwościom zależnym od parametrów procesowych płyny nadkrytyczne znajdują liczne zastosowania. Do procesów wykorzystujących płyny nadkrytyczne można zaliczyć ekstrakcję [8], frakcjonowanie, technologię i preparatykę organiczną uwzględniającą m.in. reakcje rodnikowe, enzymatyczne, polimeryzację, syntezę farmaceutyków i substancji spożywczych [9, 18] oraz formowanie pian i aerozoli [6]. Obecnie płyny nadkrytyczne są stosowane także w chromatografii [18] oraz w stosunkowo nowym procesie generowania cząstek [2, 3, 12, 25].

Najbardziej rozpowszechnionym rozpuszczalnikiem używanym w stanie nadkrytycznym jest ditlenek węgla (SC-CO<sub>2</sub>). Swoją popularność zawdzięcza niskim parametrom krytycznym (31,2 °C, 7,38 MPa), wysokiej dyfuzyjności oraz dużej lotności, która ułatwia jego usuwanie z produktu po procesie. Na uwagę zasługuje także brak korozyjności, niepalność, nietoksyczność tego rozpuszczalnika oraz brak szkodliwego wpływu na organizm człowieka [8, 25]. Może istnieć przekonanie, że wykorzystywanie CO<sub>2</sub> do ekstrakcji przyczynia się do wzrostu stężenia tego gazu w atmosferze. W rzeczywistości CO<sub>2</sub> używany przez tzw. użytkowników pośrednich zarówno do ekstrakcji, jak również do produkcji napojów gazowanych, jest produktem ubocznym pochodzącym z dużych zakładów produkujących nawozy na bazie gazu ziemnego oraz jest przeznaczony do emisji do atmosfery. Użytkownicy pośredni przedłużają jego obieg w procesach produkcyjnych, nie generując nowych strumieni [8].

Ditlenek węgla jest niepolarnym rozpuszczalnikiem, a jego stała dielektryczna wzrasta wraz ze wzrostem ciśnienia. Nadkrytyczny CO<sub>2</sub> jest dobrym rozpuszczalnikiem w zakresie niskich ciśnień, związków liofilowych o niskiej polarności, takich jak etery lub estry. W związku z tym substancje zawierające silne grupy polarne (np. COOH) są mniej rozpuszczalne w nadkrytycznym CO<sub>2</sub> (SC-CO<sub>2</sub>). Jednak związki z trzema grupami hydroksylo-fenolowymi lub jedną karboksylową i dwoma grupami hydroksylowymi mogą być rozpuszczalne w SC-CO<sub>2</sub>. Odwrotny efekt został zaobserwowany w przypadku cząsteczek z jedną grupą karboksylową i trzema lub więcej grupami hydroksylowymi [25]. W przypadku konieczności rozpuszczalność w SC-CO<sub>2</sub> każdej z polarnych substancji można zwiększyć poprzez dodatek współrozpuszczalnika. Współrozpuszczalnikami mogą być niskocząsteczkowe alkohole, np. etanol, a także krótkołańcuchowe węglowodory, jak aceton. Rozpuszczalność zmniejsza się bezpośrednio z liczbą atomów węgla w łańcuchu [8, 12].



Jednym z nowych zastosowań nadkrytycznego ditlenku węgla jest technologia uzyskiwania cząstek stałych w warunkach nadkrytycznych, zwana mikronizacją nadkrytyczną lub mikrokapsułowaniem nadkrytycznym.

### **Mikronizacja nadkrytyczna**

Mikronizacja jest techniką stosowaną do zamykania substancji aktywnych w osłonkach. Głównym celem tego procesu jest zamiana stanu ciekłego w stały, co zapewnia ochronę zamkniętych związków przed negatywnym wpływem otoczenia oraz ułatwia przechowywanie i dozowanie. Do tej pory stosowane metody mikrokapsułkowania obejmują przede wszystkim: mechaniczne rozdrabnianie, chemiczną polimeryzację czy inkluzję z  $\beta$ -cyklodekstrynami oraz liczne metody fizyczne, jak suszenie rozpyłowe, zestalanie rozpyłowe czy ekstruzję [7, 13]. Metody te często powodują uszkodzenia produktu lub degradację składników aktywnych, m.in. poprzez wysokie temperatury procesu. Procesy chemiczne czy suszenie rozpyłowe mogą łagodzić niektóre z problemów związanych z metodami mechanicznymi, ale w metodach tych często trudno uzyskać cząstki o pożądanym wymiarach, kontrolowanych poprzez przeniesienie masy lub wielkość kropli powstającej podczas rozpylania. Efektywność procesu mikrokapsułkowania jest różna, w zależności od jego typu, użytego materiału nośnika oraz od warunków prowadzenia procesu [13]. Prawdopodobnie proces mikronizacji w warunkach nadkrytycznych pozwoli uniknąć wielu czynników negatywnie wpływających na efektywność mikrokapsułkowania i właściwości produktu w porównaniu ze wspomnianymi wyżej i lepiej poznanymi metodami.

W procesie mikronizacji substancji aktywnych zawartych w surowcach roślinnych, jak barwniki, polifenole czy katechiny, płyny w warunkach nadkrytycznych, takie jak  $\text{CO}_2$  czy woda, stanowią idealny rozpuszczalnik [7]. Dzięki swoim właściwościom eliminują ograniczenia wynikające ze stosowania innych metod. W przypadku mikronizacji płynami nadkrytycznymi w 85 % jako rozpuszczalnik stosuje się ditlenek węgla, w 10 % - wodę, inne rozpuszczalniki, jak cykloheksan, propan czy izopropanol stanowią 5 % [9].

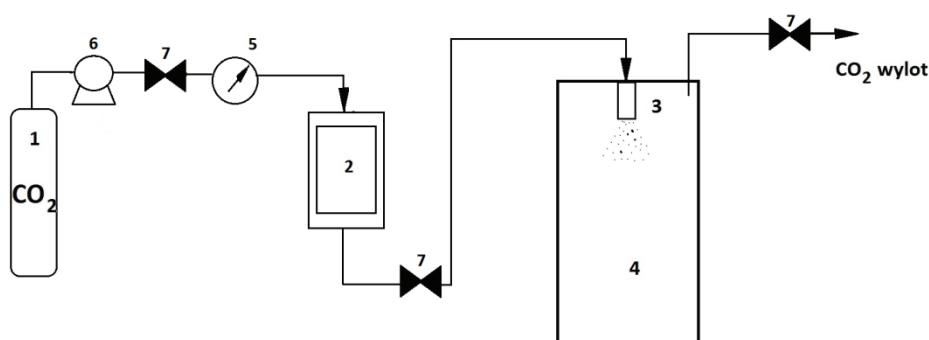
Nadkrytyczny rozpuszczalnik, jak ditlenek węgla, może być stosowany w procesie mikronizacji nadkrytycznej jako rozpuszczalnik, antyrozpuszczalnik lub współrozpuszczalnik. Metody te różnią się od siebie znacząco, poczynając od przygotowania próbki aż do uzyskania zakapsułkowanego proszku [2, 3, 18].

### **Metody mikronizacji**

#### *Nadkrytyczny $\text{CO}_2$ jako rozpuszczalnik*

Do metod, w których nadkrytyczny  $\text{CO}_2$  wykorzystywany jest jako rozpuszczalnik zalicza się proces ekspansji nadkrytycznym rozpuszczalnikiem (Rapid Expansion

of Supercritical Solution - RESS). Po raz pierwszy metoda ta została opisana w 1984 r. przez Smitha i Walsha w patencie US nr 4582731. W przypadku tego procesu nadkrytyczny płyn pełni rolę rozpuszczalnika lub nośnika substancji zamykanej. Najbardziej bezpośrednią realizacją tego procesu jest rozpuszczenie substancji aktywnej wraz z materiałem powłoki w płynie nadkrytycznym, a następnie współwytrącenie obu substancji poprzez rozpylenie przez dysze utworzonej mieszaniny do zbiornika, w którym panuje ciśnienie atmosferyczne. W wyniku tych zabiegów dochodzi do gwałtownego obniżenia gęstości i rozpuszczalności roztworu SC-CO<sub>2</sub> i rdzenia, co prowadzi do wysycenia i w konsekwencji wytrącenia cząstek [18, 20, 25]. Cały proces prowadzony jest w aparaturze złożonej z następujących elementów (rys. 1): zbiornika z CO<sub>2</sub> (1), zbiornika z mieszadłem (2), dzięki któremu następuje ujednoczenie nadkrytycznego CO<sub>2</sub> z roztworem nośnika i rdzenia, zbiornika, w którym następuje rozprężenie mieszaniny (4) poprzez dyszę (3), pompy (6), zaworów (7) oraz układu regulacji temperatury (5).



Legenda: / Legend:

1 - zbiornik CO<sub>2</sub> / tank with CO<sub>2</sub>; 2 - zbiornik z mieszadłem / container with stirrer; 3 - dysza / - nozzle;  
4 - zbiornik / tank; 5 - układ regulacji temperatury / temperature control system; 6 - pompa / pump;  
7-zawór / valve.

Rys. 1. Schemat instalacji do mikronizacji metodą RESS.

Fig. 1. RESS technology installation diagram.

Źródło: / Source: opracowanie własne na podstawie / the authors' own study based on [9, 18, 20]

Głównym ograniczeniem techniki RESS jest mała rozpuszczalność wielu substancji w nadkrytycznym CO<sub>2</sub> [2, 7, 18]. Ograniczenie to utrudnia proces jeszcze bardziej, gdy zarówno rdzeń, jak i nośnik muszą być rozpuszczalne w CO<sub>2</sub> [1, 14]. W celu zwiększenia rozpuszczalności niektórych substancji można zastosować alternatywne, organiczne rozpuszczalniki nadkrytyczne, takie jak trifluorometan lub chlorodifluorometan [2]. Inną alternatywną metodą mikronizacji substancji polarnych jest wspomniana

ny wcześniej dodatek współrozpuszczalnika. W ten sposób Santos i wsp. [20], stosując etanol jako współrozpuszczalnik, uzyskali mikrokapsułki barwników antocyjanowych zamknięte w glikolu polietylenowym.

Oprócz ograniczeń rozpuszczalności, kolejnym poważnym problemem jest brak kontroli morfologii oraz ilości zamykanej substancji. Jest to związane z szybkością ekspansji podczas tego procesu. Alternatywą jest wytrącanie w warunkach nadkrytycznych nośnika na wcześniej utworzonych kapsułkach substancji aktywnej, często przy użyciu złoza fluidalnego [28]. Mikrokapsułki uzyskiwane tą metodą przyjmują kształt cienkich igieł, a ich długość waha się od 1 do 5  $\mu\text{m}$  w przypadku cholesterolu [22], płaskich niekształtnych mikrokapsułek o długości od 9 do 42  $\mu\text{m}$  w przypadku rutyny (w zależności od parametrów procesowych) [21] albo zbliżonych do kuli o średnicy 0,5  $\mu\text{m}$  w przypadku mikrokapsułek astaksantanu [19].

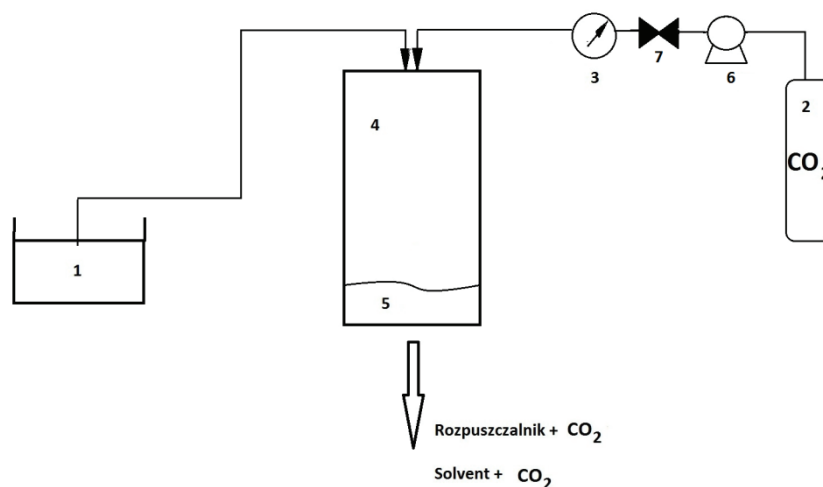
Metodę RESS stosuje się do mikronizacji różnych związków stosowanych głównie w farmacji [9]. Publikowane są również informacje, chociaż znacznie mniej liczne, o zamykaniu tą techniką tłuszczu, cholesterolu [22], kofeiny [24] czy barwników, takich jak karotenoidy [19] lub antocyjany [20].

#### *Nadkrytyczny CO<sub>2</sub> jako antyrozpuszczalnik*

Mikronizacja z nadkrytycznym CO<sub>2</sub> jako antyrozpuszczalnikiem ma kilka modyfikacji. Najprostszą i najczęściej spotykaną jest mikronizacja zwana procesem nadkrytycznego antyrozpuszczalnika (Supercritical Anti Solvent– SAS). W procesie tym, poprzez działanie CO<sub>2</sub> w stanie nadkrytycznym, następuje zmniejszenie rozpuszczalności określonej substancji rozpuszczonej w rozpuszczalniku pierwotnym. Schemat instalacji do procesu SAS przedstawiono na rys. 2. Substancja rozpuszczana jest w rozpuszczalniku organicznym (np. aceton, dichlorometan) (1), następnie za pomocą pompy (6) zwiększane jest, do osiągnięcia stanu nadkrytycznego, ciśnienie CO<sub>2</sub> (2) w zbiorniku (4). Ciśnienie regulowane jest zaworem (7). Ze względu na zachodzące zjawiska fazowe pomiędzy nadkrytycznym CO<sub>2</sub> oraz innymi rozpuszczalnikami, zmiana ta powoduje spadek rozpuszczalności substancji czynnej w fazie ciekłej. Prowadzi to do wytrącania substancji czynnej (5) w formie kryształów [2, 7].

Wytworzenie cząstek zachodzi na zasadzie krystalizacji na skutek procesów zachodzących pomiędzy rozpuszczalnikiem organicznym a antyrozpuszczalnikiem, a mianowicie dyfuzji antyrozpuszczalnika do fazy organicznej i odparowania rozpuszczalnika organicznego do antyrozpuszczalnika. Proces SAS jest ograniczony możliwością rozdziału uzyskanych cząstek stałych od zastosowanych rozpuszczalników [25]. W procesie tym uzyskiwane kształty i wielkości cząstek wahają się od cienkich i długich (ok 2  $\mu\text{m}$ ) mikrokapsułek kwercetyny [21] czy likopenu [17], poprzez całkiem płaskie formy mikrokapsułek  $\beta$ -karotenu, podobne do liści, o długości boku 16  $\mu\text{m}$  [21] oraz sferyczne w zakresie od 0,2 do 30  $\mu\text{m}$  [29]. Również przy mikronizacji poli-

fenoli uzyskanych z zielonej herbaty otrzymano sferyczne cząstki, jednak były one w formie aglomeratów dochodzących do 320  $\mu\text{m}$  [23]. Wymiary i kształt cząstek uzależnione są od rodzaju substancji zamykanej, parametrów procesowych oraz udziału i rodzaju współrozpuszczalnika [29]. Dodatkowo, ta sama substancja zamykana, np.  $\beta$ -karoten, może przyjmować różne kształty, od nieregularnego, igłowego po liściasty (jak gwiazda), w zależności od użytego rozpuszczalnika oraz rodzaju dyszy i parametrów procesowych [2, 26].



Legenda: / Legend:

1 - rozpuszczalnik / solvent; 2 - zbiornik  $\text{CO}_2$  / tank with  $\text{CO}_2$ ; 3 - układ regulacji temperatury / temperature control system; 4 - zbiornik / tank; 5 - krysztaly substancji czynnej / crystals of active substance; 6 - pompa / pump; 7 - zawór / valve.

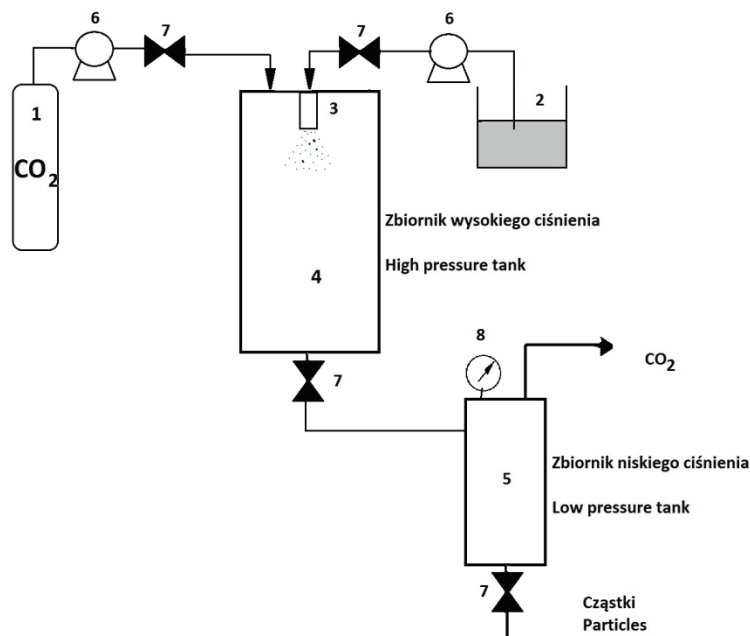
Rys. 2. Schemat instalacji do mikronizacji metodą SAS.

Fig. 2. SAS technology installation diagram.

Źródło: / Source: opracowanie własne na podstawie / the authors own study based on [9, 21].

Podobnie, jak w przypadku poprzedniego procesu mikronizacji (RESS), prowadzone były prace badawcze związane z mikrokapsułkowaniem metodą SAS substancji farmaceutycznych [2], karotenoidów [15, 17] oraz polifenoli i antocyjanów [4, 23].

Metoda mikronizacji z użyciem antyrozpuszczalnika została ulepszona i rozwinięta, aby umożliwić produkcję drobnych cząstek o małych rozmiarach. W odniesieniu do żywności zostały wprowadzone ulepszenia, m.in. w metodzie uzyskiwania cząstek z roztworów nasyconych gazami (Particles from Gas Saturated Solutions – PGSS) oraz w wyniku procesu łączącego ekstrakcję z rozpylaniem (Aerosol Solvent Extraction System - ASES).



Legenda: / Legend:

1 - zbiornik CO<sub>2</sub> / tank with CO<sub>2</sub>; 2 - roztwór substancji czynnej / active substance solution; 3 - dysza / nozzle; 4 - zbiornik wysokiego ciśnienia / high-pressure tank; 5 - zbiornik niskiego ciśnienia / low-pressure tank; 6 - pompa / pump; 7 - zawór / valve; 8 - układ regulacji temperatury / temperature control system.

Rys. 3. Schemat instalacji do mikronizacji metodą ASES.

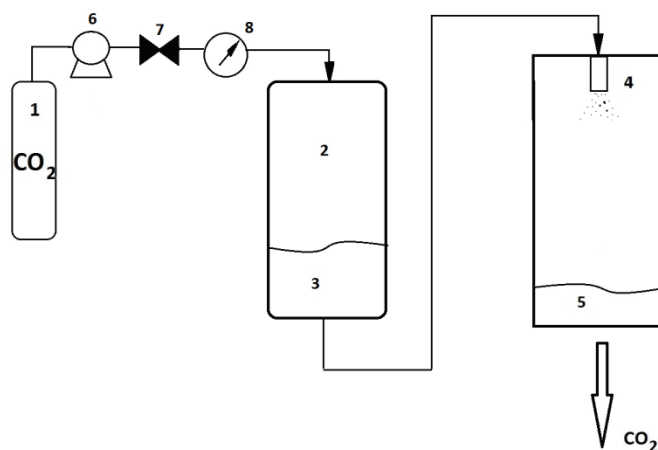
Fig. 3. ASES technology installation diagram.

Źródło: / Source: opracowanie własne na podstawie / the authors' own study based on [2, 25].

Metoda ASES polega na rozpylaniu roztworu przez dyszę do zbiornika z nadkrytycznym ditlenkiem węgla. Bazuje ona, podobnie jak SAS i RESS, na rozpuszczalności substancji w nadkrytycznym ditlenku węgla. Rozpuszczeniu nadkrytycznego płynu w kroplach cieczy towarzyszy drastyczne zwiększenie objętości, a w konsekwencji zmniejszenie zdolności rozpuszczania płynnego rozpuszczalnika, powodując gwałtowny wzrost przesylenia w ciekłej mieszaninie, co prowadzi do wytworzenia małych i jednolitych cząstek. Schemat procesu ASES przedstawiono na rys. 3. Płyn nadkrytyczny (1) jest dostarczany przez pompę wysokiego ciśnienia (6) do zbiornika wysokiego ciśnienia. Ciśnienie w zbiorniku (4) regulowane jest przez zawory (7) – gdy system osiągnie stan równowagi (temperatura i ciśnienie), roztwór substancji czynnej (2) jest wprowadzany do tego zbiornika (4) przez dyszę (3). Cząsteczki są zbierane na filtrze na dnie naczynia. Mieszanina CO<sub>2</sub> i rozpuszczalnika jest kierowana do zbiornika o niższym ciśnieniu (5) w celu separacji [5, 11]. Cząstki uzyskiwane tą metodą są sfe-

ryczne, o średnicy rzędu od 1 do 10  $\mu\text{m}$ . Dzięki tej metodzie można uzyskać kwas askorbinowy, lecytynę oraz  $\beta$ -karoten [9].

Z kolei proces PGSS pozwala na wytworzenie cząstek różnych substancji, które nie muszą być rozpuszczalne w nadkrytycznym ditlenku węgla, a które pochłaniają płyn nadkrytyczny w dużych ilościach (10 do 40 % m/m). Schemat procesu PGSS przedstawiono na rys. 4. Nasytzenie przeprowadza się poprzez zmieszanie roztworu nośnika i rdzenia (3) z ditlenkiem węgla (1) w warunkach nadkrytycznych zazwyczaj w mieszalniku statycznym (2). Warunki nadkrytyczne  $\text{CO}_2$  uzyskuje się poprzez regulację ciśnienia i temperatury (8) kontrolowanych przez pompę (6) i zawór (7). Następnie nasyconą mieszaninę gaz - roztwór rozpręża się do ciśnienia atmosferycznego przez dyszę (4). Podczas rozprężania rozpuszczony nadkrytyczny  $\text{CO}_2$  paruje, zwiększając efekt rozpylenia. Jednocześnie gaz bardzo szybko odprowadza ciepło z kropelek (zjawisko Joule'a-Thomsona), w wyniku czego materiał nośnika krzepnie i tworzy powłokę wokół zmikronizowanych kropelek cieczy, co generuje powstanie proszku (5).



Legenda: / Legend:

1 - zbiornik  $\text{CO}_2$  / tank with  $\text{CO}_2$ ; 2 - mieszalnik statyczny / static rotor; 3 - roztwór rdzenia i nośnika / carrier and active substance mixture; 4 - dysza / nozzle; 5 - proszek / powder; 6 - pompa / pump; 7 - zawór / valve; 8 - układ regulacji temperatury / temperature control system.

Rys. 4. Schemat instalacji do mikronizacji metodą PGSS.

Fig. 4. PGSS technology installation diagram.

Źródło: / Source: opracowanie własne na podstawie / the authors' own study based on [10, 16, 25].

Proces PGSS, dzięki tym efektom, umożliwia uzyskanie cząstek o średniej wielkości w zakresie mikrometrów i kontrolowanych rozkładach wielkości cząstek [2, 16, 25].

Proces PGSS przeprowadzany jest w warunkach szczególnie łagodnych dla środowiska oraz może mieć zastosowanie do produktów, które są wrażliwe na temperaturę lub łatwo ulegają utlenianiu. Wiele substancji było z powodzeniem mikronizowanych tą techniką, m.in.  $\beta$ -karoten, olejki eteryczne rozmarynu czy mentol [10] oraz likier wiśniowy na nośniku, jakim jest tłuszcz palmowy lub czekolada [27]. Wendt i wsp. [27] uzyskali także tą metodą sferyczne mikrokapsułki ekstraktu z herbaty Rooibos czy rumu zamknięte w tłuszczu palmowym oraz mikrokapsułki miodu w oleju rycynowym. Metoda ta jest opatentowana oraz stosowana przemysłowo [10, 16, 25].

### Podsumowanie

Mikronizacja nadkrytyczna jest stosowana w przemyśle spożywczym, co jest cenne, zważywszy na możliwość uzyskiwania tą metodą cząstek substancji labilnych. Istotna jest możliwość bezpiecznego uzyskiwania produktów zawierających często nietrwale substancje w formie proszków o przedłużonej trwałości. Proces wymaga użycia instalacji wysokociśnieniowej oraz odpowiedniej aparatury, która jest kosztowna na etapie inwestycyjnym. Jednak na etapie eksploatacyjnym jest konkurencyjna w stosunku do innych technik. Dodatkowo powszechne przekonanie, że w wyniku mikronizacji nadkrytycznej następuje zwiększanie emisji CO<sub>2</sub> do atmosfery jest błędne. W rzeczywistości CO<sub>2</sub> stanowiący surowiec, wykorzystany w procesie mikronizacji, jest produktem ubocznym generowanym przez firmy, w związku z tym dzięki procesowi mikronizacji nadkrytycznej przedłużany jest jego obieg.

### Literatura

- [1] Adami R., Liparoti S., Reverchon E.: A new supercritical assisted atomization configuration, for the micronization of thermolabile compounds. *Chem. Eng. J.*, 2011, **173**, 55-61.
- [2] Cocero M.J., Angel M., Facundo M., Varona S.: Encapsulation and co-precipitation processes with supercritical fluids: fundamental and applications. *J. Supercrit. Fluid.*, 2009, **47**, 546-555.
- [3] Facundo M., Angel M., Cocero M.J.: Carotenoid processing with supercritical fluids. *J. Food Eng.*, 2009, **93**, 255-265.
- [4] Floris T., Filippino G., Scrugli S., Pinna M.B., Argiolas F., Argiolas A., Murru M., Reverchon E.: Antioxidant compounds recovery from grape residues by a supercritical antisolvent assisted process. *J. Supercrit. Fluid.*, 2010, **54**, 165-170.
- [5] Foster N.R., Dehghani F., Bustami R.T., Chan H.K.: Generation of lysozyme-lactose powders using the ASES process. In: *Proceedings of the 6th International Symposium on Supercritical Fluids*, Vol. 3, Versailles, France, 2003, pp. 1831-1836.
- [6] Gross J., Coronado P.R., Hrubesh L.W.: Elastic properties of silica aerogels from a new rapid supercritical extraction process. *J. Non-Cryst. Solids*, 1998, **225**, 282-286.
- [7] Hakuta Y., Hayashi H., Arai K.: Fine particle formation using supercritical fluids. *Curr. Opin. Solid St. M.*, 2003, **7**, 341-351.
- [8] Janiszewska E., Witrowa-Rajchert D.: Ekstrakcja nadkrytyczna w przemyśle spożywczym. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **4 (45)**, 5-16.



- [9] Jung J., Perrut M.: Particle design using supercritical fluids: Literature and patent survey. *J. Supercrit. Fluid.*, 2001, **20**, 179-219.
- [10] Lack E., Weidner E., Knez Z., Gruner S., Weinreich B., Seidlitz H.: Particle generation with supercritical CO<sub>2</sub>. In: *Proceedings of the 1st Vienna International Conference: Micro- and Nano-Technology*. Ed. Österr. Tribolog. Gesellschaft, Vienna, Austria, 2005.
- [11] Lee Y.W., Lee J.W., Lim J.S.: The formation of aspirin microparticulate using supercritical CO<sub>2</sub> as solvent and antisolvent. In: *Proceedings of the 6th International Symposium on Supercritical Fluids*, Vol. 3, Versailles, France, 2003, pp. 1777-1782.
- [12] Li J., Jin J., Zhang Z., Wang Y.: Measurement and correlation of solubility of benzamide in supercritical carbon dioxide with and without cosolvent. *Fluid Phase Equilib.*, 2011, **307**, 11-15.
- [13] Madene A., Jacquot M., Scher J., Desobry S.: Flavour encapsulation and controlled release – a review. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2006, **41**, 1-21.
- [14] Marra F., DeMarco I., Reverchon E.: Numerical analysis of the characteristic times controlling supercritical antisolvent micronization. *Chem. Eng. Sci.*, 2012, **71**, 39-45.
- [15] Martin A., Mattea F., Gutierrez L., Miguel F., Cocero M.J.: Co-precipitation of carotenoids and biopolymers with the supercritical anti-solvent process. *J. Supercrit. Fluid.*, 2007, **41**, 138-147.
- [16] Martín A., Weidner E.: PGSS-drying: Mechanisms and modeling. *J. Supercrit. Fluid.*, 2010, **55**, 271-281.
- [17] Miguel F., Martín A., Mattea F., Cocero M.J.: Precipitation of lutein and coprecipitation of lutein and poly-lactic acid with the supercritical anti-solvent process. *Chem. Eng. Proces.*, 2008, **47**, 1594-1602.
- [18] Pasquali I., Bettini R., Giordano F.: Solid-state chemistry and particle engineering with supercritical fluids in pharmaceuticals. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 2006, **27**, 299-310.
- [19] Quan C., Carlfors J., Turner C.: Carotenoids particle formation by supercritical fluid technologies. *Chin. J. Chem. Eng.*, 2009, **17** (2), 344-349.
- [20] Santos D.T., Albarelli J.Q., Beppu M.M., Meireles M.A.A.: Stabilization of anthocyanin extract from jaboticaba skins by encapsulation using supercritical CO<sub>2</sub> as solvent. *Food Res. Int.*, 2011, in press doi:10.1016/j.foodres.2011.04.019.
- [21] Santos D.T., Meireles M.A.A.: Micronization and encapsulation of functional pigments using supercritical carbon dioxide. *J. Food Proc. Eng.*, 2011, in press DOI: 10.1111/j.1745-4530.2011.00651.x.
- [22] Satvati H.R., Lotfollahi M.N.: Effects of extraction temperature, extraction pressure and nozzle diameter on micronization of cholesterol by RESS process. *Powder Technol.*, 2011, **210**, 109-114.
- [23] Sosa M.V., Rodríguez-Rojo S., Mattea F., Cismondi M., Cocero M.J.: Green tea encapsulation by means of high pressure antisolvent coprecipitation. *J. Supercrit. Fluid.*, 2011, **56**, 304-311.
- [24] Subra P., Boissinot P., Benzaghoul S.: Precipitation of Pure and Mixed Caffeine and Anthracene by Rapid Expansion of Supercritical Solutions. In: *Proc. of the 5th Meeting on Supercritical Fluids*, Tome 1; M. Perrut, P. Subra (Eds.), Nice, France, 1998, pp. 307-312.
- [25] Taberero A., del Valle E.M.M., Galán M.A.: Supercritical fluids for pharmaceutical particle engineering: Methods, basic fundamentals and modeling. *Chem. Eng. Proces.*, 2012, **60**, 9-25.
- [26] Tavares Cardoso M.A., Antunes S., van Keulen F., Ferreira B.S., Geraldes A., Cabral J., Palavra A.: Supercritical antisolvent micronisation of synthetic all-trans  $\beta$ -carotene with tetrahydrofuran as solvent and carbon dioxide as antisolvent. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 2009, **84** (2), 215-222.
- [27] Wendt T., Brandin G., Weidner E., Petermann M.: PGSS - The innovative production of fluid-filled microcapsules for the food industry. In: *Proc. of European Congress of Chemical Engineering (ECCE-6)*, Copenhagen 2007.



- [28] Yeo S.-D., Kiran E.: Formation of polymer particles with supercritical fluids: A review. *J. Supercrit. Fluid.*, 2005, **34**, 287-308.
- [29] Zhong Q., Jin M., Xiao D., Tian H., Zhang W.: Application of supercritical anti-solvent technologies for the synthesis of delivery systems of bioactive food components. *Food Biophys.*, 2008, **3**, 186-190.

## METHODS AND TRENDS OF APPLYING SUPERCRITICAL MICRONIZATION

### S u m m a r y

Supercritical micronization is the process that uses a supercritical solvent, usually carbon dioxide, to close active substances in shells. In this paper, the process of supercritical micronization was characterized as were its theoretical basis and methods of performing it. The supercritical micronization process was divided by the supercritical CO<sub>2</sub> application technique. The division resulted in selecting the micronization process with the supercritical CO<sub>2</sub> applied as a solvent (RESS Rapid Expansion of Supercritical Solution) or as an anti-solvent (SAS Supercritical Anti-Solvent, PGSS Particles from Gas Saturated Solutions, and ASES Aerosol Solvent Extraction System). Any of those processes can be used for the micronization in the food industry. However, until now, the majority of the micronization methods are still tested in laboratories, and only the patented PGSS process was applied on the industrial scale.

**Key words:** micronization, supercritical fluids, RESS, SAS, ASES, PGSS ☒

GRETA ADAMCZYK, MAGDALENA KRYSZYJAN, ANNA DOBOSZ,  
MAREK SIKORA

## TIKSOTROPOWE WŁAŚCIWOŚCI SKROBI

### Streszczenie

W opracowaniu opisano właściwości tiksotropowe żeli i kleików otrzymanych ze skrobi różnego pochodzenia botanicznego (kukurydzianej naturalnej, kukurydzianej woskowej, pszennej, żytniej, jęczmiennej, owsianej i ryżowej). Zjawisko tiksotropii bada się za pomocą pomiarów pętli histerezy, metody trzech kroków ścinania oraz pomiarów lepkości przy stałej szybkości ścinania. Ilościowe określanie zjawiska tiksotropii opisano testem trzech kroków ścinania. Test umożliwił liczbowe określenie odbudowy struktury próbki zniszczonej podczas ścinania. Na właściwości tiksotropowe skrobi miały wpływ przede wszystkim warunki przygotowywania kleików i żeli skrobiowych, m.in. czas, temperatura i szybkość mieszania próbek w trakcie kleikowania, pochodzenie botaniczne skrobi, proporcje amylozy do amylopektyny oraz stężenie skrobi. Badania właściwości tiksotropowych prowadzono głównie w odniesieniu do skrobi kukurydzianych. Wyższa temperatura kleikowania powodowała wydostawanie się amylopektyny z granул skrobiowych, co determinowało tworzenie bardziej stabilnej struktury kleików/żeli skrobi kukurydzianej woskowej i występowanie właściwości antytiksotropowych. Właściwości takich nie zaobserwowano w przypadku naturalnej skrobi kukurydzianej. Na podstawie pomiarów lepkości w zależności od czasu, przy stałej szybkości ścinania, stwierdzono, że skrobia kukurydziana woskowa wykazywała właściwości antytiksotropowe jedynie przy określonych szybkościach ścinania, o czym świadczył wzrost lepkości pozornej układów badanej skrobi w trakcie ścinania.

**Słowa kluczowe:** żele i kleiki skrobiowe, tiksotropia, właściwości reologiczne, metody badania tiksotropii

### Wprowadzenie

Żel skrobiowy można uznać za materiał kompozytowy, w którym fazą rozpraszającą jest amyloza. W niej znajdują się napęczniałe, skleikowane granule, składające się z amylopektyny. Właściwości reologiczne fazy ciągłej, odkształcalność fazy rozproszonej, a także interakcje pomiędzy tymi fazami wiążą się z właściwościami mechanicznymi żeli skrobiowych [26].

---

*Mgr inż. G. Adamczyk, dr inż. M. Krystyjan, mgr inż. A. Dobosz, prof. dr hab. M. Sikora, Katedra Technologii Węglowodanów, Wydz. Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków*

Wiedza na temat zachowania się żeli skrobiowych podczas przepływu jest niezbędna w celu optymalizacji ich stosowania i regulowania procesów produkcyjnych, a także poprawy stabilności oraz właściwości sensorycznych żywności zawierającej te żele. W przemyśle spożywczym skrobie stosuje się przede wszystkim w charakterze substancji zagęszczających. Dodaje się je m.in. do słodkich kleików na bazie mleka, galaretek, sosów, kremów i deserów [24, 27]. Zachowanie reologiczne kleików oraz żeli skrobiowych zależy od wielu czynników, takich jak: pochodzenie botaniczne skrobi, stężenie i warunki kleikowania (temperatura oraz szybkość ogrzewania i mieszania). Większość kleików i żeli skrobiowych zachowuje się jak płyny nieniutonowskie, z lepkością pozorną, która zależy od czasu i szybkości ścinania, historii ścinania, a także od temperatury [14, 16, 18, 19, 25]. Zarówno zawiesiny skrobi, jak również mieszaniny skrobi z hydrokoloidami wykazują właściwości reologiczne płynów nieniutonowskich, takie jak tiksotropia czy antytiksotropia [13, 30]. Odbudowa struktury tiksotropowej żelu skrobiowego może być procesem bardzo szybkim lub może zachodzić bardzo wolno [8, 16].

Zjawisko tiksotropii można badać różnymi sposobami, które szczegółowo opisano w pracy Adamczyk i wsp. [4]. Wyróżniono w niej m.in. metodę wykreślenia pętli histerezy. Zastosowanie tego testu do opisu zjawisk tiksotropowych jest jednak ograniczone, bowiem czas i szybkość ścinania zmieniają się jednocześnie [7, 28]. Poza tym, występowanie pętli histerezy nie jest jednoznaczne z właściwościami tiksotropowymi próbki, ponieważ stwierdza się je również w przypadku materiałów lepkosprężystych [10]. Łatwiejszą i ilościową metodą pomiaru tiksotropii jest stosowanie krokowych zmian szybkości ścinania, co pozwala na uzyskanie kontrolowanej historii ścinania [7, 13, 20, 29]. Standardowym testem, używanym w celu określenia właściwości tiksotropowych, jest z kolei pomiar lepkości pozornej w czasie ścinania ze stałą szybkością [21].

### **Badania właściwości tiksotropowych skrobi kukurydzianych**

Właściwości reologiczne kleików skrobiowych w dużej mierze zależą od warunków ich przygotowania, dlatego ważny jest zarówno czas przygotowania kleiku, jak i stosowana szybkość mieszania [36].

Djaković i wsp. [16] badali m.in. żele skrobi kukurydzianej naturalnej (SKN), przygotowywane w różnych temperaturach i stężeniach, a także o różnych historiach ścinania (homogenizowane i niehomogenizowane). Właściwości tiksotropowe określali na podstawie krzywych płynięcia oraz metody wielokrotnych kroków ścinania. Zastosowanie testu pętli histerezy pozwoliło autorom na obliczenie powierzchni pól ograniczonych tymi pętlami, jak również na wyznaczenie współczynników tiksotropii ( $K_t$ ). Pomiarzy prowadzili w temp. 72, 83 oraz 94 °C, po zhomogenizowaniu (lub bez homogenizacji) próbek w ciągu 5 min, z szybkością 10 000 min<sup>-1</sup> („Ultraturrax”

T-45, Janke & Kunkel, FRG). Próbki poddawane homogenizacji w temperaturze 72 i 83 °C charakteryzowały się większym współczynnikiem tiksotropii ( $K_t$ ) niż niehomogenizowane. Natomiast w temp. 94 °C większy współczynnik tiksotropii stwierdzono w przypadku próbki niehomogenizowanej. Według autorów przyczyną takiego stanu rzeczy w żelach przygotowanych w niższych temperaturach było intensywniejsze wymywanie składników rozpuszczalnych z granul skrobiowych, które prawdopodobnie było spotęgowane przez homogenizację. Z kolei w wyższej temperaturze (94 °C) proces homogenizacji mieszanin powodował opróżnianie zawartości granul skrobiowych z amylozy i tworzenie w fazie ciągłej licznych obszarów mikrożelu, które w trakcie homogenizacji orientowały się w kierunku ścinania.

W czasie badań prowadzonych metodą wielokrotnych kroków ścinania Djaković i wsp. [16] najpierw niszczyli próbki przy maksymalnej szybkości ścinania, a następnie poddawali je na przemian ścinaniu z różnymi szybkościami, przy zastosowaniu stałych odstępów czasowych pomiędzy poszczególnymi etapami ścinania. Metoda ta pozwoliła autorom na obliczenie współczynników  $q$  i  $b$  z równania  $\Delta\tau = qt^b$ , w którym  $\Delta\tau$  oznacza przyrost naprężenia ścinającego,  $q$  – parametr obrazujący szybkość odbudowy struktury żelu [ $\text{Pa}\cdot\text{min}^{-b}$ ], natomiast  $b$  ( $0 < b < 1$ ) – współczynnik określający miarę intensywności odbudowy struktury żelowej. Przyjęli oni, że im bliższy jedności był współczynnik  $b$ , tym proces odbudowy struktury był dłuższy. Na podstawie tego założenia oraz otrzymanych wyników stwierdzili, że żel skrobiowy o stężeniu 6 %, w temp. 94 °C, charakteryzował się bardzo intensywną odbudową struktury w krótkim czasie (10 - 20 min).

Nguyen i wsp. [30] scharakteryzowali kleiki SKN i skrobi kukurydzianej woskowej (SKW) w zależności od stężenia, temperatury oraz warunków ścinania za pomocą trzech metod reologicznych, a mianowicie: krzywych płynięcia, pomiaru zależności lepkości od czasu ścinania (przy stałej szybkości ścinania) oraz testu trzech kroków ścinania. Stwierdzili, że badane kleiki miały silnie tiksotropowy charakter, a ich lepkość zmniejszała się wraz ze wzrostem szybkości ścinania. Na podstawie pętli histerezy, otrzymanych poprzez zastosowanie wzrastającej i malejącej szybkości ścinania w trzech cyklach, autorzy wykazali, że 6-procentowy kleik SKN, badany w temp. 30 °C, był płynem nieniuetonowskim, rozrzedzanym ścinaniem i tiksotropowym. Wielkości pól powierzchni pętli histerezy zależały od czasu trwania jednego cyklu ścinania oraz od historii ścinania.

Ci sami autorzy skleikowali SKN w temp. 85 °C, a SKW – w 75 °C, następnie schłodzili otrzymane kleiki do 25 °C i pozostawili je na 2 h przed wykonaniem pomiarów reologicznych. Wpływ temperatury na właściwości reologiczne mierzyli w 25, 35 oraz 50 °C. W teście o ustalonej szybkości ścinania lepkość gwałtownie malała w ciągu 10 min ścinania, a po około 1 h zbliżała się do stałej wartości, odpowiadającej stanowi równowagi. Szybkość i stopień redukcji lepkości pozornej zależały od rodzaju i stęże-

nia skrobi, a także od stosowanej szybkości ścinania. W tym samym stężeniu (6 % m/m) i w temp. 25 °C SKN tworzyła bardziej lepkie żele, które ulegały zniszczeniu szybciej niż żele SKW. Różnice te tłumaczono zróżnicowanymi strukturami żeli, powstałymi po ochłodzeniu. Zwiększenie stężenia mieszanin z 6 do 7 % (m/m) oraz temp z 25 do 35 °C spowodowało znaczne zmiany właściwości żeli. Nawet tak niewielka zmiana zawartości skrobi prowadziła do zwiększenia lepkości pozornej. Jednak nie wpływała ona znacząco na zachowanie tiksotropowe próbek. Natomiast wzrost temperatury powodował istotne zmiany lepkości oraz właściwości tiksotropowych układów obydwu skrobi kukurydzianych.

Nguyen i wsp. [30] za pomocą metody trzech kroków ścinania stwierdzili, że proces niszczenia struktury kleików skrobiowych był nieodwracalny, a jej odbudowa zachodziła bardzo wolno lub była niezauważalna.

Na podstawie modelu kinetycznego Nguyen i wsp. [30] uznali, że kleiki SKN w porównaniu z otrzymanymi ze SKW miały bardziej wrażliwą naturę tiksotropową. Autorzy wyliczyli to, analizując współczynnik  $k$  obrazujący szybkość rozpadu struktury tiksotropowej oraz iloraz  $\eta_0/\eta_\infty$  ( $\eta_0$  – lepkość początkowa w czasie  $t = 0$ , tzw. „stan struktury nienaruszonej”;  $\eta_\infty$  – lepkość końcowa lub równowagowa w  $t \rightarrow \infty$ , tzw. „stan równowagi strukturalnej”), który uznali za względną miarę tiksotropii, czyli funkcję zależną od typu i stężenia skrobi, a także od temperatury i szybkości ścinania. Zauważyli oni, że współczynnik  $k$  badanych skrobi wzrastał wraz ze wzrostem szybkości ścinania, temperatury oraz stężenia, co było charakterystyczne w odniesieniu do płynów tiksotropowych.

Według wielu autorów [2, 3, 11, 15, 33, 35, 37, 38] mieszaniny skrobi kukurydzianej woskowej wykazują zarówno właściwości tiksotropowe, jak i antytiksotropowe.

Tattiyakul i Rao [35] badali usieciowaną skrobię kukurydzianą woskową (u-SKW). Właściwości tiksotro- lub antytiksotropowe określali na podstawie kierunku przebiegu krzywych płynięcia, wyznaczonych w zakresie szybkości ścinania 0,1 – 500 s<sup>-1</sup>. Kleiki u-SKW o stężeniu 5 %, badane w temp. 20, 40, 60 i 80 °C miały pętle histerezy przebiegające zgodnie (przy wyższych szybkościach ścinania) lub przeciwnie (przy niższych szybkościach ścinania) do kierunku ruchu wskazówek zegara. Zachowanie antytiksotropowe stwierdzono niezależnie od temperatury pomiaru, w zakresie naprężeń ścinających mniejszych niż 120 Pa. Charakter antytiksotropowy kleików wzrastał wraz ze wzrostem temperatury pomiaru. Największym polem powierzchni pętli histerezy antytiksotropii charakteryzowała się próbka badana w temp. 80 °C. Zachowanie takie było spowodowane wzrostem temperatury, który prowadził do spadku naprężenia przyłożonego do próbki, co skutkowało zachowaniem antytiksotropowym. Ponadto wzrost temperatury przyczynił się do pęknięcia granul skrobiowych i wymywa-

nia z nich amylopektyny, co sprzyjało tworzeniu charakterystycznej struktury wywołanej ścinaniem (*shear-induced structure formation*).

Ci sami autorzy wykonali badania przebiegów pętli histerezy w zakresach szybkości ścinania 0,1 - 40 - 0,1 oraz 0,1 - 125 - 0,1 s<sup>-1</sup> i porównali właściwości tiksotropowe zawiesin u-SKW o stężeniach: 5, 6, 7 i 8 %. Zauważyli, że w zakresie szybkości ścinania 0,1 - 40 - 0,1 s<sup>-1</sup> zawiesina zawierająca 5 % skrobi nie miała pętli histerezy, zawiesina o stężeniu 6 % wykazywała charakter antytiksotropowy, natomiast zawiesiny o stężeniach 7 i 8 % miały charakter tiksotropowy. Z kolei w zakresie szybkości ścinania 0,1 - 125 - 0,1 s<sup>-1</sup> zawiesina o stężeniu 5 % odznaczała się zachowaniem antytiksotropowym, a zawiesiny o większej zawartości skrobi – tiksotropowym. Tattiyakul i Rao [35] tłumaczyli otrzymane wyniki zmniejszaniem absorpcji wody przez granule skrobiowe wraz ze zwiększaniem się stężenia skrobi w mieszaninie. W efekcie ziarenka skrobiowe zachowywały swoją twardość, a przez to ulegały mniejszemu rozpadowi.

Achayuthakan i Suphantharika [2] wykazali występowanie właściwości antytiksotropowych 6-procentowej (m/m) SKW przy małych szybkościach ścinania ( $\dot{\gamma} < 50 \text{ s}^{-1}$ ) i właściwości tiksotropowych przy wyższych szybkościach ścinania ( $\dot{\gamma} > 50 \text{ s}^{-1}$ ). Pętla histerezy wykreślona przeciwie do kierunku ruchu wskazówek zegara miała bardzo małe pole powierzchni, a pętla histerezy obrazująca tiksotropię – duże pole. Według wymienionych autorów SKW charakteryzowała się dużą zawartością amylopektyny, która odpowiadała za wzrost lepkości mieszaniny wraz ze wzrostem szybkości ścinania oraz za formowanie się nowej struktury, tzn. antytiksotropię obrazowaną przez pętlę histerezy przebiegającą przeciwie do kierunku ruchu wskazówek zegara. Natomiast krzywą biegnącą zgodnie z kierunkiem ruchu wskazówek zegara Achayuthakan i Suphantharika [2] zinterpretowali jako wynik niszczenia struktury, czyli zachowanie tiksotropowe.

Wang i wsp. [37] badali wpływ warunków kleikowania na właściwości reologiczne 5-procentowych kleików skrobi kukurydzianej woskowej (SKW). Zastosowali trzy metody kleikowania:

- 1) ogrzewanie w układzie pomiarowym reometru do temp. 50 °C przez 1 min, następnie ogrzewanie do 95 °C z szybkością 12 °C/min i przetrzymywanie w tej temperaturze przez 2 min, chłodzenie do 50 °C (z szybkością 12 °C/min) i przetrzymywanie w tej temperaturze przez 1 min. Wszystkie procesy termiczne wykonywano przy stałej szybkości ścinania (200 s<sup>-1</sup>),
- 2) intensywne mieszanie zawiesiny skrobi w kolbie stożkowej i jej ogrzewanie w łaźni wodnej w temp. 95 °C, w ciągu 6 min, ze stałą prędkością obrotów mieszadła (200 obr./min), następnie chłodzenie do 40 °C przez 1 h,
- 3) intensywne mieszanie zawiesiny skrobi w kolbie stożkowej i jej ogrzewanie w łaźni wodnej w temp. 95 °C, w ciągu 40 min, ze stałą liczbą obrotów mieszadła (200 obr./min), następnie chłodzenie do 40 °C przez 1 h.

W przypadku tak sporządzonych próbek autorzy [37] mierzyli krzywe płynięcia, w zakresie szybkości ścinania 0 - 300 s<sup>-1</sup> oraz, w celu potwierdzenia ich właściwości tiksotropowych lub antytiksotropowych, zastosowali metodę trzech kroków ścinania w temp. 25 °C.

Próbka przygotowana wg sposobu (1) miała pętlę histerezy zgodną z kierunkiem ruchu wskazówek zegara, co wskazywało na zachowanie tiksotropowe. Próbka sporządzona wg sposobu (2) charakteryzowała się występowaniem 2 pętli histerezy (wykres w kształcie ósemki), przy czym pętla w zakresie szybkości ścinania 0-50 s<sup>-1</sup> miała charakter antytiksotropowy, a pętla otrzymana przy wyższych szybkościach ścinania – charakter tiksotropowy. Próbka przygotowana wg sposobu (3) miała 1 pętlę histerezy o charakterze antytiksotropowym. Odmienne zachowanie krzywych płynięcia Wang i wsp. [37] tłumaczyli zróżnicowanym czasem mieszania próbek SKW. Stwierdzili także, że właściwości antytiksotropowe stawały się tym bardziej widoczne, im dłuższy był czas prowadzenia procesu ogrzewania (przy intensywnym mieszaniu) zawieszin SKW. Faza ciągła w SKW, którą stanowiła amylopektyna, rozpuszczała się podczas pęcznienia granul. Autorzy [37] uznali badane mieszaniny za systemy dwufazowe, tzn. zdegradowane granule skrobiowe osadzone w ciągłej matrycy amylopektyny. Stan taki determinował właściwości reologiczne SKW. Zaobserwowaną pętlę histerezy, zgodną z kierunkiem ruchu wskazówek zegara, Wang i wsp. [37] wyjaśniali zniszczeniem struktury próbki w określonym zakresie ścinania i utworzeniem się nowej struktury w malejącym zakresie szybkości ścinania. Mieszanina skrobi ogrzewana w łaźni wodnej przez 40 min zawierała więcej cząsteczek amylopektyny rozpuszczonych w fazie ciągłej. Stwierdzono, że zwiększona ilość amylopektyny w fazie ciągłej warunkowała właściwości antytiksotropowe kleików.

Badanie mieszanin SKW metodą trzech kroków ścinania pozwoliło Wangowi i wsp. [37] na określenie wartości liczbowych odbudowy struktury próbek, otrzymanych według podanych powyżej metod. W pierwszym etapie pomiaru próbka (1), w porównaniu z próbkami (2) i (3), odznaczała się o wiele większą lepkością. Z kolei wartości liczbowe odbudowy struktury próbek (2) i (3) ogrzewanych w łaźni wodnej w ciągu 6 i 40 min były wyższe niż w przypadku próbki (1). Wartości lepkości pozornej mieszanin (2) i (3) w kroku trzecim były kilkakrotnie większe od odpowiadających im wartości lepkości z kroku pierwszego, co potwierdziło jednoznacznie charakter antytiksotropowy tych próbek, zasugerowany uprzednio na podstawie wyników pomiarów krzywych płynięcia. Zachowanie antytiksotropowe Wang i wsp. [37] przypisywali cząsteczkom amylopektyny rozpuszczonym w wodzie. Amylopektyna w próbce kleikowanej najdłużej (40 min) rozpuściła się w większym stopniu, co doprowadziło do zwiększenia właściwości antytiksotropowych tego kleiku.

W innej pracy Wang i wsp. [38] badali wpływ temperatury, szybkości ścinania oraz warunków przygotowywania na właściwości antytiksotropowe dyspersji SKW.



W celu zrozumienia tego zjawiska przygotowali 5-procentowe (m/m) zawiesiny SKW: (a) zawiesinę ogrzewaną w łaźni wodnej przez 6 min, w temp. 95 °C, z kontrolowaną liczbą obrotów mieszadła – 200 obr./min, (b) zawiesinę ogrzewaną w łaźni wodnej przez 40 min, w temp. 95 °C, z kontrolowaną liczbą obrotów mieszadła – 200 obr./min, (c) zawiesinę ogrzewaną w łaźni wodnej przez 40 min, w temp. 95 °C, z kontrolowaną liczbą obrotów mieszadła – 400 obr./min, a także (d) zawiesinę SKN ogrzewaną w łaźni wodnej przez 40 min, w temp. 95 °C, z kontrolowaną liczbą obrotów mieszadła – 400 obr./min, którą potraktowali jako próbkę odniesienia. Następnie kleiki sporządzone według schematów (a), (b) i (c) schłodzili w przeciągu 2 h do temp. 25 °C. Natomiast kleik SKN schłodzili do temp. 40 °C (również w ciągu 2 h), aby zapobiec wytworzeniu się żelu. W celu zbadania właściwości antytiksotropowych próbek, Wang i wsp. [38] wykonali pomiary pętli histerezy, zastosowali metodę trzech kroków ścinania oraz standardowy test na określenie antytiksotropii, polegający na wyznaczeniu krzywych lepkości przy kilku (5 - 8) różnych szybkościach ścinania.

W teście pętli histerezy i w metodzie trzech kroków ścinania układy SKW wykazały właściwości tiksotropowe i antytiksotropowe, które zależały zarówno od warunków termicznych, jak i sposobu przygotowania mieszanin.

W teście pętli histerezy próbka sporządzona wg metody (a) wykazywała właściwości tiksotropowe w badanych temp. (25, 50 i 75 °C), przy czym pole powierzchni pętli histerezy zmniejszało się wraz ze wzrostem temperatury. Próbka (b) badana w temp. 25 °C miała dużą pętlę histerezy (tikso- i antytiksotropia), która występowała podczas pomiaru w wyższych szybkościach ścinania (50 - 300 s<sup>-1</sup>), i relatywnie małą pętlę histerezy (antytiksotropia) przy małych szybkościach ścinania (0 - 50 s<sup>-1</sup>). W trakcie pomiaru w temp. 50 °C Wang i wsp. [38] zaobserwowali występowanie antytiksotropii w zakresie szybkości ścinania 0 - 100 s<sup>-1</sup> i tiksotropii – w zakresie 100 - 300 s<sup>-1</sup>. Natomiast w czasie pomiaru w temp. 75 °C pętla tiksotropii prawie całkowicie zanikała, a pole powierzchni antytiksotropii było znacząco wyższe aniżeli odpowiednie pola zmierzone w niższych temperaturach. Próbka (c), którą kleikowano najbardziej intensywnie (40 min, 400 obr./min) wykazywała charakter antytiksotropowy, bardziej widoczny w wyższych temp. (75 i 50 °C) oraz w szerszym zakresie szybkości ścinania niż w przypadku próbek przygotowanych według metody (a) oraz (b). Ta sama próbka badana w temp. 25 °C charakteryzowała się występowaniem zarówno właściwości tiksotro- i antytiksotropowych. Podsumowując, mieszanina SKW, którą mieszano intensywniej przed pomiarem, miała lepiej rozpuszczone granule w fazie ciągłej, co przełożyło się na bardziej uwidocznione właściwości antytiksotropowe. Według Wang i wsp. [38] antytiksotropowy charakter próbek można przypisać amylopektynie rozpuszczonej w fazie ciągłej, a ścinanie ułatwia tworzenie się wiązań pomiędzy cząsteczkami amylopektyny, co powoduje powstawanie bardziej złożonej struktury.



Próbka odniesienia SKN prawie nie wykazywała pętli histerezy. Podczas kleikowania SKN amyloza została wypłukana z ziarenek skrobiowych, co w rezultacie zmieniło strukturę mieszaniny tej skrobi.

W metodzie trzech kroków ścinania, przed rozpoczęciem pomiaru Wang i wsp. [38] ścinali próbkę z szybkością  $100 \text{ s}^{-1}$  przez 30 s, a następnie dokonywali jej relaksacji w temp. pomiarów (25, 50 i 75 °C) przez 5 min. Zastosowali następujące szybkości ścinania: (1)  $1 \text{ s}^{-1}$  przez 120 s, (2)  $300 \text{ s}^{-1}$  w ciągu 60 s oraz (3)  $1 \text{ s}^{-1}$  w ciągu 180 s. Odbudowę struktury wewnętrznej pod wpływem sił ścinających autorzy [38] obliczyli jako iloraz średniej lepkości pozornej ( $\eta_{a3}$ ) uzyskanej podczas pierwszych 120 s ścinania w trzecim kroku do średniej lepkości pozornej ( $\eta_{a1}$ ) określonej w kroku pierwszym.

Na podstawie przeprowadzonego pomiaru Wang i wsp. [38] stwierdzili, że w każdej z zastosowanych temp. (25, 50 i 75 °C) mieszaniny SKW przygotowane według sposobu (b) i (c) miały większą lepkość w kroku trzecim niż w kroku pierwszym. Zauważyli także, że bardziej intensywne mieszanie w dłuższym czasie mogło przyczynić się po ścinaniu do lepszej odbudowy struktury, którą determinowała faza ciągła mieszaniny SKW.

W temp. 25 °C próbka sporządzona według sposobu (a) charakteryzowała się mniejszą lepkością w kroku trzecim aniżeli w kroku pierwszym. Oznacza to, że jej początkowa struktura została zniszczona podczas ścinania z szybkością  $300 \text{ s}^{-1}$  (krok drugi), a nowo powstała struktura przy ścinaniu z szybkością  $1 \text{ s}^{-1}$  (krok trzeci) była już mniej odporna na siły ścinające w porównaniu z próbkami przygotowanymi wg metod (b) i (c). Natomiast w temp. 50 i 75 °C lepkość, po zastosowaniu dużej szybkości ścinania ( $300 \text{ s}^{-1}$ ), w kroku trzecim była wyższa niż w kroku pierwszym, co świadczyło o właściwościach antytiksotropowych badanych próbek. Interpretując te badania, autorzy sugerowali, że wzrost temperatury powodował bardziej intensywne wypływanie cząsteczek amylopektyny z ziarenek skrobiowych, co przyczyniło się do powstawania bardziej stabilnej struktury kleiku w czasie ścinania z wysoką szybkością i występowania zjawiska antytiksotropii. Jednak wartość współczynnika odbudowy struktury próbki SKW, przygotowanej według schematu (c) (mieszanej najdłużej i najszybciej), po zwiększeniu temp. pomiaru z 50 do 75 °C, zmniejszyła się z 3,14 do 2,59, co świadczyło o tym, że odbudowa struktury nie jest prostą funkcją temperatury.

Przy użyciu metody trzech kroków ścinania Wang i wsp. [38] zbadali również mieszaninę SKN jako próbkę odniesienia. W temp. 25 °C lepkość pozorna tej próbki w kroku trzecim była dużo mniejsza niż w kroku pierwszym, co wskazywało na jej tiksotropowy charakter. Natomiast w temp. 50 i 75 °C autorzy nie zaobserwowali znaczących różnic lepkości w kroku pierwszym i trzecim.

W teście standardowym próbki SKW przygotowane według metody (a) oraz (b) wykazywały charakter antytiksotropowy tylko przy określonych szybkościach ścinania. W próbkach otrzymanych zgodnie ze schematem (a) zaobserwowano wyraźną

antytikotropię przy szybkościach ścinania 1 oraz  $10 \text{ s}^{-1}$ , a przy wyższych szybkościach ścinania ( $50, 100$  i  $150 \text{ s}^{-1}$ ) próbki miały charakter tiksotropowy. W próbkach przygotowanych według metody (b) charakter tiksotropowy stwierdzono przy  $10$  i  $50 \text{ s}^{-1}$ . W przypadku próbek sporządzonych według metody (c), najdłużej i najintensywniej mieszanych, zauważono wyraźną antytikotropię przy szybkościach  $10$  i  $50 \text{ s}^{-1}$ . Z kolei przy szybkościach ścinania  $100$  i  $150 \text{ s}^{-1}$  charakter antytikotropowy próbek obserwowano w początkowych  $60 \text{ s}$  pomiaru, po czym ustalała się stała wartość lepkości. Przy szybkościach ścinania  $200, 300$  i  $400 \text{ s}^{-1}$  próbki charakteryzowały się zmniejszaniem lepkości w czasie, co świadczyło o ich właściwościach tiksotropowych.

Natomiast krzywe lepkości mieszanin SKN utrzymywały się na stałym poziomie przy zastosowanych szybkościach ścinania ( $1, 10, 50, 100, 150$  oraz  $300 \text{ s}^{-1}$ ), potwierdzając, że podczas ścinania nie było zmian w mikrostrukturze badanych kleików.

### Właściwości tiksotropowe innych skrobi zbożowych

Doublier [17] prowadził badania kleików skrobi pszennej (SP). Kleiki do badań przygotowywał przez ogrzewanie zawiesin skrobi do  $96 \text{ }^\circ\text{C}$  i przetrzymywanie próbek o stężeniach  $0,3 - 8,0 \%$  w tej temperaturze przez  $30 \text{ min}$  przy mieszaniu z szybkością  $750 \text{ obr./min}$ . W pracy przedstawił on między innymi wyniki zależności krzywych płynięcia od temperatury  $2,6$ -procentowego kleiku SP. W temp.  $50, 60$  i  $70 \text{ }^\circ\text{C}$  nie zaobserwował tiksotropii, natomiast w przypadku kleiku badanego w  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  stwierdził występowanie niewielkiej tiksotropii. Zbadał on również wpływ warunków przygotowania mieszanin skrobiowych na właściwości tiksotropowe kleików. W tym celu sporządził  $5,2$ -procentowe próbki, stosując następujące warunki przygotowania: a) liczba obrotów mieszadła  $750 \text{ obr./min}$  i szybkie ogrzewanie, b) liczba obrotów mieszadła  $200 \text{ obr./min}$  i szybkie ogrzewanie, a także c) liczba obrotów mieszadła  $750 \text{ obr./min}$  i wolne ogrzewanie:  $1 \text{ }^\circ\text{C/min}$ . Pomiary prowadził w temp.  $70 \text{ }^\circ\text{C}$ . Zachowanie tiksotropowe (pętla histerezy) zaobserwował tylko w przypadku kleików otrzymanych według procedur b) i c).

Na podstawie krzywych płynięcia Doublier i wsp. [19] badali właściwości tiksotropowe skrobi owsianej, w zależności od stężenia i szybkości ogrzewania. Porównali także wielkość pętli histerezy kleików skrobi owsianej (SO) z odpowiednimi pętlami kleików skrobi kukurydzianej (SK) i pszennej (SP). Skrobie kleikowali w temp.  $85 \text{ }^\circ\text{C}$  i natychmiast przenosili do układu pomiarowego wiskozymetru. Właściwości kleików skrobi owsianej w zależności od stężenia ( $2,2, 3,02, 3,25, 3,71$  oraz  $4,34 \%$ ) badali w temp.  $70 \text{ }^\circ\text{C}$ , w warunkach szybkiego ogrzewania ( $6 \text{ }^\circ\text{C/min}$ ) i małej liczby obrotów mieszadła ( $200 \text{ obr./min}$ ). Powyżej stężenia  $2 \%$  obserwowali oni silne zachowanie tiksotropowe, które zwiększało się wraz ze wzrostem stężenia skrobi w mieszaninie. Górna krzywa płynięcia wykazywała obecność zjawiska *stress-overshoot* (gwałtownego wzrostu naprężenia ścinającego przy określonej wartości szybkości ścinania) i gra-

nicy płynięcia. Zjawiska *stress-overshoot* nie stwierdzono natomiast w przebiegu krzywych płynięcia żadnej badanej próbki po przekroczeniu szybkości ścinania  $175 - 200 \text{ s}^{-1}$ .

Doublier i wsp. [19] przeprowadzili badania porównawcze skrobi owsianej oraz skrobi kukurydzianej i pszennej, analizując próbki o stężeniu 3,4 %, które przygotowali w takich samych warunkach, jak próbki skrobi owsianej o różnych stężeniach. Kształty otrzymanych pętli histerezy kleików poszczególnych skrobi różniły się między sobą, co było oczywiste. Kleiki SK oraz SP wykazywały właściwości pseudoplastyczne, chociaż zaobserwowano także niewielką tiksotropię. W odniesieniu do każdej ze skrobi wykreślono krzywe płynięcia w dwóch cyklach. Skrobie kukurydziana i pszena wykazywały niewielką różnicę pomiędzy pierwszym a drugim cyklem, a także nie miały granic płynięcia. Natomiast kleiki skrobi owsianej odznaczały się występowaniem granicy płynięcia przy obydwu pętlach histerezy. Pomiar tiksotropii w kontrolowanych warunkach był drugim sposobem szacowania struktury wewnętrznej badanych próbek. Porównanie trzech mieszanin skrobi w tym zakresie wykazało, że sieć strukturalna gorącego kleiku skrobi owsianej była mocniejsza niż sieci strukturalne skrobi kukurydzianej i pszennej, gdy oceniano je w tych samych warunkach.

Al-Malah i wsp. [5] badali wpływ stężenia glukozy na właściwości reologiczne mieszanin skrobi pszennej. W tym celu sporządzali mieszaniny zawierające 5 % (m/v) skrobi z glukozą w następujących stężeniach: 0, 1, 3 i 6 % (m/v). Mieszaniny te podgrzewali do  $80 \text{ }^\circ\text{C}$  i przetrzymywali w tej temp. przez 0, 10, 20 i 30 min. Lepkość mierzyli jako funkcję szybkości ścinania, a także jako funkcję czasu przy stałej, określonej szybkości ścinania ( $106 \text{ s}^{-1}$ ). W badaniu lepkości w funkcji czasu najbardziej widocznym zachowaniem antytiksotropowym charakteryzowała się próbka z 6-procentowym dodatkiem glukozy, mieszana w temp.  $80 \text{ }^\circ\text{C}$  w ciągu 30 min, w przypadku której zaobserwowano znaczny wzrost lepkości w czasie ścinania. W celu potwierdzenia otrzymanych wyników Al-Malah i wsp. [5] wykonali pomiar lepkości w funkcji szybkości ścinania, wykreślając dwie krzywe – z rosnącą i malejącą szybkością ścinania. Pomiar prowadzili bez i z dodatkiem 6 % (m/v) glukozy, a także bez ogrzewania i z 20-minutowym ogrzewaniem. Wykreślone zależności wykazały, że w drugim cyklu ścinania (przy malejącej szybkości ścinania) lepkość pozorna była większa niż w cyklu pierwszym, co wskazywało na antytiksotropowe zachowanie próbek. Wzrost lepkości pozornej podczas ścinania autorzy tłumaczyli przegrupowaniem ziarenek skrobiowych i tworzeniem przez nie klastrów.

Abu-Jdayil i wsp. [1] przedstawili kontynuację opisanych powyżej badań, związanych z dodatkiem glukozy do mieszaniny skrobi pszennej, uwzględniających czas przechowywania otrzymanych układów. Próbki sporządzone w temp.  $80 \text{ }^\circ\text{C}$  przechowywali w  $8 \text{ }^\circ\text{C}$  przez 1, 2, 3 i 4 dni, po czym mierzyli ich lepkość w  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ , jako funkcję szybkości i czasu ścinania. Badanie lepkości w funkcji czasu wykazało, że układy

skrobi pszennej oraz mieszaniny tej skrobi z glukozą mają właściwości tiksotropowe. W kleikach skrobi pszennej bez dodatku glukozy zwiększenie czasu przechowywania próbek powodowało wzrost naprężenia stycznego. Natomiast w przypadku mieszanin z dodatkiem 6 % (m/v) glukozy czas przechowywania nie wpływał na ich właściwości tiksotropowe. Abu-Jdayil i wsp. [1] stwierdzili ponadto, że w układach bez dodatku glukozy, w trakcie przechowywania, mieszanina skrobi zmieniała swoje właściwości z cieczy Binghama na cechy cieczy rozrzedzanej ścinaniem.

Gambuś i wsp. [23] badali 5-procentowe kleiki skrobi zbożowych: pszennej, żytniej oraz jęczmiennej. Skrobie kleikowali w temp. 96 °C przez 20 min, a następnie obniżali temp. do 70 °C. Pomiar krzywych płynięcia wykonywali w temp. 50 °C w zakresie szybkości ścinania od 0 do 600 s<sup>-1</sup>. Kleiki wszystkich trzech skrobi wykazywały charakter tiksotropowy, o czym miały świadczyć otrzymane pętle histerezy. Pod uwagę brano głównie dojrzałość zbóż, z których wyizolowano skrobie. Skrobie z niedojrzałych zbóż miały większe pola powierzchni pętli histerezy niż z dojrzałych, a zatem odznaczały się większymi właściwościami tiksotropowymi. Ponadto były one bardziej podatne na działanie sił ścinających.

Berski i wsp. [9] opisali właściwości reologiczne skrobi owsianej, poddanej modyfikacjom chemicznym (acetylowaniu, utlenianiu oraz fosforylacji). Sporządzali 4-procentowe (m/m) mieszaniny skrobi modyfikowanych w ciągu 30 min, w temperaturze otoczenia, a następnie kleikowali je w ciągu 30 min, w temp. 98 °C. Autorzy [9] wykonali test pętli histerezy i stwierdzili, że badane próbki miały charakter tiksotropowy. Ponadto przebieg krzywych płynięcia był różny, co tłumaczyli zależnością lepkości od szybkości i czasu ścinania. Berski i wsp. [9] wykreślili także zależności lepkości pozornej od czasu ścinania. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzili, że mieszaniny natywnej skrobi owsianej oraz skrobi modyfikowanych były systemami zagęszczanymi ścinaniem, zarówno w temp. 20, jak i 50 °C. Stwierdzili również, że przy szybkościach ścinania 100 i 500 s<sup>-1</sup> próbki wykazywały zjawisko tiksotropii. Interesującym zachowaniem odznaczała się skleikowana skrobia owsiana fosforylowana, której lepkość oscylowała w czasie. Autorzy tłumaczyli takie zachowanie poprzez relaksację naprężeń. W kleiku SO natywnej wzrost temp. pomiaru z 20 do 50 °C powodował zmniejszenie właściwości tiksotropowych. Berski i wsp. [9] wyjaśniali to zjawisko w kontekście wzrostu mobilności łańcuchów skrobi na skutek osłabienia interakcji pomiędzy nimi. W rezultacie ścinania kleik nie był w stanie zgromadzić potrzebnej energii, co przejawiało się osiągnięciem stanu równowagi w krótszym czasie. Poza tym, w wyższej temperaturze następowało szybsze osiągnięcie stałej wartości lepkości.

Banchathanakij i Suphantharika [6] zajmowali się badaniem właściwości skrobi ryżowej. W celu określenia właściwości tiksotropowych wykonali test pętli histerezy (w zakresie szybkości ścinania od 0 do 300 s<sup>-1</sup>) 3,5-procentowych (m/m) żeli skrobio-

wych bezpośrednio po ich przygotowaniu, a także po 7, 21 i 63 dniach przechowywania w temp. 4 °C. Stwierdzili, że wszystkie badane próbki wykazywały zachowanie tiksotropowe, przy czym największym polem powierzchni pętli histerezy odznaczał się żel przechowywany najdłużej (przez 63 dni), czyli ten, w którym najbardziej widoczne było zjawisko retrogradacji.

### **Badania skrobi innego pochodzenia botanicznego**

Badania skrobi ziemniaczanej prowadzili m.in. Ptaszek i Grzesik [32], Fortuna i wsp. [22], Orczykowska i wsp. [31], Zhang i wsp. [39]; tapiokowej – Chen i Ramaswamy [12]; natomiast sago – Sopade i Kiaka [34].

Badania tych skrobi odnosiły się jedynie do interpretacji niestabilności ich kleików na podstawie pól powierzchni pętli histerezy oraz krzywych lepkości.

### **Podsumowanie**

W pracy przedstawiono przegląd literaturowy, dotyczący badań właściwości tiksotropowych skrobi różnego pochodzenia botanicznego, zarówno w sensie ilościowym, jak i jakościowym.

Jedną z najbardziej powszechnych metod określania właściwości tiksotropowych było wykreślanie pętli histerezy i określanie wielkości pola znajdującego się pomiędzy krzywymi. Test ten stosowano jedynie do identyfikacji tiksotropii oraz antytiksotropii. Pętle histerezy, których krzywe biegły zgodnie z kierunkiem ruchu wskazówek zegara, interpretowano jako wynik niszczenia struktury, czyli zachowanie tiksotropowe, a pętle histerezy przebiegające przeciwnie do kierunku tego ruchu – jako formowanie się nowej struktury, tzn. antytiksotropię. Na kształt pętli histerezy, a także wartość pola powierzchni ograniczonego krzywymi wpływały warunki przygotowywania kleików, takie jak szybkość mieszania i temperatura, w której prowadzono proces kleikowania. Stwierdzono, że pola powierzchni pętli histerezy były związane z czasem trwania jednego cyklu ścinania oraz zależały od historii ścinania. Ponadto niewielki wzrost zawartości skrobi w zawieszynie lub roztworze prowadził do wzrostu lepkości pozornej, ale nie wpływał znacząco na zachowanie tiksotropowe próbek. Natomiast zmiana temperatury wywierała istotny wpływ zarówno na lepkość, jak i właściwości tiksotropowe układów SKN oraz SKW.

W badaniu ilościowym zjawiska tiksotropii pomocny był test trzech kroków ścinania, w którym określano liczbowo odbudowę struktury próbki zniszczonej podczas ścinania. Badanie za pomocą tej metody wykazało, że niszczenie struktury kleików skrobiowych miało charakter nieodwracalny, a jej odbudowa była bardzo wolna lub niezauważalna. Iloraz średniej lepkości pozornej, oznaczonej w kroku trzecim, do jej wartości z kroku pierwszego wyższy od jedności świadczył o właściwościach antytiksotropowych, natomiast niższy od 1,0 wskazywał na charakter tiksotropowy.

Nguyen i wsp. [30] na podstawie modelu kinetycznego wyliczyli współczynnik tiksotropii  $k$ . Współczynnik ten uznali za względną miarę tiksotropii, czyli funkcję zależną od typu i stężenia skrobi oraz temperatury i szybkości ścinania. Tattiyakul i Rao [35] stwierdzili, że wzrost temperatury skutkował zachowaniem antytiksotropowym w odniesieniu do SKW, co przejawiało się pękaniem granul skrobiowych i wymywaniem z nich amylopektyny, a także tworzeniem charakterystycznej struktury wywołanej ścinaniem (*shear induced structure formation*). Z kolei Wang i wsp. [37, 38] zaobserwowali, że 5-procentowe (m/m) kleiki SKW wykazywały zarówno właściwości tiksotro- jak i antytiksotropowe w testach pętli histerezy i trzech kroków ścinania. Gdy skrobia była dostatecznie skleikowana, wykazywała właściwości antytiksotropowe, które przejawiały się znacząco w wyższych temp. pomiaru. Ponadto, przeprowadzony przez autorów pomiar lepkości w czasie przy stałej szybkości ścinania wykazał, że właściwości antytiksotropowe SKW występowały jedynie przy pewnych szybkościach ścinania. Bardziej efektywne kleikowanie mieszanin skrobi sprawiało, że zachowanie antytiksotropowe obserwowano przy wyższych szybkościach ścinania i w szerszym zakresie tych szybkości. Autorzy opisywali właściwości antytiksotropowe SKW jako przegrupowanie cząsteczek amylopektyny z zastosowaniem odpowiedniej szybkości ścinania. Wang i wsp. [37, 38] badali również SKN. Stwierdzili, że kleiki tej skrobi nie wykazywały właściwości antytiksotropowych, co tłumaczyli odmienną mikrostrukturą, uformowaną przez amylozę w fazie ciągłej. Al-Malah i wsp. [5] oraz Abu Jdayil i wsp. [1] wykonali pomiary lepkości pozornej w czasie ścinania ze stałą szybkością kleików skrobi pszennej. Zachowanie antytiksotropowe przypisywali oni zmniejszaniu lepkości mierzonej w czasie, a tiksotropowe – wzrostowi lepkości. Właściwości tiksotropowe objaśniali niszczeniem struktury bądź orientacji łańcuchów polimerowych, zaś właściwości antytiksotropowe – tworzeniem się nowej struktury lub uwikłaniem łańcuchów polimerów. Wykreślając pętle histerezy (lepkość w funkcji szybkości ścinania), autorzy stwierdzili, że wraz z zastosowanymi cyklami ścinania kleiki skrobiowe stawały się bardziej lepkie, co wskazywało na ich zachowanie antytiksotropowe. Zachowanie to tłumaczono formowaniem się klastrów granul skrobiowych powodujących wzrost lepkości. Berski i wsp. [9] na podstawie zależności lepkości pozornej w funkcji czasu zauważyli, że mieszaniny skrobi owsianej natywnej i modyfikowanej były systemami zagęszczanymi ścinaniem. Natomiast Doublier [17] stwierdził, że wyniki pomiarów za pomocą krzywych płynięcia przy niskich szybkościach ścinania były zdeterminowane agregacją napęczniałych ziarenek skrobi pszennej, a przy wyższych szybkościach ścinania – przez frakcję objętościową tych granul. Agregacja następowała tylko wtedy, gdy ilość drobno rozproszonych cząsteczek, powstających w wyniku zniszczenia napęczniałych granul i wypłukania amylozy, była niewielka. Frakcja cząstek tworząca się pod wpływem odpowiednich warunków mie-



szania minimalizowała interakcje pomiędzy ziarenkami skrobiowymi, czego rezultatem był zanik tiksotropii.

*Projekt został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji numer DEC-2011/03/B/NZ9/00152.*

### Literatura

- [1] Abu-Jdayil B., Azzam M.O.J., Al-Malah K.I.M.: Effect of glucose and storage time on the viscosity of wheat starch dispersion. *Carboh. Polym.*, 2001, **46**, 207-215.
- [2] Achayuthakan P., Supphantharika M.: Pasting and rheological properties of waxy corn starch as affected by guar gum and xanthan gum. *Carboh. Polym.*, 2008, **31**, 9-17.
- [3] Acquarone V.M., Rao M.A.: Influence of sucrose on the rheology and granule size of cross-linked waxy maize starch dispersions heated at two temperatures. *Carboh. Polym.*, 2003, **51**, 451-458.
- [4] Adamczyk G., Sikora M., Krystyan M.: Metody pomiaru właściwości tiksotropowych produktów żywnościowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, 3 (**82**) 19-34.
- [5] Al-Malah K.I., Azaam M.O.J., Abu-Jdayil B.: Effect of glucose concentration on the rheological properties of wheat-starch dispersions. *Food Hydrocoll.*, 2000, **14**, 491-496.
- [6] Banchathanakij R., Supphantharika M.: Effect of different  $\beta$ -glucans on the gelatinization and retrogradation of rice starch. *Food Chem.*, 2009, **114**, 5-14.
- [7] Barnes A.H.: Thixotropy – a review. *J. Non-Newton. Fluid Mech.*, 1997, **70**, 1-33.
- [8] Bauer W.H., Collins E.A.: Thixotropy and dilatancy. In: *Rheology*. IV ed. by F. Erich, Academic Press, New York 1967, pp. 423-457.
- [9] Berski W., Ptaszek A., Ptaszek P., Ziobro R., Kowalski G., Grzesik M., Achremowicz B.: Pasting and rheological properties of oat starch and its derivatives. *Carboh. Polym.*, 2011, **83**, 665-671.
- [10] Bird R.B., Marsh B.D.: Viscoelastic hysteresis. Part I. Model predictions. *J. Rheol.*, 1968, **12**, 479.
- [11] Carriere C.J.: Network development during shear-thickening in semidilute solutions of gently solubilized starches. *J. Polym. Phys.*, 1998, **36**, 2085-2093.
- [12] Chen C.R., Ramaswamy H.S.: Rheology of tapioca starch. *Food Res. Int.*, 1999, **32**, 319-325.
- [13] Dewar R., Joyce M.J.: The thixotropic and rheopectic behavior of maize starch and maltodextrin thickeners used in dysphagia therapy. *Carboh. Polym.*, 2006, **65**, 296-305.
- [14] Dintzis F.R., Bagley E.B.: Shear-thickening and transient flow effects in starch solutions. *J. Appl. Polym. Sci.*, 1995, **56**, 637-640.
- [15] Dintzis F.R., Bagley E.B.: Shear-thickening and flow induced structure in a system of DMSO containing waxy maize starch. *J. Rheol.*, 1995, **39**, 1399-1409.
- [16] Djaković L.J., Soviljii V., Milosevic S.: Rheological behavior of thixotropic starch and gelatin gels. *Starch/Stärke*, 1990, **42**, 380-385.
- [17] Doublier J.L.: Rheological studies on starch – flow behaviour of wheat starch pastes. *Starch/Stärke*, 1981, (**33**), 415-420.
- [18] Doublier J.L.: A rheological comparison of wheat, maize, faba bean and smooth pea starches. *J. Cereal Sci.*, 1987, **5**, 247-262.
- [19] Doublier J.L., Llamas G., Paton A.: A rheological investigation of oat starch pastes. *Cereal Chem.*, 1987, **64**, 21-26.
- [20] Dziubiński M., Kiljański T., Sęk J.: *Podstawy reologii i reometrii płynów*. Wyd. PŁ, Łódź 2009, ss. 200-207.
- [21] Ferguson J., Kembłowski Z.: *Reologia stosowana płynów*. Wyd. Marcus, Łódź 1995, ss. 40-46.

- [22] Fortuna T., Gałkowska D., Juszcak L.: Porównanie właściwości reologicznych wybranych preparatów skrobi modyfikowanej. *Acta Sci. Pol. Technol. Alimen.*, 2004, **3 (1)**, 21-32.
- [23] Gambuś H., Gumul D., Juszcak L.: Rheological properties of pastes obtained from starches derived from immature cereal kernels. *Starch/Stärke*, 2004, **56**, 225-231.
- [24] Groen J., Eklund D.: Influence of starch modification on coating color and coated layer properties. *Wochenblatt für Papierfabrikation*, 1998, **126 (18)**, 897-884.
- [25] Harrod M.: Time-dependent flow behavior of starch pastes, with food process applications. *J. Food Proc. Eng.*, 1989, **1**, 297-309.
- [26] Keetels C.J.A.M., van Vliet T., Walstra P.: Gelation and retrogradation of concentrated starch system: Parts 1.2 and 3. *Food Hydrocoll.*, 1996, **10**, 343-368.
- [27] Kulicke W.M., Eidam D., Kath F., Kix M., Kull A.H.: Hydrocolloids and rheology: Regulation of visco-elastic characteristics of waxy rice starch in mixtures with galactomannans. *Starch/Stärke*, 1996, **48**, 105-114.
- [28] Mewis J., Wagner N.J.: Thixotropy. *Adv. Colloid Interface Sci.*, 2009, **147-148**, 214-227.
- [29] Mezger T.G.: *The Rheology Handbook*. Vincentz Verlag, Hannover 2002, pp. 60-68.
- [30] Nguyen Q.D., Jensen C.T.B., Kristensen P.G.: Experimental and modelling studies of the flow properties of maize and waxy maize starch pastes. *Chem. Eng. J.*, 1998, **70**, 165-171.
- [31] Orczykowska M., Dziubiński M., Budzyński B.: Wpływ temperatury na stabilność skrobiowych kleików tiksotropowych w obecności środka zagęszczającego. *Acta Agrophys.*, 2010, **16 (2)**, 401-411.
- [32] Ptaszek A., Grzesik M.: Matematyczne modelowanie zjawisk tiksotropowych w modelowym układzie wodnego roztworu skrobi ziemniaczanej. *Acta Agrophys.*, 2003, **2 (3)**, 619-626.
- [33] Rao M.A., Okechukwu P.E., Da Silva P.M., Oliveira J.C.: Rheological behaviour of heated starch dispersions in excess water. Role of starch granule. *Carboh. Polym.*, 1997, **33**, 273-283.
- [34] Sopade P.A., Kiaka K.: Rheology and microstructure of sago starch from Papua New Guinea. *J. Food Eng.*, 2001, **50**, 47-57.
- [35] Tattiyakul J., Rao M.A.: Rheological behaviour of cross-linked waxy maize starch dispersions during and after heating. *Carboh. Polym.*, 2000, **43**, 215-222.
- [36] Tisher P.C.S.F., Noseda M.D., Freitas R.A., Sierakowski M.R., Duarte M.E.R.: Effects of iota-carrageenan on the rheological properties of starches. *Carboh. Polym.*, 2006, **65**, 49-57.
- [37] Wang B., Wang Li-J., Li D., Özkan N., Li S-J., Mao Z-H.: Rheological properties of waxy maize starch and xanthan gum mixtures in the presence of sucrose. *Carboh. Polym.*, 2009, **77**, 472-481.
- [38] Wang B., Wang Li-J., Li D., Özkan N.: Anti-thixotropic properties of waxy maize starch dispersions with different pasting conditions. *Carboh. Polym.*, 2010, **79**, 1130-1139.
- [39] Zhang Y., Gu Z., Hong Y., Li Z., Cheng L.: Pasting and rheologic properties of potato starch and maize starch mixtures. *Starch/Stärke*, 2011, **63**, 11-16.

## THIXOTROPIC PROPERTIES OF STARCH

### Summary

In the paper, thixotropic properties were described of starch gels and pastes obtained from starches of various botanical origins (natural corn, waxy corn, wheat, rye, barley, oat, and rice starch). The phenomenon of thixotropy is studied by means of hysteresis loops, three stepped shear flow test, and by measuring the viscosity at a constant rate of shear. The quantitative determination of the thixotropy phenomenon was described using a three stepped shear flow test. This test made it possible to numerically determine the recovery of a structure of the sample destroyed during shearing. The thixotropic properties of starches



were affected, in the first place, by the conditions of preparing starch pastes and gels, among other things by: time, temperature and blending speed of samples while pasting, botanical origin of starch, amylose to amylopectin ratio, as well as starch concentration. The study of thixotropic properties was carried out mainly on corn starches. A higher temperature of pasting caused the amylopectin to leach from starch granules; this was the condition for a more stable structure of waxy corn starch pastes/gels to form and for antithixotropic properties to occur. In the case of natural corn starch, such properties were not reported. Based on the measurements of viscosity vs. time at a constant rate of shear, it was found that the waxy corn starch showed antithixotropic properties only at some definite rates of shear, and the proof thereof was the increase in the apparent viscosity of the systems of the starch studied.

**Key words:** starch gels and pastes, thixotropy, rheological properties, method of studying thixotropy ☒

JACEK KIJOWSKI, EMILIA KUPIŃSKA

## DYLEMATY OGRANICZANIA MIOPATII MIĘŚNI PIERSIOWYCH TYPU DPM U KURCZĄT BROJLERÓW

### Streszczenie

Postęp genetyczny w hodowli kurcząt brojlerów przyczynia się do wzrostu opłacalności tego działu produkcji rolnej. Równocześnie obserwuje się nowe zjawisko – występowanie wielu schorzeń metabolicznych, układu kostnego i mięśni. Szczególnym tego przykładem jest anomalia mięśni piersiowych kurcząt brojlerów zwana *deep pectoral myopathy* (DPM).

Celem pracy było kompleksowe przeanalizowanie problemu miopatii *musculus pectoralis minor*, w tym rozpoznanie objawów DPM, częstotliwości, przyczyn i możliwości ograniczania anomalii. Zmiany charakterystyczne dla rozwoju DPM to początkowo krwawe wybroczyny, obrzęki, różowe zabarwienie *pectoralis minor*, a w późniejszych fazach zielona i zielono-szara barwa mięśni z objawami martwicy. Częstotliwość występowania miopatii zależy od wielu czynników. W Polsce, wśród dużych populacji kurcząt brojlerów stwierdzono natężenie od 0,15 do 0,9 %, ale także przypadki do 1,9 %. Podobne natężenie obserwowano w kilku krajach UE. W USA częstotliwość występowania DPM oceniono średnio na 0,7 %, ale znane są również przypadki na poziomie od 3 do nawet 17 %. Straty ekonomiczne z tytułu utylizowania mięśni piersiowych mniejszych oraz ograniczonej przydatności użytkowej i technologicznej mięśni większych są znaczące. Doświadczalne stymulowanie wymuszonego i kontrolowanego trzepotania skrzydłami u szybko rosnących komercyjnych linii genetycznych Ross i Hubbard Flex wywołało pojawianie się symptomów DPM. Analiza ryzyka występowania DPM pozwoliła ustalić, że selekcja stada, naruszenie hierarchii stada (więcej niż jednorazowy odbiór ptaków z tego samego pomieszczenia), hałas, dźwięki w pobliżu wychowalni są czynnikami największego ryzyka w warunkach produkcji krajowej na fermach.

**Słowa kluczowe:** kurczęta, *musculus pectoralis minor*, miopatia, indukowanie, zapobieganie

### Wprowadzenie

Postęp genetycznej selekcji kurcząt brojlerów typu mięsnego w zakresie osiągniętych parametrów hodowlano-użytkowych jest znaczący. Łatwo dostrzegalne są zmiany cech brojlera, który jest podstawą masowej produkcji wielkofermowej, w porównaniu z jego wyglądem z poprzednich dekad, a tym bardziej z jego przodkiem. Postęp

---

*Prof. dr hab. inż. J. Kijowski*, dr inż. E. Kupińska, Katedra Zarządzania Jakością Żywności, Wydz. Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wojska Polskiego 28, 60-637 Poznań

hodowlany w liniach kur mięsnych wynosi rocznie ok. 4 % (50 - 60 g) przyrostów masy żywej brojlera w okresie odchowu. W ciągu ostatnich 30 lat dwukrotnie zwiększyła się masa ubojowa kurcząt brojlerów przy jednoczesnym skróceniu o połowę okresu ich odchowu. Udział mięśni piersiowych w tuszce zwiększa się rocznie od 0,2 do 0,25 % [14]. Światowe firmy selekcyjujące i produkujące stada zarodowe i prarodzicielskie intensywnie konkurują ze sobą na rynku, oferując coraz korzystniejsze standardy użytkowe ptaków. Intensyfikacja ta doprowadziła jednak do braku równowagi i synchronizacji we wzroście pomiędzy anatomicznymi częściami ciała ptaków. To z kolei wywołuje szereg schorzeń układu krążenia, jak i anomalii układu kostnego oraz mięśniowego produkowanych kurcząt i indyków brojlerów [8]. Do najczęściej występujących chorób metabolicznych należą: wodobrzusze (łac. *ascites*), syndrom nagłej śmierci sercowej ADS (ang. *acute death syndrome*), zespół nadciśnienia płucnego PHS (ang. *pulmonary hypertension syndrome*) szczególnie u indyków, dyschondroplazja kości piszczelowej TD (ang. *tibial dyschondroplasia*), uszkodzenie poduszki śródstopnej FPD (ang. *footpad dermatitis*) i pęcherze piersiowe BB (ang. *breast blisters*) [8]. Kierując się głównie ekonomicznymi wskaźnikami, nie uwzględniając naturalnych predyspozycji anatomiczno-fizjologicznych i behawioralnych ptaka, doprowadzono do wielu degeneracji zwłaszcza mięśni piersiowych. Do najważniejszych zalicza się: DPM (ang. *deep pectoral myopathy*), miopatię ogniskową, mięso typu PSE (ang. *pale, soft, exudative*). W ostatnich latach zaobserwowano wyraźne natężenie objawów degeneracyjnej miopatii *m. pectoralis* u wyspecjalizowanych wysokowydajnych, dobrze umięśnionych kurcząt linii genetycznych Cobb, Ross, Flex w Europie (w Polsce, w Grecji, we Włoszech, w Bułgarii) oraz w USA. Opublikowane badania autorów tej pracy wskazują, że spontaniczne występowanie objawów DPM narasta nawet do wielkości kilku procent ubijanych kurcząt [9, 10, 12]. Według danych z 2011 r. w Polsce ubija się ok. 1,5 mln ton kurcząt rocznie, co stanowi już znaczący problem ekonomiczny, ale też sanitarno-higieniczny [13]. Do chwili obecnej nie ma bowiem procedury postępowania z przypadkami anomalii mięśni w rzeźniach.

Celem pracy było przeanalizowanie problemów miopatii mięśni piersiowych kurcząt brojlerów, w tym makroskopowych objawów, częstotliwości i przyczyn występowania, przemysłowych skutków dla pełniejszego zrozumienia anomalii oraz możliwości ograniczania występowania DPM, zwłaszcza na podstawie badań własnych oraz dostępnego piśmiennictwa naukowego. Konsekwencją analizy ma być odpowiedź na pytania problemowe: czy w intensywnym tuczu kurcząt z linii wysokomięsnych są szanse ograniczenia przypadków DPM poprzez podejmowanie odpowiednich działań na fermach brojlerów, czy pozostaje jedynie upowszechnianie produkcji mniej intensywnych, alternatywnych systemów chowu drobiu.

### Charakterystyka mięśni z objawami DPM

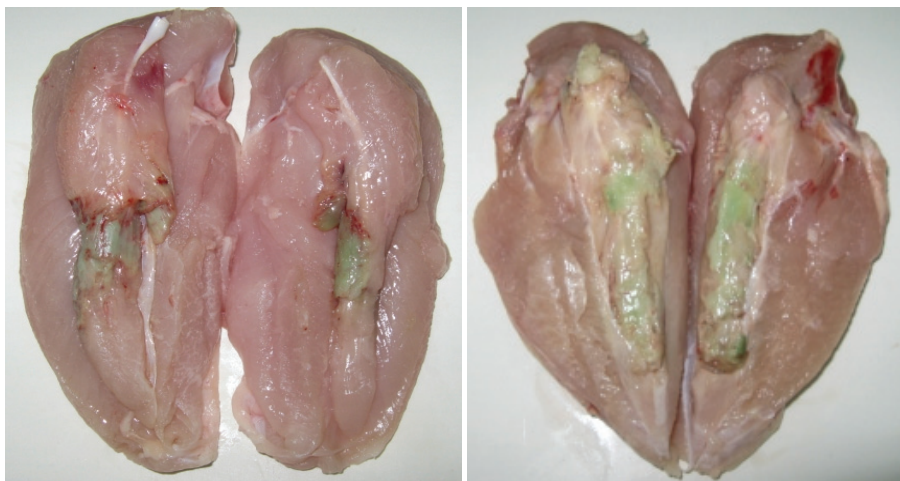
DPM dotyczy mięśnia piersiowego mniejszego (łac. *m. pectoralis minor*), nazywanego także mięśniem piersiowym głębokim, w anatomii ptaków określanego jako mięsień nadkruczy (łac. *m. pectoralis supracoracoideus*). W literaturze anomalia typu DPM opisywana jest jako choroba mięśni z Oregonu (ang. *Oregon muscle disease*), choroba zielonych mięśni (ang. *green muscle disease*), miopatia zwyrodnieniowa (ang. *degenerative myopathy*), najczęściej miopatia mięśni piersiowych głębokich (ang. *deep pectoral myopathy*). W Polsce degenerację identyfikowano dotychczas u dorosłych indyków/indyczek pochodzących ze stad zarodowych [17, 18]. W ostatnich latach pojawiła się także wśród młodych 6 - 7 tygodniowych kurcząt brojlerów. Anomalia DPM objawia się nieprawidłowym wyglądem mięśni piersiowych. Zmiany dotyczą przede wszystkim barwy i tekstury tkanki mięśniowej i są obserwowane w mięśniach piersiowych po jednej lub po obu stronach mostka. Charakterystyczne objawy DPM to liczne krwawe wybroczyny, wynaczynienia, obrzęki, bladorożowe zabarwienie mięśni mniejszych, a w zaawansowanych fazach rozwoju miopatii: zielono-szara barwa zdegenerowanej tkanki mięśniowej z możliwością pojawienia się zmian martwiczych. W zależności od stopnia zaawansowania obserwowanych zmian wyróżnia się kilka stadiów miopatii. Dokładnie rozpoznano cechy mięsa typu DPM, dzieląc objawy na 4 stadia w zależności od momentu wystąpienia czynnika inicjującego zmiany, najczęściej kilka dni przed ubojem [10]. Zmian DPM nie identyfikuje się za życia ptaków, lecz ujawniane są dopiero przy przemysłowym lub domowym rozbiorze tuszek i wykrawaniu mięśni piersiowych. Zmiany histopatologiczne uznane za charakterystyczne dla choroby zielonych mięśni to: zwyrodnienie szkliste, martwica Zenkera, martwica kwasochłonna oraz przenikanie komórek makrofagowych i eozynochłonnych. Te badania dotyczą 54-tygodniowych indyków [19]. Dinev i Kanakov [5], którzy przeprowadzili badania na mięśniach 7-tygodniowych kurcząt z objawami DPM, w zasadniczej mierze potwierdzili wcześniejsze obserwacje indyków. Na podstawie własnej dokumentacji zdjęciowej wyglądu mięśni *pectoralis minor* zaproponowano wzorzec rozpoznawania czterech stadiów/faz narastających zmian charakterystycznych dla objawów anomalii DPM (fot. 1). Ma on ułatwić identyfikowanie DPM podczas rozbioru tuszek brojlerów w rzeźniach drobiu [15].

Źródło tworzenia się barwy zielonej mięśni z dużym prawdopodobieństwem jest następujące: w warunkach niedokrwienia tworzą się pochodne mioglobiny o zielonym zabarwieniu. Istnieją co najmniej dwie pochodne mioglobiny o zielonym zabarwieniu. Pierwsza to choleoglobina, która tworzy się w reakcji mioglobiny (zawierającej  $Fe^{+2}$  lub  $Fe^{+3}$ ) z wodoronadtlenkiem, a jej powstaniu sprzyja pH w granicach 4,5 - 6,0 [6, 7, 22]. Drugim związkem o zielonym zabarwieniu jest sulfomioglobina, tworząca się w reakcji mioglobiny ( $Fe^{+2}$ ) z siarkowodorem i tlenem. Warunki tworzenia się i charakterystykę powyższych pochodnych mioglobiny przedstawiono w tab. 1.



Miopatia *m. pectoralis minor* (DPM) – stadium I  
Myopathy of *m. pectoralis minor* (DPM) – stage I

Miopatia *m. pectoralis minor* (DPM) – stadium II  
Myopathy of *m. pectoralis minor* (DPM) – stage II



Miopatia *m. pectoralis minor* (DPM) – stadium III  
Myopathy of *m. pectoralis minor* (DPM) – stage III

Miopatia *m. pectoralis minor* (DPM) – stadium IV  
Myopathy of *m. pectoralis minor* (DPM) – stage IV

Fot. 1. Wzorzec rozpoznawania stadiów DPM uwzględniający zmiany barwy, zalecany dla linii rozbioru kurcząt w rzeźni.

Phot. 1. Pattern for DPM stages recognition that includes colour changes as recommended for cutting line in chicken slaughterhouse.

Tabela 1

Właściwości wybranych pochodnych mioglobiny.  
Properties of selected myoglobin derivatives.

Nazwa Name	Li- gand Li- gand	Rodzaj wiązań Bound type	Warunki tworzenia Conditions of creation	Stan globiny Globin state	Stan żelaza Fer- rum state	Stan hemu Hem state	Barwa Colour
Choleoglobina Choleoglobin	•OOH	kowalencyj- ne lub jono- we	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> reaguje z Mb lub MbO <sub>2</sub>	natyw- ny	Fe <sup>+2</sup> lub Fe <sup>+3</sup>	w stanie niena- ruszonym, 1 podwójne wiązanie nasy- cone	zielona
Sulfomioglobi- na Sulpho- myoglobin	SH	kowalencyj- ne	reakcja H <sub>2</sub> S i O <sub>2</sub> z mioglobi- ną	natyw- ny	Fe <sup>+2</sup>	w stanie niena- ruszonym, 1 podwójne wiązanie nasy- cone	zielona

Źródło: / Source: [4]

### Częstotliwość występowania DPM

Dane dotyczące częstotliwości występowania DPM wśród kurcząt brojlerów są zróżnicowane. Zależą one od wielu czynników, wśród których należy wymienić: genetyczny rodowód, warunki chowu, wiek, płeć, masę, ruchliwość ptaków i inne. Ważne są oceny częstotliwości występowania DPM we współczesnych komercyjnych liniach genetycznych kurcząt. Takich danych dostarcza szereg publikacji [1, 2, 3, 5, 9, 12]. Natężenie występowania miopatii jest zróżnicowane (tab. 2). W stadach selekcyjnych do badań w USA częstotliwość tę określono na poziomie od 1,5 do 8,0 %. W trzech krajach europejskich (Włochy, Polska, Bułgaria) badania na dużych populacjach kurcząt ubijanych w warunkach przemysłowych, w wieku od 35 - 65 dni, z analogicznych komercyjnych linii genetycznych, wykazały przypadki występowania DPM w zakresie od 0,15 do 0,64 %, a starszych: 47- do 65-dniowych kurcząt – średnio 0,84 %. Z dwóch przeprowadzonych badań na kurczętach ubijanych w młodszym wieku (35 - 49 dni) i o niższej masie wynika, że częstotliwość degeneracji DPM była dwukrotnie wyższa w linii Cobb 500 niż w Ross 308 i 508. Lien i wsp. [16] przeprowadzili rozpoznanie częstotliwości występowania DPM w komercyjnych stadach mieszańców brojlerów kurzych. Częstotliwość mieściła się w zakresie od 3 do 17 % i, zdaniem autorów była uwarunkowana szybkością wzrostu, porą roku i płcią ptaków.



Tabela 2

Częstotliwość występowania DPM u kurcząt brojlerów w zależności od linii genetycznej, wieku i masy ptaków.

Frequency of DPM occurrence in broiler chickens influenced by genetic line, age and live weight of birds.

Liczba kurcząt Number of chickens	Linia genetyczna Genetic line	Wiek [dni] Age [days]	Masa [kg] Mass [kg]	Częstotliwość występowania [%] (od – do) Occurrence frequency [%] (from – to)	Źródło Source
Duże stada komercyjne Large commercial flocks	4 krzyżówki	56	≤ 3,6 ≥ 3,6	1,5 8,0	[3]
120 700	Ross 508 Cobb 500	47-65	3,14	1,27 (0-16,7) 0,35	[2]
349 350	Ross 308 Cobb 500	37-45 37-45	1,9-2,57 1,9-2,57	0,15 (0,03-0,6) 0,29 (0,07-0,9)	[11]
167 610	Ross 508	35-42	2,5	0,06 (0-1,88)	[9]
10000	Ross 308	49	b.d.	0,37	[5]
10000	Cobb 500	49	b.d.	0,64	
200	b.d.	b.d.	b.d.	4,4	[1]
b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	(3-17)	[16]

b.d. - brak danych / no data available

Etiologia miopatii mięśni piersiowych (DPM) jest w znacznym stopniu rozpoznana. Powstawanie tej anomalii wiąże się z tzw. „syndromem przestrzeni” (ang. *compartment syndrom*) [24]. Mięsień piersiowy mniejszy otoczony jest kością kruczą i mostkiem oraz bardzo mocną, nieelastyczną powięzią, oddzielającą go od mięśnia piersiowego większego. Podczas aktywności ruchowej skrzydeł mięśnie piersiowe mniejsze, odpowiedzialne za ich unoszenie, zwiększają objętość o 20, a nawet 25 %, ale nie mają wystarczającej przestrzeni, aby się rozkurczyć. Podczas długotrwałego trzepotania skrzydłami przez kurczęta następuje wzrost ciśnienia wewnątrz mięśnia. W konsekwencji, długo utrzymujące się ciśnienie prowadzi do martwicy niedokrwiennej, w tym przypadku zatrzymania dopływu krwi do mięśnia. W wyniku tego następuje niedotlenienie tkanek i pojawiają się objawy ich obumarcia, czyli nekroza [3, 24].

### Straty dla przemysłu drobiarskiego wywołane degeneracją DPM

Jednoznacznie należy stwierdzić, że mięśnie piersiowe mniejsze, położone głębiej, nie nadają się do celów konsumpcyjnych. Powinny być utylizowane niezależnie od stadium rozwoju symptomów typowych dla schorzenia DPM, pomimo braku procedury postępowania z tymi mięśniami w rzeźni, gdzie dokonuje się rozbioru tuszki.

W badaniach własnych ustalono, że im późniejsze jest stadium anomalii, tym mięśnie piersiowe większe, przy których mięśnie mniejsze wykazywały objawy kolejnych stadiów DPM, charakteryzowały się statystycznie istotnie większą zawartością wody wolnej i większym wyciekami cieplnym niż próba kontrolna [15]. Większa zawartość wody wolnej w przypadku mięśni większych ze zmianami DPM oznacza mniejszą zdolność do wiązania wody wolnej i słabszą wodochłonność. Natomiast większy wyciek cieplny po obróbce termicznej mięsa z objawami DPM wskazuje na mniejszą zdolność utrzymywania wody po ogrzaniu. W konsekwencji świadczy o mniejszej przydatności technologicznej mięsa oraz niższej jakości uzyskiwanego z niego produktu.

Według Pastuszczak-Frańk i Uradzińskiego [20, 21] zdolność utrzymywania wody przez większe mięśnie piersiowe 54-tygodniowych indyczek ze zmianami DPM w porównaniu z mięśniami kontrolnymi nie była statystycznie istotna. Zdaniem wymienionych autorów technologiczno-produkcyjna i sensoryczna jakość mięśni *pectoralis major* indyczek z degeneracją DPM była niższa, dlatego mięśnie te nie powinny być przeznaczane na wyroby typu pierś parzona i wędzona. Ci sami badacze [19, 20, 21] utrzymują jednak, że na podstawie przeprowadzonych doświadczeń histopatologicznych, mikrobiologicznych oraz chemicznych mięśnie piersiowe większe – odpowiadające mniejszym z objawami DPM – nie stanowią zagrożenia dla zdrowia człowieka i mogą być uznane za zdatne do spożycia.

W badaniach własnych średnie wartości ocen wyróżników jakości sensorycznej mięsa po obróbce termicznej – zarówno po pieczeniu w rękawie foliowym, jak i grillowaniu – tj. smak, barwa na powierzchni, kruchość, soczystość i ogólna pożądalność *m. pectoralis major*, przy których *m. pectoralis minor* wykazywały objawy późniejszych stadiów DPM, kształtowały się na niższym poziomie w porównaniu z próbą kontrolną [15]. W przypadku wyrobu pieczonego w rękawie, panel oceniający rozpoznał obcy smak – hemowy – i niekorzystne zmiany na powierzchni w postaci przekwień. Zmniejszona soczystość i kruchość mięsa z objawami DPM, poddanego grillowaniu, w porównaniu z próbą kontrolną, mogła wynikać odpowiednio z większego wycieku cieplnego i około 30-procentowego wzrostu twardości *m. pectoralis major* z anomaliami. Po poddaniu takich mięśni zabiegom przetwarzania tj. kolejno: rozdrabnianiu, mieszaniu z solanką peklującą, nadziewaniu w osłonki poliamidowe, obróbce cieplnej oraz schładzaniu ocena barwy i ogólnej pożądalności była nieznacznie niższa niż próby kontrolnej, ale statystycznie istotna. Natomiast po intensywnych zabiegach



peklowania, masowania, wędzenia, parzenia i chłodzenia nie stwierdzono różnic w ocenie wszystkich wyróżników jakości sensorycznej w porównaniu z próbą kontrolną. Najistotniejszym procesem, który zniwelował występowanie wybroczyn na powierzchni gotowego wyrobu był proces wędzenia. W związku z czym możliwe jest zastosowanie większych mięśni piersiowych z objawami DPM do przetwórstwa, w którym wykorzystuje się ten zabieg. Nie ma bowiem żadnych w tym względzie ograniczeń sanitarno-weterynaryjnych ani krajowych ani międzynarodowych.

Z uwagi na straty polędwiczki Amerykanie określają straty swojego przemysłu drobiarskiego (0,7 % natężenie DPM) na poziomie 16 mln USD rocznie [16]. Dla zakładu ubijającego tygodniowo milion kurcząt o masie 3,15 - 3,60 kg straty te oszacowano na poziomie 350 000 USD. W badaniach własnych oszacowano, że w Polsce, przy rocznej produkcji drobiu (2011 r.) na poziomie 1,5 mln ton, przy uwzględnieniu minimalnej częstotliwości występowania DPM (0,2 %) straty polędwiczki to około 1 720 000 zł, a całego fileta 8 570 000 zł, uwzględniając bieżącą cenę hurtową tego mięśnia. Najwyższa częstotliwość występowania przypadków degeneracji (1 %) zwiększa te straty odpowiednio do 8 330 000 zł i 41 400 000 zł.

### **Indukowanie, stymulowanie DPM**

Doniesienia naukowe z USA i Europy wskazują, że czynnikiem stymulującym objawy DPM jest niepokojenie, straszenie lub inne powody intensywnego trzepotania skrzydłami kilka dni przed ubojem ptaków. Celem poznania mechanizmu powstawania kolejnych stadiów anomalii DPM przeprowadzono w Katedrze Zarządzania Jakością Żywności UP w Poznaniu doświadczenia polegające na wymuszeniu intensywnego, ale kontrolowanego poruszania skrzydłami (WKTS). Potwierdzają one sugestie, że czynnikiem inicjującym DPM jest intensywne trzepotanie skrzydłami [10, 15]. Zbadano często użytkowane w Polsce linie genetyczne kurcząt brojlerów Ross 308 w wieku 42 dni i Flex w wieku 45 dni. W wyniku przeprowadzonych doświadczeń zainicjowano objawy DPM. Częstotliwość występowania miopatii mięśni piersiowych wśród kurcząt brojlerów Ross 308 wynosiła 39 %, a Flex 64 %. Zróżnicowana częstotliwość może wynikać z użycia różnych linii genetycznych badanych kurcząt i różnego ich wieku (odpowiednio: 42 i 45 dni), a tym samym różnej masy kurcząt i masy mięśni piersiowych. Ponadto stwierdzono, że rozwój poszczególnych objawów DPM zależy od czasu, jaki upłynął od momentu trzepotania skrzydłami do uboju kurcząt. Po upływie 1 - 3 dni mięsień mniejszy wykazuje obrzęk, bladą barwę i występują na nim wybroczyny. Zmiana barwy na zieloną w środkowej części mięśnia mniejszego następuje po upływie 5 - 14 dni. W tym okresie zachodzą najbardziej zaawansowane zmiany barwy i może dojść do martwicy, która dotyczy całego mięśnia piersiowego mniejszego. Stymulowanie trzepotania skrzydłami 21 dni przed ubojem nie wywołało zmian DPM. Prawdopodobnie po 3 tygodniach życia kurczęta są zbyt młode i mają zbyt małą masę

mięśni piersiowych, aby wystąpiły u nich objawy DPM. Zbadano także wpływ czasu trwania trzepotania skrzydłami na występowanie miopatii. Im dłuższy czas wzmożonej aktywności ruchowej skrzydeł (od 15 do 60 s), tym stopień natężenia występowania anomalii u kurcząt brojlerów linii genetycznej Ross 308 i Flex istotnie wzrastał (średnio od 33 do 77 %) [10].

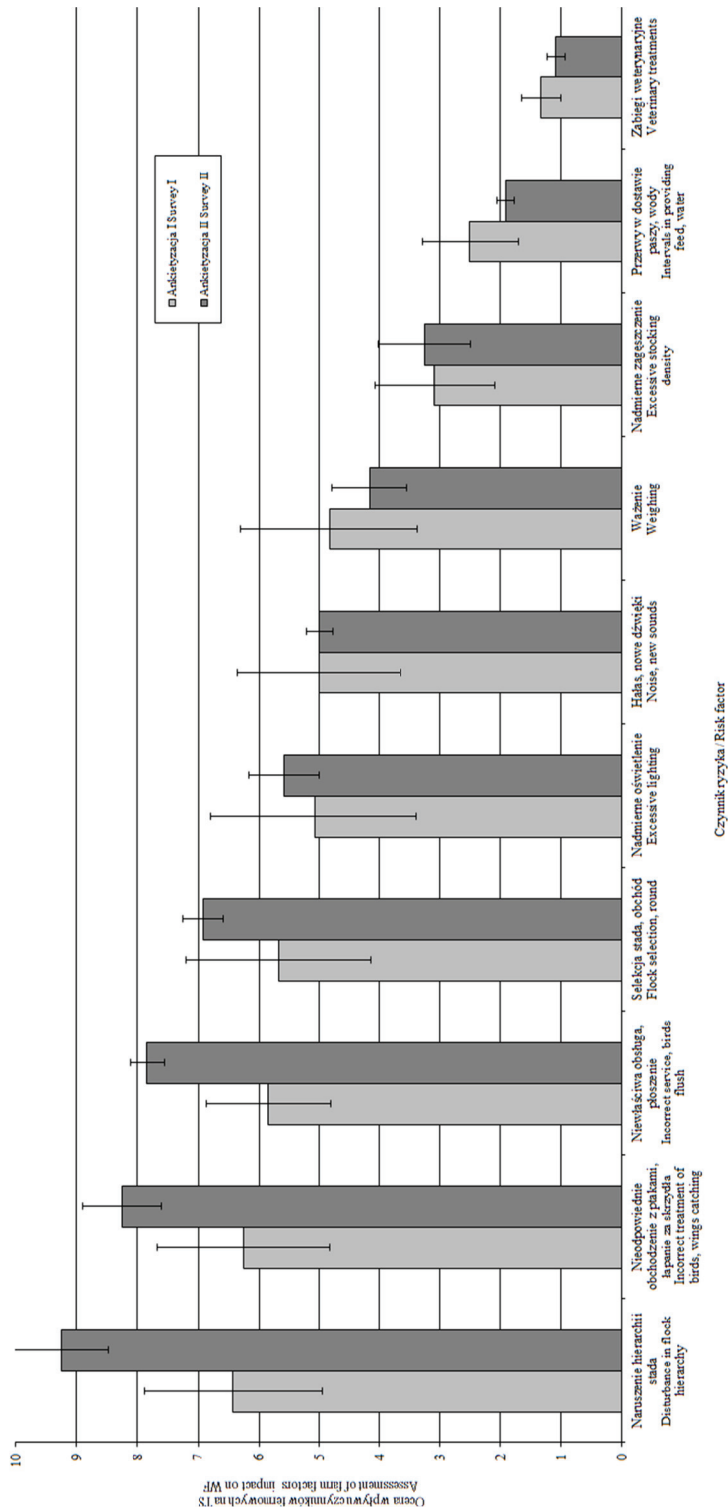
Nie stwierdzono objawów DPM wśród ptaków dziko żyjących, jak również nieselekcionowanych, lżejszych i wolniej rosnących w systemach chowu: nieintensywnym, organicznym, ekologicznym lub typu *label rouge*. W związku z tym zasadniczą przyczyną wywołującą podatność mięśni na występowanie anomalii typu DPM należy uznać ciągły, intensywny proces selekcji genetycznej komercyjnych linii drobiu w kierunku wysokiego wzrostu masy ptaków i zwiększenia udziału mięśni piersiowych w tuszce, w możliwie najkrótszym czasie. Sprzyjać temu mogą również określone warunki intensywnego systemu chowu ptaków. Postęp ten powszechnie uważany za znaczące osiągnięcie hodowlane prowadzi do takiej anomalii. Kurczęta z intensywnego systemu chowu są bardziej wymagające i wrażliwe na oddziaływanie czynników zewnętrznych. Ponadto zamknięte i pozbawione ruchu utrzymanie ptaków, zwłaszcza w większych skupiskach, może wywołać tzw. stres masowego wychowu [23]. Pojawia się on w wyniku działania psychicznych i fizycznych stresorów o znacznym natężeniu, głównie wskutek nadmiernego zagęszczenia, braku swobody ruchów, trudności w wygodnym odpoczynku, utrzymania bezokienkowego i bezwybiegowego chowu oraz głośnej pracy urządzeń mechanicznych.

### **Analiza ryzyka występowania DPM**

W nadchodzących latach można spodziewać się dalszego wzrostu częstotliwości występowania przypadków DPM wśród kurcząt brojlerów. W badaniach własnych przeprowadzono analizę ryzyka występowania miopatii *m. pectoralis minor* na fermach. Metodą Delphi oszacowano czynniki prowadzące do DPM i rozważono strategię postępowania w celu ograniczania anomalii [15]. Zdaniem producentów kurcząt brojlerów największy wpływ na trzepotanie skrzydłami w krajowych warunkach intensywnego chowu ma naruszenie hierarchii stada, tzw. ubiórka występująca w 5. tygodniu życia kurcząt (rys. 1). Czynniki stresogenne inicjujące trzepotanie skrzydłami (TS) przez kurczęta zaklasyfikowano jako czynniki dużego, średniego i małego ryzyka występowania DPM. Najistotniejszymi czynnikami dużego ryzyka wywoływania degeneracji DPM były: selekcja stada (obchód), naruszenie hierarchii stada oraz hałasy i niespotykane wcześniej dźwięki. Wskaźnik priorytetu zagrożeń obliczono z równania:

$$R = (P + W + TS) / 3,$$

gdzie: R – ryzyko, P – prawdopodobieństwo występowania, W – częstotliwość występowania, TS – stopień wpływu na trzepotanie skrzydłami.



I – odchylenie standardowe / standard deviation

Rys. 1. Wpływ czynników występujących na fermie kurcząt, a wywołujących trzepotanie skrzydłami (TS) wg wyników ankiety przeprowadzonej metodą Delphi wśród producentów kurcząt brojlerów i uporządkowanych w kolejności malejącej.

Fig. 1. Effect of factors appearing in chicken farm, which cause wing flapping (WF) according to the results of survey performed using Delphi method among producers of broiler chickens; the results are arranged in declining order.

Do obliczenia wskaźników ryzyka uwzględniono wyniki dwukrotnych badań ankietowych producentów kurcząt. Ostatecznie wskaźniki ryzyka jako wartość średnia prawdopodobieństwa, częstotliwości występowania i wpływu na trzepotanie skrzydłami analizowanych czynników zamieszczono w tab. 3. Na podstawie równania regresji ustalono ryzyko występowania DPM na poziomie od 33 do 77 % w zależności od czasu ciągłego WKTS od 15 do 60 s. Zaproponowano sposób postępowania na fermach ograniczający/zapobiegający występowaniu miopatii DPM poprzez ograniczanie naturalnej ruchliwości kurcząt i trzepotania skrzydłami.

Tabela 3

Wskaźniki ryzyka wywoływania DPM w wyniku działania określonych czynników stresogennych, w skali 10-punktowej.

Risk factors of DPM occurrence in 10-point scale as a result of stressors activity.

Selekcja stada, obchód Flock selection, round	Naruszenie hierarchii stada Disturbance in flock hierarchy	Hałas, nowe dźwięki Noise, new sounds	Nadmierne oświetlenie Excessive lighting	Ważenie Weighing	Niewłaściwa obsługa, płoszenie Incorrect service, birds flush	Nieodpowiednie obchodzenie z ptakami, łapanie za skrzydła Incorrect treatment of birds, wings catching	Nadmierne zagęszczenie Excessive stocking density	Przerwy w dostawie paszy, wody Intervals in providing feed, water	Zabiegi weterynaryjne Veterinary treatments
8,4	7,4	6,7	6,3	6,0	6,0	5,3	3,3	3,1	1,2

### Podsumowanie

Nie został rozstrzygnięty problem, czy nadal intensyfikować selekcję genetyczną oraz ekonomicznie uzasadniony chów i jednocześnie ograniczać naturalną ruchliwość kurcząt, czy popularyzować systemy produkcji alternatywnych, droższych, z lepszymi standardami dobrostanu, użytkując rasy wolniej rosnące lub ich krzyżówki z intensywnie rosnącymi. Osiągnięcia genetyczno-hodowlane, korzystne dla producentów kurcząt brojlerów i przemysłu drobiarskiego, są rozbieżne z anatomią i fizjologią ptaków. Najskuteczniejszym rozwiązaniem eliminującym anomalie typu DPM jest praw-

dopodobnie rezygnacja z intensywnego chowu wysokowydajnych linii genetycznych i użytkowanie linii genetycznych o wolnym tempie wzrostu lub ich krzyżówek z intensywnie rosnącymi w systemach chowu alternatywnego. W celu ograniczenia występowania anomalii należy w sposób systemowy, np. metodą analizy ryzyka, zidentyfikować i wyeliminować na fermie towarowej czynniki stresogenne, które są powodem intensywnego trzepotania skrzydłami przez ptaki. W ten sposób można uzyskać znaczący stopień ograniczenia przypadków występowania degeneracji DPM.

### Literatura

- [1] Badger C.: Green muscle disease. American Pastured Poultry Producers Association, 2011, **66**, 8-9, 21.
- [2] Bianchi M., Petracci M., Franchini A., Cavani C.: The occurrence of deep pectoral myopathy in roaster chickens. *Poult. Sci.*, 2006, **85** (10), 1843-1846.
- [3] Bilgili S.F., Hess J.B.: Green muscle disease in broilers increasing. *World Poult.*, 2002, **18** (4), 42-43.
- [4] Brewer S.: Irradiation effects on meat color – a review. *Meat Sci.*, 2004, **68**, 1-17.
- [5] Dinev I., Kanakov D.: Deep pectoral myopathy: prevalence in 7 weeks old broiler chickens in Bulgaria. *Rev. Med. Vet.*, 2011, **162** (6), 279-283.
- [6] Fletcher D.: Poultry meat colour. In: Richardson R.I., Mead G.C. (Ed.): *Poultry Meat Science. Poultry Science Symposium Series t. 25*, CABI Publishing, Wallingford 1999, pp. 159-175.
- [7] Grabowski T., Kijowski J.: Surowiec rzeźny. Mięso i przetwory drobiowe: technologia, higiena, jakość. WNT, Warszawa 2009.
- [8] Hafez H.M., Hauck R.: Genetic selection in turkey and their impact on health conditions. 4-th European Poultry Genetic Symposium, Dubrovnik, Croatia, 2005, pp. 6-8.
- [9] Kijowski J., Konstańczak M.: Deep pectoral myopathy in broiler chickens. *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, 2009, **53**, 487- 491.
- [10] Kijowski J., Kupińska E.: Induction of DPM changes in broiler chickens and characteristics of myopathy symptoms. *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, 2012, **56**, 217-223.
- [11] Kijowski J., Kupińska E.: The evaluation of selected quality parameters of chicken muscles with Deep Pectoral Myopathy (DPM) symptoms. *Arch. Geflügelk.*, 2013, **77** (2), 102-108.
- [12] Kijowski J., Kupińska, E., Stangierski J., Tomaszewska-Gras J., Szablewski T.: Paradigm of deep pectoral myopathy (DPM) in broiler chickens. *World's Poult. Sci. J.*, 2013 (w druku).
- [13] Krajowa Rada Drobiarstwa - Izba Gospodarcza.: Wyniki oceny wartości użytkowej drobiu w 2010 roku, Warszawa 2011.
- [14] Krajowa Rada Drobiarstwa – Izba Gospodarcza.: Zeszyt branżowy systemu gwarantowanej jakości żywności QAFP: brojlery kurze. Warszawa 2012.
- [15] Kupińska E.: Występowanie, charakterystyka, indukowanie i zapobieganie miopatii mięśni piersiowych kurcząt brojlerów Ph. D. Thesis, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, 2013.
- [16] Lien R.J., Bilgili S.F., Hess J.B., Joiner K.S.: Finding answers to “green muscle disease”. *Poult. USA*, 2011, **5**, 15-18.
- [17] Pastuszcak M., Uradziński J.: The prevalence of green muscle disease in turkeys from the Warmia and Mazury Province of Poland. *Polish J. Vet. Sci.*, 2002, **5** (2), 57-61.
- [18] Pastuszcak M., Uradziński J.: Choroba zielonych mięśni. *Magazyn Wet.-Supl. Drób*, 2006, **5**, 58, 72.
- [19] Pastuszcak M., Uradziński J., Rotkiewicz T.: Histopathological changes in green muscle disease of turkeys. *Pol. J. Vet. Sci.*, 2002, **5** (2), 63-70.

- [20] Pastuszczyk-Frąk M., Uradziński J.: Hygienic and technological value of turkey raw meat originating from flocks with green muscle disease. *Pol. J. Vet. Sci.*, 2009, **12 (2)**, 243-250.
- [21] Pastuszczyk-Frąk M., Uradziński J.: Influence of green muscle disease on quality of meat subjected to thermal treatment. *Pol. J. Vet. Sci.*, 2009, **12 (4)**, 527-530.
- [22] Pisula A.: Barwa i barwniki mięsa. W: *Mięso – podstawy nauki i technologii*. Red. A. Pisula, E. Pospiech. Wyd. SGGW, Warszawa 2011, s. 163.
- [23] Romaniuk K.: Stres u zwierząt. *Polskie Drobiarstwo*, 2012, **19 (2)**, 55-58.
- [24] Siller W.G.: Deep pectoral myopathy: a penalty of successful selection for muscle growth. *Poult. Sci.*, 1985, **64**, 1591-1595.

### **DILEMMAS OF LIMITATION OF DPM-TYPE PECTORAL MUSCLE MYOPATHY IN BROILER CHICKENS**

#### **S u m m a r y**

Genetic improvement in the raising of broiler chickens contributes to the increase in effectiveness of this agricultural production branch. At the same time, a new phenomenon is reported: the occurrence of numerous metabolic disorders and diseases of the bone and muscle systems. A particular example thereof is the anomaly of pectoral muscles in broiler chickens referred to as deep pectoral myopathy (DPM).

The objective of the paper was to analyze the issue of myopathy of musculus pectoralis minor including the identification of DPM symptoms, frequency, causes, and possibility to limit this anomaly. Changes typical of developing DPM are, initially: ecchymoses, edemas, pink colouring of m. pectoralis minor, and, during subsequent phases, green and greenish-grey muscle colouring with symptoms of necrosis. The occurrence frequency of myopathy depends on many factors. It was found that in Poland the incidence rate in large populations of broiler chickens ranged from 0.15% to 0.9%, and, also, in some cases, to 1.9%. A similar intensity was also recorded in several EU countries. In the USA, the frequency of incidence was estimated to be 0.7% on average, although some cases are known with a rate ranging from 3 to as much as 17%. There are considerable economic losses owing to the utilisation of m. pectoralis minor as well as to the reduced value in use by consumers and the reduced technological usefulness of m. pectoralis major. The experimental forced and controlled wing flapping in fast-growing commercial Ross and Hubbard Flex genetic lines caused the DPM symptoms to occur. Based on the risk analysis of DPM occurrence, it was possible to determine that the flock selection, disturbance in the flock hierarchy (unsynchronized removal of birds from the same facility/birds are picked up from the same facility more than once), noise, and sounds near the rearing unit are factors to cause the highest risk in the chicken production on the Polish commercial poultry farms.

**Key words:** chickens, musculus pectoralis minor, myopathy, induction, prevention ☒

KATARZYNA NEFFE-SKOCIŃSKA, DANUTA KOŁOŻYŃ-KRAJEWSKA,  
ANTONI GORYL

## **WPLYW DODATKU SZCZEPU *LACTOBACILLUS CASEI* LOCK 0900 I WARUNKÓW DOJRZEWANIA NA JAKOŚĆ FERMENTOWANYCH POŁĘDWIC PODCZAS PRZECHOWYWANIA**

### Streszczenie

Celem pracy była ocena wpływu warunków dojrzewania na przeżywalność szczepu probiotycznego *Lb. casei* LOCK 0900 w poledwicach wieprzowych i na ich jakość sensoryczną podczas 180 dni przechowywania w warunkach chłodniczych, beztlenowych. Podjęto też próbę skonstruowania matematycznych modeli wzrostu i przeżywalności badanych bakterii.

Materiałem doświadczalnym był szczep probiotyczny *Lb. casei* LOCK 0900 i poledwice wieprzowe dojrzewające w różnych wariantach temperatury (16, 20 i 24 °C), następnie pakowane próżniowo i przechowywane w 4 °C przez 180 dni. Przygotowano próby kontrolne z dodatkiem glukozy i próby z dodatkiem szczepu probiotycznego i glukozy. Zakres badań obejmował analizy mikrobiologiczne, pomiar pH i ocenę sensoryczną (QDA). Oznaczenia wykonywano co 30 dni.

Stwierdzono, że pod względem mikrobiologicznym i sensorycznym najlepszą trwałość przechowalniczą wykazały poledwice z dodatkiem bakterii probiotycznych, wyprodukowane w temperaturze dojrzewania 20 °C (średnio 7,00 - 8,00 log jtk/g; sensoryczna jakość ogólna > 7 j.um.). Zadowalający model wzrostu i przeżywalności LAB podczas przechowywania skonstruowano w odniesieniu do poledwic dojrzewających w 24 °C (dopasowanie na poziomie C24 = 98 %, P24 = 96 %).

**Słowa kluczowe:** poledwice dojrzewające, probiotyki, przechowywanie, modele prognostyczne

### **Wprowadzenie**

Surowo dojrzewające wyroby mięsne wyprodukowane z udziałem probiotycznych kultur startowych są bardzo wartościowymi produktami żywnościowymi, zarówno pod względem odżywczym, jak i sensorycznym. Na wysoką jakość wędlin surowo

---

*Mgr inż. K. Neffe-Skocińska, prof. dr hab. D. Kołożyn-Krajewska, Zakład Higieny i Zarządzania Jakością Żywności, Wydz. Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa, dr A. Goryl, Katedra Ekonometrii i Badań Operacyjnych, Wydz. Zarządzania, Uniwersytet Ekonomiczny w Krakowie, ul. Rakowicka 27, 31-510 Kraków*



dojrzewających wpływa kilka czynników. Przede wszystkim jest to proces produkcyjny o ściśle kontrolowanym doborze surowca, przypraw czy odpowiednich kultur startowych, warunków fermentacji i dojrzewania produktu [15]. Bardzo ważny jest także zoptymalizowany proces poprodukcyjny, obejmujący dobór odpowiedniej metody pakowania i warunków przechowywania gotowego wyrobu – tak, aby produkt zachował jak najdłużej charakterystyczne walory smakowo-zapachowe, wysoką wartość odżywczą oraz odpowiedni poziom aktywnych bakterii probiotycznych.

Mikrobiologia prognostyczna kieruje się zasadą, że zachowanie danej populacji mikroorganizmów w badanym produkcie żywnościowym jest powtarzalne i zależy od czynników środowiskowych, np. pH, aktywności wody, zawartości NaCl i zawartości substancji konserwujących, zastosowanej technologii produkcji, czasu, temperatury oraz sposobu przechowywania. Matematyczne modelowanie zmienności bakterii względem danego czynnika środowiskowego było dotychczas wykorzystywane do określenia zachowań mikroorganizmów chorobotwórczych [6]. Obecnie zwraca się większą uwagę na przewidywanie wzrostu i przeżywalności dodawanych do żywności kultur startowych, głównie należących do grupy bakterii kwasu mlekowego, w tym o właściwościach probiotycznych. Z zakresu problematyki wędlin surowo dojrzewających nieliczne są prace naukowe dotyczące matematycznego prognozowania wzrostu i rozwoju mikroorganizmów startowych w kielbasach fermentowanych [1, 5].

Podjęte badania były kontynuacją prac dotyczących doboru optymalnych warunków prowadzenia procesu fermentacji polędwic wieprzowych z udziałem bakterii probiotycznych *Lactobacillus casei* ŁOCK 0900 [14, 18].

Celem pracy była ocena wpływu warunków dojrzewania polędwic wieprzowych na przeżywalność w nich szczepu probiotycznego *Lb. casei* ŁOCK 0900 i na ich jakość sensoryczną podczas 180 dni przechowywania w warunkach chłodniczych, beztlenowych. Podjęto też próbę skonstruowania matematycznych modeli wzrostu i przeżywalności badanych bakterii.

### **Materiał i metody badań**

Materiał do badań stanowiły polędwice wieprzowe. Mięso pozyskiwano z młodych świń rasy wielka biała polska o masie przyżyciowej około 120 kg z podlubelskich zakładów mięsnych. Surowce mięsne bez wad jakościowych wykrawano z półtuszy wychładzanych w warunkach przemysłowych po 48 h od uboju. Mięso zaszczepiano bakteriami probiotycznymi *Lb. casei* ŁOCK 0900 i poddawano dojrzewaniu w trzech wariantach temp.: 16, 20 i 24 °C. Optymalizację warunków dojrzewania przeprowadzono w pierwszej części badań [18]. Szczep bakterii *Lb. casei* ŁOCK 0900 pochodził z kolekcji Politechniki Łódzkiej. Zastosowane bakterie mają udokumentowane właściwości probiotyczne (zgłoszenie patentowe P-382760) [7]. Proces produkcji polędwic został przeprowadzony w Katedrze Technologii Mięsa i Zarządzania Jakością

Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. W układzie doświadczenia, w przypadku każdej temperatury zaplanowano po dwa rodzaje prób: kontrolne z dodatkiem glukozy (C16; C20; C24) oraz próby z dodatkiem glukozy i szczepu probiotycznego *Lb. casei* ŁOCK 0900 (P16; P20; P24). Po zakończeniu procesu dojrzewania polędwice podzielono na równe części, zapakowano próżniowo i przechowywano w warunkach chłodniczych ( $4 \pm 1$  °C) przez 180 dni. Przeprowadzono trzy serie doświadczenia. Wykonywano analizy mikrobiologiczne, pomiar pH oraz ocenę sensoryczną polędwic wieprzowych co 30 dni, podczas półrocznego okresu przechowywania. Podjęto również próbę skonstruowania matematycznych modeli wzrostu i przeżywalności badanych bakterii podczas przechowywania.

Badania mikrobiologiczne wykonywano przy użyciu automatycznego systemu do pomiaru liczby drobnoustrojów – TEMPO<sup>®</sup> (bioMérieux, Francja), który pozwala uzyskać poziom wiarygodności wyników zgodny z wytycznymi [2] i [22]. Do oznaczeń mikrobiologicznych używano testów TEMPO<sup>®</sup> LAB, służących do określania liczby bakterii kwasu mlekowego w produktach żywnościowych. Inkubacja testów zaszczipionych badaną próbą przebiegała w temp. 37 °C, przez 40 h. Wyniki badań podano w logarytmie jednostek tworzących kolonie w jednym gramie produktu [log jtk/g]. Natomiast pomiary pH prowadzono w aparacie ELMETRON CP551 [21].

Analizę sensoryczną wykonywano metodą Ilościowej Analizy Opisowej (QDA) [19, 20]. Wyróżniki sensoryczne zostały wybrane i zdefiniowane przez zespół oceniający w dyskusji panelowej. Wybrano 5 wyróżników zapachu (wędzonego mięsa, suszonego mięsa, ostry, starego tłuszczu, inny), 8 wyróżników smaku (wędzonego mięsa, suszonego mięsa, słony, gorzki, przechowalniczy, piekący, kwaśny, inny), 2 wyróżniki barwy (ton barwy, jednolitość barwy) i wyróżnik określający soczystość. W ocenie określano też jakość ogólną produktu. Zespół oceniający oceniał intensywność wybranych wyróżników jakości sensorycznej polędwicy surowo dojrzewającej. Oceny były nanoszone na niestrukturowaną skalę graficzną (0 – 10 jednostek umownych).

Matematyczny model wzrostu i przeżywalności LAB w polędwicach wieprzowych surowo dojrzewających, podczas 180 dni przechowywania w warunkach chłodniczych, beztlenowych przedstawiono za pomocą funkcji nieliniowej:

$$y = a + bx \ln x + cx^{2.5} + dx^2 + \zeta$$

gdzie:

$y$  – zmienna zależna [log jtk/g],

$x$  – czas przechowywania [dni],

$\zeta$  – addytywne zakłócenie losowe (składnik losowy),

$a, b, c, d$  – parametry modelu prognostycznego.

Jakość otrzymanego modelu oceniano następującymi charakterystykami:

$R^2$  – współczynnik determinacji (im bliższy 1, tym bardziej dopasowany model) wskazujący, jaka część zmienności zmiennej zależnej została wyjaśniona zmiennością zmiennej niezależnej [0; 1]

$adj. R^2$  – zmodyfikowany współczynnik determinacji; współczynnik skorygowany liczbą stopni swobody [0; 1], przedstawiony równaniem:

$$adj. R^2 = 1 - \left[ (1 - R^2) \cdot \frac{n-1}{n-k} \right]$$

gdzie:

$n$  – liczba obserwacji,

$k$  – liczba szacowanych parametrów.

Opracowanie matematyczno-statystyczne wyników mikrobiologicznych przeprowadzono za pomocą pakietów Microsoft Excel oraz Statistica 8.0 (StatSoft, Inc.). Matematyczne, alternatywne modele wzrostu i przeżywalności testowano w programie TableCurve 2D (SYSTAT Software Inc.). Analizowane były wyniki przeżywalności bakterii LAB, w tym szczepu *Lb. casei* ŁOCK 0900 w badanych połówkach wieprzowych. Uzyskane wyniki analizy sensorycznej QDA przedstawiono graficznie w postaci wykresów biegunowych.

## Wyniki i dyskusja

Po zakończeniu procesu dojrzewania średnia liczba bakterii kwasu mlekowego, będących naturalną mikroflorą środowiskową, we wszystkich badanych próbach kontrolnych (C16, C20, C24) wynosiła 4,00 log jtk/g. W ciągu 180 dni chłodniczego przechowywania próżniowo zapakowanych produktów zaobserwowano wzrost liczby tych bakterii w próbach kontrolnych, które wcześniej były poddane dojrzewaniu w temp. 20 i 24 °C (C20, C24). Obniżenie liczby LAB stwierdzono tylko w przypadku próby C16 (tab. 1).

W przypadku prób połówki wieprzowych z dodatkiem szczepu *Lb. casei* ŁOCK 0900, bezpośrednio po zakończeniu procesu dojrzewania, stwierdzono znacząco wyższą, niż w próbach kontrolnych, liczbę bakterii kwasu mlekowego, co może świadczyć o dobrym wzroście, a tym samym o zdominowaniu naturalnej mikroflory mięsa przez dodane bakterie probiotyczne. Najwyższą liczbę bakterii kwasu mlekowego, w tym szczepu *Lb. casei* ŁOCK 0900, utrzymującą się przez cały okres półrocznego przechowywania, stwierdzono w próbach połówki dojrzewających w 20 °C (średnio 7,00 – 8,00 log jtk/g), przy czym największy wzrost zaobserwowano po 30 i 120 dniach przechowywania. Ostatniego dnia przechowywania liczba bakterii kwasu mlekowego, w stosunku do pozostałych wariantów prób połówki, była także najwyższa i wynosiła  $7,14 \pm 0,44$  log jtk/g (tab. 1). Dodatkowo zaobserwowano zależność pomiędzy wysoką

liczbą LAB (7,00 -8,00 log jtk/g) i niską wartością pH (około 5,50 - 5,65) tych polędwic. Wartość pH była w tym przypadku najniższa w porównaniu z produktami dojrzewającymi w temp. 16 i 24 °C (zakres od 5,50 do 5,65), co może być dodatkowym potwierdzeniem dobrej przeżywalności bakterii LAB, w tym dodanego szczepu o właściwościach probiotycznych, podczas całego okresu przechowywania.

Pozostałe próby polędwic wieprzowych z dodatkiem szczepu *Lb. casei* LOCK 0900, po procesie dojrzewania w temp. 16 i 24 °C, charakteryzowały się dużo słabszą przeżywalnością bakterii kwasu mlekowego w czasie przechowywania, (średnio 5,00 – 6,00 log jtk/g). W obu przypadkach badanych prób polędwic, na koniec okresu przechowywania zaobserwowano obniżenie liczby LAB średnio do 4,00 log jtk/g. Także wartość pH była wyższa w przypadku tych polędwic (tab. 1).

Bakterie kwasu mlekowego (LAB) stanowią część mikroflory surowo dojrzewających produktów mięsnych [11, 14]. Czynnikiem środowiskowym, który ma największy wpływ na wzrost i rozwój drobnoustrojów w produktach żywnościowych są zmiany temperatury otoczenia, w którym rozwija się określona populacja bakterii. Wzrost i rozwój dodanego szczepu *Lb. casei* LOCK 0900 do badanych polędwic był zależny nie tylko od występowania konkurencyjnych bakterii kwasu mlekowego, ale również od temperatury prowadzenia procesu dojrzewania mięsa. Dodatkowo, po zakończeniu fermentacji i dojrzewania zapakowane próżniowo polędwice z dodatkiem szczepu probiotycznego zostały poddane przechowywaniu chłodniczemu. W tym momencie dalszy wzrost i rozwój bakterii kwasu mlekowego, w tym dodanego szczepu *Lb. casei* LOCK 0900, mógł być zaburzony poprzez przeniesienie do skrajnie odmiennych warunków środowiskowych (brak dostępu tlenu i obniżenie temp. do 4 °C).

Gwałtowne schłodzenie wywołuje u wielu gatunków bakterii tzw. „zimny szok”, odpowiedzialny za powstawanie licznych białek CSP (*cold-shock protein*;  $7 \cdot 10^3$  Da) w komórkach bakteryjnych [26, 27]. Białka CSP umożliwiają zarówno bakteriom naturalnie występującym w surowcu, jak i dodanym do produktu organizmom startowym, adaptację do warunków chłodniczych oraz dalszy, ale z reguły wolniejszy wzrost [28]. Nagłe obniżenie temperatury spowalnia też większość reakcji metabolicznych zachodzących w komórkach bakterii, co również umożliwia im dostosowanie się do nowych warunków środowiskowych [4]. Bakterie kwasu mlekowego obecnie są zaliczane do psychrotrofów, czyli do grupy mikroorganizmów zdolnych do wzrostu w niskiej temperaturze, co jest istotne ze względów technologicznych, ponieważ mogą rozwijać się w produktach mięsnych w chłodniach [4]. Z uwagi na odczyn środowiska (pH = 6), dużą zawartość białka i witamin, głównie z grupy B, mięso i produkty mięsne mogą być bardzo dobrym środowiskiem do rozwoju drobnoustrojów, w tym bakterii kwasu mlekowego o właściwościach probiotycznych [24]. Z drugiej strony, intensywność wzrostu populacji bakteryjnej zależy od cyklu rozwojowego drobnoustrojów, który

Tabela 1

Liczba bakterii kwasu mlekowego (LAB) i wartości pH w badanych próbach poledwic surowo dojrzewających podczas 180 dni przechowywania.

Count of lactic acid bacteria (LAB) and pH values in studied samples of dry fermented loins during 180 days of storage.

Wyszczególnienie Specification	Czas przecho- wywania Storage time [dni] / [days]	C16*	P16*	C20*	P20*	C24*	P24*
LAB [log jtk/g]	0	4,84 ± 0,65	6,65 ± 0,70	4,15 ± 0,61	8,00 ± 0,70	4,79 ± 0,84	6,49 ± 0,57
	30	6,27 ± 0,84	5,31 ± 0,72	4,48 ± 0,65	8,04 ± 0,78	4,91 ± 0,80	7,02 ± 0,47
	60	6,25 ± 0,91	5,19 ± 0,77	5,08 ± 0,65	7,93 ± 0,77	5,50 ± 1,01	5,99 ± 0,47
	90	6,14 ± 0,60	6,32 ± 0,58	7,03 ± 0,66	7,22 ± 0,73	6,48 ± 0,68	6,26 ± 0,62
	120	4,78 ± 0,69	5,97 ± 0,72	6,46 ± 0,77	8,00 ± 0,43	6,70 ± 0,69	6,34 ± 0,96
	150	5,22 ± 0,88	5,55 ± 0,61	5,54 ± 0,92	7,74 ± 0,33	6,43 ± 0,64	6,02 ± 0,63
	180	5,20 ± 0,89	4,72 ± 0,47	5,46 ± 0,56	7,14 ± 0,44	6,40 ± 0,74	4,48 ± 0,73
Wartości pH/ pH values	0	5,69 ± 0,03	5,67 ± 0,02	5,74 ± 0,05	5,50 ± 0,02	5,73 ± 0,06	5,59 ± 0,03
	30	5,83 ± 0,07	5,79 ± 0,06	5,62 ± 0,28	5,50 ± 0,04	5,63 ± 0,16	5,66 ± 0,04
	60	5,83 ± 0,1	5,81 ± 0,05	5,78 ± 0,07	5,57 ± 0,08	5,68 ± 0,18	5,81 ± 0,06
	90	5,93 ± 0,05	5,87 ± 0,09	5,64 ± 0,14	5,64 ± 0,04	5,64 ± 0,04	5,77 ± 0,07
	120	5,94 ± 0,07	5,82 ± 0,11	5,89 ± 0,05	5,65 ± 0,09	5,84 ± 0,04	5,75 ± 0,12
	150	5,83 ± 0,12	5,82 ± 0,11	5,79 ± 0,05	5,58 ± 0,10	5,80 ± 0,12	5,77 ± 0,11
	180	5,91 ± 0,05	5,98 ± 0,07	5,81 ± 0,07	5,63 ± 0,07	5,77 ± 0,14	5,83 ± 0,12

Objaśnienia: / Explanatory notes:

wynik średni ± odchylenie standardowe/ mean value ± standard deviations;

\* oznacza w tej samej kolumnie różnice statystycznie istotne przy  $p < 0,05$  względem czasu przechowywania / denotes mean values in the same column that are significantly different at  $p < 0.05$  as regards storage time.

obejmuje sześć różnych faz (lag-faza, log-faza, okres zwolnionego wzrostu, faza równowagi, faza zamierania, faza logarytmicznego zamierania) [4, 8]. W przetwórstwie i przechowywaniu żywności fermentowanej, w tym probiotycznej, za najkorzystniejszy etap rozwoju bakterii uważa się fazę równowagi, w której liczba bakterii jest względnie stała. Dochodzi do równowagi pomiędzy obumieraniem a namnażaniem się komórek bakteryjnych (równowaga dynamiczna) oraz do osiągnięcia maksymalnego

stężenia biomasy przez cały okres trwania fazy stacjonarnej [13]. Uzyskane wyniki badań wskazują, że najlepszymi warunkami do wzrostu i rozwoju LAB, w tym szczepu *Lb. casei* LOCK 0900, była temp. 20 °C przez 21 dni. Pozwoliło to na utrzymanie na stałym poziomie liczby LAB, w tym dodanego szczepu o właściwościach probiotycznych, przez cały okres przechowywania produktu.

Utrzymanie fazy stacjonarnej podczas całego okresu przechowywania produktu jest możliwe m.in. dzięki dobraniu optymalnych warunków środowiskowych (temperatura, pH, atmosfera przechowywania, wystarczający dodatek glukozy) niezbędnych do wzrostu bakterii. W przypadku prób połędwic z dodatkiem bakterii probiotycznych, poddanych dojrzewaniu w temp. 16 °C (P16), można przypuszczać, że populacja bakterii kwasu mlekowego znajdowała się w końcowym etapie lag-fazy, ewentualnie na początku fazy wzrostu logarytmicznego. Temp. 16 °C okazała się za niska, co mogło powodować zbyt wolne namnażanie się badanych bakterii. Zapakowanie próżniowe i przeniesienie połędwic do temperatury chłodniczej mogło dodatkowo spowodować zimny szok, a tym samym złą przeżywalność LAB przez 180 dni przechowywania.

Temperatura 24 °C procesu dojrzewania trzeciego wariantu połędwic wieprzowych z dodatkiem szczepu *Lb. casei* LOCK 0900 również nie stworzyła optymalnych warunków do przeżywania bakterii kwasu mlekowego, w tym szczepu o właściwościach probiotycznych w czasie przechowywania. W tym przypadku badana populacja bakterii najprawdopodobniej znajdowała się w zaawansowanej fazie dynamicznego wzrostu logarytmicznego, o czym może świadczyć liczba LAB = 7,00 log jtk/g po 30 dniach przechowywania. Jednak brak osiągnięcia fazy równowagi wzrostu badanych bakterii przed przeniesieniem do warunków chłodniczych, beztlenowych mógł być przyczyną niestabilnej przeżywalności LAB w ciągu 180 dni przechowywania. Optymalna temperatura wzrostu i przeżywalności mikroflory jelitowej LAB wynosi 30 – 40 °C [15]. W badaniach własnych zaobserwowano, że zbyt wysoka temperatura (24 °C) wpłynęła niekorzystnie na zmiany sensoryczne połędwicy (rys. 1), powodując jej nadmierne wysuszenie w warstwie powierzchniowej, a tym samym prawdopodobnie utrudniła rozwój badanych drobnoustrojów. Jednak wzrost i rozwój bakterii może być ograniczony lub wstrzymany przez przekroczenie optymalnej granicy jednego z czynników środowiskowych (pH,  $a_w$ , atmosfera przechowywania, inny przebieg procesów proteolizy białek i oksydacji tłuszczu) [28], a nie tylko poprzez negatywny wpływ samej temperatury. Bakterie mogą rozwijać się do momentu wyczerpania się węglowodanów, aminokwasów lub innych substancji pokarmowych, nagromadzenia się substancji szkodliwych hamujących wzrost, np. nadtlenu wodoru oraz niekorzystnego stężenia jonów wodoru, odpowiedzialnego za kwasowość czynną podłoża [12]. Optymalne pH umożliwiające wzrost i przeżywalność bakterii kwasu mlekowego wynosi 4,5 – 7,0 [12]. Kwasowość (pH) mięsa 24 h po uboju wynosi od 6,0 do 6,5 [16]. W przedstawionych badaniach własnych obniżenie pH do 5,50 po procesie dojrzewa-



nia w temp. 20 °C i utrzymywanie się na stałym poziomie w czasie przechowywania jest dodatkowym potwierdzeniem dobrej przeżywalności bakterii *Lb. casei* ŁOCK 0900. Sakhare i Narasimha [23] stwierdzili, że obniżenie kwasowości jest kluczowym czynnikiem utrzymania stabilności mikrobiologicznej suchych fermentowanych produktów mięsnych podczas przechowywania. Natomiast Lorenzo i wsp. [17] zaobserwowali po procesie fermentacji niższe wartości pH w mięsie mielonym niż w całych kawałkach mięsa wykorzystywanych odpowiednio do produkcji kiełbas lub szynek dojrzewających. Również Arihara i Itoh [3] oraz Wójciak i wsp. [28] stwierdzili niższe pH w kiełbasach dojrzewających z dodatkiem szczepów probiotycznych (około 4,5).

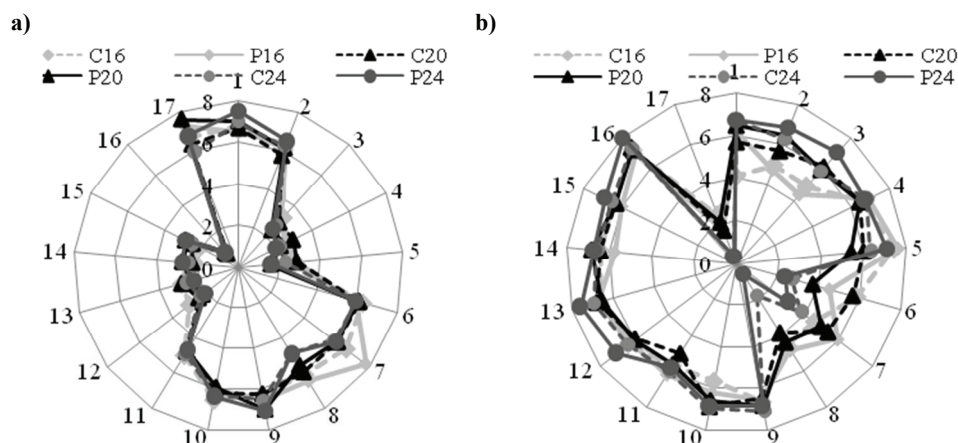
W przeprowadzonej analizie sensorycznej wykazano, że dodatek kultur startowych o właściwościach probiotycznych, optymalne warunki dojrzewania mięsa i półroczny okres przechowywania miały wpływ na jakość ogólną badanych połówkow surowo dojrzewających. Wszystkie warianty prób połówkow z dodatkiem *Lb. casei* ŁOCK 0900 po 30 dniach przechowywania charakteryzowały się bardzo dobrą jakością ogólną (powyżej 7 j.um.), znacząco wyższą niż prób kontrolnych, czyli bez dodatku bakterii probiotycznych (rys 1a). Wysoka jakość ogólna badanych połówkow utrzymywała się do 90 dni przechowywania chłodniczego. Dopiero po upływie 120 dni stwierdzono obniżenie jakości ogólnej, która na koniec okresu przechowywania we wszystkich badanych połówkowach określona została jako niska. Mimo to warto zaznaczyć, że po 6 miesiącach przechowywania najwyższą jakością ogólną charakteryzowały się próby dojrzewające w temp. 20 i 16 °C (rys. 1b).

Na początku okresu przechowywania profile smakowo-zapachowe wszystkich badanych produktów surowo dojrzewających były bardzo podobne (rys. 1a). Po 30 dniach przechowywania wszystkie próby charakteryzowały się niską intensywnością odczuwania cech negatywnych, czyli zapachu ostrego, starego, innego oraz takich posmaków, jak: gorzki, przechowalniczy, piekący, kwaśny i inny. Najdłużej oceny te utrzymywały się do 150 dni przechowywania połówkow z dodatkiem bakterii *Lb. casei* ŁOCK 0900 (P20 i P24). Po 180 dniach przechowywania wszystkie badane wyróżniki sensoryczne były oceniane negatywnie, w przypadku każdej próby połówkow. Najniższą jakością sensoryczną charakteryzowały się próby dojrzewające w temp. 24 °C (C24 i P24). Szczególnie niską jakością charakteryzowały się połówkowice z dodatkiem bakterii probiotycznych (P24). Oceniono je jako zbyt suche, o niejednolitej barwie, bardzo mocno wyczuwalnym zapachu starego tłuszczu i o bardzo intensywnym smaku przechowalniczym, jełkim, jak również gorzkim, piekącym i kwaśnym. Również wyróżnik sensoryczny „smak inny” był wyraźnie wyczuwany.

Fadda i wsp. [11] stwierdzili, że typowy smak i zapach fermentowanych produktów mięsnych zależy od optymalizacji procesu dojrzewania, który pozwala uzyskać równowagę pomiędzy związkami lotnymi (ketony, aldehydy) i nielotnymi (aminokwasy, peptydy lub cukry), wytwarzanymi w przemianach metabolicznych bakterii mle-



kowych. We wcześniejszych badaniach [14] wykazano, że dodatek bakterii potencjalnie probiotycznych *Lactobacillus acidophilus* Bauer ma pozytywny wpływ na jakość sensoryczną fermentowanych poledwicz zarówno po dojrzewaniu, jak i po półrocznym przechowywaniu. Również Zdolec i wsp. [29] stwierdzili, że dodatek bakterii probiotycznych nie ma negatywnego wpływu na jakość sensoryczną kielbas dojrzewających.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

Zapach: / Smell: 1 – z. wędzonego mięsa, charakterystyczny dla dojrzewającego mięsa / smoked meat smell typical of dry fermented meat; 2 – z. suszonego mięsa, charakterystyczny dla dojrzewającego mięsa / dried meat smell typical of dry fermented meat; 3 – z. ostry, drażniące wrażenie przy wachaniu / sharp smell, irritating impression when smelling; 4 – z. starego tłuszczu, wrażenie związane ze zmianami oksydacyjnymi w tłuszczu; brak świeżości / rancid smell, off-flavour associated with oxidative changes in fat; lack of freshness; 5 – z. inny, pozostałe wrażenia nie wymienione w karcie oceny / other smell, other sensations not shown in the assessment card.

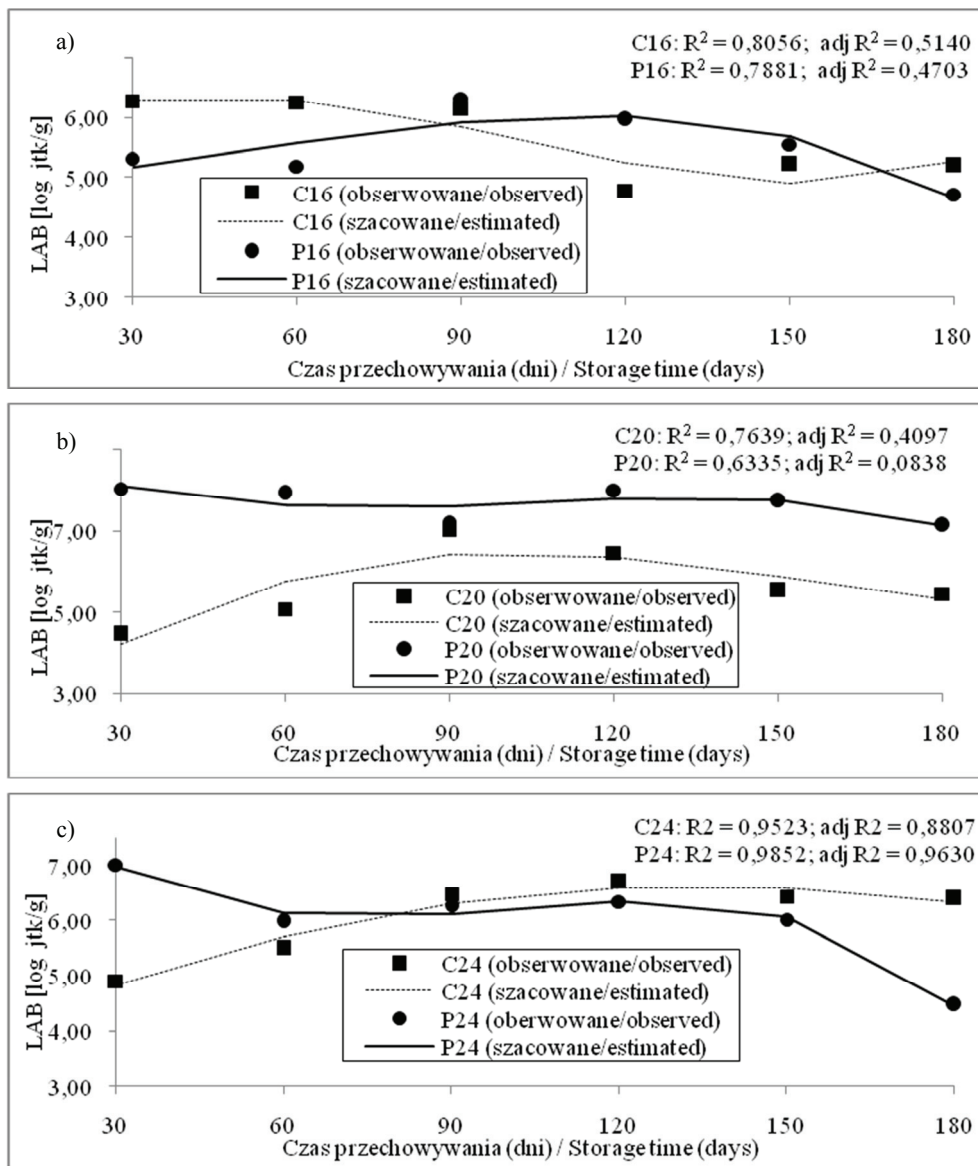
Wygląd i tekstura: / Appearance and texture: 6 – ton barwy, intensywność barwy czerwonej charakterystycznej dla mięsa / meat colour hue, intensity of red colour characteristic for meat; 7 – jednolitość barwy, równomierne rozłożenie barwy czerwonej charakterystycznej dla dojrzewającego mięsa / colour homogeneity, uniform distribution of red colour typical for dry fermented meat; 8 – soczystość, wrażenie obecności soku mięsnego w trakcie żucia w ustach / juiciness, impression of meat juice in mouth when chewing.

Smak: / Flavour: 9 – s. wędzonego mięsa, charakterystyczny dla dojrzewającego mięsa / smoked meat flavour typical for dry fermented meat; 10 – s. suszonego mięsa, charakterystyczny dla dojrzewającego mięsa / dried meat flavour typical for dry fermented meat; 11 – s. słony, podstawowa jakość smaku / salty flavour, basic quality of taste; 12 – s. gorzki, podstawowa jakość smaku / bitter flavour, basic quality of taste; 13 – s. przechowalniczy, brak świeżości / storage-related flavour, lack of freshness; 14 – s. piekący, podstawowa jakość smaku / stinging flavour, basic quality of taste; 15 – s. kwaśny, podstawowa jakość smaku / sour flavour, basic quality of taste; 16 – s. inny, pozostałe wrażenia nie wymienione w karcie oceny / other flavours, other sensations not listed in the assessment card.

Jakość ogólna: / Overall quality: 17 – ogólne wrażenie uwzględniające wszystkie badane wyróżniki / general impression of sensory quality based on all tested attributes.

Rys. 1. Wybrane wyniki akceptacji sensorycznej poledwicz z dodatkiem (P16; P20; P24) lub bez (C16; C20; C24) szczepu *Lb. casei* ŁOCK 0900; po (a) 30 i (b) 180 dniach przechowywania.

Fig. 1. Selected results of sensory acceptance of loins with *Lb. casei* ŁOCK 0900 strain added (P16; P20; P24) or without it (C16; C20; C24); after (a) 30 and (b) 180 days of storage.



Rys. 2. Wartości zaobserwowane (punkty) i szacowane (krzywa) przez model, obrazujące przeżywalność bakterii LAB podczas przechowywania w temp. 4 °C w polędwicach po dojrzewaniu w temp. (a) 16 °C, (b) 20 °C, (c) 24 °C.

Fig. 2. Reported values (points) and estimated values (curve) of model to show survival of LAB during storage at 4°C in loins after ripening at temperature of (a) 16°C, (b) 20°C, (c) 24°C.

Przedstawione wyniki wskazują, że dobór optymalnej temperatury procesu dojrzewania gwarantuje nie tylko najefektywniejszy wzrost i przeżywalność bakterii kwa-

su mlekowego, w tym dodanego szczepu *Lb. casei* LOCK 0900, w badanych połędwicach podczas przechowywania, ale również wysoką jakość sensoryczną ocenianych produktów mięsnych.

Na podstawie wyników analiz mikrobiologicznych podjęto próbę oszacowania matematycznych modeli wzrostu i przeżywalności bakterii kwasu mlekowego, w tym szczepu *Lb. casei* LOCK 0900, podczas 180 dni przechowywania chłodniczego połędwic surowo dojrzewających. Powszechnie stosowane w mikrobiologii prognostycznej pierwszorzędowe funkcje nieliniowe, takie jak model Gomperta lub model logistyczny oraz ich modyfikacje, nie pasowały do opisanego zachowania badanej populacji bakterii [30]. Trudność ta wynikała z przebiegu zmienności liczby bakterii kwasu mlekowego, zarówno w próbach kontrolnych, jak i w próbach z dodatkiem szczepu o właściwościach probiotycznych, podczas przechowywania, co mogło być spowodowane m.in. obecnością naturalnej mikroflory konkurencyjnej. Podjęto w związku z tym próbę opisu matematycznego za pomocą modeli wielomianowych [30].

W niniejszej publikacji przedstawiono jeden, wybrany model nieliniowy, który pod względem jakości aproksymacji najlepiej prognozuje zachowanie bakterii w badanych połędwicach wieprzowych. Porównanie wartości zaobserwowanych z wartościami teoretycznymi modelu, określającymi przeżywalność LAB w próbach kontrolnych i w próbach z dodatkiem bakterii probiotycznych, przedstawiono na rys. 2. Przebieg zmienności badanej populacji bakterii, podczas 180 dni przechowywania w przypadku połędwic po dojrzewaniu w temp. 16 °C, odbiega od typowego s-kształtnego wzrostu bakterii. Zmienność liczby bakterii LAB w próbach kontrolnych, jak i w próbach zaszczepionych probiotykiem, została wyjaśniona przez proponowany model w 80 % (rys. 2a).

Zachowanie badanej populacji bakterii w połędwicach dojrzewających w temp. 20 °C zostało scharakteryzowane zmiennością czasu przechowywania, odpowiednio w przypadku próby kontrolnej w 76 %, a próby zaszczepionej w 63 % (rys 2b). Pod względem technologicznym połędwice z dodatkiem szczepu probiotycznego charakteryzowały się najlepszym wzrostem i stabilną przeżywalnością bakterii LAB. Po 90 dniach chłodniczego przechowywania zaobserwowano nieznaczne obniżenie liczby bakterii kwasu mlekowego z 7,93 do 7,22 log jtk/g, co mikrobiologicznie jest nieistotne. Jednak od strony interpretacji matematycznej wynik ten zaburza liniowy przebieg krzywej wzrostu LAB, powodując tym samym, że dopasowanie modelu dla C20 i P20, liczone współczynnikiem determinacji  $R^2$ , jest niewystarczające, a oceny większości parametrów obciążone są nadmiernymi błędami średnimi.

Inaczej jest w przypadku prób połędwic wieprzowych kontrolnych (C24) i z dodatkiem szczepu *Lb. casei* LOCK 0900 (P24), dojrzewających w temp. 24 °C, charakteryzujących się najlepszymi parametrami dopasowania i akceptowanymi cechami stochastycznymi ocen parametrów (rys. 2c). Opracowany model może być bez trudu

szacowany za pomocą klasycznej metody najmniejszych kwadratów. Wysokie wartości współczynników determinacji  $R^2$  wskazują na dobre dopasowanie modeli do danych doświadczalnych i na wysoki procent wyjaśnienia zmiennej zależnej (liczba LAB w log jtk/g) przez zmienność zmiennej objaśniającej (czas przechowywania). W przypadku modeli prób polędwic z dodatkiem szczepu probiotycznego, wysokim wartościom współczynników determinacji towarzyszą precyzyjnie oszacowane parametry, wszystkie statystycznie istotnie różniące się od zera ( $p < 0,05$ ). Z formalno-statystycznego względu modele dotyczące prób zaszczepionych są modelami dobrymi.

Na trudności związane z modelowaniem liczby bakterii kwasu mlekowego w produktach mięsnych surowo dojrzewających zwracają uwagę inni autorzy [5, 6, 9]. Devlieghre i wsp. [9] badali przeżywalność bakterii *Lactobacillus sake* w gotowanym produkcie mięsnym pakowanym w atmosferze modyfikowanej. Na zmienne niezależne, warunkujące wzrost badanej populacji bakterii wybrano aktywność wody, temperaturę i stężenie  $CO_2$ . W badaniach zastosowano modele matematyczne Ratkowsky'ego i powierzchni odpowiedzi (drugorzędowe modele linearne o charakterze funkcji wielomianowej). Zastosowane modele matematyczne również nie szacowały w sposób satysfakcjonujący zmienności badanych bakterii. Jedynie modele powierzchni odpowiedzi charakteryzowały się silniejszą korelacją, lecz nadal przedstawiały nielogiczne prognozy przeżywalności bakterii przy niskiej aktywności wody. Natomiast Bello i Sanchez-Fuertes [5] wskazali na możliwość zastosowania modyfikacji modelu matematycznego Gompertza w celu opisania przeżywalności bakterii *Lactobacillus* spp. podczas dojrzewania hiszpańskiej kielbasy surowej w warunkach kontrolowanych, w komorze dojrzewalniczej oraz w warunkach naturalnych. Autorzy nie modelowali jednak matematycznie zmienności zachowania bakterii kwasu mlekowego podczas przechowywania produktu.

Cayré i wsp. [6] za pomocą modeli matematycznych opisali wpływ trzech temperatur przechowywania (0, 8 i 15 °C) na wzrost bakterii kwasu mlekowego w gotowanej kielbasie. Na podstawie badań przechowalniczych kielbasy, pakowanej w film o niskiej przepuszczalności tlenu, do uzyskanych wyników zmienności LAB dopasowano model Gompertza oraz modele Arrheniusa i równania pierwiastka kwadratowego. Należy jednak zaznaczyć, że bakterie kwasu mlekowego w mięsnych produktach gotowanych są mikroflorą niepożądaną, odpowiedzialną za zepsucie.

Matematyczne modele wzrostu i przeżywalności bakterii mlekowych znajdują bardziej uzasadnione zastosowanie w przypadku produktów żywnościowych, które przed wprowadzeniem kultury startowej poddawane są pasteryzacji, czyli są pozbawione mikroflory konkurencyjnej. Wykazali to Zielińska i wsp. [30] (fermentowany napój sojowy) i Trząskowska i wsp. [25] (fermentowany napój marchwiowy).

Matematycznie trudno jest skonstruować dokładny model prognostyczny opisujący przeżywalność bakterii kwasu mlekowego w surowych produktach mięsnych, prze-

de wszystkim ze względu na różnorodną mikroflorę. W przypadku dodawania bakterii o właściwościach probiotycznych do produktów pasteryzowanych uzyskuje się matematyczne modele o bardzo dobrym stopniu dopasowania. Mięso jest surowcem charakteryzującym się swoją naturalną mikroflorą, w skład której wchodzi m.in. bakterie z rodzaju *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Psychrobacter*, *Staphylococcus*, *Micrococcus* oraz wspomniane wcześniej LAB [10]. Specyfika produkcji wędlin surowo dojrzewających związana jest z brakiem obróbki cieplnej, a tym samym z brakiem możliwości uzyskania sterylnego produktu, który stanowiłby idealne środowisko do rozwoju dodanych bakterii startowych o właściwościach probiotycznych. Znane w literaturze modele matematyczne dotyczą głównie przeżywalności czystej kultury bakterii [30].

Innym rozwiązaniem do przewidywania zachowania wybranej grupy bakterii spośród całej mikroflory znajdującej się w produkcie żywnościowym mogą być prognostyczne sieci neuronowe, które pozwalają najprecyzyjniej przewidzieć wzrost mikroorganizmów. Sztuczne sieci neuronowe uwzględniają dynamikę zachowań badanej populacji mikroorganizmów, na którą, obok czynników biogennych i abiogennych, duży wpływ mają interakcje pomiędzy poszczególnymi grupami drobnoustrojów. Kierunek ten będzie uwzględniony w dalszych badaniach autorów.

## Wnioski

1. Największą przeżywalność bakterii kwasu mlekowego, w tym szczepu o właściwościach probiotycznych *Lactobacillus casei* LOCK 0900, utrzymującą się przez 180 dni przechowywania, zaobserwowano w przypadku polędwic wieprzowych dojrzewających przez 3 tygodnie w temp. 20 °C.
2. Na początku okresu przechowywania wszystkie próby polędwic z dodatkiem szczepu *Lactobacillus casei* LOCK 0900 charakteryzowały się znacząco wyższą jakością sensoryczną w porównaniu z próbami kontrolnymi. Po 180 dniach przechowywania chłodniczego jakość ogólna wszystkich wariantów badanych polędwic surowo dojrzewających określona została jako niska.
3. Zadowalający model wzrostu i przeżywalności bakterii kwasu mlekowego podczas przechowywania chłodniczego skonstruowano w przypadku polędwicy poddanej dojrzewaniu w temp. 24 °C (dopasowanie na poziomie C24 = 98 %, P24 = 96 %).

## Literatura

- [1] Aggelis G., Samelis J., Metaxopoulos J.: A novel modeling approach for predicting microbial growth in a raw cured product stored at 3°C and at 12°C in air. *Int. J. Food Microbiol.*, 1998, **43**, 39-52.

- [2] American Public Health Association 4<sup>th</sup> Edition. Compendium of methods for the Microbiological Examination of Foods, Chapter 19, Acid-Producing Microorganisms, § 19.522 Acidified MRS Agar, 2004.
- [3] Arihara K., Itoh M.: UV-induced *Lactobacillus gasseri* mutants resisting sodium chloride and sodium nitrite for meat fermentation. *Int. J. Food Microbiol.*, 2000, **56**, 227-230.
- [4] Baj J.: Kipiące życiem. W: Życie bakterii. Red. J. Baj i Z. Markiewicz. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2001, ss. 245-265.
- [5] Bello J., Sanchez-Fuertes M.A.: Application of mathematical model to describe the behavior of the *Lactobacillus* spp. during the ripening of a Spanish dry fermented sausage (Chorizo). *Food Microbiol.*, 1995, **27**, 215-227.
- [6] Cayré M.E., Vignolo G., Garro O.: Modeling lactic acid bacteria growth in vacuum-packaged cooked meat emulsions stored at three temperatures. *Food Microbiol.*, 2003, **20**, 561-566.
- [7] Cukrowska B., Motyl I., Kozakova H., Schwarzer M., Górecki R.K., Klewicka E., Śliżewska K., Libudzisz Z.: Probiotic *Lactobacillus* strains: *in vitro* and *in vivo* studies. *Folia Microbiol.*, 2009, **54**, 533-537.
- [8] Dalgaard P., Koutsoumanis K.: Comparison of maximum specific growth rates and lag times estimated from absorbance and viable count data by different mathematical models. *J. Microbiol. Methods*, 2001, **43**, 183-196.
- [9] Devlieghre F., van Belle B., Debevere J.: Shelf life of modified atmosphere packed cooked meat products: a predictive model. *Int. J. Food Microbiol.*, 1999, **46**, 57-70.
- [10] Doulgeraki A.I., Ercolini D., Villani F., Nychas G.J.: Spoilage microbiota associated to the storage of raw meat in different conditions. *Int. J. Food Microbiol.*, 2012, **157**, 130-141.
- [11] Fadda S., López C., Vignolo G.: Role of lactic acid bacteria during meat conditioning and fermentation: Peptides generated as sensorial and hygienic biomarkers. *Meat Sci.*, 2010, **86**, 66-79.
- [12] Gajewska J., Błaszczak M.K.: Probiotyczne bakterie fermentacji mlekowej (LAB). *Post. Microbiol.*, 2012, Dostępna w Internecie: <http://www.pm.microbiology.pl>.
- [13] Goździcki T.: Wymagania pokarmowe i dynamika wzrostu drobnoustrojów. W: Mikrobiologia i higiena w przemyśle spożywczym. Red. Z. Żakowska, H. Stobińska. Wyd. Politechniki Łódzkiej, Łódź 2000, ss. 132.
- [14] Jaworska D., Neffe K., Kołożyn-Krajewska D.: Survival during storage and sensory effect of potential probiotic lactic acid bacteria *Lactobacillus acidophilus* Bauer and *Lactobacillus casei* Bif3<sup>®</sup>/IV in dry fermented pork loins. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2011, **46**, 2491-2497.
- [15] Kołożyn-Krajewska D., Dolatowski Z.J.: Probiotic meat products and human nutrition. *Process Biochemistry*, 2012, **47** (12), 1761-1772.
- [16] Lou W., Nakai S.: Artificial neural Network-based predictive model for bacterial growth in a simulated medium of modified-atmosphere-packed cooked meat products. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, **49**(4), 1799-1804.
- [17] Lorenzo J.M., Fontán M.C.G., Cachaldora A., Franco I., Carballo J.: Study of the lactic acid bacteria throughout the manufacture of dry-cured lacón (a Spanish traditional meat product). Effect of some additives. *Food Microbiol.*, 2010, **27**, 229-235.
- [18] Neffe-Skocińska K., Gierjekiewicz M., Kołożyn-Krajewska D.: Optymalizacja warunków procesu fermentacji polędwic surowo dojrzewających z dodatkiem bakterii probiotycznych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, **6** (79), 36-46.
- [19] PN-ISO 6658:1998. Analiza sensoryczna. Metodologia. Wytyczne ogólne.
- [20] PN-ISO 11035:1999. Analiza sensoryczna. Identyfikacja i wybór deskryptorów do ustalania profilu sensorycznego z użyciem metod wielowymiarowych.
- [21] PN-ISO 2917:2001. Mięso i przetwory mięsne. Pomiar pH. Metoda odwoławcza.



- [22] Standard NF ISO 15214:1998. Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the numeration of mesophilic lactic acid bacteria. Colony-count technique at 30 °C.
- [23] Sakhare P.Z., Narasimha R.: Microbial profiles during lactic acid fermentation of meat by combined starter cultures at high temperatures. *Food Control*, 2003, **14**, 1-5.
- [24] Toldra F., Reig M.: Innovations for healthier processed meats. *Trends Food Sci. Technol.*, 2011, **22**, 517-522.
- [25] Trzaskowska M., Kołożyn-Krajewska D., Goryl A.: Prognozowanie wzrostu i przeżywalności bakterii probiotycznych w fermentowanym soku marchwiowym. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **6 (55)**, 138-148.
- [26] Wittmann Ch., Krömer J.O., Kiefer P., Binz T., Heinzle E.: Impact of the cold shock phenomenon on quantification of intracellular metabolites in bacteria. *Analytical Biochem.*, 2004, **327**, 135-139.
- [27] Wouters J.A., Rombouts F.M., Kuipers O.P., de Vos W.M., Abee T.: The role of cold-shock proteins in low-temperature adaptation of food-related bacteria. *Syst. Appl. Microbiol.*, 2000, **23**, 165-173.
- [28] Wójciak K.M., Dolatowski Z.J., Kołożyn-Krajewska D., Trzaskowska M.: The effect of the *Lactobacillus casei* LOCK 0900 probiotic strain on the quality of dry-fermented sausage during chilling storage. *J. Food Quality*, 2012, **35**, 353-365.
- [29] Zdolec N., Hadziosmanovic M., Kozacinski L., Cvrtila Z., Filipovic I., Skrivanko M., Leskovic K.: Microbial and physicochemical succession in fermented sausages produced with bacteriocinogenic culture of *Lactobacillus sakei* and semi-purified bacteriocin mesenterocin Y. *Meat Sci.*, 2008, **80**, 480-487.
- [30] 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.


## EFFECT OF *LACTOBACILLUS CASEI* LOCK 0900 PROBIOTIC STRAIN ADDITION AND RIPENING CONDITIONS ON QUALITY OF DRY FERMENTED PORK LOINS DURING STORAGE

### Summary

The objective of the research study was to assess the effect of ripening conditions on the survival of *Lb. casei* LOCK 0900 probiotic strain in pork loins and on their sensory quality during 180 days of chilling storage under anaerobic conditions. Also, it was attempted to construct mathematical models of growth and survival of the bacteria studied.

The experimental material comprised *Lb. casei* LOCK 0900 probiotic strain and pork loins ripened at varying temperatures (16, 20, and 24 °C) and, next, vacuum packaged and stored at 4 °C for 180 days. Control samples with the addition of glucose and experimental samples with the addition of a probiotic strain and glucose were prepared. The scope of research included microbiological analyses, pH measurement, and sensory evaluation (QDA). The determinations were performed every 30 days.

It was found that the best storage stability, both in terms of microbiological and sensory quality, was obtained in the case of loins with probiotic bacteria added, which were produced at 20 °C temperature of ripening (7.00 – 8.00 log jtk/g on average; overall sensory quality > 7 c.u.). A satisfactory model of growth and survival of LAB was constructed for the loins, which ripened at 24 °C (matching at a level of C24 = 98 %, P24 = 96 %).

**Key words:** ripened loins, probiotics, storage, predictive models 



AGNIESZKA STASZOWSKA, PIOTR SKAŁECKI, MARIUSZ FLOREK,  
ANNA LITWIŃCZUK

## WPLYW GATUNKU I ŚRODOWISKA ŻYCIA RYB NA ZAWARTOŚĆ OŁOWIU ORAZ OSZACOWANIE JEGO POBRANIA Z TKANKI MIĘŚNIOWEJ

### Streszczenie

Ryby oraz przetwory rybne są ważnym elementem zbilansowanej diety człowieka. Pomimo wysokiej wartości odżywczej mogą być one jednak źródłem metali ciężkich.

Celem badań było określenie wpływu gatunku i środowiska życia na zawartość ołowiu w tkance mięśniowej ryb oraz oszacowanie pobrania tego pierwiastka ze 100 g mięsa, uwzględniając najniższe dawki wyznaczone (Benchmark Dose Lower Confidence Limit - BMDL) dla dzieci i dorosłych.

Badaniami objęto sześć gatunków ryb żyjących w różnym środowisku: ryby morskie – śledź i dorsz, ryby słodkowodne dzikie – płoc i okoń oraz ryby z akwakultury – pstrąg tęczowy i karp. Zawartość ołowiu oznaczono metodą bezpłomieniowej atomowej spektrometrii absorpcyjnej z wykorzystaniem spektrometru SpectrAA 880Z (Varian). Do analizy wyników zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji.

Wykazano istotny wpływ gatunku i środowiska życia na zawartość ołowiu w tkance mięśniowej ryb. Istotnie ( $p \leq 0,05$ ) najmniejszą zawartość Pb ( $0,0429 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) oznaczono w mięśniach ryb z akwakultury, natomiast mięśnie ryb morskich i słodkowodnych dziko żyjących zawierały zbliżoną zawartość ołowiu (odpowiednio  $0,1419$  i  $0,1644 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ). Najwięcej ołowiu zawierały mięśnie śledzi ( $0,2349 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) i płoci ( $0,2145 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), najmniej – pstrągów tęczowych i karp (około  $0,043 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ). Oszacowano, że bezpieczna dla dzieci porcja mięsa śledzi i płoci (uwzględniająca najniższe dawki wyznaczające  $\text{BMDL}_{01}$ ) nie powinna przekraczać odpowiednio 75 g i 82 g.

**Słowa kluczowe:** ryby morskie, ryby słodkowodne, ryby z akwakultury, ołów, BMDL

### Wprowadzenie

Spożywanie ryb jest zalecane do zbilansowania diety człowieka. Konsumenci powszechnie uznają ryby za zdrowy element diety, a w Polsce ich spożycie kształtuje się rocznie na poziomie około 11,8 kg/osobę i wykazuje niewielką tendencję spadkową

---

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

[17]. Na wielkość spożycia ryb wpływa również obecność w nich metali ciężkich. Określenie ich zawartości w tkankach ryb było przedmiotem badań wielu autorów [1, 10, 11, 19, 20, 24, 27]. Niektórzy badacze [8, 22, 26] podkreślają szkodliwy wpływ metali ciężkich, w tym również ołowiu, na organizm zarówno osób dorosłych, jak i dzieci.

Obawy konsumentów dotyczące zanieczyszczenia mięsa ryb toksycznymi pierwiastkami śladowymi spowodowały wprowadzenie w Unii Europejskiej najwyższych dopuszczalnych poziomów stężenia metali ciężkich. Zgodnie z rozporządzeniem Komisji (WE) nr 1881/2006 poziom ołowiu w rybach nie może przekraczać  $0,30 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  [21].

W 1986 r. FAO/WHO (JECFA - Joint Expert Committee on Food Additives) zaproponowała dla niemowląt i dzieci wartość Tymczasowego Tolerowanego Tygodniowego Pobrania (PTWI) ołowiu ze wszystkich środków spożywczych na poziomie  $25 \text{ }\mu\text{g}/\text{kg}$  masy ciała. Limit ten zatwierdził Komitet Naukowy ds. Żywności (SCF) Komisji Europejskiej w roku 1992. Jednak w 2010 roku Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) zdecydował o wycofaniu PTWI – uznano bowiem, że nie zapewnia on bezpieczeństwa zdrowotnego żywności. Określono natomiast najniższe dawki wyznaczające (Benchmark Dose Lower Confidence Limit – BMDL). Dawki BMDL, związane z wywoływaniem ściśle określonego działania na organizm człowieka, zostały ustalone oddzielnie dla różnych grup ludności. W przypadku ołowiu przyjęto dla dzieci – BMDL<sub>01</sub> (działanie neurotoksyczne) na poziomie  $0,50 \text{ }\mu\text{g}/\text{kg}$  masy ciała/dzień, dla dorosłych natomiast wyróżniono BMDL<sub>10</sub> (działanie nefrotoksyczne) wynoszące  $0,63 \text{ }\mu\text{g}/\text{kg}$  mc/dzień oraz BMDL<sub>01</sub> (zaburzenia sercowo-naczyniowe) równe  $1,50 \text{ }\mu\text{g}/\text{kg}$  m.c./dzień [9, 15].

Celem pracy było określenie wpływu gatunku i środowiska życia ryb na zawartość ołowiu w tkance mięśniowej oraz oszacowanie pobrania tego pierwiastka ze 100 g mięsa, przy uwzględnieniu najniższych dawek wyznaczających BMDL dla dzieci i dorosłych.

### **Materiał i metody badań**

Badania przeprowadzono w 2010 roku i objęto nimi 6 gatunków ryb, łącznie 60 osobników, po 10 z każdego gatunku. Materiał badawczy stanowiła tkanka mięśniowa dorsza (*Gadus morhua callarias*), śledzia (*Clupea harengus membras*), płoci (*Rutilus rutilus*), okonia (*Perca fluviatilis*), karpia (*Cyprinus carpio*) i pstrąga tęczowego (*Onchorhynchus mykiss*). Dorsze ( $1580 \text{ g} \pm 232,5 \text{ g}$ ) i śledzie ( $148 \text{ g} \pm 33,0 \text{ g}$ ) złowiono w Zatoce Gdańskiej (południowo-wschodnia część Morza Bałtyckiego – FAO MFA27) w ramach połowów rybackich. Karpie ( $1180 \text{ g} \pm 98,0 \text{ g}$ ) i pstrągi tęczowe ( $408 \text{ g} \pm 47,5 \text{ g}$ ) pozyskano w gospodarstwach rybackich zlokalizowanych na terenie województwa lubelskiego. Płocie ( $122 \text{ g} \pm 26,0 \text{ g}$ ) i okonie ( $78 \text{ g} \pm 10,5 \text{ g}$ ) złowiono

w rzece Bystrzyca zgodnie z Regulaminem Amatorskiego Połowu Ryb PZW. Ryby po pozyskaniu dostarczono do Katedry Towaroznawstwa i Przetwórstwa Surowców Zwierzęcych UP w Lublinie. Po wstępnej obróbce ryb pobrano próbki mięsa z mięśnia wielkiego bocznego części grzbietowej.

Pobrane próbki mięsa ryb poddano mineralizacji na mokro w mieszaninie  $\text{HNO}_3$  i  $\text{HClO}_4$  zgodnie ze standardami AOAC 986.15 [2], a następnie w celu oznaczenia zawartości ołowiu (w  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  świeżej masy) zastosowano metodę bezplamieniowej atomowej spektrometrii absorpcyjnej z wykorzystaniem spektrometru SpectrAA 880Z (Varian). Analizę wykonano metodą krzywej wzorcowej, a wyniki zweryfikowano na podstawie limitów wykrywalności i oznaczalności. Granica wykrywalności w przypadku ołowiu wynosiła  $0,24 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  ( $0,00024 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ). Dokładność metody oceniono za pomocą materiału referencyjnego DORM-3 o certyfikowanej zawartości ołowiu na poziomie  $0,395 \pm 0,050 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Oznaczenie wykonano w trzech powtórzeniach.

Analizę statystyczną przeprowadzono za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji, przy użyciu programu StatSoft Statistica ver. 6.0 [25]. Istotność różnic zweryfikowano testem NIR na poziomie istotności  $p = 0,05$  i  $p = 0,01$ .

### Wyniki badań i dyskusja

Przeciętna zawartość ołowiu w mięsie analizowanych gatunków ryb wahała się od  $0,0429$  do  $0,2349 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  świeżej masy (tab. 1). Wykazano, że mięśnie ryb dziko żyjących (zarówno morskich, jak i słodkowodnych) charakteryzowały się istotnie ( $p \leq 0,05$ ) większą zawartością ołowiu, w porównaniu z mięsem ryb pochodzących z akwakultury. Istotnie najwięcej ołowiu zawierały mięśnie śledzi i płoci (odpowiednio  $0,2349$  i  $0,2145 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  świeżej masy), następnie dorszy i okoni (odpowiednio  $0,1171$  i  $0,1030 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  świeżej masy), najmniej natomiast pstrągów tęczowych i karpia (około  $0,043 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  świeżej masy).

Na zawartość metali ciężkich w rybach w znacznym stopniu wpływają: gatunek, płeć, wiek, żywienie (specyficzny metabolizm metali) oraz dostępność metali ciężkich w środowisku (stan zanieczyszczenia) [11, 13].

Polak-Juszczak [18] analizowała stężenie metali ciężkich w trzech gatunkach ryb bałtyckich (śledź, dorsz, szprot). W tkance mięśniowej śledzia oznaczyła od  $6,4$  do  $44 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  ołowiu, czyli znacznie mniej od wyników przedstawionych w niniejszej pracy. Również w przypadku mięsa dorsza uzyskała mniejszą zawartość (w zakresie od  $4$  do  $16 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) Pb. Stwierdzone przez Polak-Juszczak [18] zakresy zawartości ołowiu w mięsie śledzi i dorszy z Morza Bałtyckiego zostały potwierdzone przez Szlinder-Richert i wsp. [26], którzy w mięśniach tych gatunków oznaczyli średnio odpowiednio  $19,5$  i  $10,2 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Allen-Gil i wsp. [1] oznaczyli metale ciężkie w tkance mięśniowej ryb pochodzących z terenów niezindustrializowanych. Wykazali znacznie mniejszą, w porównaniu z wynikami własnymi, zawartość Pb w zakresie od  $0,005$  do

0,012  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  świeżej masy. Podobnie małą zawartość ołowiu (w zakresie od 0,01 do 0,03  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  ś.m.) w mięsie płoci z województwa zachodniopomorskiego stwierdziła Rajkowska i wsp. [20]. Również Protasowicki i wsp. [19] uzyskali mniejsze zawartości, w porównaniu z wynikami własnymi, w tkance mięśniowej płoci i okoni (odpowiednio 0,05 oraz 0,03  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  ś.m.). Podawane przez Łuczyńską i wsp. [13] wyniki wskazują na większą, w porównaniu z przedstawionymi wynikami, zawartość ołowiu w mięsie okoni (0,143  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), a mniejszą w mięśniach płoci (w zakresie od 0,06 do 0,145  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ). Natomiast Perkowska i wsp. [16] analizowali zawartość metali ciężkich w tkance mięśniowej i organach ryb słodkowodnych pochodzących z rzeki Świdwy i oznaczyli zawartość ołowiu w mięsie płoci i okoni na poziomie od 0,22 do 0,99  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , tzn. wyższym w porównaniu z wynikami własnymi.

Pochodzące z akwakultury – pstrąg tęczowy i karp charakteryzowały się istotnie ( $p \leq 0,05$ ) najmniejszą zawartością ołowiu w porównaniu z pozostałymi badanymi gatunkami ryb morskich i śródlądowych.

Szlinder-Richert i wsp. [26], oceniając zawartość substancji toksycznych w rybach dostępnych na polskim rynku, oznaczyli mniejszą, w porównaniu z wynikami własnych badań, zawartość ołowiu zarówno w przypadku karpia (11,1  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  ś.m.), jak i pstrąga tęczowego (14,4  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  ś.m.). Podobnie Čelechovská i wsp. [5] w karpach pozyskanych na terenie Czech oznaczyli mniej Pb (0,037  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  ś.m.) niż autorzy niniejszej pracy. Protasowicki i wsp. [19] w rybach odławianych w dolnym i górnym biegu Odry wykazali natomiast większą (0,075  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  ś.m.) zawartość ołowiu w mięsie karpia. Łuszczek-Trojnar i wsp. [14] uzyskali jeszcze większą zawartość Pb w mięsie dwuletnich karpia hodowlanych (0,15 - 0,27  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  ś.m.). Podobnie w badaniach Tóth i wsp. [28] zawartość ołowiu w przypadku karpia hodowanych w południowo-zachodniej Słowacji wahała się od 0,09 do 0,48  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  ś.m. Różnice w przytaczanych wynikach dotyczących mięsa karpia wynikały zapewne z różnych warunków życia (stawy hodowlane vs. rzeka) bądź też różnego wieku ryb. Wykazano bowiem ujemną korelację między zawartością ołowiu w tkance mięśniowej ryb a ich wiekiem [6, 7, 12, 14]. Zjawisko to związane jest z większą aktywnością i zapotrzebowaniem na tlen i energię osobników młodszych oraz z tym, że w organizmach ryb starszych lepiej funkcjonują mechanizmy obronne, dlatego też eliminacja szkodliwych związków jest znacznie szybsza [3, 7].

Drąg-Kozak i wsp. [7] potwierdziły również taką zależność w odniesieniu do jednorocznych i dwuletnich pstrągów tęczowych. W przypadku ryb jednorocznych dopuszczalny limit zawartości ołowiu w tkance mięśniowej został przekroczony o 0,16  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  ś.m., a dwuletnich – o 0,09  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  ś.m. Pstrągi tęczowe dziko żyjące oraz pochodzące z hodowli były przedmiotem badań Fallah i wsp. [10], którzy nie stwierdzili istotnego wpływu środowiska życia na zawartość ołowiu w mięśniach tego gatunku.

Tabela 1

Zawartość ołowiu w tkance mięśniowej ryb w zależności od gatunku i środowiska życia [ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  świeżej masy].

Concentration of lead in muscle tissue of fish depending on species and living environment [ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  wet mass].

Gatunek i środowisko życia ryb Species and living environment of fish	Ołów / Lead	
	$\bar{x}$	s / SD
Dorsz / Cod	0,1171 <sup>b</sup>	0,0859
Śledź / Herring	0,2349 <sup>c</sup>	0,0361
Płoc / Roach	0,2145 <sup>c</sup>	0,1128
Okoń / Perch	0,1030 <sup>ab</sup>	0,0878
Karp / Carp	0,0434 <sup>a</sup>	0,0323
Pstrąg tęczowy / Rainbow trout	0,0429 <sup>a</sup>	0,0189
Ryby morskie / Marine fish	0,1419 <sup>B</sup>	0,0916
Ryby słodkowodne dziko żyjące Wild freshwater fish	0,1644 <sup>B</sup>	0,1148
Ryby słodkowodne hodowlane Fresh- water fish from aquaculture	0,0432 <sup>A</sup>	0,0268

Objaśnienia: / Explanatory notes:

$\bar{x}$  – wartość średnia / mean value; s / SD – odchylenie standardowe / standard deviation; wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy  $p \leq 0,05$ : a, b, c – pomiędzy gatunkami; A, B – pomiędzy środowiskami życia ryb / mean values denoted by different letters differ statistically significantly at  $p \leq 0,05$ : a, b, c – among species; A, B – among living environmental of fish.

W badaniach własnych, w mięśniach ocenianych gatunków nie stwierdzono przekroczenia dopuszczalnego limitu zawartości ołowiu, wynoszącego  $0,3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  ś.m., poza jedną próbką płoci, w której ołowiu było  $0,3437 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  ś.m.

Najnowsze badania wskazują na konieczność zaostrzenia limitów związanych z maksymalną podażą metali ciężkich z dietą. Opracowanie odmiennych limitów dla dorosłych i dla dzieci spowodowane jest znacznie większą wrażliwością dzieci na zanieczyszczenia żywności [29, 30]. W 2010 roku zastąpiono dawki PTWI (*Provisional Tolerable Weekly Intake*) najniższymi dawkami wyznaczającymi – BDML [4, 9, 15].

Tabela 2

Pobranie ołowiu przy spożyciu 100 g tkanki mięśniowej ocenianych gatunków ryb.  
Lead intake when consuming 100 g of muscle tissue of fish species analyzed.

Gatunek Species	Średnia dawka ołowiu w porcji o masie 100 g [ $\mu\text{g}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ ] Mean dose of lead in 100 g of meat [ $\mu\text{g}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ ]	BMDL <sub>01</sub> dla dzieci [μg/kg masy ciała/ dzień] BMDL <sub>01</sub> for children [μg/kg of body weight/day]	BMDL <sub>01</sub> dla dziecka o masie 35 kg [μg/dzień] BMDL <sub>01</sub> for 35 kg weigh- ing child [μg/child /day]	Pobranie ołowiu z porcji ryby o masie 100 g przez dziecko o masie 35 kg [ $\mu\text{g}\cdot\text{BMDL}_{01}$ ] Lead intake from portion of 100 g of fish by 35 kg weighing child [ $\mu\text{g}\cdot\text{BMDL}_{01}$ ]	BMDL <sub>10</sub> dla osoby dorosłej [μg/kg masy ciała/dzień] BMDL <sub>10</sub> for adult [μg/kg of body weight/day]	BMDL <sub>10</sub> dla osoby dorosłej o masie 70 kg [μg/osobę /dzień] BMDL <sub>10</sub> for 70 kg weigh- ing adult [μg/adult /day]	Pobranie ołowiu z porcji o masie 100 g przez osobę dorosłą o masie 70 kg [ $\mu\text{g}\cdot\text{BMDL}_{10}$ ] Lead intake from portion of 100 g of fish by 70 kg weighing 70 kg [ $\mu\text{g}\cdot\text{BMDL}_{10}$ ]	BMDL <sub>01</sub> dla osoby dorosłej [μg/kg masy ciała/dzień] BMDL <sub>01</sub> for adult [μg/kg of body weight/day]	BMDL <sub>01</sub> dla osoby dorosłej o masie 70 kg [μg/osobę/ dzień] BMDL <sub>01</sub> for adult of body weight 70 kg [μg/person/d ay]	Pobranie ołowiu z porcji o masie 100 gram przez osobę dorosłą o masie 70 kg [ $\mu\text{g}\cdot\text{BMDL}_{01}$ ] Intake of lead with a portion of 100 g of fish by adult of body weight 70 kg [ $\mu\text{g}\cdot\text{BMDL}_{01}$ ]
Dorsz Cod	11,71		66,91	26,55					11,15	
Sledź Herring	23,49		134,23	53,27					22,37	
Płoć Roach	21,45		122,57	48,64					20,43	
Okoń Perch	10,30	0,50	58,86	23,36	0,63	44,10		1,50	9,81	
Karp Carp	4,34		24,80	9,84					4,13	
Pstrąg tęczowy Rainbow trout	4,29		24,51	9,73					4,09	

W celu oszacowania zagrożenia związanego z podażą ołowiu w spożywanych rybach obliczono procentowe pokrycie dawki BMDL w 100-gramowej porcji mięsa ocenianych gatunków. W przypadku dziecka przyjęto masę 35 kg, natomiast osoby dorosłej – 70 kg (tab. 2). W zależności od gatunku ryby, porcja o masie 100 g pokryje od 24,51 do 134,23 % najniższej dawki wyznaczającej BMDL<sub>01</sub> dziecka

Dzienne limity spożycia ołowiu przez osoby dorosłe są wyższe – 100 g ryby w przypadku osoby dorosłej pokrywa od 9,73 do 53,27 % dawki w przypadku działania nefrotoksycznego (BMDL<sub>10</sub>) oraz od 4,09 do 22,37 % dawki w przypadku zaburzeń sercowo-naczyniowych (BMDL<sub>01</sub>). Tak więc bezpieczna ilość śledzia dla osoby dorosłej nie powinna przekraczać odpowiednio 180 g (BMDL<sub>10</sub>) i 440 g (BMDL<sub>01</sub>). W przypadku ryb z akwakultury wielkość porcji w przypadku omawianych dawek BMDL wynosi odpowiednio 1015 g i 2400 g.

Mimo że stwierdzona w badaniach własnych zawartość ołowiu w mięsie niektórych gatunków ryb była stosunkowo duża, ich mięso nie stanowi zagrożenia dla konsumentów. Według opinii Komitetu Naukowego ds. Żywności Komisji Europejskiej [23] do najistotniejszych pokarmowych źródeł ołowiu w diecie człowieka należą: warzywa i owoce, zboża oraz napoje.

## Wnioski

1. Stwierdzono istotny wpływ gatunku i środowiska życia na zawartość ołowiu w tkance mięśniowej ryb.
2. Najwięcej ołowiu zawierały mięśnie śledzi i płoci, najmniej – pstrągów tęczowych i karpia.
3. Istotnie najmniej ołowiu stwierdzono w mięśniach ryb z akwakultury (0,0432 mg·kg<sup>-1</sup> ś.m.). Mięśnie ryb morskich i słodkowodnych dziko żyjących zawierały natomiast zbliżoną zawartość ołowiu (odpowiednio 0,1419 i 0,1644 mg·kg<sup>-1</sup> ś.m.).
4. Na podstawie uzyskanych wyników można oszacować, że dla dzieci bezpieczna porcja (uwzględniając najniższe dawki wyznaczające BMDL<sub>01</sub>) mięsa śledzi i płoci nie powinna przekraczać odpowiednio 75 g i 82 g, dorsza – 150 g, okonia – 170 g, a karpia i pstrąga tęczowego – ponad 400 g.

## Literatura

- [1] Allen-Gil S.M., Martynov V.G.: Heavy metal burdens in nine species of freshwater and anadromous fish from the Pechora River, northern Russia. *Sci. Total Environ.*, 1995, **161**, 653-659.
- [2] AOAC. Official Methods of Analysis of the AOAC 986.15. Multi-element method. 17<sup>th</sup> ed. Arlington. Virginia USA. 2000.
- [3] Canpolat Ö., Calta M.: Heavy metals in some tissues and organs of *Capoeta capoeta umbla* (Heckel, 1843) fish species in relation to body size, age, sex and seasons. *Fresen Environ. Bull.*, 2003, **12 (9)**, 961-966.



- [4] Castro-González M.I., Méndez-Armenta M.: Heavy metals: Implications associated to fish consumption. *Environ. Toxicol. Pharm.*, 2008, **26**, 263-271.
- [5] Čelechovská O., Svobodová Z., Žlábek V., Macharáčková B.: Distribution of metals I tissues of the Common Carp (*Cyprinus carpio* L.). *Acta Vet. Brno*, 2007, **76**, 93-100.
- [6] Dobicki W., Polechoński R.: Relationship between growth age and heavy metal bioaccumulation by tissues of four species inhabiting Wojnowskie Lakes. *Acta Sci. Pol. - Piscaria*, 2003, **2**, 27-44.
- [7] Drag-Kozak E., Łuszczek-Trojnar E., Popek W.: Koncentracja metali ciężkich w tkankach i organach pstrąga tęczowego (*Oncorhynchus mykiss*) w zależności od wieku i sezonu. *Ochr. Środ. Zasobów Nat.*, 2011, **40**, 161-169.
- [8] Du Z-Y., Zhang J., Wang Ch., Li L., Man Q., Lundebye A-K., Froyland L.: Risk-benefit evaluation of fish from Chinese markets: Nutrients and contaminants in 24 fish species from five big cities and related assessment for human health. *Sci Total Environ*, 2012, **416**, 187-199.
- [9] EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM); Scientific Opinion on Lead in Food. *EFSA J.*, 2010, **8** (4).
- [10] Fallah A.A., Saei-Dehkordi S.S., Nematollahi A., Jafari T.: Comparative study of heavy metal and trace element accumulation in edible tissues of farmed and wild rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) using ICP-OES technique. *Microchem. J.*, 2011, **98**, 275-279.
- [11] Henry F., Amara R., Courcot L., Lacouture D., Bertho M.-L.: Heavy metals in four fish species from the French coast of the Eastern English Channel and Southern Bight of the North Sea. *Environ. Int.*, 2004, **30**, 675-683.
- [12] Łuczyńska J., Jaworski J., Markiewicz K.: Wybrane metale w tkance mięśniowej ryb z Jeziora Łąńskiego. *Kom. Ryb.*, 2000, **3**, 22-24.
- [13] Łuczyńska J., Markiewicz K., Jaworski J.: Interspecific differences in the concentrates of macro- and microelements in the muscle of six fish species from lakes of the Olsztyn lake district (north-east of Poland). *Pol. J. Food Nutr.*, 2006, **15/56**, **1**, 29-35.
- [14] Łuszczek-Trojnar E., Drag-Kozak E., Popek W.: Bioakumulacja metali ciężkich w wybranych tkankach karpia (*Cyprinus carpio* L.) pochodzącego ze stawów hodowlanych zasilanych wodą Rzeki Rudawy. *Ochr. Środ. Zasobów Nat.*, 2011, **47**, 112-120.
- [15] Mania M., Wojciechowska-Mazurek M., Starska K., Rebeniak M., Biernat U.: Nowe fakty o ołowiu w środkach spożywczych. *Przem. Spoż.*, 2011, **68**, 96-100.
- [16] Perkowska A., Protasowicki M.: Cadmium and lead in fishes and in selected elements of the Świdwie Lake ecosystem, *Acta Ichthyol. Piscat.*, 2000, **30** (2), 71-84.
- [17] Pieńkowska B., Hryszko K.: Rynek ryb. Stan i perspektywy. *Analizy rynkowe*. Wyd. IERiGŻ-PIB, 2013, **19**, 25-27.
- [18] Polak-Juszczak L.: Temporal trends in the bioaccumulation of trace metals in herring, sprat and cod from the southern Baltic Sea in the 1994 – 2003 period. *Chemosphere*, 2009, **76**, 1334-1339.
- [19] Protasowicki M., Ciereszko W., Perkowska A., Ciemniak A., Bochenek I., Brucka-Jastrzębska E.: Metale ciężkie i chlorowane węglowodory w niektórych gatunkach ryb z rzeki Odry. *Rocz. Ochr. Środ.*, 2007, **9**, 95-105.
- [20] Rajkowska M., Wechterowicz Z., Lidwin-Kaźmierkiewicz M., Pokorska K., Protasowicki M.: Accumulation of selected metals in roach (*Rutilus rutilus* L.) from West Pomeranian Lakes. *Ecol. Chem. Eng.*, 2008, **15**, 119-123.
- [21] Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1881/2006 z dnia 19 grudnia 2006 r. ustalające najwyższe dopuszczalne poziomy niektórych zanieczyszczeń w środkach spożywczych. *Dz. U. L* 364 z 20.12.2006, str. 5.
- [22] Saei-Dehkordi S.S., Fallah A.A.: Determination of copper, lead, cadmium and zinc in commercially valuable fish species from the Persian Gulf using derivative potentiometric stripping analysis. *Microchem. J.*, 2011, **98**, 156-162.

- [23] Sprawozdania Komitetu Naukowego ds. Żywności, seria 32, opinia Komitetu Naukowego ds. Żywności na temat: „Potencjalne zagrożenia dla zdrowia ludzkiego wynikające z obecności ołowiu w żywności i napojach”, str. 7-8, [http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/reports/scf\\_reports\\_32.pdf](http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/reports/scf_reports_32.pdf).
- [24] Staniskienė B., Matusėvicius P., Alvidas U.: Distribution of heavy metals in muscles of fish: Concentrations and change tendencies. *Environ. Res. Eng. Manag.*, 2009, **2**, **48**, 35-41.
- [25] STATSOFT Inc., Statistica, data analysis software system, ver. 6., 2003, [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com).
- [26] Szlinder-Richert J., Usydus Z., Malesa-Ciećwierz M., Polak-Juszczak L., Ruczyńska W.: Marine and farmed fish on the Polish market: Comparison of the nutritive value and human exposure to PCDD/Fs and other contaminants. *Chemosphere*, 2011, **85**, 1725-1733.
- [27] Tepe Y., Türkmen M., Türkmen A.: Assessment of heavy metals in two commercial fish species of four Turkish seas. *Environ. Monit. Assess.*, 2008, **146**, 277-284.
- [28] Tóth T., Andreji J., Tóth J., Slávik M., Árvay J., Stanovič R.: Cadmium, lead and mercury concentrations in fishes – case study. *J. Microbiol. Biotechnol. Food Sci.*, 2012, **1**, 837-847
- [29] Wang X.L., Sato T., Xing B.S., Tao S.: Health risks of heavy metals to the general public in Tianjin, China via consumption of vegetables and fish. *Sci. Total Environ.*, 2005, **350**, 28-37.
- [30] Zhao S., Feng Ch., Quan W., Chen X., Niu J., Shen Z.: Role of living environments in the accumulation characteristics of heavy metals in fishes and crabs in the Yangtze River Estuary, China. *Mar. Pollut. Bull.*, 2012, **64**, 1163-1171.

## IMPACT OF FISH SPECIES AND THEIR LIVING ENVIRONMENT ON CONCENTRATION OF LEAD AND ESTIMATED INTAKE THEREOF FROM MUSCLE TISSUE


### S u m m a r y

Fish and fish products are an important part of a balanced human diet. Despite the fact that fish have an excellent nutritional value, they can also be a source of heavy metals.

The objective of the research study was to determine the impact of species and living environment of fish on the concentration of lead in muscle tissue of fish, as well to estimate the lead intake from a 100 g portion of meat with reference to the benchmark dose lower confidence limit (BMDL) for children and adults.

The research study included the following six species of fish living in different environments: marine fish: herring and cod; wild freshwater fish: roach and perch; and aquaculture fish: rainbow trout and carp. The concentration of lead was determined by flameless atomic absorption spectrometry using a SpectrAA 880Z (Varian) spectrometer. A one-way analysis of variance was applied to analyze the results.

The significant impact was proved of species and living environment on the concentration of lead in muscle tissue of fish. The significantly ( $p < 0.05$ ) lowest concentration of Pb ( $0.0429 \text{ mg kg}^{-1}$ ) was determined in the muscles of fish from aquaculture. However, the muscles of marine and wild fresh water fish had a similar Pb concentration level (respectively,  $0.1419$  and  $0.1644 \text{ mg kg}^{-1}$ ). The highest concentration of lead was determined in the muscles of herring ( $0.2349 \text{ mg kg}^{-1}$ ) and roach ( $0.2145 \text{ mg kg}^{-1}$ ), and the lowest amount in the muscles of rainbow trout and carp (about  $0.043 \text{ mg kg}^{-1}$ ). It was estimated that a portion of herring and roach meat (as regards the to  $\text{BMDL}_{01}$ ) to be safe for children should not exceed 75 g and 82 g, respectively.

**Key words:** marine fish, freshwater fish, aquaculture fish, lead, BMDL 

JOANNA BARŁOWSKA, ANNA WOLANCIUK,  
MONIKA KĘDZIERSKA-MATYSEK, ZYGMUNT LITWIŃCZUK

## WPLYW SEZONU PRODUKCJI NA PODSTAWOWY SKŁAD CHEMICZNY ORAZ ZAWARTOŚĆ MAKRO- I MIKROELEMENTÓW W MLEKU KROWIM I KOZIM

### Streszczenie

Celem pracy było porównanie składu chemicznego i zawartości makro- i mikroelementów w mleku krowim i kozim z uwzględnieniem sezonu produkcji. Badaniami objęto 134 próby mleka pobranego od krów rasy simentalskiej i 168 prób od kóz bezrasowych o różnym umaszczeniu. Próby pobierano w sezonie wiosenno-letnim i jesienno-zimowym. W mleku oznaczono: zawartość tłuszczu, białka, kazeiny, laktozy, suchej masy i mocznika, kwasowość czynną (pH), liczbę komórek somatycznych oraz zawartość wybranych makro- (K, Ca, Na, Mg) i mikroelementów (Zn, Fe, Cu, Mn). Wykazano, że mleko krowie charakteryzowało się istotnie większą zawartością podstawowych składników. Zawierało więcej ( $p \leq 0,01$ ) suchej masy (o 0,96 %), białka (o 0,38 %), w tym kazeiny (o 0,17 %) i laktozy (o 0,40 %), a także ( $p \leq 0,05$ ) tłuszczu (o 0,27 %). Mleko kozie było natomiast cenniejszym ( $p \leq 0,01$ ) źródłem K, Ca, Fe, Cu i Mn. Sezon produkcji był istotnym czynnikiem różnicującym wydajność i zawartość podstawowych składników mleka. Kozy produkowały istotnie ( $p \leq 0,01$ ) więcej mleka w sezonie wiosenno-letnim, natomiast większa zawartość jego podstawowych składników była w sezonie jesienno-zimowym. W przypadku krów sezon produkcji miał istotny wpływ jedynie na wydajność dobową (większa w sezonie wiosenno-letnim). Pod względem cytologicznym jakość mleka obu gatunków była niższa w sezonie jesienno-zimowym. Mleko krowie zawierało istotnie więcej składników mineralnych (z wyjątkiem miedzi) w sezonie wiosenno-letnim. Takich jednoznacznych tendencji nie stwierdzono w mleku kozim.

**Słowa kluczowe:** mleko krowie, mleko kozie, skład chemiczny, makro- i mikroelementy, sezon produkcji

### Wprowadzenie

Zarówno w Polsce, jak i na świecie dominuje produkcja i spożycie mleka krowiego. W 2011 r. jego krajowa produkcja wynosiła 12,4 mln ton, podczas gdy mleka koziego zaledwie 19,8 tys. ton [12]. Jednak można zauważyć wzrost zainteresowania

---

*Prof. dr hab. inż. J. Barłowska, mgr A. Wolanciuł, dr inż. M. Kędzińska-Matysek, Katedra Towaroznawstwa i Przetwórstwa Surowców Zwierzęcych, prof. dr hab. Z. Litwińczuk, Katedra Hodowli i Ochrony Zasobów Genetycznych Bydła, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin*

mlekiem kozim. Dzięki unikatowym właściwościom (m.in. większa strawność, wyższa pojemność buforowa) zdobywa ono coraz większe uznanie w oczach konsumentów [23].

Skład chemiczny mleka, zarówno krowiego, jak i koziego jest zmienny i zależny od wielu czynników, m.in. genetycznych (rasa), środowiskowych (żywienie, pora roku) i fizjologicznych (faza laktacji, stan zdrowotny wymienia) [2, 4, 11, 15, 16, 18, 19].

Mleko jest ważnym źródłem składników mineralnych, m.in. wapnia, fosforu, sodu, potasu, chloru, jodu, magnezu. Zawiera także niewielką ilość żelaza. W diecie Europejczyka mleko jest głównym źródłem wapnia, a jego duża biodostępność jest ściśle skorelowana z większą zawartością kazeiny [14]. Mleko kozie może być składnikiem diety korzystnym dla konsumentów z zespołem złego wchłaniania, ponieważ retencja składników z mleka koziego jest lepsza w porównaniu z krowim. Rutherford i wsp. [25] stwierdzili, że dodatek mleka koziego do diety przysięł powodował lepszą absorpcję wapnia, magnezu i fosforu w stosunku do suplementacji diety mlekiem krowim. Fakt ten można też odnieść do organizmu ludzkiego, gdyż badania kliniczne wskazują, że jest on najbardziej zbliżony pod względem wielkości narządów i ich wydolności fizjologicznej do tego gatunku zwierząt [26, 27]. Mleko kozie może być zatem cennym surowcem do produkcji żywności przeznaczonej dla niemowląt i osób starszych a także w odniesieniu do niektórych grup ludności o szczególnych potrzebach żywieniowych [9, 17].

Celem pracy było porównanie składu chemicznego mleka krowiego i koziego oraz zawartości w nim makro- i mikroelementów z uwzględnieniem sezonu produkcji.

### **Materiał i metody badań**

Materiałem doświadczalnym były 134 próby mleka pobieranego od krów rasy simentalskiej (58 – sezon wiosenno-letni i 76 – jesienno-zimowy) i 168 od kóz bezrasowych (nieznane pochodzenie) o różnym umaszczeniu (82 – sezon wiosenno-letni i 86 – jesienno-zimowy). Zwierzęta obydwu gatunków utrzymywano w rejonie Podkarpacia: krowy w 3 gospodarstwach, a kozy – w 4. Próby pobierano w dwóch sezonach produkcyjnych: wiosenno-letnim (V-VI) i jesienno-zimowym (XI-XII). Zwracano uwagę, aby mleko pochodziło od zwierząt ze zdrowym gruczołem mlekowym. W sezonie wiosenno-letnim zwierzęta żywiono głównie zielonką pastwiskową i dodatkiem siana lub słomy. W sezonie jesienno-zimowym podstawą żywienia były sianokiszonka i siano. Uzupełnieniem dawki pokarmowej była pasza treściwa w postaci śruty zbożowej. Z każdego gospodarstwa pobierano próby zielonki pastwiskowej i oznaczano w nich zawartość składników mineralnych.

W mleku oznaczano zawartość tłuszczu, białka, laktozy i suchej masy aparatem Infrared Milk Analyzer [35], procentowy udział kazeiny – metodą Walkera wg

PN-A-86122:1968P [33], kwasowość czynną (pH) za pomocą pehametru Pioneer 65 firmy Radiometer Analytical, liczbę komórek somatycznych (LKS) przy użyciu aparatu Somacount [34] oraz zawartość mocznika aparatem ChemSpec 150 (zmodyfikowana reakcja enzymatyczna Berthelota).

Oznaczano również zawartość wybranych makro- i mikroelementów. Pobrane próbki mleka poddawano mineralizacji ciśnieniowej „na mokro” (z wykorzystaniem 65-procentowego kwasu azotowego spektralnie czystego i kwasu solnego) w piecu mikrofalowym MARS. W zmineralizowanych próbkach oznaczano zawartość makro- (Na, K, Ca, Mg) i mikroelementów (Zn, Cu, Mn, Fe) metodą płomieniowej i bezpłomieniowej spektrometrii absorpcji atomowej z wykorzystaniem spektrometrów firmy Varian: AA 240FS oraz AA 240Z. Dokładność i precyzję zastosowanych metod potwierdzano na podstawie analiz materiału odniesienia NCS zc73015 Milk Powder.

Dane dotyczące dobowej wydajności krów, od których pobierano próby, uzyskano z dokumentacji hodowlanej prowadzonej przez Polską Federację Hodowców Bydła i Producentów Mleka (raporty RW-2). Wydajność dobową kóz określano ważąc całość pozyskanego mleka z udoju rannego i wieczornego.

Wyniki opracowano statystycznie za pomocą programu StatSoft Inc. Statistica ver. 6 [29], wykorzystując jedno- i dwuczynnikową analizę wariancji (z interakcją), wyróżniając jako źródło zmienności gatunek zwierząt oraz sezon produkcji. Istotność różnic pomiędzy średnimi wartościami poszczególnych czynników wyznaczano testem NIR Fishera.

## Wyniki i dyskusja

Wykazano, że w pobranych próbach zielonki pastwiskowej średnia zawartość makroelementów wynosiła odpowiednio: K – 3,17 g/kg, Ca – 0,33 g/kg, Mg – 0,18 g/kg, Na – 0,02 g/kg, a mikroelementów: Zn – 28,5 mg/kg, Cu – 6,90 mg/kg, Fe – 69,78 mg/kg i Mn – 96,78 mg/kg.

Oceniane mleko krowie, w porównaniu z kozim, charakteryzowało się istotnie większą zawartością wszystkich analizowanych składników (tab. 1). Zawierało ono bowiem więcej ( $p \leq 0,01$ ) suchej masy (o 0,96 %), białka (o 0,38 %), w tym kazeiny (o 0,17 %) i laktozy (o 0,40 %), a także ( $p \leq 0,05$ ) tłuszczu (o 0,27 %). Soliman [28] porównał skład chemiczny mleka różnych gatunków zwierząt i również wykazał, że mleko krowie zawiera więcej składników suchej masy w porównaniu z mlekiem kozim (odpowiednio: 13,30 i 12,62 %), tłuszczu (4,14 i 4,04 %) oraz laktozy (4,70 i 4,27 %). Podobne wyniki uzyskali także Mahmood i Usman [20].

Udział kazeiny w białku ogólnym był nieco wyższy w mleku kozim (80,4 vs 77,15 %), a proporcja białka do tłuszczu – w mleku krowim (0,87 vs 0,85). Wykazane różnice były jednak statystycznie nieistotne.

Tabela 1

Wydajność dobową, skład chemiczny i jakość cytologiczną mleka krowiego i koziego.  
Daily yield, chemical composition, and cytological quality of cow's and goat's milk.

Wyszczególnienie Specification		Mleko krowie Cow's milk			Mleko kozie Goat's milk			Interakcja gatunek x sezon Interaction of species x season
		Sezon wiosenno- letni Spring- summer season	Sezon jesiennie- zimowy Autumn- winter season	$\bar{x}$	Sezon wiosenno- letni Spring- summer season	Sezon jesiennie- zimowy Autumn- winter season	$\bar{x}$	
n		58	76	134	82	86	168	
Wydajność dobowa Daily yield [kg]	$\bar{x}$ SD	20,92 <sup>B</sup> 6,56	13,79 <sup>A</sup> 3,75	16,88 <sup>Y</sup> 6,23	2,17 <sup>B</sup> 1,05	1,21 <sup>A</sup> 0,70	1,68 <sup>X</sup> 1,01	***
pH pH value	$\bar{x}$ SD	6,73 0,04	6,72 0,0	6,72 <sup>Y</sup> 0,05	6,51 <sup>A</sup> 0,22	6,73 <sup>B</sup> 0,14	6,63 <sup>X</sup> 0,21	***
Białko Protein [%]	$\bar{x}$ SD	3,54 0,38	3,39 0,32	3,46 <sup>Y</sup> 0,35	2,92 <sup>A</sup> 0,48	3,24 <sup>B</sup> 0,47	3,08 <sup>X</sup> 0,50	***
Kazeina Casein [%]	$\bar{x}$ SD	2,69 0,28	2,61 0,31	2,65 <sup>Y</sup> 0,30	2,36 <sup>A</sup> 0,32	2,60 <sup>B</sup> 0,35	2,48 <sup>X</sup> 0,36	***
Udział kazeiny Percent content of casein [%]	$\bar{x}$ SD	76,58 9,05	77,58 9,53	77,15 9,27	81,67 11,42	79,06 12,13	80,40 11,80	ns
Tłuszcz Fat [%]	$\bar{x}$ SD	3,97 0,42	4,03 0,36	4,00 <sup>y</sup> 0,38	3,54 <sup>A</sup> 0,86	3,92 <sup>B</sup> 0,83	3,73 <sup>x</sup> 0,87	ns
B/T Protein to fat ratio	$\bar{x}$ SD	0,90 <sup>b</sup> 0,08	0,85 <sup>a</sup> 0,07	0,87 0,08	0,86 0,18	0,85 0,15	0,85 0,17	ns
Laktoza Lactose [%]	$\bar{x}$ SD	4,72 0,32	4,85 0,25	4,79 <sup>Y</sup> 0,29	4,32 <sup>a</sup> 0,435	4,46 <sup>b</sup> 0,37	4,39 <sup>X</sup> 0,37	ns
Sucha masa Dry matter [%]	$\bar{x}$ SD	12,92 0,76	12,92 0,66	12,92 <sup>Y</sup> 0,70	11,66 <sup>a</sup> 1,74	12,28 <sup>b</sup> 1,50	11,96 <sup>X</sup> 1,65	ns
Mocznik Urea [mg/l]	$\bar{x}$ SD	320,86 <sup>B</sup> 62,03	179,86 <sup>A</sup> 62,03	240,84 <sup>X</sup> 92,85	360,82 114,75	366,78 102,59	363,80 <sup>Y</sup> 108,57	***
LKS [tys./ml]	$\bar{x}$ SD	135,16 155,48	152,61 176,07	145,20 <sup>X</sup> 166,63	661,41 <sup>A</sup> 884,25	1468,51 <sup>B</sup> 1258,42	1067,64 <sup>Y</sup> 1158,22	**

Objaśnienia: / Explanatory notes:

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

A, B – różnice między wartościami średnimi parametrów z uwzględnieniem sezonu w obrębie gatunku statystycznie istotne przy  $p \leq 0,01$ ; a, b – istotne przy  $p \leq 0,05$  / A, B – differences among season-dependent mean values within one species are statistically significant at  $p \leq 0.01$ ; a, b – significant at  $p \leq 0.05$ ;

X, Y – różnice między wartościami średnimi parametrów z uwzględnieniem gatunku statystycznie istotne przy  $p \leq 0,01$ ; interakcja czynników: \* – statystycznie istotna przy  $p \leq 0,05$ ; \*\*\* – istotna przy  $p \leq 0,001$ , ns – nieistotna / X, Y – differences among species-dependent mean values are statistically significant at  $p \leq 0.01$ ; interaction of factors: \* - statistically significant at  $p \leq 0.05$ ; \*\*\* - significant at  $p \leq 0.001$ ; ns - insignificant;

Mleko kozie zawierało istotnie ( $p \leq 0,01$ ) więcej mocznika (363,8 mg/l) niż krowie (240,8 mg/l), podobnie jak w badaniach Prosser i wsp. [24]. Mleko krowie charakteryzowało się istotnie ( $p \leq 0,01$ ) wyższą kwasowością czynną (6,72 vs 6,63). Ze wcześniejszych badań Barłowskiej i wsp. [4] wynika, że pH mleka koziego wahało się od 6,47 do 6,73. Zawierało ono także ponad 7-krotnie więcej ( $p \leq 0,01$ ) komórek somatycznych (LKS) niż krowie, co prawdopodobnie związane jest m.in. z fizjologią wydzielania mleka, tzn. w sposób apokrynowy. Przy tym sposobie wydzielania dochodzi do zniszczenia komórek mlekotwórczych, a zniszczone fragmenty przedostają się do światła pęcherzyków mlekotwórczych. Jest to system wydzielania mleka całkowicie odmienny od merokrynowego, charakterystycznego dla owiec i bydła [10, 22].

Sezon produkcji był istotnym czynnikiem różnicującym wydajność zarówno krów, jak i kóz (tab. 1). Zwierzęta obu gatunków produkowały istotnie ( $p \leq 0,01$ ) więcej mleka w sezonie wiosenno-letnim. U krów decydującym czynnikiem różnicującym wydajność mleczną w systemie żywienia tradycyjnego są sezonowe różnice w jakości pasz. Główną paszą w sezonie letnim jest młoda zielonka pastwiskowa bogata w białko, która zwiększa wydajność mleka [1]. U kóz natomiast wyższa wydajność mleczna w sezonie wiosenno-letnim, obok jakości paszy, związana jest także z początkową fazą laktacji, która u tych zwierząt przypada z reguły na wiosnę. Potwierdzają to wcześniejsze badania Barłowskiej i wsp. [3].

Sezon produkcji był także istotnym czynnikiem różnicującym zawartość podstawowych składników mleka koziego. Większa ich zawartość była w sezonie jesienno-zimowym, czyli pod koniec laktacji (tab. 1). Autorzy [7, 21, 31] potwierdzają, że pod koniec laktacji kóz następuje zmniejszenie produkcji mleka, przy jednoczesnym zwiększeniu w nim koncentracji podstawowych składników. Norris i wsp. [21] analizowali wpływ sezonu na produktywność kóz i wykazali większą (o 0,22 kg) wydajność dobową mleka w sezonie wiosennym (marzec/kwiecień) w porównaniu z jesiennym (październik/listopad). W sezonie jesiennym kozy produkowały natomiast mleko o wyższej koncentracji składników, tzn. białka (o 0,12 %) i tłuszczu (o 0,20 %).

Pod względem cytologicznym jakość mleka obu gatunków była niższa w sezonie jesienno-zimowym, przy czym w mleku kozim wzrost liczby komórek somatycznych



był ponad dwukrotny w porównaniu z sezonem wiosenno-letnim. Związane to było prawdopodobnie również z fazą laktacji. W końcowym jej okresie następuje ograniczenie produkcji mleka, a tym samym wzrost koncentracji komórek somatycznych. Barłowska i wsp. [3] analizowali zawartość komórek somatycznych w mleku pozyskiwanym od kóz utrzymywanych w gospodarstwach ekologicznych i konwencjonalnych i stwierdzili, że ich liczba w mleku wzrastała istotnie ( $p \leq 0,01$ ) wraz z upływem laktacji, niezależnie od rodzaju gospodarstwa. Obniżenie jakości cytologicznej mleka koziego wraz z postępem laktacji wykazali również Vacca i wsp. [32].

Tabela 2

Zawartość makro- i mikroelementów w mleku krowim i kozim.  
Content of macro- and microelements in cow's and goat's milk.

Wyszczególnienie Specification		Mleko krowie Cow's milk			Mleko kozie Goat's milk			Interakcja gatunek x sezon Interaction of species x season
		Sezon wiosenno- letni Spring- summer season	Sezon jesiennie- zimowy Autumn- winter season	Łącznie Total	Sezon wiosenno- letni Spring- summer season	Sezon jesiennie- zimowy Autumn- winter season	Łącznie Total	
n		58	76	134	82	86	168	
K [mg/l]	$\bar{x}$	1124,23	1088,93	1004,21 <sup>X</sup>	2013,92 <sup>B</sup>	1783,57 <sup>A</sup>	1896,00 <sup>Y</sup>	ns
	SD	195,31	117,75	155,78	224,93	287,27	282,63	
Ca [mg/l]	$\bar{x}$	1010,08 <sup>B</sup>	859,20 <sup>A</sup>	924,57 <sup>X</sup>	978,54 <sup>A</sup>	1282,48 <sup>B</sup>	1134,13 <sup>Y</sup>	**
	SD	148,94	203,31	195,62	185,71	433,34	368,14	
Na [mg/l]	$\bar{x}$	402,03 <sup>B</sup>	309,64 <sup>A</sup>	349,63	295,50 <sup>A</sup>	392,02 <sup>B</sup>	344,91	***
	SD	119,37	65,49	102,84	65,27	179,31	144,13	
Mg [mg/l]	$\bar{x}$	127,09	124,19	125,45	109,44 <sup>A</sup>	142,63 <sup>B</sup>	126,43	***
	SD	29,32	55,49	45,75	17,49	39,27	34,79	
Zn [mg/l]	$\bar{x}$	8,02 <sup>B</sup>	5,58 <sup>A</sup>	6,64 <sup>Y</sup>	2,97	2,71	2,84 <sup>X</sup>	***
	SD	2,18	1,50	2,18	1,40	0,99	1,21	
Fe [mg/l]	$\bar{x}$	0,55 <sup>B</sup>	0,26 <sup>A</sup>	0,39 <sup>X</sup>	0,61	0,68	0,65 <sup>Y</sup>	ns
	SD	0,14	0,13	0,14	0,39	0,25	0,33	
Cu [mg/l]	$\bar{x}$	0,027 <sup>A</sup>	0,047 <sup>B</sup>	0,038 <sup>X</sup>	0,112 <sup>A</sup>	0,136 <sup>B</sup>	0,125 <sup>Y</sup>	ns
	SD	0,015	0,022	0,022	0,081	0,062	0,073	
Mn [mg/l]	$\bar{x}$	0,027	0,029	0,028 <sup>X</sup>	0,096 <sup>B</sup>	0,073 <sup>A</sup>	0,084 <sup>Y</sup>	*
	SD	0,037	0,027	0,032	0,046	0,048	0,048	

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

Mleko kozie było cenniejszym źródłem potasu, wapnia, żelaza, miedzi i manganu niż mleko krowie ( $p \leq 0,01$ ) (tab. 2). Z kolei mleko krowie charakteryzowało się istot-

nie ( $p \leq 0,01$ ) większą zawartością cynku (6,64 mg/l vs 2,84 mg/l). Nie stwierdzono natomiast różnic międzygatunkowych odnośnie do zawartości sodu i magnezu. Belewu i Aiyegbusi [6] porównali mleko ludzkie, krowie i kozie i wskazali również na wyższą koncentrację składników mineralnych w mleku kozim, w tym również cynku. Z kolei Ceballos i wsp. [9] podają zbliżone wartości stężenia tego pierwiastka w przypadku obu gatunków (0,528 mg/100 g w mleku kozim i 0,463 mg/100 g w mleku krowim), natomiast znacznie większą zawartość miedzi (0,042 mg/100 g, 0,014 mg/100 g) oraz prawie dwukrotnie wyższą żelaza (0,15 mg/100 g do 0,09 mg/100 g) w mleku kozim w porównaniu z krowim.

Strzałkowska i wsp. [30] przeanalizowali zawartość składników mineralnych w mleku kóz rasy polskiej białej uszlachetnionej i wykazali zbliżone do uzyskanych w badaniach własnych zawartości wapnia (115 mg/100 ml), a mniejsze: magnezu (10 mg/100 ml), sodu (135,13 mg/100 ml) i potasu (135 mg/100 ml). Soliman [28] uzyskał zbliżone wartości stężenia żelaza i cynku w mleku krów i kóz, odpowiednio: Fe – 0,07 i 0,06 mg/100 g oraz Zn – 0,38 i 0,32 mg/100 g. Wykazał jednak znacznie większą (podobnie jak w badaniach własnych) zawartość manganu w mleku kozim (0,0138 mg/100 g vs 0,0037 mg/100 g) i miedzi (0,040 mg/100 g vs 0,017 mg/100 g) w porównaniu z krowim. Brodziak i wsp. [8] podają wartości zbliżone do uzyskanych w badaniach własnych, stężenia wapnia (1022,5 mg/l) i magnezu (134,0 mg/l) w mleku krów rasy simentalskiej żywionych w systemie intensywnym (TMR).

Sezon produkcji miał istotny wpływ na zawartość większości ocenianych składników mineralnych (tab. 2). W mleku krowim stwierdzono większą zawartość analizowanych pierwiastków (z wyjątkiem miedzi) w sezonie wiosenno-letnim. Takich jednoznacznych tendencji nie stwierdzono w mleku kozim. Zawartość wapnia i magnezu była z reguły większa w mleku bogatszym w białko, w tym w kazeinę (niezależnie od gatunku). Znajduje to potwierdzenie w wynikach badań Gaucherona [14], który wykazał, że stężenie wapnia w mleku jest skorelowane z zawartością białka. Około 95 % kazeiny obecnej w mleku występuje w formie miceli [13]. Barłowska i wsp. [5] podają, że wapń związany z kazeiną (zarówno jego forma organiczna, jak i mineralna) charakteryzuje się dużą dostępnością i przyswajalnością w czasie trawienia mleka.

W układzie analizy dwuczynnikowej stwierdzono istotne ( $p \leq 0,001$ ) dla większości analizowanych cech interakcje (gatunek  $\times$  sezon produkcji), m.in. w odniesieniu do wydajności dobowej, kwasowości czynnej, zawartości białka ogólnego, kazeiny, mocznika, Na, Mg i Zn oraz zawartości komórek somatycznych i Ca ( $p \leq 0,01$ ), a także zawartości manganu ( $p \leq 0,05$ ) – tab. 1 i 2.

## Wnioski

1. Mleko krowie charakteryzowało się istotnie ( $p \leq 0,01$  i  $p \leq 0,05$ ) większą zawartością wszystkich podstawowych składników, natomiast kozie – nieistotnie wyższym udziałem kazeiny w białku ogólnym.
2. Mleko kozie było bogatszym źródłem makro- i mikroelementów, szczególnie K, Ca, Fe, Cu i Mn.
3. Sezon produkcji różnicował w większym stopniu podstawowy skład chemiczny mleka koziego niż krowiego.
4. Większą zawartość analizowanych pierwiastków w mleku krowim (z wyjątkiem miedzi) stwierdzono w sezonie wiosenno-letnim. W mleku kozim istotnie większą zawartość K i Mn wykazano w sezonie wiosenno-letnim, a Ca, Na, Mg i Cu – w jesienno-zimowym.
5. Pod względem cytologicznym jakość mleka obu gatunków była niższa w sezonie jesienno-zimowym.

*Praca wykonana w ramach projektu badawczego nr N N311 633838 finansowanego przez NCN.*

## Literatura

- [1] Auldred M.J., Marett L.C., Greenwood J.S., Hannah M., Jacobs J.L., Wales J.: Effects of different strategies for feeding supplements on milk production responses in cows grazing a restricted pasture allowance. *J. Dairy Sci.*, 2013, **96** (2), 1218-1231.
- [2] Barłowska J., Litwińczuk Z., Kędzierska-Matysek M., Litwińczuk A.: Polymorphism of caprine milk  $\alpha_1$ -casein in relation to performance of four Polish goat breeds. *Pol. J. Vet. Sci.*, 2007, **10**(3), 159-164.
- [3] Barłowska J., Litwińczuk Z., Wolanciuk A., Szmatola T.: Nutrition value and technological suitability of caprine milk produced in organic and conventional farms. *Ital. J. Food Sci.*, 2013, **25** (1), 105-108.
- [4] Barłowska J., Szwajkowska M., Litwińczuk Z., Grodzicki T., Wolanciuk A.: Właściwości fizykochemiczne i przydatność technologiczna mleka kóz różnych ras z uwzględnieniem sezonu produkcji. *Towaroznawstwo w zapewnieniu jakości żywności i bezpieczeństwa konsumenta. Zesz. Nauk. UE w Poznaniu*, 2011, **169**, 188-195.
- [5] Barłowska J., Szwajkowska M., Litwińczuk Z., Król J.: Nutritional value and technological suitability of milk from various animal species used for dairy production. *Compr. Rev. Food Sci. F.*, 2011, **10** (6), 291-302.
- [6] Belewu M.A., Aiyegbusi O.F.: Comparison of the mineral content and apparent biological value of milk from human, cow and goat. *J. Food Tech. Af.*, 2002, **7** (1), 9-11.
- [7] Bernacka, H.: Effect of breed and feeding season on the nutritive quality of goat's milk. *Folia Biol.*, 2005, **53** (1), 99-102.
- [8] Brodziak A., Litwińczuk A., Kędzierska-Matysek M., Król J.: Zawartość wybranych makro- i mikroelementów w mleku krów różnych ras i serwatce podpuszczkowej. *Ochr. Środ. i Zasob. Natur.*, 2011, **48**, 467-474.


- [9] Ceballos, L.S., Morales, E.R., de la Torre Adarve, G., Castro, J.D., Martínez, L.P., Sampelayo, R.S.: Composition of goat and cow milk produced under similar conditions and analyzed by identical methodology. *J. Food Compos. Anal.*, 2009, **22** (4), 322-329.
- [10] Danków R., Cais-Sokolińska D., Pikul J., Wójtowski J.: Jakość cytologiczna mleka koziego. *Med. Weter.*, 2003, **59** (1), 77-80.
- [11] Elgersma A., Ellen G., van der Horst H., Boer H., Dekker P.R., Tamminga S.: Quick changes in milk fat composition from cows after transition from fresh grass to a silage diet. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2004, **117**, 13-27.
- [12] FAOSTAT, 2013, Food and Agriculture Organization of The United Nations, Statistics Division, <http://faostat.fao.org>
- [13] Fox P.F., McSweeney P.L.H.: *Dairy Chemistry and Biochemistry*. Blackie Academic & Professional, London, UK, 1998.
- [14] Gaucheron F.: The minerals of milk. *Reprod. Nutr. Dev.*, 2005, **45** (4), 473-483.
- [15] Jasińska M., Dmytrów I., Mituniewicz-Malek A., Wąsik K.: Cow feeding system versus milk utility for yoghurt manufacture. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 2010, **9** (2), 189-199.
- [16] Klebaniuk R., Kowalczyk E., Kochman G., Patkowski K., Łechtańska M.: Effect of goat nutrition on milk yield, its chemical composition and fatty acid profile of fat. *Ann UMCS Sect EE*, 2008, **XXVI**, 1-9.
- [17] Kondyli E., Katsiari M.C., Voutsinas L.P.: Variations of vitamin and mineral contents in raw goat milk of the indigenous Greek breed during lactation. *Food Chem.*, 2007, **100** (1), 226-230.
- [18] Kudelka W.: The chemical composition of raw goat milk during their lactation. *Milchwissenschaft*, 2005, **2** (60), 137-139.
- [19] Litwińczuk A., Kędzierska-Matysek M., Barłowska J.: Wydajność i jakość mleka kóz o różnych genotypach  $\alpha S_1$ -kazeiny z rejonu Wielkopolski i Podkarpacia. *Med. Weter.*, 2007, **63** (2), 192-195.
- [20] Mahmood A., Usman S.A.: Comparative study on the physicochemical parameters of milk samples collected from buffalo, cow, goat and sheep of Gujrat, Pakistan. *Pakistan J. Nutr.*, 2010, **9** (12), 1192-1197.
- [21] Norris D., Ngambi J.W., Benyi K., Mbajjorgu C.A.: Milk production of three exotic dairy goat genotypes in limpopo province. *Asian J. Anim. Vet. Adv.*, 2011, **6** (3), 274-281.
- [22] Olechnowicz J., Jaśkowski J.M.: Komórki somatyczne mleka koziego. *Med. Weter.*, 2004, **60** (12), 1263-1266.
- [23] Park Y.W., Juarez M., Ramos M., Haenlein G.F.W.: Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Res.*, 2007, **68**, 88-113.
- [24] Prosser C.G., McLaren R.D., Frost D., Agnew M., Lowry D.J.: Composition of the non-protein nitrogen fraction of goat whole milk powder and goat milk-based infant and follow-on formulae. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 2008, **59**(2), 123-133.
- [25] Rutherford S.M., Darragh A.J., Hendriks W.H., Prosser C.G., Lowry D.: Mineral retention in three-week-old piglets fed goat and cow milk infant formulas. *J. Dairy Sci.*, 2006, **89** (12), 4520-4526.
- [26] Smoraż Z., Słomski R., Jura J., Lipiński D., Skrzyszowska M.: Transgeniczne świny jako dawcy tkanek i narządów do transplantacji u ludzi. *Przegl. Hod.*, 2011, **11**, 1-4.
- [27] Smoraż Z., Słomski R.: Ksenotransplantacja – możliwości i ograniczenia. *Nauka*, 2005, **4**, 133-148.
- [28] Soliman G.Z.A.: Comparison of chemical and mineral content of milk from human, cow, buffalo, camel and goat in Egypt. *Egypt J. Hosp. Med.*, 2005, **21**, 116-130.
- [29] STATSOFT Inc., STATISTICA, data analysis software system, ver. 6., 2003, [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com).
- [30] Strzałkowska N., Bagnicka E., Józwick A., Krzyżewski J.: Macro- and micro-elements' concentration in goat milk during lactation. *Züchtungskunde*, 2008, **80** (5), 404-411.

- [31] Strzałkowska N., Jóźwik A., Bagnicka E., Krzyżewski J., Horbańczuk K., Pyzel B., Horbańczuk J.O.: Chemical composition, physical traits and fatty acid profile of goat milk as related to the stage of lactation. *Anim. Sci. Pap. Rep.*, 2009, **27** (4), 311-320.
- [32] Vacca G.M., Dettori M.L., Carcangiu V., Rocchigiani A.M., Pazzola M.: Relationships between milk characteristics and somatic cell score in milk from primiparous browsing goats. *Anim. Sci. J.*, 2010, **81** (5), 594-599.
- [33] PN ISO 2446:2002P. Mleka oznaczenie zawartości tłuszczu (metoda rutynowa).
- [34] PN-EN ISO 13366-2:2007. Mleko. Oznaczanie liczby komórek somatycznych. Część 2: Przewodnik obsługi liczników fluoro-opto-elektronicznych.
- [35] PN-ISO 9622:2006. Mleko pełne. Oznaczanie zawartości tłuszczu mlecznego, białka i laktozy. Wytyczne dotyczące obsługi analizatorów w zakresie średniej podczerwieni.

## EFFECT OF PRODUCTION SEASON ON BASIC CHEMICAL COMPOSITION AND CONTENT OF MACRO- AND MICROELEMENTS IN COW'S AND GOAT'S MILK

### Summary

The objective of the research study was to compare the chemical composition and content of macro- and microelements in cow's and goat's milk taking with emphasis on the production season. The research involved 134 milk samples collected from Simmental cows and 168 from differently coloured goats of no breed. The samples were collected in a spring-summer and autumn-winter season. In the milk analyzed, the following was determined: contents of fat, protein, casein, lactose, dry matter and urea, as well as active acidity (pH value), somatic cell count, and content of selected macro- (K, Ca, Na, Mg) and microelements (Zn, Fe, Cu, Mn). It was shown that the cow's milk was characterised by a significantly higher content of basic components. It contained higher amounts (at  $p \leq 0.01$ ) of dry matter (by 0.96 %), protein (by 0.38 %) including casein (by 0.17 %), and lactose (by 0.40 %), as well as more fat (by 0.27 % at  $p \leq 0.05$ ). However, the goat's milk proved to be a more valuable ( $p \leq 0.01$ ) source of K, Ca, Fe, Cu, and Mn. The production season was a significant factor to differentiate the milk yield and the content of basic components. The goats produced significantly ( $p \leq 0.01$ ) more milk in the spring-summer season; however, the content of major milk components was higher in the autumn-winter season. In the case of cows, the production season had a significant effect solely on the daily yield (higher in the spring-summer season). As regards cytology, the quality of milk from the two species was lower in the autumn-winter season. The cow's milk contained significantly more mineral elements (except for copper) in the spring-summer season. Such unequivocal tendencies were not found in the goat's milk.

**Key words:** cow's milk, goat's milk, chemical composition, macro- and microelements, production season 

MARIOLA KOZŁOWSKA, ANNA ŻBIKOWSKA

## WPLYW DODATKU EKSTRAKTÓW Z PRZYPRAW NA JAKOŚĆ I TRWAŁOŚĆ KRAKERSÓW

### Streszczenie

Wykonano laboratoryjny wypiek krakersów z dodatkiem ekstraktów z przypraw w ilości 0,02 i 0,2 % w stosunku do masy dodanego tłuszczu. Równocześnie wypieczono krakersy bez udziału przypraw (próba kontrolna). Gotowe produkty oceniono sensorycznie oraz zmierzono ich barwę. Ponadto, w odstępach 7-dniowych określano zmiany oksydacyjne frakcji lipidowych ekstrahowanych z ciastek bezpośrednio po wypieku oraz w ciągu 28 dni ich termostatowania (temp. 60 °C). Postęp tych zmian śledzono, oznaczając liczbę nadtlenkową i anizydynową oraz obliczając wskaźnik Totox. Dodatek przypraw w różnym stopniu wpłynął na jakość sensoryczną krakersów i barwę mierzoną metodą odbiciową. Za najlepsze pod tym względem uznano wyroby z 0,2-procentowym dodatkiem ekstraktu z oregano. Stwierdzono, że ekstrakty z tymianku najefektywniej zabezpieczały frakcję lipidową krakersów przed procesami oksydacji zarówno na etapie powstawania pierwotnych, jak i wtórnych produktów utlenienia.

**Słowa kluczowe:** krakersy, ekstrakty z przypraw, jakość sensoryczna, właściwości przeciwutleniające, utlenianie tłuszczów

### Wprowadzenie

O dobrej jakości wyrobów ciastkarskich m.in. krakersów świadczy ich wysoka jakość sensoryczna. Składają się na nią m.in. wyróżniki tekstury (kruchość i chrupkość) [8], smaku i zapachu. W kształtowaniu wszystkich wymienionych parametrów znaczącą rolę odgrywa tłuszcz. Jest on labilnym składnikiem żywności, który może ulegać niekorzystnym przemianom prowadzącym do powstania szkodliwych dla zdrowia związków, w tym pierwotnych i wtórnych produktów utleniania [7]. Produkty utleniania tłuszczu spożywane z żywnością mogą nasilać procesy oksydacyjne w organizmie człowieka, a tym samym prowadzić do szybszego powstawania zmian miażdżycowych i nowotworowych [2, 12]. Zatem na bezpieczeństwo żywności znaczący wpływ ma stopień degradacji zawartego w niej tłuszczu. Dotychczas nie ustalono zale-

ceń odnośnie maksymalnych dopuszczalnych zawartości produktów utleniania w wyrobach spożywczych. Ma to szczególne znaczenie w przypadku produktów z dużą zawartością tłuszczu, takich jak krakersy, w których stanowi on średnio 22 % składu recepturowego [22]. Żbikowska [27] wykazała, że krakersy sprzedawane na polskim rynku są bardzo zróżnicowane pod względem stopnia degradacji tłuszczu.

Odpowiednią jakość produktów spożywczych z dużym dodatkiem tłuszczu, przez cały okres ich przydatności do spożycia, może zapewnić podwyższona stabilność oksydacyjna tłuszczu. Osiąga się ją najczęściej poprzez zastosowanie syntetycznych przeciwutleniaczy. Badania przeprowadzone na szczurach wykazały jednak ich szkodliwy wpływ na organizm (uszkodzenie nerek, zaburzenia w krzepnięciu krwi, nieprawidłowości w rozwoju młodych osobników) [3]. Alternatywą syntetycznych przeciwutleniaczy mogą być naturalne związki występujące w surowcach roślinnych. Źródłem substancji o charakterze przeciwutleniaczy są przyprawy i zioła, np. goździki, oregano, cynamon, szałwia czy rozmaryn [3]. Ich właściwości uwarunkowane są obecnością związków polifenolowych i naturalnych garbników. Substancje te przedłużają trwałość tłuszczu, zapobiegając procesom utleniania [20, 25]. Ponadto wykazują właściwości przeciwbakteryjne [24] i przeciwpiętwiakowe [5] oraz wpływają na zahamowanie wzrostu komórek nowotworowych [22].

W celu określenia efektywności działania przeciwutleniaczy i oceny jakości tłuszczu w okresie przechowalniczym stosowane są testy stabilności. Zachodzące przemiany najdokładniej przedstawia tzw. test normalny, podczas którego badany produkt jest przechowywany w warunkach otoczenia. Jest to jednak test długotrwały, dlatego często jest zastępowany testami przyspieszonymi, wymagającymi zastosowania podwyższonej temperatury, zwiększonej powierzchni kontaktu badanego produktu z tlenem lub naświetlania ultrafioletem [23].

Celem pracy było określenie wpływu dodatku do krakersów ekstraktów z wybranych przypraw na procesy oksydacyjne zachodzące w czasie produkcji i przechowywania produktów.

### **Materiał i metody badań**

Materiał do badań stanowiły krakersy. Do ich przygotowania zastosowano: mąkę pszenną szymanowską typu 480 (Polskie Młyny S.A.), cukier biały Diamant (Pfeifer & Langen Marketing Sp. z o.o.), jaja klasy L (F.H.U Sulfidowo), proszek do pieczenia (Dr. Oetker Polska Sp. z o.o.), sól morską (Sante A. Kowalski) oraz mieszaninę (1 : 1) tłuszczu palmowego Amada B (ZT Kruszwica S.A.) i oleju słonecznikowego Brölio (Brölio Europe GMBH). W większości przemysłowych wyrobów ciastkarskich stosowane są tłuszcze stałe, zawierające znaczne ilości niekorzystnych żywniowo nasyconych KT lub izomerów trans KT. Dodatek oleju słonecznikowego miał dostarczyć wielonienasyconych KT (w tym NNKT), a tym samym zwiększyć wartość żywniową



krakersów. Wszystkie surowce były w okresie przydatności do spożycia, a tłuszcze spełniały wymagania normy [18] w zakresie liczby kwasowej i nadtlenkowej. Zastosowano etanolowo-wodne ekstrakty z suszonych ziół: bazylii (*Ocimum basilicum* L.), oregano (*Origanum vulgare* L.), tymianku (*Thymus vulgaris* L.) i rozmarynu (*Rosmarinus officinalis* L.). Suszone zioła przyprawowe pochodziły z firmy Kamis – Przyprawy S.A. Jakość sensoryczna produktu spożywczego często decyduje o jego akceptacji przez konsumenta [1]. Naturalnym dodatkiem, który może poprawić jakość sensoryczną wyrobów i ograniczyć procesy oksydacji we frakcji tłuszczowej są przyprawy. Zdarza się jednak, że zastosowanie wybranej przyprawy w zbyt dużej ilości może obniżyć jakość sensoryczną gotowego produktu. Dlatego bardziej korzystne wydaje się użycie ekstraktu przyprawy częściowo pozbawionego związków aromatycznych. Ekstrakty otrzymano zgodnie z metodą podaną przez Kozłowską i Ścibisz [6].

Ciasto na krakersy sporządzano według receptury podanej przez Ojakangasa [11], stosując 17-procentowy dodatek tłuszczu, do którego wcześniej wprowadzono ekstrakty z ziół w ilości 0,02 i 0,2 %. Dla porównania wykonano ciasto bez żadnych dodatków (próba kontrolna) i z udziałem handlowego przeciwutleniacza syntetycznego – BHA (w ilości 0,02 % w stosunku do masy tłuszczu). Półprodukty w kształcie kwadratów o boku 50 mm pieczono w piecu konwekcyjno-parowym (Unox XBC, Włochy) w temp. 180 °C przez 20 min.

Wypieczone krakersy poddawano analizie sensorycznej, a ich barwę oceniano instrumentalnie. Przeprowadzono profilową ocenę sensoryczną zgodnie z zaleceniami Baryłko-Pikielnej i Matuszewskiej [1] oraz PN [19]. Panel oceniający składał się z ośmiu przeszkolonych osób. Intensywność wyróżników (wygląd gotowego produktu, smak, zapach i teksturę) zaznaczano na skali liniowej niestrukturyzowanej o długości 10 cm. O wyglądzie zewnętrznym decydowały: barwa wypieczonych krakersów, oceniana od 0 (bladżółta) do 10 (żółto-pomarańczowa), równomierność wypieczenia oraz pęknięcia na powierzchni. Na ocenę tekstury składała się: twardość, kruchość i ziarnistość na przekroju gotowego produktu. Dodatkowo oceniano sensoryczną jakość ogólną krakersów.

Barwę krakersów mierzono aparatem Minolta CM – 3600d, w systemie CIE Lab ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ). W zastosowanym systemie pomiarowym  $L^*$  oznacza jasność ( $L^*$  równe zero oznacza czerń,  $L^*$  równe 100 – biel) i jest wektorem przestrzennym. Natomiast  $a^*$  ( $-a^*$  = zieleń;  $+a^*$  = czerwień) oraz  $b^*$  ( $-b^*$  = niebieski,  $+b^*$  = żółty) są współrzędnymi trójchromatyczności.

Analizom chemicznym poddano surowiec tłuszczowy oraz frakcję lipidową badanych krakersów. Ekstrakcję frakcji lipidowej prowadzono na zimno przy użyciu heksanu cz.d.a. (firmy Chempur) bezpośrednio po wypieku oraz w odstępach 7-dniowych przez 28 dni termostatowania. W związku z tym, że krakersy są produktami, których okres przydatności do spożycia sięga od kilku do kilkunastu miesięcy,

w pracy zastosowano test przyspieszony. Produkty termostatowano w termostacie SU-P-1 w temp. 60 °C.

W surowcu tłuszczowym oznaczano skład kwasów tłuszczowych (KT) metodą GC, przy użyciu chromatografu gazowego Shimadzu CG-17A z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym – zgodnie z PN-EN ISO 5508:1996 [16], po uprzednim przeprowadzeniu KT z zastosowaniem trifluorku boru w ich lotne pochodne, czyli w estry metylowe kwasów tłuszczowych [17]. Do rozdzielenia estrów stosowano kolumnę kapilarną BPX 70 (30 m × 0,22 mm × 0,25 μm). Interpretację jakościową chromatogramów przeprowadzano, porównując czasy retencji poszczególnych estrów metylowych KT badanych próbek z czasami retencji analogicznych wzorców estrów metylowych KT firmy Sigma (Lipid Standard).

W analizowanych próbkach frakcji lipidowej oznaczano liczbę nadtlenkową (LOO) [13], liczbę anizydynową (LA) [14] oraz obliczano wskaźnik Totox [15].

Wyniki opracowano statystycznie przy użyciu programu komputerowego Statgraphics plus 4.0. Ocenę istotności różnic pomiędzy wartościami średnimi wykonano testem Duncana, przy  $p \leq 0,05$ .

## Wyniki i dyskusja

### *Analiza sensoryczna krakersów*

Podczas oceny barwy produktów po wypieku zespół oceniający za najciemniejsze uznał krakersy z dodatkiem ekstraktów z oregano, tymianku i rozmarynu (tab. 1). Natomiast najjaśniejsze były krakersy z dodatkiem bazylii. Z kolei za najrównomierniej wypieczone oceniający uznali wyroby bez dodatku ekstraktów oraz z 0,2-procentowym dodatkiem ekstraktu z oregano. Najwięcej pęknięć zaobserwowano w przypadku krakersów z ekstraktami z rozmarynu, niezależnie od wielkości dodatku. Największe różnice wystąpiły w ocenach zapachu ziołowego. Dużą intensywnością tego wyróżnika cechowały się krakersy z 0,2-procentowym dodatkiem ekstraktu z oregano, co było uznane przez oceniających za cechę pożądaną. Zapach tłuszczowy, który był najbardziej wyczuwalny w krakersach z dodatkiem BHA oraz zapach mączny w próbce kontrolnej (bez dodatków) oceniający postrzegali jako cechy negatywne. W ocenie tekstury wyrobów uwzględniano twardość, kruchość i ziarnistość ciastek na przekroju. Najtwardsze okazały się krakersy z dodatkiem rozmarynu, za najbardziej odpowiednie pod względem kruchości (5 j.u.) uznano ciastka bez dodatków i z 0,02-procentowym dodatkiem ekstraktu z oregano. Za najbardziej ziarniste uznano krakersy z dodatkiem 0,2 % ekstraktu z oregano i 0,02 % ekstraktu z rozmarynu. Smak słodki był prawie niewyczuwalny w wyrobach, a smak ziołowy, uznany za zaletę, był najintensywniejszy w krakersach z dodatkiem 0,2 % ekstraktu z oregano. Pod względem jakości ogólnej zespół ocenił najwyżej krakersy z 0,2-procentowym dodatkiem ekstraktu z oregano

(6,98 j.u.). Wyniki te różniły się statystycznie istotnie ( $p \leq 0,05$ ) od jakości ogólnej pozostałych krakersów (tab. 1).

Tabela 1

Wyniki oceny sensorycznej krakersów [j.u.]  
Results of sensory evaluation of crackers [C.U.]

Cechy Features		Próbka / Sample									
		K	BHA 0,02%	B 0,02%	B 0,2%	O 0,02%	O 0,2%	R 0,02%	R 0,2%	T 0,02%	T 0,2%
Wygląd zew. Appearance	barwa	4,2	5,3	2,23	2,9	5,5	6,0	5,8	5,9	4,4	5,6
	równom. wypieczenia	6,9	4,6	6,43	6,3	6,7	7,1	4,8	6,5	6,3	6,9
	pęknięcia	5,2	5,3	6,63	5,2	8,2	7,5	3,2	6,2	6,9	5,9
Zapach Smell	tłuszczowy	3,2	5,3	2,2	2,9	3,0	3,23	4,53	2,50	2,35	5,2
	mączny	3,2	2,4	2,2	1,7	1,1	2,35	2,35	2,95	2,95	2,8
	ziołowy	0,6	0,9	1,2	2,1	4,0	7,95	1,05	1,25	1,15	1,9
	typowy	4,5	4,2	4,0	4,0	3,3	3,98	4,23	2,13	1,98	3,0
Tekstu-ra Texture	twardość	3,0	4,8	6,2	6,0	3,3	2,8	8,4	6,3	3,5	2,5
	kruchość	5,6	3,2	3,2	2,7	6,2	7,4	7,3	7,5	7,9	7,6
	ziarnistość	6,2	5,5	3,6	5,7	4,0	4,9	7,4	7,0	5,5	6,3
Smak Taste	słodki	2,6	1,4	1,9	2,2	1,2	0,9	0,9	1,5	0,9	0,3
	słony	2,6	2,4	2,6	1,4	3,0	2,8	4,3	2,8	3,5	4,5
	tłuszczowy	1,5	1,2	0,9	1,2	1,3	0,9	3,2	3,2	3,3	3,5
	mączny	3,7	3,9	3,4	3,5	3,9	1,6	4,3	4,5	4,2	4,2
	ziołowy	0,8	0,3	0,9	3,3	3,9	7,2	2,9	3,1	4,3	4,3
	typowy	4,1	4,3	3,9	3,8	3,8	5,9	4,9	3,7	5,8	6,9
Jakość ogólna Overall quality		4,7 <sup>a,b</sup>	4,4 <sup>a,b</sup>	4,6 <sup>a,b</sup>	4,6 <sup>a,b</sup>	4,5 <sup>a,b</sup>	6,9 <sup>d</sup>	4,5 <sup>a,b</sup>	3,5 <sup>a</sup>	3,6 <sup>a</sup>	5,4 <sup>c</sup>

Objaśnienia: / Explanatory notes:

K – próbka kontrolna / control sample; BHA – próbka z dodatkiem BHA / sample with BHA addition; B – próbka z dodatkiem ekstraktu z bazylii / sample with basil extract added; O – próbka z dodatkiem ekstraktu z oregano / sample with oregano extract added; R – próbka z dodatkiem ekstraktu z rozmarynu / sample with rosemary extract added; T – próbka z dodatkiem ekstraktu z tymianku / sample with thyme extract added.

a, b – wartości średnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie istotnie przy  $p \leq 0,05$  / mean values denoted by the same letters do not differ statistically significantly at  $p \leq 0,05$ .

Pomimo różnic pod względem jakości sensorycznej, oceniający nie zdyskwalifikowali żadnej z badanych próbek i zakwalifikowali wszystkie rodzaje krakersów do dalszych badań.

#### *Instrumentalna analiza barwy krakersów*

Wyniki pomiarów parametrów barwy badanych próbek przedstawiono w tab. 2. Najjaśniejszą barwą (parametr  $L^*$ ) cechowały się krakersy z 0,02-procentowym dodatkiem ekstraktu z bazylii ( $L^* = 73,14$ ) i z 0,02-procentowym dodatkiem ekstraktu z rozmarynu ( $L^* = 71,38$ ), a najciemniejszą – próbki kontrolne (bez żadnych dodatków). Stwierdzono, że dodatki, niezależnie od ich rodzaju, powodowały wzrost wartości parametru  $L^*$  krakersów. Pod względem parametru  $a^*$  (barwy czerwonej i zielonej) we wszystkich przypadkach badane krakersy charakteryzowały się nasyceniem barwy czerwonej. Najwyższą wartością parametru  $a^*$  cechowały się wyroby z dodatkiem 0,2 % rozmarynu ( $a^* = 6,20$ ), a najniższą – z dodatkiem 0,02 % ekstraktu z bazylii ( $a^* = 4,03$ ). Z kolei największy udział barwy żółtej zmierzono w próbce z dodatkiem 0,2 % ekstraktu z bazylii ( $b^* = 27,68$ ), a najmniejszy – w próbce z dodatkiem 0,02 %

Tabela 2

Parametry barwy krakersów.  
Colour parameters of crackers.

Próbka Sample	Parametry / Parameters		
	$L^*$	$a^*$	$b^*$
	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$
K	66,12 <sup>a</sup> ± 1,11	5,20 <sup>b,c,d</sup> ± 1,06	25,13 <sup>b,c</sup> ± 0,92
BHA	67,31 <sup>a</sup> ± 1,30	5,47 <sup>c</sup> ± 1,09	26,38 <sup>c,d</sup> ± 1,07
B 0,02%	73,14 <sup>d</sup> ± 0,68	4,03 <sup>a</sup> ± 0,53	23,87 <sup>a</sup> ± 0,04
B 0,2%	72,24 <sup>d</sup> ± 2,12	4,67 <sup>b,c</sup> ± 1,29	27,68 <sup>d,e</sup> ± 1,02
O 0,02%	70,56 <sup>c,d</sup> ± 1,00	4,26 <sup>a</sup> ± 0,73	24,97 <sup>a,b,c</sup> ± 0,73
O 0,2%	68,38 <sup>a,b,c</sup> ± 1,71	5,26 <sup>b,c</sup> ± 0,82	27,04 <sup>d</sup> ± 0,35
R 0,02%	71,38 <sup>c,d</sup> ± 1,11	6,01 <sup>b,c,d</sup> ± 1,02	24,78 <sup>a,b</sup> ± 1,05
R 0,2%	68,09 <sup>a,b,c</sup> ± 0,34	6,20 <sup>c,d</sup> ± 0,41	26,17 <sup>c</sup> ± 0,63
T 0,02%	70,37 <sup>b,c,d</sup> ± 1,31	5,05 <sup>b,c</sup> ± 1,01	24,58 <sup>a,b</sup> ± 0,98
T 0,2%	68,93 <sup>a,b,c</sup> ± 0,95	5,66 <sup>b,c,d</sup> ± 1,0	26,75 <sup>c,d</sup> ± 0,77

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

$\bar{x}$  - wartość średnia / mean value;  $s / SD$  – odchylenie standardowe / standard deviation; a, b, c – wartości średnie oznaczone tymi samymi literami w kolumnie nie różnią się statystycznie istotnie przy  $p \leq 0,05$  / mean values denoted by the same letters in the column do not differ statistically significantly at  $p \leq 0.05$  ( $n = 16$ ).

ekstraktu z bazylii ( $b^* = 23,87$ ). Generalnie stwierdzono, że ciastka z większym dodatkiem ekstraktów cechowało większe nasycenie zarówno barwą czerwoną, jak i żółtą, w porównaniu z wyrobami z mniejszym dodatkiem ekstraktów. Podobne wyniki otrzymali Mildner-Szkudlarz i wsp. [10] w przypadku ciastek z dodatkiem ekstraktu z zielonej herbaty. Instrumentalny pomiar barwy krakersów, uwzględniający przede wszystkim parametr  $L^*$ , potwierdził wyniki otrzymane w ocenie jakości sensorycznej barwy. W obydwu przypadkach zaobserwowano wpływ ilości dodanego ekstraktu na barwę krakersów.

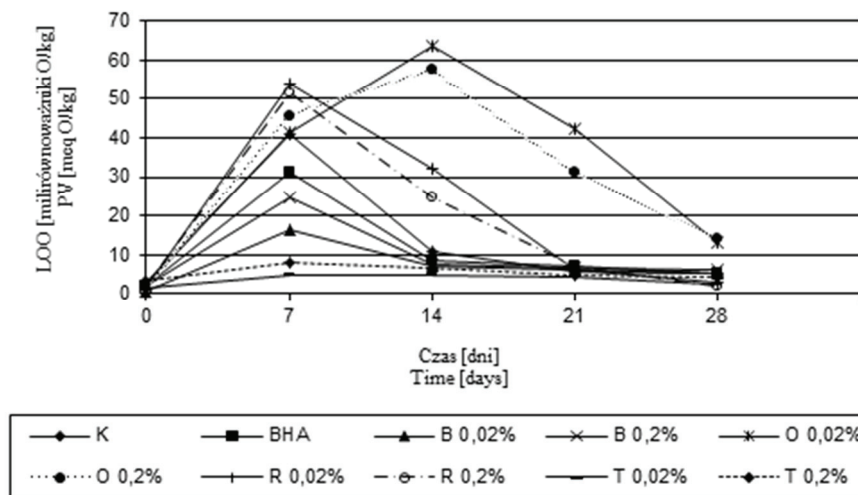
#### *Zmiany oksydacyjne frakcji lipidowej wyekstrahowanej z krakersów*

Największy przyrost ilości pierwotnych produktów utlenienia we frakcji lipidowej krakersów spowodował proces wypieku próby kontrolnej (o 2,2 jednostki), bez żadnych dodatków (rys. 1). Natomiast dodatek ekstraktu z bazylii w ilości 0,02 % (wzrost o 0,1 jednostki) hamował procesy utleniania podczas wypieku.

Po 7 dniach termostatowania krakersów we wszystkich tłuszczach, niezależnie od dodatków, wykazano wzrost wartości liczby nadtlenkowej (rys. 1). Tempo przemian oksydacyjnych było w zdecydowanej większości badanych próbek gwałtowne, z wyjątkiem frakcji lipidowej krakersów z ekstraktem z tymianku. Po 14 dniach termostatowania krakersów nastąpił zarówno wzrost, jak i zmniejszenie ilości pierwotnych produktów utleniania we frakcji lipidowej, w zależności od wariantu. Dalszy wzrost wartości LOO wykazano jedynie w próbkach tłuszczu wyekstrahowanego z krakersów z dodatkami oregano. Po kolejnych tygodniach trwania testu (21 i 28 dni) stwierdzono stałą tendencję ubytku ilości pierwotnych produktów oksydacji tłuszczu, niezależnie od wariantu. Po 28 dniach termostatowania najmniejszą wartością LOO cechowała się frakcja lipidowa krakersów zawierających 0,02 % ekstraktu z tymianku oraz 0,2 % ekstraktu z rozmarynu (odpowiednio 2,59 i 2,24 milirówn. O/kg). Wysoka temperatura podczas testu termostatowania przyspiesza rozkład nadtlenków i wodoronadtlenków nienasyconych kwasów tłuszczowych do związków karbonylowych i dlatego nawet tłuszcze o dużym stopniu degradacji oksydatywnej mogą charakteryzować się małymi wartościami liczby nadtlenkowej.

Analiza przyrostu wtórnych produktów utlenienia, czyli zmiany liczby anizydynowej we frakcji lipidowej krakersów wykazała ich stopniowy, ale ciągły przyrost w czasie termostatowania (rys. 2). Po 28 dniach testu przyrost ten był najwolniejszy w przypadku próbek z dodatkiem przeciwutleniacza syntetycznego oraz ekstraktu z tymianku. Na podstawie wartości wskaźnika Totox stwierdzono, że najlepsze działanie przeciwutleniające wykazał 0,02 % dodatek ekstraktu z tymianku (rys. 3). Tempo zmian oksydacyjnych w próbkach z tym ekstraktem było najwolniejsze w czasie trwania testu. Pozostałe ekstrakty również wykazały działanie przeciwutleniające, ale po 28 dniach termostatowania krakersów wartości wskaźnika Totox wprawdzie były niższe

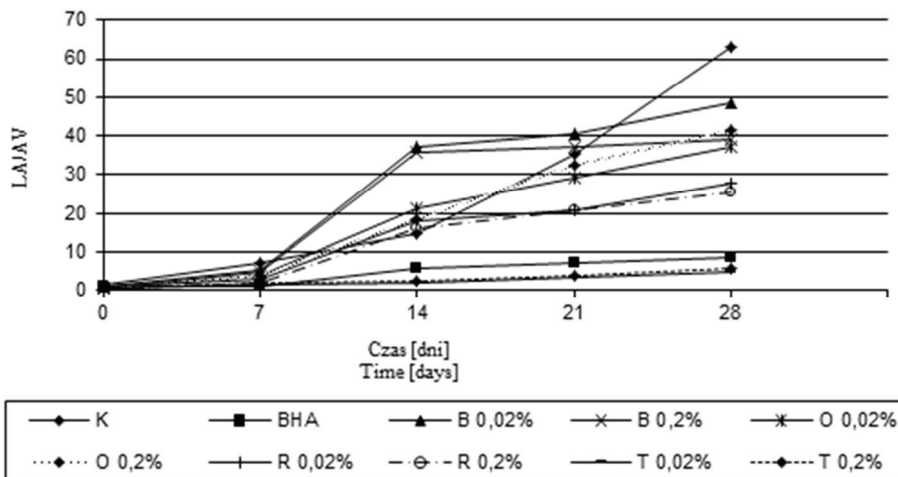
niż frakcji lipidowej wyrobów bez ekstraktu (próba kontrolna), ale wyższe niż w przypadku zastosowania BHA.



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

Rys. 1. Zmiany liczby nadtlenkowej (LOO) frakcji lipidowej krakersów termostatowanych w temp. 60 °C przez 28 dni.

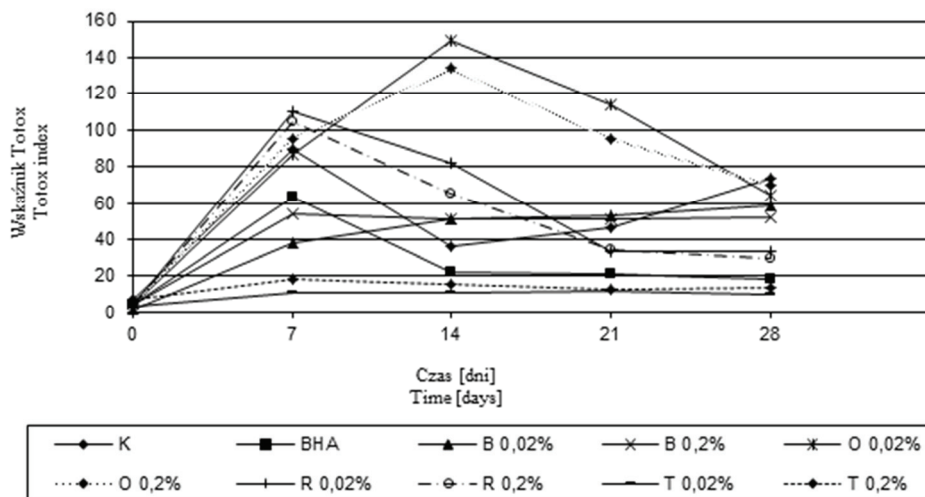
Fig. 1. Changes in peroxide value (PV) of lipid fraction in crackers thermostated at 60 °C for 28 days.



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

Rys. 2. Zmiany liczby anizydynowej (LA) frakcji lipidowej krakersów termostatowanych w temp. 60 °C przez 28 dni.

Fig. 2. Changes in anisidine value (AV) of lipid fraction in crackers thermostated at 60 °C for 28 days.



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

Rys. 3. Zmiany wskaźnika TOTOX frakcji lipidowej krakersów termostatowanych w temp. 60 °C przez 28 dni.

Fig. 3. Changes in TOTOX index of lipid fraction in crackers thermostated at 60 °C for 28 days.

Ekstrakty z tymianku i rozmarynu także skutecznie hamowały peroksydację lipidów w badaniach prowadzonych przez Gramzę-Michałowską i wsp. [4]. Natomiast Marinova i Yenishlieva [9] wykazały, że ekstrakty z oregano i bazylii nie poprawiły stabilności oleju słonecznikowego. Z kolei Samotyja i Małecka [21] wskazały na ekstrakt z rozmarynu jako dobre źródło antyoksydantów, odpowiednie do stabilizacji oleju rzepakowego. Różnice w działaniu ekstraktów mogą zależeć od rodzaju i ilości związków o właściwościach przeciwutleniających obecnych w ich składzie chemicznym oraz od ewentualnego efektu synergistycznego pomiędzy nimi a związkami zawartymi w tłuszczach. Poza tym utlenianie tłuszczów przebiega tym łatwiej, im więcej zawierają one kwasów tłuszczowych z wiązaniami nienasyconymi [28]. W surowcu tłuszczowym przeznaczonym do wypieku krakersów przeważały kwasy polienowe (38,5 %). Nasycone kwasy tłuszczowe stanowiły 27,5 %, a monoenowe – 32,5 % ogólnej ilości kwasów tłuszczowych. Wśród monoenowych kwasów tłuszczowych najwięcej było kwasu oleinowego, wykazującego pozytywne działanie hipolipidemiczne – nie obniża poziomu lipoprotein o wysokiej gęstości (HDL) [26], a wśród polienowych – kwasu linolowego.



## Wnioski

1. Krakery zawierające 0,2-procentowy dodatek ekstraktu z oregano oceniono najwyżej pod względem ogólnej jakości sensorycznej. Dodatek tego ekstraktu, w porównaniu z próbą kontrolną, wpływał na ograniczenie ilości pierwotnych produktów utleniania we frakcji lipidowej wyrobów w czasie wypieku.
2. Ilość i rodzaj ekstraktów z przypraw dodanych do krakersów miały wpływ na tempo zmian oksydacyjnych frakcji lipidowej wyrobów w cieście przyspieszonym. Na podstawie wartości wskaźnika Totox najwyższą aktywność przeciwutleniającą w warunkach eksperymentu wykazał ekstrakt z tymianku (w ilości 0,02 %), dlatego może on być rozważany jako potencjalny zamiennik BHA, zwiększający stabilność tłuszczu w krakersach.
3. Krakery z dodatkiem ekstraktów o wyższym stężeniu, niezależnie od rodzaju, charakteryzowały się większym nasyceniem barwy czerwonej i żółtej w porównaniu z ich odpowiednikami z mniejszą zawartością ekstraktów.

## Literatura

- [1] Barylko-Pikielna N., Matuszewska I.: Sensoryczne badania żywności. Podstawy. Metody. Zastosowania. Wyd. Nauk. PTTŻ, Kraków 2009.
- [2] Drzewicka, Biernat J.: Ocena stopnia oksydacji i składu kwasów tłuszczowych w wyrobach ciastkarskich produkowanych przemysłowo. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2001, **34** (2) 91-97.
- [3] Gawlik-Dziki U.: Fenolokwasy jako bioaktywne składniki żywności. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **4** (41) S, 29-40.
- [4] Gramza-Michałowska A., Sidor A., Heś M.: Herb extract influence on the oxidative stability of selected lipids. *J. Food Biochem.*, 2011, **35** (6), 1723-1736.
- [5] Kozłowska M., Laudy A.E., Starościak B.J., Napiórkowski A., Chomicz L., Kazimierczuk Z.: Antimicrobial and antiprotozoal effect of sweet marjoram (*Origanum majorana* L.). *Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus*, 2010, **9** (4), 133-141.
- [6] Kozłowska M., Ścibisz I.: Właściwości przeciwutleniające oraz zawartość związków fenolowych w ekstraktach przypraw i ziół z rodziny *Lamiaceae*. *Zesz. Probl. Postępów Nauk Rol.*, 2010, **558**, 131-140.
- [7] Maszewska M., Krygier K.: Badanie zależności występowania pierwotnych i wtórnych produktów utleniania w rafinowanym oleju rzepakowym i słonecznikowym. *Roślinny Oleiste*, 2005, XXVI, 611- 620.
- [8] Marzec A., Lewicki P.P., Jakubczyk E.: Badanie jakości krakersów metodą emisji akustycznej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **1** (46) Supl., 67-72.
- [9] Marinova E.M., Yanishlieva N.V.: Antioxidative activity of extracts from selected species of the family *Lamiaceae* in sunflower oil. *Food Chem.*, 1996, **58** (3), 245-248.
- [10] Mildner-Szkudlarz S., Zawirska-Wojtasiak R., Obuchowski W., Gośliński M.: Evaluation of antioxidant activity of green tea extract and its effect on the biscuits lipid fraction oxidative stability. *J. Food Sci.*, 2009, **74** (8), S362-S370.
- [11] Ojakangas B.A.: *Great Old - Fashioned American Recipes*. University of Minnesota Press, Minneapolis 2005, p. 92.


- [12] Penumetcha M., Khan N., Parthasarathy S.: Dietary oxidised fatty acids: an atherogenic risk? *J. Lipid Res.*, 2000, **41**, 1473-1480.
- [13] PN-EN ISO 3690:2012. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby nadtlenkowej. Jodometryczne (wizualne) oznaczanie punktu końcowego.
- [14] PN-EN ISO 6885:2008. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby anizydynowej.
- [15] PN-A-86926:1993. Tłuszcze roślinne jadalne. Oznaczanie liczby anizydynowej oraz obliczanie wskaźnika oksydacji tłuszczu Totox.
- [16] PN-EN ISO 5508:1996. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Analiza estrów metylowych kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej.
- [17] PN-EN ISO 5509:2001. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Przygotowanie estrów metylowych kwasów tłuszczowych.
- [18] PN-A-86902:1997. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Tłuszcze cukiernicze i piekarskie.
- [19] PN-A-74252:1998. Wyroby i półprodukty ciastkarskie. Metody badań.
- [20] Reddy V., Urooj A., Kumar A.: Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their application in biscuits. *Food Chem.*, 2005, **90**, 317-321.
- [21] Samotyja U., Małecka M.: Effects of blackcurrant seeds and rosemary extracts on oxidative stability of bulk and emulsified lipid substrate. *Food Chem.*, 2007, **104**, 317-323.
- [22] Sikora E., Cieślak E., Topolska K.: The sources of natural antioxidants. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 2008, **7 (1)**, 5-17.
- [23] Szukalska E.: Wybrane zagadnienia utleniania tłuszczów. *Tłuszcze Jadalne*, 2003, **38 (1-2)**, 42-57.
- [24] Weerakkody N.S., Caffin N., Turner M.S., Dykes G.A.: *In vitro* antimicrobial activity of less-utilized spice and herb extracts against food-borne bacteria. *Food Control*, 2010, **21**, 1408-1414.
- [25] Wroniak M., Lubicz M.: Ocena stabilności oksydacyjnej olejów rzepakowego i słonecznikowego tłoczonych na zimno z dodatkiem ekstraktu z oregano w cieście Rancimat i termostatowym. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **59 (4)**, 80-89.
- [26] Żbikowska A., Kowalska M., Rutkowska J.: Zawartość fazy stałej a jakość i przydatność technologiczna szorteningów do produkcji ciast kruchych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **2 (81)**, 173-185.
- [27] Żbikowska A.: Studia nad funkcjonalną rolą izomerów trans kwasów tłuszczowych w wyrobach ciastkarskich kruchych. Rozprawy naukowe i monografie. Wyd. SGGW, Warszawa 2012.
- [28] Żbikowska A.: Generation and role of trans fatty acids – a review. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2010, **1 (58)**, 113-117.

## EFFECT OF HERBS EXTRACTS ON QUALITY AND STABILITY OF CRACKERS

### S u m m a r y

In a laboratory, crackers were baked with herb extracts added, their amount between 0.02 % and 0.2 % of the weight of the fat added. Also, the crackers were baked without herbs added (control sample). A sensory evaluation of the ready-baked products was performed and their colour was measured. Furthermore, oxidative changes were determined, every 7 days, in the lipid fractions extracted directly after the baking and during a 28-day period of the thermo-stating of crackers (at a temperature of 60 °C). The progress of those changes was monitored, peroxide and anisidine values were determined, and a Totox index was calculated. The addition of herbs differently impacted the sensory quality and the colour of crackers; the latter was measured using a reflectance method. The products with a 0.2 % addition of oregano extract were considered as the best. It was found that the thyme extracts provided for the most effective protection

of the lipid fraction in the crackers against autooxidation processes both during the formation of the primary and the secondary oxidation products.

**Key words:** crackers, herbs extracts, sensory quality, antioxidant properties, oxidation of lipid fraction 

EWA PIĄTKOWSKA, ANETA KOPEĆ, AGNIESZKA KIDACKA, TERESA  
LESZCZYŃSKA, ELŻBIETA PISULEWSKA

## ZAWARTOŚĆ SKŁADNIKÓW ODŻYWCZYCH I WŁAŚCIWOŚCI ANTYOKSYDACYJNE RÓŻNYCH FRAKCJI ZIARNA WYBRANYCH ODMIAN I RODÓW OWSA

### Streszczenie

Celem badań było określenie zawartości składników odżywczych i ocena właściwości przeciwutleniających całego ziarna, bielma, otrąb i łuski różnych odmian i rodów owsa. Materiałem badawczym było ziarno owsa o brązowej barwie łuski odmiany 'Gniady' i dwóch rodów: CHD 2875/01, CHD 2833/02, a także owies żółtoziarnowy odmian: 'Bohun', 'Deresz' i 'Cwał'. Analizowano zawartość: suchej masy, białka, tłuszczu, węglowodanów ogółem, błonnika pokarmowego oraz związków mineralnych w postaci popiołu standardowymi metodami AOAC. Oznaczono także zawartość polifenoli metodą Folina-Ciocalteau. Wykonano ponadto oznaczenie zdolności wygaszania wolnego rodnika ABTS•+ i DPPH•. Całe, obłuszczone ziarno owsa odmian o brązowej łusce charakteryzowało się większą zawartością białka i równocześnie mniejszą tłuszczu i węglowodanów ogółem oraz zbliżoną – błonnika i popiołu w porównaniu z odmianami żółtoziarnowymi. Bielmo ziarna o brązowej łusce zawierało więcej białka, mniej tłuszczu oraz zbliżone ilości węglowodanów ogółem, błonnika i popiołu w stosunku do żółtoziarnowych odmian owsa. Otręby odmiany i rodów o ciemnym zabarwieniu wykazywały mniejszą zawartość białka, większą – błonnika i porównywalne ilości pozostałych ocenianych składników, w porównaniu z odmianami o jasnym zabarwieniu. Największą zawartością polifenoli i najwyższą aktywnością antyoksydacyjną charakteryzowały się otręby odmian o brązowej łusce, zaś najniższą aktywnością – bielmo. Łuska, która jest produktem odpadowym w technologii przetwórstwa owsa, zawierała znaczne ilości suchej masy, węglowodanów, błonnika pokarmowego, składników mineralnych, polifenoli oraz cechowała się wysoką aktywnością antyoksydacyjną.

**Słowa kluczowe:** owies, składniki odżywcze, właściwości przeciwutleniające, frakcje ziarna

---

*Dr n. med. E. Piątkowska, dr inż. A. Kopeć, prof. dr hab. inż. T. Leszczyńska, Katedra Żywienia Człowieka, Wydz. Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków, dr inż. A. Kidacka, Małopolska Hodowla Roślin, HBP Sp. z o.o. Polanowice, 32-090 Słomniki, prof. dr hab. E. Pisulewska, Zakład Szczegółowej Uprawy Roślin, Wydz. Rolniczo-Ekonomiczny, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Al. Mickiewicza 21, 31-120 Kraków*

## Wprowadzenie

Ziarno owsa i żywność otrzymana w wyniku jego przetworzenia są przedmiotem licznych badań, mających na celu potwierdzenie ich korzystnego wpływu na organizm człowieka, jak również znalezienie nowego, pozytywnego oddziaływania. Z uwagi na cenne walory odżywcze, tj. wartościowy skład chemiczny i wielokierunkowe działanie substancji czynnych zawartych w ziarnie, słuszne wydaje się zastosowanie owsa jako składnika diety zarówno zdrowego, jak i chorego człowieka [2, 10, 16, 29].

Ziarno owsa w porównaniu z innymi zbożami charakteryzuje się dużą zawartością tłuszczu (dwu-, trzykrotnie większą), o korzystnym składzie kwasów tłuszczowych. Na uwagę zasługuje także białko owsa, które wyróżnia się wartością biologiczną. Istotnym składnikiem błonnika owsianego są  $\beta$ -glukany. Jest to rozpuszczalna w wodzie frakcja włókna pokarmowego o właściwościach funkcjonalnych (m.in. zmniejszenie ryzyka infekcji poprzez podniesienie odporności, wzrost aktywności przeciwnowotworowej) [3, 11]. Przetwory owsiane mają korzystny wpływ na fizjologię układu pokarmowego człowieka. Dieta wzbogacona w te produkty zapobiega zaparciom, skraca pasaż treści jelitowej oraz ogranicza procesy gnilne w jelicie grubym. Ziarno owsa uznaje się za dobre źródło tiaminy, kwasu pantotenowego oraz witaminy E. Owies przewyższa także inne zboża pod względem zawartości składników mineralnych, jak: fosfor, potas, magnez, wapń, żelazo, cynk i mangan [3, 11, 23].

Celem niniejszych badań było porównanie zawartości składników odżywczych i właściwości przeciwutleniających całego ziarna, bielma, otrąb oraz łuski owsa odmian żółtoziarnowych i o brązowym zabarwieniu łuski. Uzyskane wyniki badań mogą przyczynić się do wyboru jako surowca do przemysłu spożywczego odmiany, która charakteryzuje się najlepszym składem podstawowym i właściwościami przeciwutleniającymi.

## Material i metody badań

Material badawczy stanowiło ziarno owsa o brązowej łusce odmiany 'Gniady' (CHD 2909/01) i dwóch rodów: CHD 2875/01, CHD 2833/02, a także owies żółtoziarnowy odmian: 'Bohun', 'Deresz' i 'Cwał'. Ziarno pochodziło ze Stacji Doświadczalnej Małopolskiej Hodowli Roślin HBP, Polanowice koło Krakowa (zbiór z 2008 r.).

Z części ziarna usuwano łuskę w łuszczarce laboratoryjnej, następnie mielono i rozdzielano je w młynku laboratoryjnym (Typ QG 109), uzyskując dwie frakcje: bielmo i otręby. Zebraną łuskę i pozostałe całe ziarno mielono w młynku laboratoryjnym (Knifetec 1095). Tak otrzymany material wykorzystano do oznaczenia zawartości suchej masy, białka, tłuszczu, węglowodanów ogółem, błonnika pokarmowego oraz związków mineralnych w postaci popiołu standardowymi metodami AOAC [1].

Odważano próbki, tj. rozdrobnione całe ziarno i łuskę, bielmo oraz otręby, w ilości ok. 1 g, ekstrahowano 40 ml 80-procentowego metanolu z dodatkiem HCl (0,08 M) w temp. 18 - 22 °C przez 2 h. Ekstrakt wirowano przy 1500 × g przez 15 min. Supernatant zlewano i przechowywano. Pozostały osad ponownie ekstrahowano 40 ml 70-procentowego acetonu przez kolejne 2 h. Po odwirowaniu (1500 x g, 15 min) płyn z nad osadu łączono z poprzednim supernatantem. Uzyskane ekstrakty przechowywano w temp. -20 °C. Poziom polifenoli w owsie oznaczano metodą Polli-Swain i Hillis [24], z odczynnikiem Folina-Ciocalteau. Zawartość polifenoli wyrażano w mg kwasu chlorogenowego w 100 g produktu.

Zdolność uzyskanych ekstraktów do wygaszania wolnych rodników określano metodą Re i wsp. [25] z wykorzystaniem wolnego rodnika ABTS<sup>+</sup> i metodą opisaną przez Pekkarinen i wsp. [20] z wykorzystaniem wolnego rodnika DPPH<sup>•</sup>.

ABTS<sup>+</sup> rozpuszczano w roztworze nadsiarczanu potasu, a następnie rozcieńczano, aby jego absorbancja mierzona przy długości fali  $\lambda = 734$  nm wynosiła 0,740 - 0,750. Objętość 0,35 ml ekstraktu metanolowo-acetonowego uzupełniano do 1 ml mieszaniną aceton-metanol (1 : 1). Do tak przygotowanych ekstraktów dodawano 2 ml wolnych rodników ABTS<sup>+</sup> i całość inkubowano w temp. 30 °C przez 6 min. Następnie mierzono absorbancję przy długości fali  $\lambda = 734$  nm względem mieszaniny metanol - aceton (1 : 1). Zdolność do eliminacji wolnych rodników RSA % (Radical Scavenging Activity) obliczano z równania:

$$RSA \% = \frac{(E_1 - E_2) \times 100}{E_1}$$

gdzie:

$E_1$  – absorbancja wolnych rodników ABTS<sup>+</sup>,

$E_2$  – absorbancja próbki odczytana po 6 min. inkubacji.

W celu oznaczenia zdolności wygaszania wolnego rodnika DPPH<sup>•</sup> przez uzyskane ekstrakty do probówki odmierzano 200  $\mu$ l ekstraktu, a następnie uzupełniano do objętości 1500  $\mu$ l, używając 80-procentowego alkoholu metylowego. Przed każdorazowym odczytem dodawano 3 ml roztworu DPPH<sup>•</sup>, po czym natychmiast mierzono absorbancję za pomocą spektrofotometru, przy długości fali  $\lambda = 516$  nm. Odczyty wykonywano kolejno co minutę, ostatni odczyt wykonywano w 10 minucie.

Aktywność antyoksydacyjną obliczano z równania:

$$RSA(\%) = \frac{Abs_0 - Abs_{10}}{Abs_0} * 100$$

gdzie:

$Abs_0$  – odczyt absorbancji na początku reakcji,

$Abs_{10}$  – odczyt absorbancji w 10 minucie reakcji.

Każde oznaczenie wykonano w trzech powtórzeniach. Wszystkie dane dotyczące badanych parametrów poddano analizie statystycznej z wykorzystaniem jednoczynnikowej analizy wariancji ANOVA. Istotność różnic pomiędzy średnimi oceniano, wykorzystując test Duncana przy poziomie istotności  $p \leq 0,05$ .

### Wyniki i dyskusja

Zawartość składników odżywczych w ziarnie, bielmie, otrębach i łusce badanych odmian owsa przedstawiono w tabelach 1 - 4.

Tabela 1

Zawartość składników odżywczych w całym ziarnie badanych odmian i rodów owsa [%].  
Content of nutrients in whole grain of oat cultivars and varieties analyzed [%].

Odmiana/ród Cultivar/ variety	Sucha masa Dry mass	Białko Proteins	Tłuszcz Fat	Błonnik Fibre	Popiół Ash	Węglowodany ogółem Total carbohydrates
$\bar{x} \pm s / SD$						
'Gniady'	87,65 ± 0,22 <sup>a</sup>	17,94 ± 0,26 <sup>b,c</sup>	3,95 ± 0,17 <sup>a</sup>	21,31 ± 0,75 <sup>a</sup>	2,18 ± 0,18 <sup>a,b</sup>	63,59 ± 0,48 <sup>a,b</sup>
CHD 2875/01	87,38 ± 0,33 <sup>a</sup>	19,33 ± 1,10 <sup>c</sup>	4,50 ± 0,19 <sup>b,c</sup>	20,72 ± 0,28 <sup>a</sup>	2,20 ± 0,07 <sup>a,b</sup>	61,35 ± 1,30 <sup>a</sup>
CHD2833/02	87,65 ± 0,55 <sup>a</sup>	17,72 ± 0,83 <sup>b,c</sup>	4,29 ± 0,07 <sup>b</sup>	21,15 ± 0,60 <sup>a</sup>	2,09 ± 0,04 <sup>a</sup>	63,54 ± 0,69 <sup>a,b</sup>
'Bohun'	87,74 ± 1,20 <sup>a</sup>	15,08 ± 1,31 <sup>a,b</sup>	5,17 ± 0,25 <sup>e</sup>	21,08 ± 0,23 <sup>a</sup>	2,32 ± 0,04 <sup>b</sup>	65,17 ± 1,30 <sup>a,b</sup>
'Deresz'	87,50 ± 0,60 <sup>a</sup>	14,22 ± 0,40 <sup>a</sup>	4,99 ± 0,13 <sup>d,e</sup>	20,82 ± 0,33 <sup>a</sup>	2,35 ± 0,51 <sup>b</sup>	65,94 ± 1,00 <sup>b</sup>
'Cwał'	91,40 ± 0,80 <sup>a</sup>	14,03 ± 1,11 <sup>a</sup>	4,79 ± 0,23 <sup>c,d</sup>	21,28 ± 0,53 <sup>a</sup>	2,29 ± 0,16 <sup>a,b</sup>	70,29 ± 5,30 <sup>c</sup>
Owies o brązowej łusce Brown-husked oat	87,56 ± 0,16	18,33 ± 0,87	4,25 ± 0,28	21,06 ± 0,31	2,16 ± 0,06	62,83 ± 1,28
Owies żółtoziarnowy Yellow-husked oat	88,88 ± 2,19	14,44 ± 0,56	4,98 ± 0,19	21,06 ± 0,23	2,3 ± 0,03	67,13 ± 2,76
$\bar{x}$	88,22 ± 0,93	16,39 ± 2,75	4,62 ± 0,52	21,06 ± 0,00	2,23 ± 0,12	64,98 ± 3,05

Objaśnienia: / Explanatory notes:

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

Wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy  $p \leq 0,05$   
Mean values in columns and denoted by different letters differ statistically significantly at ( $p \leq 0.05$ ).



Tabela 2

Zawartość składników odżywczych w bielmie ziarna badanych odmian i rodów owsa [%].  
Content of nutrients in endosperm of grain of oat cultivars and varieties analyzed [%].

Odmiana/ród Cultivar/variety	Sucha masa Dry mass	Białko Proteins	Tłuszcz Fat	Błonnik Fibre	Popiół Ash	Węglowodany ogółem Total carbohydrates
	$\bar{x} \pm s / SD$					
‘Gniady’	88,47 ± 0,50 <sup>a</sup>	9,36 ± 0,24 <sup>a</sup>	4,22 ± 0,64 <sup>a</sup>	9,64 ± 0,96 <sup>a</sup>	0,70 ± 0,04 <sup>a, b</sup>	74,19 ± 1,20 <sup>a</sup>
CHD 2875/01	88,65 ± 0,20 <sup>a, b</sup>	10,46 ± 0,37 <sup>a</sup>	4,43 ± 0,98 <sup>a</sup>	9,71 ± 0,84 <sup>a</sup>	0,77 ± 0,07 <sup>b, c</sup>	73,00 ± 1,30 <sup>a</sup>
CHD2833/02	88,60 ± 0,26 <sup>a, b</sup>	9,32 ± 0,35 <sup>a</sup>	4,33 ± 0,71 <sup>a</sup>	10,20 ± 1,14 <sup>a</sup>	0,66 ± 0,02 <sup>a</sup>	74,28 ± 0,60 <sup>a</sup>
‘Bohun’	89,28 ± 0,98 <sup>c</sup>	8,74 ± 2,42 <sup>a</sup>	5,19 ± 0,31 <sup>a</sup>	10,19 ± 0,2 <sup>a</sup>	0,85 ± 0,02 <sup>c</sup>	72,23 ± 2,70 <sup>a</sup>
‘Deresz’	88,81 ± 1,20 <sup>a, b, c</sup>	9,08 ± 0,36 <sup>a</sup>	4,98 ± 0,33 <sup>a</sup>	9,91 ± 0,07 <sup>a</sup>	0,66 ± 0,03 <sup>a</sup>	72,27 ± 0,60 <sup>a</sup>
‘Cwał’	89,09 ± 1,50 <sup>b, c</sup>	8,96 ± 0,33 <sup>a</sup>	4,73 ± 0,66 <sup>a</sup>	9,81 ± 0,66 <sup>a</sup>	0,77 ± 0,08 <sup>b, c</sup>	72,54 ± 0,40 <sup>a</sup>
Owies o brązowej łusce Brown-husked oat	88,57 ± 0,09	9,71 ± 0,65	4,33 ± 0,11	9,85 ± 0,31	0,71 ± 0,06	73,82 ± 0,71
Owies żółtoziarnowy Yellow-husked oat	88,06 ± 0,24	8,93 ± 0,17	4,97 ± 0,23	9,97 ± 0,20	0,76 ± 0,10	72,34 ± 0,17
$\bar{x}$	88,82 ± 0,35	9,32 ± 0,56	4,65 ± 0,45	9,91 ± 0,08	0,74 ± 0,03	73,09 ± 1,04

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

Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic pod względem zawartości suchej masy (SM) w całym ziarnie badanych odmian owsa. Wykazano natomiast, że w bielmie odmiany ‘Gniady’ o brązowej łusce było istotnie mniej SM w stosunku do odmian żółtoziarnowych ‘Bohun’ i ‘Cwał’. W przypadku otrąb odmiany charakteryzowały się zbliżoną zawartością suchej masy, z wyjątkiem odmiany ‘Cwał’ o istotnie większej ilości SM. W łusce najmniej tego składnika było w odmianie ‘Bohun’ w stosunku do pozostałych odmian, w których poziom SM był zbliżony. Zawartość suchej masy kształtowała się na poziomie od ok. 88 % w całym ziarnie, bielmie i otrębach do ok. 91 % w łusce. Wartości te nie odbiegają od wyników uzyskanych w badaniach Piątkowskiej i wsp. [21], zgodnie z którymi sucha masa łuski wynosiła 90,3 - 91,7 %, całego ziarna 76,3 - 90,2 %, bielma 87,5 - 89,0 % i otrąb 88,6 - 89,5 %. Zbliżone wartości podają także inni autorzy [13, 27, 32]. Według Biel i wsp. [4] zawartość suchej

masy w ziarnie owsa żółtoziarnowego wynosi 89,4 %, natomiast ziarno owsa o brązowej barwie łuski zawiera 88,15 % suchej masy. W badaniach własnych uzyskano nieznacznie niższe wartości, lecz różnica zawartości suchej masy w owsie żółtoziarnowym i o brązowej łusce również wynosiła około 1 %.

Tabela 3

Zawartość składników odżywczych w otrębach z ziarna badanych odmian i rodów owsa [%].  
Content of nutrients in bran from grains of oat cultivars and varieties analyzed [%].

Odmiana/ród Cultivar/variety	Sucha masa Dry mass	Białko Proteins	Tłuszcz Fat	Błonnik Fibre	Popiół Ash	Węglowodany ogółem Total carbohydrates
	$\bar{x} \pm s / SD$					
'Gniady'	88,03 ± 0,38 <sup>a</sup>	16,69 ± 0,60 <sup>a,b</sup>	5,03 ± 0,29 <sup>a</sup>	22,03 ± 1,01 <sup>a</sup>	2,44 ± 0,05 <sup>a,b</sup>	65,53 ± 2,90 <sup>b</sup>
CHD 2875/01	88,15 ± 0,73 <sup>a</sup>	18,42 ± 0,88 <sup>b</sup>	5,55 ± 0,36 <sup>a,b</sup>	21,64 ± 0,75 <sup>a</sup>	2,65 ± 0,04 <sup>c</sup>	61,54 ± 1,80 <sup>a</sup>
CHD2833/02	87,50 ± 0,09 <sup>a</sup>	16,45 ± 1,01 <sup>a</sup>	5,29 ± 0,53 <sup>a,b</sup>	21,20 ± 1,19 <sup>a</sup>	2,36 ± 0,05 <sup>a</sup>	63,72 ± 0,79 <sup>a,b</sup>
'Bohun'	87,79 ± 1,30 <sup>a</sup>	17,01 ± 0,88 <sup>a,b</sup>	5,73 ± 0,10 <sup>b</sup>	24,88 ± 0,40 <sup>b</sup>	2,40 ± 0,03 <sup>a</sup>	63,86 ± 0,95 <sup>a,b</sup>
'Deresz'	87,47 ± 1,45 <sup>a</sup>	16,80 ± 0,24 <sup>a,b</sup>	5,40 ± 0,30 <sup>a,b</sup>	24,92 ± 0,48 <sup>b</sup>	2,40 ± 0,06 <sup>a</sup>	64,40 ± 0,39 <sup>a,b</sup>
'Cwał'	88,89 ± 0,98 <sup>b</sup>	16,70 ± 1,34 <sup>a,b</sup>	5,20 ± 0,22 <sup>a,b</sup>	25,60 ± 0,66 <sup>b</sup>	2,54 ± 0,07 <sup>b</sup>	64,57 ± 1,22 <sup>b</sup>
Owies o brązowej łusce Brown-husked oat	87,89 ± 0,35	17,19 ± 1,07	5,29 ± 0,26	21,62 ± 0,42	2,48 ± 0,15	63,60 ± 2,00
Owies żółtoziarnowy Yellow-husked oat	88,05 ± 0,01	16,84 ± 0,16	5,44 ± 0,27	25,13 ± 0,40	2,45 ± 0,08	64,28 ± 0,37
$\bar{x}$	87,97 ± 0,78	17,01 ± 0,25	5,37 ± 0,11	23,37 ± 2,48	2,46 ± 0,02	63,94 ± 0,48

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

Białko stanowi jeden z podstawowych składników odżywczych. Jego rozmieszczenie na przekroju ziarna zbóż nie jest równomierne. W niniejszych badaniach wykazano, że w warstwach subaleuronowych, przylegających do warstwy aleuronowej, występuje największa koncentracja białka, z tego względu otręby i całe ziarno odznaczały się największą jego zawartością, kształtującą się na poziomie 16,45 – 18,42 % (otręby) i 14,03-19,33 % (całe ziarno owsa). Wartości dotyczące otręb w badaniach własnych są zbliżone do podanych przez Kawkę i wsp. [17], którzy wykazali, że zawartość białka w tej frakcji ziarna wynosi 16,3 %. Podobne wyniki przedstawiają rów-

nież Czubaszek i wsp. [7] – 17,4 % i Czerwińska [6] – 17,3 %. Piątkowska i wsp. [21] podają mniejszą wartość – 15,1 %.

Tabela 4

Zawartość składników odżywczych w łusce z ziarna badanych odmian i rodów owsa [%].  
Content of nutrients in husk of grain of oat cultivars and varieties analyzed [%].

Odmiana/ród Cultivar/variety	Sucha masa Dry mass	Białko Proteins	Tłuszcz Fat	Błonnik Fibre	Popiół Ash	Węglowodany ogółem Total carbohydrates
‘Gniady’	91,08 ± 0,25 <sup>b</sup>	5,42 ± 0,42 <sup>a,b</sup>	1,17 ± 0,29 <sup>a</sup>	69,81 ± 1,64 <sup>a</sup>	5,41 ± 1,38 <sup>b</sup>	79,08 ± 1,04 <sup>a</sup>
CHD 2875/01	91,19 ± 0,22 <sup>b</sup>	3,71 ± 0,26 <sup>a</sup>	1,32 ± 0,59 <sup>a</sup>	81,83 ± 3,2 <sup>b</sup>	4,26 ± 0,53 <sup>a,b</sup>	81,91 ± 1,30 <sup>b</sup>
CHD2833/02	91,22 ± 0,22 <sup>b</sup>	6,26 ± 1,10 <sup>b</sup>	2,11 ± 1,07 <sup>a</sup>	69,47 ± 6,30 <sup>a</sup>	3,71 ± 0,41 <sup>a</sup>	79,13 ± 1,60 <sup>a</sup>
‘Bohun’	90,16 ± 0,86 <sup>a</sup>	5,11 ± 1,56 <sup>a,b</sup>	1,53 ± 0,33 <sup>a</sup>	69,17 ± 0,85 <sup>a</sup>	4,10 ± 0,04 <sup>a</sup>	79,26 ± 1,90 <sup>a</sup>
‘Deresz’	90,97 ± 1,30 <sup>b</sup>	4,36 ± 1,22 <sup>a,b</sup>	1,80 ± 0,30 <sup>a</sup>	71,41 ± 1,15 <sup>a</sup>	4,41 ± 0,51 <sup>a,b</sup>	79,43 ± 0,97 <sup>a</sup>
‘Cwał’	91,18 ± 0,96 <sup>b</sup>	4,79 ± 0,94 <sup>a,b</sup>	1,40 ± 0,16 <sup>a</sup>	70,79 ± 2,91 <sup>a</sup>	4,41 ± 0,27 <sup>a,b</sup>	79,40 ± 0,83 <sup>a</sup>
Owies o brązowej łusce Brawon-husked oat	91,16 ± 0,07	5,13 ± 1,30	1,53 ± 0,51	73,70 ± 7,04	4,46 ± 0,87	80,04 ± 1,62
Owies żółtoziarnowy Yellow-husked oat	90,77 ± 0,10	4,75 ± 0,38	1,58 ± 0,20	70,46 ± 1,16	4,31 ± 0,18	79,36 ± 0,09
$\bar{x}$	90,97 ± 0,02	4,94 ± 0,27	1,56 ± 0,03	72,08 ± 2,30	4,38 ± 0,11	79,70 ± 0,48

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

Pod względem zawartości białka w całym ziarnie stwierdzono, że owies rodu CHD 2875/01 (o brązowej łusce) miał go istotnie więcej (19,3 %) w porównaniu z zawartością w odmianach żółtoziarnowych ‘Bohun’, ‘Deresz’ i ‘Cwał’ (odpowiednio 15,08, 14,22 i 14,03 %).

Bielmo analizowanych odmian owsa zawierało białko w zbliżonych ilościach ( $p \geq 0,05$ ), mieszczących się w zakresie 8,74 - 10,46 %. Wyniki te korespondują z danymi opublikowanymi przez Piątkowską i wsp. [21]. Autorzy ci wykazali, że zawar-

tość białka w bielmie wynosiła 9,3 %. Nieznacznie większą zawartość białka w bielmie oznaczyli Czubaszek i wsp. [7] oraz Gibiński i wsp. [12], odpowiednio 11,3 i 13,5 %.

W łusce pochodzącej z ziarna rodu CHD 2833/02 stwierdzono istotnie więcej białka w stosunku do rodu CHD 2875/01. Łuska pozostałych odmian i rodów zawierała białko w ilościach zbliżonych i równocześnie nieróżniących się istotnie. Średnia zawartość tego składnika w łusce odmian żółtoziarnowych była mniejsza niż w odmianach o ciemnej barwie (odpowiednio 4,75 i 5,13 %).

Zawartość tłuszczu w różnych częściach ziarna badanych rodów i odmian owsa była mało zróżnicowana w bielmie (średnia zawartość 4,65 %) i w łusce (średnia zawartość 1,56 %). Różnice w ilości tego składnika wystąpiły natomiast w przypadku całego ziarna i otręb. W całym ziarnie i otrębach największe i równocześnie istotne różnice pod względem zawartości tłuszczu wystąpiły pomiędzy odmianą 'Bohun' (5,17 % - ziarno, 5,73 % - otręby) a odmianą 'Gniady' (3,95 % - ziarno, 5,03 % - otręby). Pozostałe odmiany miały pośrednią i podobną zawartość tłuszczów w ziarnie (4,50 - 4,99 %) i otrębach (5,20 - 5,55 %). W łusce natomiast zawartość tłuszczu była najmniejsza (1,17 - 2,11 %), a różnice pomiędzy odmianami nie były istotne. Według Gibińskiego i wsp. [12] zawartość tłuszczu w bielmie jest większa niż uzyskana w badaniach własnych (4,22 - 5,19 %) i wynosi 6,95 %. Większą niż w badaniach własnych zawartość ocenianego składnika w całym ziarnie (~10 %) wykazali Dolatowski i wsp. [8], Wolska i wsp. [30], Jurga [15] oraz Czerwińska [6]. Według Biel i wsp. [4] tłuszcz w ziarnie o żółtej łusce stanowi 4,44 %, natomiast w ziarnie o ciemnym kolorze łuski - 4,36 %.

Zawartość węglowodanów ogółem w całym ziarnie badanych odmian kształtowała się na poziomie 64,98 % przy wahaniach od 61,35 do 70,29 %. Ziarno rodu CHD 2875/01 zawierało najmniej, a odmiana żółtoziarnowa 'Cwał' - najwięcej węglowodanów ogółem. W łusce węglowodanów ogółem było najwięcej (79,08 - 81,91 %), a w otrębach - najmniej (61,54 - 65,53 %). Statystycznie istotne różnice pod względem ilości węglowodanów w otrębach stwierdzono pomiędzy odmianami 'Gniady' i 'Cwał' oraz rodem CHD 2875/01. Różnice zawartości węglowodanów w bielmie poszczególnych odmian owsa nie były statystycznie istotne. Średnia zawartość składnika w tej frakcji ziarna wynosiła 73,1 %.

Wartości te korespondują z danymi opublikowanymi przez Piątkowską i wsp. [21], którzy wykazali, że zawartość węglowodanów ogółem w ziarnie wynosiła średnio 65,8 %, w bielmie - 74,3 %, oraz w otrębach - 67,9 %. Według Czerwińskiej [6] zawartość węglowodanów w całym ziarnie wynosi 66,3 %, natomiast w otrębach - 66,2 %.

Zawartość włókna pokarmowego w całym ziarnie kształtowała się w przedziale 20,72 - 21,31 %, w bielmie 9,64 - 10,20 %, w otrębach 21,20 - 25,60 %, a w łusce 69,17 - 81,83 %. Zawartość błonnika w otrębach odmiany i rodów o ciemnym zabar-

wieniu łuski była istotnie mniejsza w porównaniu z odmianami żółtoziarnowymi. W łusce najwięcej tego składnika wykazano w rodzie CHD 2875/01, a uzyskana średnia była istotnie większa w stosunku do pozostałych odmian i rodu.

Według Ciołek i wsp. [5] zawartość błonnika w bielmie owsa o ciemnych łuskach jest nieznacznie większa niż w bielmie owsa żółtoziarnowego, wartości te wynoszą odpowiednio 9,9 i 8,3 %. Gibiński i wsp. [12] podają zawartość włókna pokarmowego w bielmie na poziomie 8,0 %. Mościcki i Wójtowicz [19] oraz Piątkowska i wsp. [21] uzyskali taką samą zawartość błonnika – 7,6 %, natomiast Lange [18] podaje trochę większą ilość – 9,6 %. Wolska i wsp. [30] wykazali, że zawartość włókna pokarmowego w oplewionym ziarnie owsa wynosi do 30 %, natomiast po usunięciu łuski zaledwie 11 – 14 %.

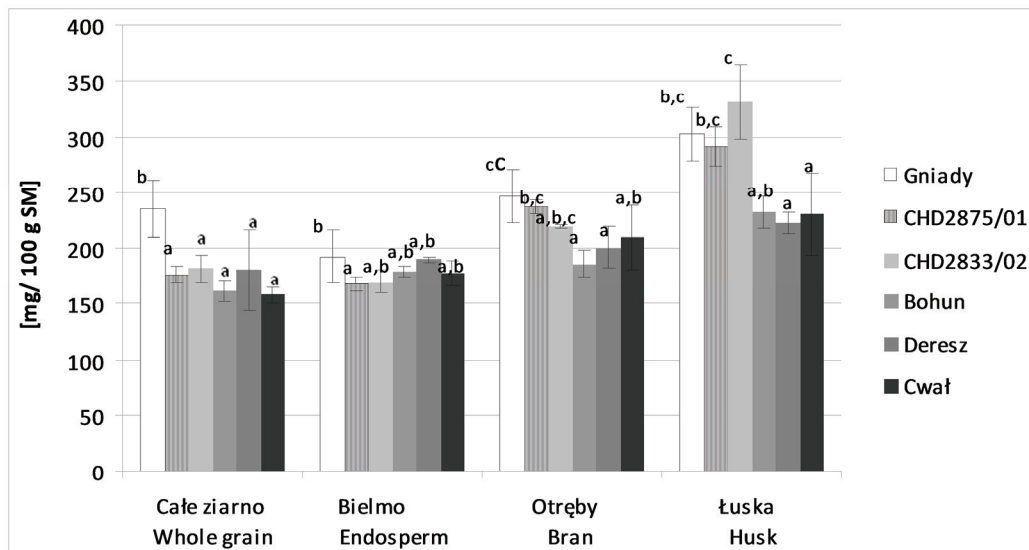
Składniki mineralne są nierównomiernie rozmieszczone na przekroju ziarna. Największa ich koncentracja występuje w zarodku i warstwach peryferyjnych. Łuska zawierała od 3,71 do 5,41 % popiołu. Mniejsze ilości oznaczono w otrębach (2,36 - 2,65 %), całym ziarnie (2,09 - 2,35 %), a najmniejsze – w bielmie (0,66 - 0,85 %) analizowanych odmian i rodów. Średnie zawartości popiołu w ziarnie i bielmie odmian o brązowym kolorze łuski były mniejsze niż odmian żółtoziarnowych, natomiast w przypadku otrąb i łuski – większe.

Według Piątkowskiej i wsp. [21] zawartość popiołu w ziarnie stanowi 1,7 %. Pisulewska i wsp. [23] podają zawartość składników mineralnych w ziarnie nieobłuszczonej w ilości 1,7 - 3,4 %, natomiast Wolska i wsp. [30] uzyskali wartość 3,1 %. Według Jurgi [15] zawartość ta wynosiła 2,7 – 3,7 % w ziarnie z plewką oraz 1,65 - 2,0 % w ziarnie obłuszczonej. Sulewska i wsp. [28] podają zawartość popiołu w ziarnie oplewionym odmiany 'Deresz' na poziomie 2,48 %, natomiast odmiany 'Gniady' – 3,35 %. Ciołek i wsp. [5] również wskazują, że zawartość popiołu jest większa w ciemnych odmianach owsa (3,66 %) niż w jasnych (3,35 %). Biel i wsp. [4] uważają natomiast, że zawartość składników mineralnych w owsie żółtoziarnowym (2,51 %) oraz o brązowym zabarwieniu łuski (2,53 %) jest podobna.

Zawartość związków polifenolowych w analizowanych ekstraktach przedstawiono na rys. 1. Odmiany owsa o brązowej łusce charakteryzowały się większą zawartością związków polifenolowych w porównaniu z odmianami żółtoziarnowymi. Na podstawie przeprowadzonych oznaczeń stwierdzono, że największa koncentracja związków polifenolowych znajduje się w łusce i otrębach. W przypadku całego ziarna odmiana 'Gniady' charakteryzowała się istotnie większą zawartością polifenoli w stosunku do wszystkich pozostałych rodów i odmian, zawierających zbliżone ilości tych składników. Zawartość polifenoli w bielmie ziarna ocenianych odmian owsa była mało zróżnicowana.

Średnie zawartości polifenoli w różnych odmianach owsa podane przez Piątkowską i wsp. [22] wynosiły w łusce 310,0 mg/100 g, w bielmie – 164,2 mg/100 g, w ca-

łym ziarnie – 181,8 mg/100 g, a w otrębach – 189,9 mg/100 g. Są to wartości wyższe niż uzyskane w badaniach własnych. Czerwińska [6] wykazała większą zawartość polifenoli w otrębach w porównaniu z bielmem i płatkami owsianymi.



n = 3; Wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie w obrębie frakcji przy  $p \leq 0,05$ .

Mean values denoted by different letters are statistically significant ( $p \leq 0.05$ ).

Rys. 1. Zawartość polifenoli ogółem w ekstraktach z różnych frakcji ziarna badanych odmian owsa [mg/100 g SM].

Fig. 1. Content of total polyphenols in extracts of different grain fractions of oat cultivars analyzed [mg/100 g DM].

Na podstawie dotychczasowych badań [26, 32] stwierdzono obecność w tłuszczu owsianym związków o właściwościach przeciwutleniających, do których należą przede wszystkim kwasy fenolowe, tj. kwas hydroksybenzoesowy, hydroksycynamonowy i kawowy. Ich aktywność jest zbliżona do butylohydroksytoluenu czy galusanu propylu – syntetycznych przeciwutleniaczy [26]. Kwasy te zlokalizowane są głównie w zewnętrznych warstwach ziarniaka przechodzących do otrąb podczas produkcji mąki. Zawartość wolnych i połączonych wiązaniem estrowym kwasów fenolowych w ziarniaku owsa wynosi 30,1  $\mu\text{g/g}$  [32]. Wołoch i wsp. [31] wykazali, że otręby owsiane zawierają więcej polifenoli niż mąka z tego samego zboża. Emmons i Peterson [9] stwierdzili natomiast większą zawartość związków polifenolowych w nieobłuszczonej mące owsianej w porównaniu z mąką obłuszczonej. W owsie, jako jedynym

zbożu, występują ponadto awentramidy. Jest to grupa pochodnych kwasów cynamonowych (p-kumarowego, ferulowego i kawowego) i kwasu antranilowego, 5-hydroksyantranilowego i 5-hydroksy-4-metoksyantranilowego [33]. Grupa ta obejmuje co najmniej 25 różnych związków występujących w płatkach owsianych oraz 20 – w łusce [9].

Tabela 5

Aktywność antyoksydacyjna [% RSA ABTS<sup>•+</sup>] różnych frakcji ziarna badanych odmian i rodów owsa. Antioxidant activity of different grain fractions of oat cultivars and varieties analyzed [% RSA ABTS<sup>•+</sup>].

Odmiana/ród Cultivar/variety	Frakcja ziarna / Grain fraction			
	Całe ziarno Whole grain	Bielmo Endosperm	Otręby Bran	Łuska Husk
	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$
‘GniadyY’	25,81 ± 4,85 <sup>a</sup>	25,31 ± 2,56 <sup>a</sup>	24,92 ± 1,72 <sup>a, b</sup>	25,47 ± 2,30 <sup>b</sup>
CHD 2875/01	25,90 ± 3,62 <sup>a</sup>	25,35 ± 1,58 <sup>a</sup>	21,49 ± 2,07 <sup>a</sup>	23,45 ± 1,36 <sup>a, b</sup>
CHD 2833/02	24,38 ± 0,87 <sup>a</sup>	23,95 ± 5,18 <sup>a</sup>	24,80 ± 2,78 <sup>a, b</sup>	26,19 ± 1,18 <sup>b</sup>
‘Bohun’	25,77 ± 2,35 <sup>a</sup>	23,55 ± 2,40 <sup>a</sup>	23,74 ± 2,00 <sup>b</sup>	25,07 ± 2,09 <sup>b</sup>
‘Deresz’	25,46 ± 1,58 <sup>a</sup>	22,35 ± 1,10 <sup>a</sup>	25,50 ± 0,20 <sup>b</sup>	22,65 ± 2,68 <sup>a, b</sup>
‘Cwał’	23,29 ± 0,88 <sup>a</sup>	21,41 ± 2,73 <sup>a</sup>	24,74 ± 0,91 <sup>a, b</sup>	21,21 ± 0,66 <sup>a</sup>

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

Właściwości przeciwutleniające badanych odmian owsa przedstawiono w tab. 5 i 6. Łuska badanych ziaren owsa wykazywała silną aktywność antyoksydacyjną, wyrażoną poprzez zdolność ekstraktów metanolowych do wygaszania wolnego rodnika ABTS<sup>•+</sup> (tab. 5). Najprawdopodobniej jest to związane z wysoką koncentracją polifenoli w tej frakcji. Najsilniejszą aktywność wykazywała odmiana ‘Gniady’ i obydwa oceniane rody. Różnice w stosunku do aktywności ekstraktów odmian żółtoziarnowych były statystycznie istotne. Wykazano również, że właściwości antyoksydacyjne (zdolność eliminacji wolnych rodników) otrąb owsa były większe niż bielma. Równocześnie bielmo, jak i otręby uzyskane z poszczególnych odmian i rodów, charakteryzowały się na ogół podobną zdolnością wygaszania wolnego rodnika ABTS<sup>•+</sup>. Aktywność antyoksydacyjna, oznaczona za pomocą wolnego rodnika DPPH, całego ziarna (23,29 -



25,90 % RSA DPPH\*) i bielma (21,41 - 25,35 % RSA DPPH\*) poszczególnych odmian i rodów owsa była na ogół zbliżona (tab. 6). Istotne różnice wartości tego parametru wystąpiły w przypadku otrąb i łuski. Największe różnice tej aktywności w otrębach zaznaczyły się pomiędzy rodem CHD 2875/01 (21,49 % RSA DPPH\*) i odmianą ‘Deresz’ (25,50 % RSA DPPH\*), a w łusce pomiędzy odmianami ‘Cwał’ (21,21 % RSA DPPH\*) i ‘Gniady’ (25,47 % RSA DPPH\*).

Tabela 6

Aktywność antyoksydacyjna [% RSA DPPH] różnych frakcji ziarna badanych odmian i rodów owsa.  
Antioxidant activity of different grain fractions of oat cultivars and varieties analyzed [% RSA DPPH].

Odmiana/ród Cultivar/variety	Frakcja ziarna / Grain fraction			
	Całe ziarno Whole grain	Bielmo Endosperm	Otręby Bran	Łuska Husk
	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$
‘Gniady’	63,84 ± 2,30 <sup>b</sup>	54,27 ± 4,31 <sup>b</sup>	61,12 ± 0,69 <sup>a, b</sup>	71,60 ± 4,12 <sup>c</sup>
CHD 2875/01	56,66 ± 0,97 <sup>a</sup>	54,65 ± 3,71 <sup>b</sup>	61,90 ± 1,34 <sup>b</sup>	67,10 ± 1,89 <sup>c</sup>
CHD 2833/02	56,00 ± 0,86 <sup>a</sup>	53,39 ± 0,80 <sup>a, b</sup>	61,20 ± 1,37 <sup>a, b</sup>	70,10 ± 1,78 <sup>c</sup>
‘Bohun’	55,23 ± 4,04 <sup>a</sup>	51,10 ± 1,90 <sup>a, b</sup>	60,60 ± 0,38 <sup>a, b</sup>	61,40 ± 2,47 <sup>b</sup>
‘Deresz’	58,70 ± 4,03 <sup>a</sup>	50,40 ± 5,46 <sup>a, b</sup>	58,80 ± 1,49 <sup>a</sup>	55,30 ± 3,07 <sup>a</sup>
‘Cwał’	53,70 ± 0,94 <sup>a</sup>	48,64 ± 2,81 <sup>a</sup>	58,54 ± 1,99 <sup>a</sup>	59,38 ± 1,89 <sup>a, b</sup>

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

Biorąc pod uwagę aspekt żywieniowy, obróbka mechaniczna zbóż (obluszczenie i przemiał na mąki jasne), w czasie której usuwane są zewnętrzne części ziarniaka oraz zarodka, powoduje utratę związków przeciwutleniających [14]. Substancje te nie ulegają jednak zniszczeniu, przechodzą do otrąb, dzięki czemu ta frakcja ziarna stanowi wartościowy produkt dla konsumenta [34]. Uzyskane w badaniach własnych wyniki potwierdzają, że proces obluszczenia ziarna obniża właściwości antyoksydacyjne uzyskanego produktu.

## Wnioski

1. Całe, obluszczone ziarno owsa odmian o brązowej barwie łuski charakteryzowało się większą zawartością białka i równocześnie mniejszą zawartością tłuszczu i węglowodanów ogółem oraz zbliżoną błonnika i związków mineralnych w postaci popiołu w porównaniu z ziarnem odmian żółtoziarnowych.

2. Bielmo ziarna owsa o brązowej łusce zawierało więcej białka, mniej tłuszczu oraz zbliżone ilości węglowodanów ogółem, błonnika i popiołu w stosunku do odmian żółtoziarnowych.
3. Otręby uzyskane z ziarna owsa odmiany i rodów o ciemnym zabarwieniu wykazywały mniejszą zawartość białka, większą błonnika i porównywalne ilości pozostałych ocenianych składników w porównaniu z odmianami o jasnym zabarwieniu.
4. Łuska, produkt odpadowy w technologii przetwórstwa owsa, zawierała znaczne ilości suchej masy, węglowodanów, błonnika pokarmowego, składników mineralnych, polifenoli oraz cechowała się wysoką aktywnością antyoksydacyjną.
5. Największą zawartością polifenoli i najwyższą aktywnością antyoksydacyjną charakteryzowały się otręby z ziarna owsa odmian o brązowej łusce, zaś najmniejszą aktywnością – bielmo.

*Badania wykonano w ramach grantu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego nr N N312 208436.*

### Literatura

- [1] AOAC: Official methods of analysis, 18<sup>th</sup> edition. Gaithersburg Association of Official Analytical Chemists International, 2006.
- [2] Bartnikowska E., Lange E., Rakowska M.: Ziarno owsa – niedocenione źródło składników odżywczych i biologicznie czynnych. Cz. I. Ogólna charakterystyka owsa. Białka, tłuszcze. Biul. IHAR, 2000, **215**, 209-222.
- [3] Bartnikowska E., Lange E., Rakowska M.: Ziarno owsa – niedocenione źródło składników odżywczych i biologicznie czynnych. Część II. Polisacharydy i włókno pokarmowe, składniki mineralne, witaminy. Biul. IHAR, 2000, **215**, 223-237
- [4] Biel W., Szołkowska A., Bobko K., Jaskowska I.: Skład chemiczny i jakość białka ziarna owsa brązowo- i żółtoplewkowego. Folia Pomer. Univ. Technol. Stetin., 2010, **278 (14)**, 39-48.
- [5] Ciołek A., Makarska E., Makarski B.: Zawartość wybranych składników żywieniowych w ziarnie owsa czarnego i żółto ziarnistego. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2008, **3 (58)**, 80-88.
- [6] Czerwińska D.: Znaczenie otrąb w żywieniu człowieka. Przegl. Zboż. Młyn., 2010, **4**, 6-7.
- [7] Czubaszek A., Karolini-Skaradzińska Z., Fajarczuk M.: Wpływ dodatku produktów z owsa na właściwości wypiekowe mieszanek żytnio-owsianych. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2011, **5 (78)**, 150-162.
- [8] Dolatowski Z.J., Stasiak D.M., Pisarek S.: Wpływ obróbki hydrotermicznej ziarna owsa na jego wybrane właściwości fizyczne. Technologia Alimentaria, 2002, **1 (1)**, 91-102.
- [9] Emmons C.L., Peterson D.M.: Antioxidant activity and phenolic content of oat as affected by cultivar and location. Crop Sci., 2001, **41**, 1676-1681.
- [10] Gajewska J., Fabijańska M., Garbolińska M.: Microbiological studies of feed and faeces of fatteners fed mixtures containing naked oat and permutite. Acta Microbiol. Pol., 2002, **51 (1)**, 63-69.
- [11] Gąsiorowski H.: Wartość fizjologiczno-żywnościowa owsa. Przegl. Zboż. Młyn., 2003, **47 (3)**, 26-28.
- [12] Gibiński M., Gambuś H., Nowakowski K., Mickowska B., Pastuszka D., Augustyn G., Sabat R.: Wykorzystanie mąki owsianej – produktu ubocznego przy produkcji koncentratu z owsa – w piekarstwie. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2010, **3 (70)**, 56-75.


- [13] Hahn J.D., Chung T.K., Baker D.H.: Nutritive value of oat flour and oat bran. *J. Anim. Sci.*, 1990, **68**, 4253-4260.
- [14] Heinio R.L., Liukkonen K.H., Katina K., Myllymaki O., Poutanen K.: Milling fractionation of rye produces different sensory profile of both flour and bread. *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.*, 2003, **36**, 577-583.
- [15] Jurga R.: Zarodki jęczmienne i owsiane – cennym źródłem witamin i składników odżywczych. *Przegl. Zboż. Młyn.*, 2011, **5**, 7-9.
- [16] Juvonen K.R., Purhonen A.K., Salmenkallio-Marttila M., Lahteenmaki L.: Viscosity of oat bran-enriched beverages influences gastrointestinal hormonal responses in healthy humans. *J. Nutr.* 2009, **139** (3), 461-466.
- [17] Kawka A., Rausch P., Budna A.: Startery fermentacji produkcji pieczywa pszenno-owsianego. *Nauka Przyroda Technologie*, 2010, **4**, 2.
- [18] Lange E.: Produkty owsiane jako żywność funkcjonalna. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **3** (70), 7-24.
- [19] Mościcki L., Wójtowicz A.: Produkty pełnoziarniste. Cz. III. Błonnik. *Przegl. Zboż. Młyn.*, 2009, **5**, 7-11.
- [20] Pekkarinen S.S., Stockmann H., Schwarz K., Heinonen I.M., Hopia A.I.: Antioxidant activity and partitioning of phenolic acids in bulk and emulsified methyl linoleate. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47**, 3036-3043.
- [21] Piątkowska E., Witkiewicz R., Pisulewska E.: Podstawowy skład chemiczny wybranych odmian owsa siewnego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **3** (70), 88-99.
- [22] Piątkowska E., Witkiewicz R., Pisulewska E.: Właściwości antyoksydacyjne wybranych odmian owsa siewnego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **3** (70), 100-107.
- [23] Pisulewska E., Lepiarczyk A., Gambuś F., Witkiewicz R.: Plonowanie oraz skład mineralny brązowo i żółtoplewkowych form owsa. *Fragm. Agron.*, 2009, **26** (1), 84-92.
- [24] Polli-Swain T., Hillis W.E.: The phenolic constituents of *Prunus domestica*. The quantitative analysis of phenolic constituents. *J. Sci. Food Agric.*, 1959, **10**, 63-68.
- [25] Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C.: Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med.*, 1999, **26** (9-10), 1231-7.
- [26] Rosicka-Kaczmarek J.: Polifenole jako naturalne antyoksydanty w żywności. *Przegl. Piek. Cuk.*, 2004, **6**, 12-16.
- [27] Souci S.W., Fachmann W., Kraut H.: Food composition and nutrition tables 1989/90, 4<sup>th</sup> edition. *Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft GmbH, Stuttgart* 1989.
- [28] Sulewska H., Szymańska G., Panasiewicz K., Koziara W., Szolkowska A.: Wielocechowa ocena odmian owsa hodowli Danko. *Nauka Przyroda Technologie*, 2010, **4**, 3.
- [29] Tosh S.M., Brummer Y., Wolever T.M.S., Wood P.J.: Glycemic Response to oat bran muffins treated to vary molecular weight of  $\beta$ -glucan. *Cereal Chem*, 2008, **85** (2), 211-217.
- [30] Wolska P., Ceglińska A., Rudzińska A.: Wpływ dodatku produktów owsianych na jakość pieczywa pszennego. *Nauka Przyroda Technologie*, 2009, **3**, 4.
- [31] Wołoch R.: Zdolność eliminowania wolnych rodników przez ekstrakty uzyskane z frakcji młynarskich ziarna nieoplewionych i oplewionych form jęczmienia i owsa. *Biul. IHAR*, 2003, **229**, 263-270.
- [32] Wood P.J.: Oat bran. *American Association of Cereal Chemist, St. Paul* 1993.
- [33] Zieliński H., Lewczuk B., Kozłowska H.: Melatonin in cereal grains as a potential cancer prevention agent. In: *Dietary Anticarcinogenes and Antimutagenes. Chemical and Biological Aspects*. I.T. Johnson and G.R. Fenwick (Eds). *The Royal Society of Chemistry, Athenaeum Press Ltd, Gateshead, Tyne and Wear, UK*, 2000, pp. 266-273.

- [34] Zieliński H., Michalska A., Amigo-Benavent M., del Castillo M.D., Piskula M.K.: Changes in protein quality and antioxidant properties of buckwheat seeds and oats induced by roasting. *J. Agric. Food Chem.*, 2009, **57**, 4771-4776.

## CONTENT OF NUTRIENTS AND ANTIOXIDANT PROPERTIES OF DIFFERENT GRAIN FRACTIONS OF SELECTED OAT CULTIVARS AND VARIETIES

### Summary

The objective of the research study was to determine the content of nutrients and to assess the antioxidant properties of a whole grain, husk, endosperm, and bran in different oat cultivars and varieties. The research material comprised grains of the brown-husked oat of 'Gniady' cultivar and of the two varieties: CHD 2875/01, CHD 2833/02, as well as the yellow-husked oat of 'Bohun', 'Deresz', and 'Cwal' cultivars. Using AOAC standard methods of analysis, there were analyzed the contents of: dry mass, protein, fat, total carbohydrates, dietary fibre, and mineral compounds in the form of ash. Also, the content of polyphenols was determined using a Folin-Ciocalteu method. Additionally, the ability to scavenge the ABTS<sup>•+</sup> and DPPH<sup>•</sup> free radicals was determined. The whole de-husked grains of brown-husked oat cultivar were characterized by a higher content of protein and, at the same time, by a lower content of total fat and total carbohydrates, as well as by a similar content of fibre and ash compared to the yellow-husked oat cultivars. The endosperm of oat grains with a brown-coloured husk contained more proteins, less fat, and approximately equal amounts of total carbohydrates, fibre, and ash compared to the oat cultivars with yellow-husked grains. The bran of the oat cultivar and varieties with brown-husked grains had a lower amount of protein, a higher amount of fibre, and comparable amounts of other ingredients analysed in comparison to the bright coloured oats cultivars. The bran of oat cultivars with brown-husked grains was characterized by the highest content of polyphenols and by the highest antioxidant activity, while the endosperm – by the lowest amount of polyphenols and by the lowest antioxidant activity. The husk, which is a waste product of oat processing technology, contained significant amounts of dry matter, carbohydrates, dietary fibre, minerals, and polyphenols; it was characterized by a high antioxidant activity.

**Key words:** oat, nutrients, antioxidant properties, grain fractions 

MONIKA KARAŚ, ANNA JAKUBCZYK, EDYTA PACZOS-GRZĘDA

## WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWUTLENIAJĄCE HYDROLIZATÓW BIAŁEK Z ZIARNA UPRAWNYCH I DZIKICH GATUNKÓW OWSA (*AVENA L.*)

### Streszczenie

Owies i produkty owsiane są ważnym źródłem tłuszczów, błonnika pokarmowego, sacharydów, składników mineralnych, witamin oraz białka. Hydroliza enzymatyczna białek prowadzi do uwalniania peptydów, które mogą wykazywać różnorodną aktywność, w tym przeciwutleniającą. Przeprowadzone badania miały na celu określenie właściwości przeciwutleniających hydrolizatów białek owsa uzyskanych z 12 odmian (genotypów) uprawnych i dzikich heksa- i tetraploidalnych gatunków z rodzaju *Avena L.* Izolat białkowy (IBO9) otrzymany z ziaren dzikiej formy owsa należącej do gatunku *A. maroccana* CN 43136 charakteryzował się największą liczbą polimorficznych frakcji białkowych. Ponadto hydrolizat HBO9 otrzymany z białek ziaren owsa *A. maroccana* CN 43136 wykazywał najwyższą zdolność do neutralizacji wolnych rodników generowanych z ABTS (87,27 %) oraz DPPH (46 %). Natomiast największą zdolność do chelatowania jonów Fe (II) – 90,12 %, oznaczono w HBO7 (*A. sterilis* AVE 2116), forma dzika. Stwierdzono, że krzyżowanie międzygatunkowe podwyższa właściwości przeciwutleniające hydrolizatów białek owsa, a w konsekwencji korzystnie wpływa na właściwości prozdrowotne ziarna.

**Słowa kluczowe:** owies, izolaty białkowe, hydrolizaty białkowe, właściwości przeciwutleniające

### Wprowadzenie

Wzrost zainteresowania konsumentów produktami pochodzenia naturalnego, a w szczególności roślinnego, wpłynął na projektowanie nowych produktów spożywczych zawierających owies. Ziarniaki owsa (*Avena L.*) stanowią bogate źródło biologicznie aktywnych związków, takich jak: błonnik pokarmowy, oligosacharydy, aminokwasy, wielonienasycone kwasy tłuszczowe, witaminy, składniki mineralne oraz białka i peptydy o udowodnionych, korzystnych właściwościach prozdrowotnych [9]. Dieta bogata w produkty zawierające ziarno owsa może przyczynić się do obniżenia

---

*Dr M. Karaś, dr A. Jakubczyk, Katedra Biochemii i Chemii Żywności, Wydz. Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Skromna 8, 20-704 Lublin, dr E. Paczos-Grzęda, Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Akademicka 15, 20-950 Lublin*

nadmiernego poziomu cholesterolu w surowicy krwi [18], korzystnie oddziaływać w leczeniu cukrzycy, poprawiać perystaltykę jelit, sprawność psychofizyczną, wzmacniać odporność immunologiczną czy też niwelować niedobory białka [9].

Białka owsa różnią się w znacznym stopniu od białek innych zbóż. Dominującą frakcją stanowią w nich globuliny, których zawartość jest oceniana na około 50 - 80 % masy wszystkich białek, natomiast zawartość prolamin i glutelin wynosi 20 - 25 % [4].

Wykazano, że funkcjonalne i odżywcze właściwości białek żywności można poprawić na drodze enzymatycznej hydrolizy [2]. Ponadto, w wyniku procesu rozpadu białek otrzymuje się peptydy wykazujące różnorodną fizjologiczną aktywność w tym: antybakteryjną, przeciwnadciśnieniową, immunomodulacyjną, opioidową czy też przeciwutleniającą [13]. Dlatego też procesy enzymatycznej hydrolizy są wykorzystywane do produkcji preparatów i suplementów diety wykazujących pozytywny, ukierunkowany wpływ na organizm człowieka.

Wiele związków naturalnie występujących w żywności pochodzenia roślinnego wykazuje właściwości przeciwutleniające, należą do nich m.in. związki fenolowe, witaminy C i E oraz glutation [21, 29]. Jednak niewiele jest badań dotyczących potencjału antyoksydacyjnego izolatów i hydrolizatów białek owsa.

Celem niniejszej pracy było określenie potencjalnego wpływu krzyżowań międzygatunkowych na właściwości przeciwutleniające białek ziarna owsa oraz możliwości wykorzystania gatunków dzikich: *Avena maroccana*, *A. murphyi*, *A. fatua* i *A. sterilis* jako dawców genów odpowiedzialnych za poprawę tego parametru w odmianach owsa zwyczajnego. Genotypy reprezentujące wyżej wymienione gatunki dzikie (*A. maroccana*, *A. murphyi*, *A. fatua* i *A. sterilis*) są wykorzystywane w hodowli twórczej owsa, m.in. w celu zwiększenia zawartości białka i lipidów w ziarnie oraz poprawy odporności na choroby grzybowe [24, 25].

### **Materiał i metody badań**

Materiał doświadczalny stanowiły ziarniaki 12 genotypów owsa reprezentujących 5 gatunków z rodzaju *Avena* L.: trzy heksaploidalne: *A. sativa*, *A. fatua* i *A. sterilis* oraz dwa tetraploidalne: *A. maroccana* i *A. murphyi*. Ziarniaki badanych genotypów otrzymano w eksperymencie polowym, zlokalizowanym na poletkach Gospodarstwa Doświadczalnego UP w Lublinie, w Czesławicach koło Nałęczowa (tab. 1).

Doświadczenie przeprowadzono na glebie brunatnej wytworzonej z lessu zaliczanej do II klasy bonitacyjnej. Wiosną przeprowadzono bronowanie oraz zastosowano nawożenie mineralne w ilości 60 N kg·ha<sup>-1</sup>, 80 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> kg·ha<sup>-1</sup>, 100 K<sub>2</sub>O kg·ha<sup>-1</sup>. W dniu 12 kwietnia 2010 r. na poletka o długości i szerokości 1 metra ręcznie wysiano, w trzech powtórzeniach, po 100 ziarniaków owsa. Po zawiązaniu ziarniaków, na grupy wiech z form dzikich – osypujących, należących do gatunków *A. maroccana*, *A. murphyi*, *A. fatua* i *A. sterilis* nakładano izolatory z tomofanu w celu zapobieżenia

osypaniu kłosek lub ziarniaków. W fazie pełnej dojrzałości ziarniaków zebrano po 10 wiech z każdego poletka odmian *A. sativa* oraz izolatory z poletek form dzikich. Przygotowano zbiorcze próbki, reprezentatywne dla poszczególnych genotypów, a następnie ziarniaki owsa obłuszczano ręcznie, rozdrabniano w młynku laboratoryjnym WŻ-1 firmy ZBPP i przesiewano przy użyciu sita (595 µm). Tak przygotowane mąki używano do dalszych analiz.

Tabela 1

Charakterystyka analizowanych form owsa.  
Profile of oat forms analyzed.

Lp. No.	Gatunek Species	Odmiana Nr banku genów Cultivar Gene bank No.	Liczba chromosomów Number of chromosomes	Kraj pochodzenia Country of origin	Miejsce wyhodowania / bank genów Breeding place / gene bank
1.	<i>A. sativa</i>	Mostyn	42	Wlk. Brytania	WPBS, Aberystwyth
2.	<i>A. sativa</i>	Sprinter	42	Polska	HR Strzelce
3.	<i>A. sativa</i>	Rajtar	42	Polska	DANKO HR
4.	<i>A. fatua</i>	AVE270	42	Albania	IPK Gatersleben
5.	<i>A. fatua</i>	51601	42	Polska	KCRZG, IHAR Radzików
6.	<i>A. sterilis</i>	AVE 531	42	Włochy	IPK Gatersleben
7.	<i>A. sterilis</i>	AVE 2116	42	Liban	IPK Gatersleben
8.	<i>A. sterilis</i>	PI 378859	42	Izrael	NSGC-GRIN, Aberdeen
9.	<i>A. maroccana</i>	CN43136	28	Grecja	PGRC, Saskatoon, Kanada
10.	<i>A. maroccana</i>	52222	28	Maroko	KCRZG, IHAR, Radzików
11.	<i>A. murphyi</i>	CN21898	28	Hiszpania	PGRC, Saskatoon, Kanada
12.	<i>A. murphyi</i>	51843	28	Maroko	KCRZG, IHAR Radzików

Objaśnienia: / Explanatory notes:

WPBC – Welsh Plant Breeding Station; HR Strzelce – Hodowla Roślin Strzelce / Plant Breeding in Strzelce; Danko HR – Danko Hodowla Roślin w Choryni / Danko Plant Breeding in Choryń; IPK – Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research; KCRZG, IHAR – Krajowe Centrum Roślinnych Zasobów Genowych, Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin / National Centre for Plant Genetic Resources: Polish Genebank; NSGC-GRIN – National Small Grain Collection, National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland, USA; PGRC – Plant Gene Resources of Canada.

Endogenne proteazy ziarniaków owsa inaktywowano podczas 15-minutowego ogrzewania próbek mąki w temp. 100 °C zgodnie z metodą Karaś i wsp. [12].



*Otrzymywanie izolatów białek owsa (IBO<sub>1-12</sub>; liczby: 1-12 – zgodne z tab. 1)*

Do próbek mąki z ziarniaków owsa dodawano 0,2-procentowy roztwór NaOH w proporcji 1:10 (w/v) i prowadzono ekstrakcję w temp. pokojowej przez 1 h. Następnie ekstrakty odwirowywano (9000×g, 20 min, temp. 4 °C) i pH supernatantów doprowadzano do wartości 4,5 (strącanie w punkcie izoelektrycznym) przy użyciu 0,1 M roztworu HCl. Uzyskaną zawiesinę ponownie odwirowywano (9000×g, 20 min, temp. 4 °C). Otrzymane osady izolatów białkowych z ziarniaków owsa (IBO<sub>1-12</sub>) liofilizowano w liofilizatorze firmy Labconco i przechowywano w temp. 4 °C [28].

Następnie przeprowadzono elektroforetyczny rozdział izolatów IBO<sub>1-12</sub> techniką SDS-PAGE zgodnie z procedurą Laemmli [15]. Elektroforezę wykonywano w układzie dwufazowym: 4 % - żel zagęszczający, 12 % - żel rozdzielający o grubości 0,75 mm, w aparacie Mini-Protean, firmy Bio-Rad. Rozdział żelu zagęszczającego prowadzono przy natężeniu 5 mA, a żelu rozdzielającego – przy 10 mA. Po zakończeniu rozdziału białek, żel poliakrylamidowy barwiono za pomocą barwnika CBB R-250. Jako standard mas cząsteczkowych białek użyto Molecular Mass Standard, Fermentas, SM 1849 (116·10<sup>3</sup> Da – β-galaktozydaza, 66,2·10<sup>3</sup> Da – albumina wołowa, 45·10<sup>3</sup> Da – ovalbumina, 35·10<sup>3</sup> Da – dehydrogenaza mleczanowa, 25·10<sup>3</sup> Da – REase Bsp 98I, 18,4·10<sup>3</sup> Da – β-laktoglobulina, 14,4·10<sup>3</sup> Da – lizozym).

*Otrzymywanie hydrolizatów białek owsa (HBO<sub>1-12</sub>; liczby: 1-12 – zgodne z tab. 1)*

W celu otrzymania hydrolizatów białek owsa HBO<sub>1-12</sub> sporządzano 5 % (w/v) roztwory z uprzednio zliofilizowanych izolatów IBO<sub>1-12</sub> w 0,1M buforze boranowym pH 8. Następnie otrzymane roztwory izolatów białkowych poddawano 2-godzinnej hydrolizie z udziałem alkalazy z *Bacillus licheniformis* (2,4 U). Proces hydrolizy prowadzono w optymalnych warunkach temperatury i pH enzymu (t = 50 °C, pH 8). W trakcie procesu hydrolizy co 30 min pobierano próbki hydrolizatu w celu oznaczenia zawartości peptydów. Proces hydrolizy zatrzymywano przez 10 min przed termiczną inaktywacją proteaz w temp. 100 °C. W celu usunięcia nierozpuszczalnych fragmentów substratu i pozostałości enzymu, hydrolizat odwirowywano (9000×g, 20 min, temp. 4 °C) [23], a następnie supernatanty (HBO<sub>1-12</sub>) poddawano liofilizacji. W otrzymanych hydrolizatach HBO<sub>1-12</sub>, jak i w próbkach pobranych w trakcie trwania procesu hydrolizy (po 0, 30, 60, 90 i 120 min) oznaczano zawartość peptydów metodą z TNBS (kwasem 2, 4, 6- trinitrobenzenosulfonowym) zgodnie z metodą opisaną przez Adlera-Nissena [1]. Ponadto w hydrolizatach HBO<sub>1-12</sub> oznaczano właściwości przeciwutleniające: zdolność do neutralizacji wolnych rodników generowanych z DPPH (1,1-difenylo-2-picryl-hydrazyl) i ABTS (kwas 2,2'-azynobis-3-etylobenzotiazolino-6-sulfonowy) [5, 22] oraz chelatowanie jonów Fe(II) przy stałym stężeniu peptydów – 1 mg/ml [7]. Aktywność przeciwrodnikową wobec ABTS<sup>+</sup> określano na podstawie oznaczonych spektrofotometrycznie zmian absorbancji (λ = 734 nm) rodnika ABTS wobec próbki zero-

wej zgodnie z metodą Re i wsp. [22]. Natomiast aktywność przeciwrodnikową wobec DPPH określano na podstawie oznaczonych spektrofotometrycznie zmian absorbancji ( $\lambda = 517$  nm) rodnika DPPH wobec próbki kontrolnej zgodnie z metodą Branda-Williams i wsp. [5].

Zarówno aktywność przeciwrodnikową hydrolizatów HBO<sub>1-12</sub> wobec ABTS<sup>+</sup>, jak i DPPH, wyrażoną jako procent neutralizowania wolnych rodników, obliczano z równania [10]:

$$\% = [1 - (A_p/A_k)] \times 100,$$

gdzie: A<sub>p</sub> – absorbancja próbki badanej, A<sub>k</sub> – absorbancja próbki kontrolnej.

Zdolność do chelatowania jonów Fe (II) oznaczano metodą spektrofotometryczną z użyciem ferrozyny zgodnie z metodą Deckera i Welcha [7]. Badanie zdolności do chelatowania jonów Fe (II) przez hydrolizaty HBO<sub>1-12</sub> wykonywano poprzez pomiar absorbancji barwnego kompleksu Fe (II) – ferrozyna po 10 min od dodania ferrozyny ( $\lambda = 562$  nm) wobec próbki kontrolnej.

Zdolność hydrolizatów HBO<sub>1-12</sub> do chelatowania jonów Fe (II) wyrażoną w [%] określano z równania [7]:

$$\% = [1 - (A_{562\text{próbki}}/A_{562\text{kontroli}})] \times 100$$

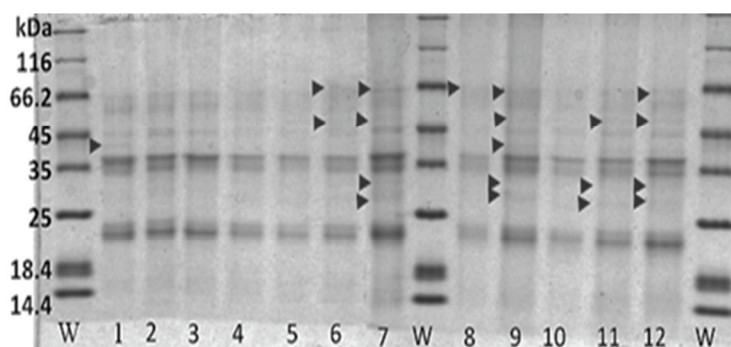
Wszystkie oznaczenia przeprowadzono w trzech powtórzeniach. Analizę statystyczną wykonano z zastosowaniem programu STATISTICA 7.0. Do określenia istotności różnic pomiędzy średnimi grupowymi w układzie analizy wariancji zastosowano test post-hoc HSD Tukeya, przy poziomie istotności  $p = 0,05$ .

## Wyniki i dyskusja

Elektroforetyczny rozdział izolatów białkowych IBO<sub>1-12</sub>, z ziarna uprawnych i dzikich gatunków owsa (*Avena* L.) przedstawiono na rys. 1. Po przeanalizowaniu elektroforegramy IBO<sub>1-12</sub> stwierdzono znaczący udział frakcji białkowych o masie cząsteczkowej  $(16 - 23) \cdot 10^3$  Da oraz  $(35 - 38) \cdot 10^3$  Da we wszystkich badanych genotypach. Podobne wyniki uzyskali Liu i wsp. [17] w przypadku izolatów białek owsa odmiany Bayou, gdzie dominującymi frakcjami były białka o masie cząsteczkowej  $\sim 22 \cdot 10^3$  Da i  $\sim 36 \cdot 10^3$  Da.

Największa liczba polimorficznych frakcji białkowych wystąpiła w genotypie *A. maroccana* CN 43136 (IBO<sub>9</sub>). Kilka dodatkowych frakcji stwierdzono również w przypadku gatunku *A. sterilis* AVE 2116 (IBO<sub>7</sub>) oraz obu analizowanych genotypów *A. murphyi*: CN 21989 i 51843 (IBO<sub>11,12</sub>). Pojedyncze polimorficzne frakcje białek zidentyfikowano w genotypach: *A. sativa* Mostyn (IBO<sub>1</sub>) oraz *A. sterilis*: AVE 531 i PI378859 (IBO<sub>6,7</sub>). Uzyskane wyniki jednoznacznie wskazują, że zawartość polimorficznych frakcji białkowych jest największa w formach tetraploidalnych *A. maroccana* i *A. murphyi*, które reprezentują najstarsze ewolucyjnie gatunki. Tetraploidy z tej grupy

brały udział w ewolucji heksaploidów [14]. Zawartość frakcji polimorficznych jest również duża w najstarszym ewolucyjnie heksaploidzie – *A. sterilis* [11]. Uzyskane wyniki potwierdzają nie tylko wcześniejsze obserwacje owsa, ale i innych gatunków roślin uprawnych, dotyczące wpływu procesu udomowienia i selekcji hodowlanej na zawężenie puli genetycznej, zmniejszenie zróżnicowania genetycznego oraz utratę wielu alleli genów [20].



Objaśnienia: / Explanatory notes:

W – standard mas cząsteczkowych / molecular mass standard; 1-12 – izolaty białek owsa IBO<sub>1-12</sub> / 1-12 - oat protein isolates IBO<sub>1-12</sub>, liczby: 1-12 – zgodne z tab. 1 / number: 1-12 – in accordance with Tab. 1; grotami strzałek zaznaczono prążki polimorficzne / arrowheads indicate polymorphic bands.

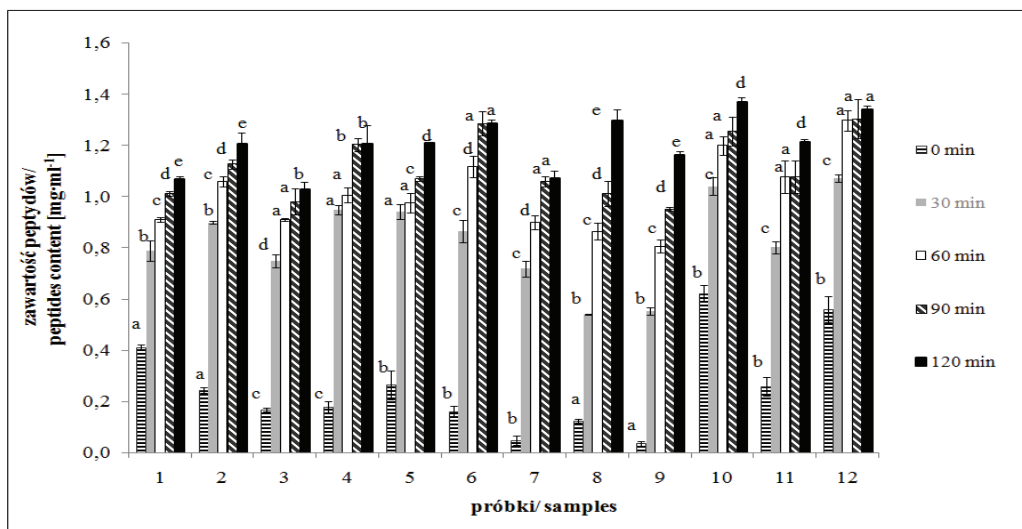
Rys. 1. Profile elektroforetyczne izolatów białkowych z ziarna badanych odmian owsa (IBO<sub>1-12</sub>).

Fig. 1. Electrophoretic profiles of protein isolates from oat grains (IBO<sub>1-12</sub>) studied.

W celu monitorowania przebiegu procesu hydrolizy białek owsa w ciągu 120 min próbki hydrolizatu pobierano co 30 min i oznaczano w nich zawartość peptydów. Po 120 min hydrolizy największą zawartością peptydów charakteryzowała się próbka HBO<sub>10</sub> (1,37 mg/ml), najmniejszą natomiast HBO<sub>3</sub> (1,03 mg/ml) (rys. 2). Różnice zawartości peptydów w hydrolizatach (HBO<sub>1-12</sub>) uwarunkowane są genotypem badanych ziarniaków. Podobnie Claver i Zhou [6] uzyskali wzrost zawartości peptydów w funkcji czasu reakcji, po hydrolizie odtłuszczonych izolatów białkowych kielków pszenicy alkalazą.

DPPH i ABTS jako stosunkowo stabilne rodniki są szeroko stosowane do badania zdolności przeciwrodnikowych różnorodnych związków i tym samym działających jako przeciwutleniacze. Rodnik DPPH był stosowany w pracy Tsopmo i wsp. [23] do oceny zdolności przeciwrodnikowych hydrolizatów białek owsa, otrzymanych w wyniku trawienia trypsyną (TPH) i alkalazą (APH). Hydrolizaty TPH i APH wykazywały podobną aktywność przeciwrodnikową wobec DPPH na poziomie około 30 %. Jamdar i wsp. [10] podają, że peptydy otrzymane w wyniku 2-godzinnej hydrolizy białek orze-

chów ziemnych alkalazą wykazywały 50 % inhibicji wolnych rodników generowanych z DPPH, przy stężeniu peptydów 2 mg/ml. Podobnie, hydrolizaty otrzymane z białek kielków pszenicy po trawieniu alkalazą wykazywały 50 % inhibicji wolnych rodników generowanych z DPPH, ale przy stężeniu peptydów wynoszącym 1,3 mg/ml [28]. Właściwości przeciwrodnikowe hydrolizatów białkowych ziarników owsa (HBO<sub>1-12</sub>) przedstawiono na rys. 3. Najwyższą zdolność do neutralizacji wolnych rodników generowanych z ABTS (87,27 %) i DPPH (46 %) wykazywał hydrolizat HBO<sub>9</sub> (*A. maroccana* CN 43136), najniższą natomiast HBO<sub>6</sub> (*A. sterilis* AVE 531) – 53,39 % wobec ABTS i 22,43 % wobec DPPH, przy stężeniu peptydów 1 mg/ml. Ponadto, hydrolizaty HBO<sub>1</sub> z HBO<sub>2</sub>, HBO<sub>5</sub> z HBO<sub>11</sub> oraz HBO<sub>7</sub> z HBO<sub>8</sub> wykazywały zbliżone, nieróżniące się statystycznie ( $p = 0,05$ ) właściwości przeciwrodnikowe wobec ABTS<sup>+</sup>. Podobnie hydrolizaty HBO<sub>2</sub> z HBO<sub>4</sub> i HBO<sub>5</sub> oraz HBO<sub>10</sub> z HBO<sub>6</sub> nie wykazywały statystycznie istotnych różnic ( $p = 0,05$ ) pod względem aktywności przeciwrodnikowej wobec DPPH. Otrzymane wyniki dowodzą, że potencjalnie większą aktywność przeciwrodnikową wykazują hydrolizaty otrzymane z ziarniaków dzikich odmian owsa zwłaszcza gatunki *A. sterilis* (AVE 2116 i PI 378859) i *A. maroccana* (CN 43136).

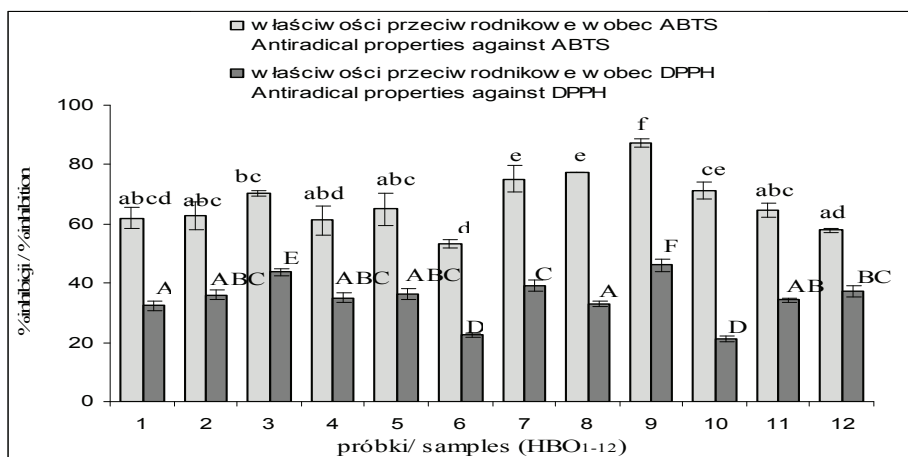


Objaśnienia: / Explanatory notes:

liczby: 1-12 – zgodnie z tab. 1 / numbers 1 to 12 – in accordance with Tab. 1; wartości średnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie istotnie na poziomie istotności  $p = 0,05$  w obrębie analizowanych form owsa / mean values denoted by the same letters do not differ statistically significantly at  $p = 0.05$  within the oat forms analysed.

Rys. 2. Zawartość peptydów w próbkach pobranych w ciągu 0, 30, 60, 90 i 120 min trwania procesu hydrolizy izolatów białkowych owsa.

Fig. 2. Content of peptides in samples taken during 0, 30, 60, 90 and 120 min. duration periods of hydrolysis process of oat protein isolates.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

liczby: 1-12 – zgodne z tab. 1 / numbers 1 to 12 according to Tab. 1; wartości średnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie statystycznie przy poziomie istotności  $p = 0,05$  między analizowanymi formami owsa / mean values denoted by the same letters do not differ statistically significantly at  $p = 0.05$  among the oat forms analysed.

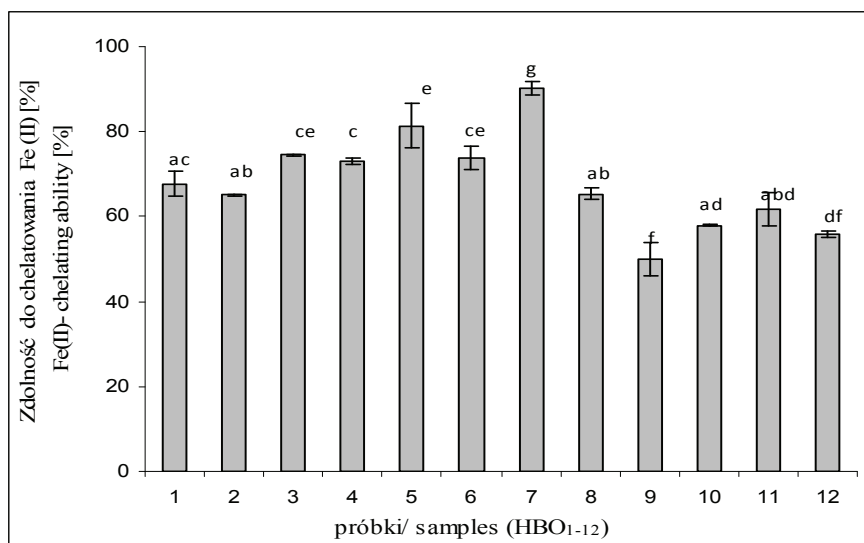
Rys. 3. Właściwości przeciwrodnikowe hydrolizatów białkowych z ziarna badanych odmian owsa.

Fig. 3. Antiradical properties of oat grain protein hydrolysates of analysed genotypes.

Zastosowanie alkalazy w procesie hydrolizy białek ziarniaków owsa w badaniach własnych pozwoliło na uzyskanie hydrolizatów o przeciwutleniającym profilu peptydów. Alkalaza okazała się również skutecznym enzymem w procesie uwalniania bioaktywnych peptydów m.in. z białek: serwatki (54,2 % aktywności przeciwrodnikowej, przy stężeniu próbki 0,10 mg/ml), amarantusa (50 % inhibicji  $ABTS^{+}$  przy stężeniu próbki 1,44 mg/ml), jak i fasoli (73,4 - 99,9 % przy stężeniu próbki – 0,25 mg/ml) [8, 19, 26].

W niniejszej pracy aktywność przeciwrodnikowa hydrolizatów białkowych z ziarniaków owsa była wyższa w przypadku oznaczenia wykonanego metodą z  $ABTS$  aniżeli metodą z  $DPPH$ . Na podstawie wyników przeprowadzonych badań można wnioskować, że aktywność przeciwrodnikowa zarówno wobec  $ABTS^{+}$ , jak i  $DPPH$  jest uwarunkowana rodzajem rozpuszczalnika zastosowanego do przygotowania próbki.  $ABTS$  rozpuszcza się w roztworach wodnych, dlatego jest bardziej przydatny do oceny aktywności wodnych roztworów przeciwutleniacza, natomiast dużo wolniej może reagować z próbkami alkoholowymi. Wolne rodniki generowane z  $DPPH$  słabiej oddziałują z przeciwutleniaczami w roztworach wodnych, ponieważ  $DPPH$  jest bardziej reaktywny w roztworach alkoholowych, co m.in. potwierdziły badania przeprowadzone przez Branda-Williamsa i wsp. [5] oraz Awika i wsp. [3]. Właściwości prze-

ciwutleniające hydrolizatów białek wybranych genotypów owsa (HBO<sub>1-12</sub>) określano również jako zdolność do chelatowania jonów metali (rys. 4). Właściwości te oceniano poprzez monitorowanie tworzenia kompleksu pomiędzy ferrozyną a jonami Fe(II) w obecności hydrolizatów HBO<sub>1-12</sub>, otrzymanych w wyniku trawienia alkalazą białek ziarniaków owsa. W przypadku gdy związek ma właściwości chelatujące, tworzenie kompleksu (ferrozyna-Fe<sup>2+</sup>) przejawia się zanikiem czerwonej barwy, a to umożliwia oszacowanie zdolności hydrolizatów do chelatowania jonów Fe(II) [27].



Objaśnienia: / Explanatory notes:

liczby: 1-12 – zgodne z tab. 1 / numbers 1 to 12 according to Tab. 1; średnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie istotnie przy poziomie istotności  $p = 0,05$  / mean values denoted by the same letters do not differ statistically significantly at  $p = 0.05$ .

Rys. 4. Zdolność do chelatowania jonów Fe(II) przez hydrolizaty białkowe z ziarna badanych genotypów owsa.

Fig. 4. Ferrous ion-chelating ability of protein hydrolysates prepared from analysed oat grains of genotypes analyzed.

Otrzymane wyniki wskazują, że spośród 12 przebadanych genotypów owsa najwyższą zdolnością do chelatowania jonów Fe(II) charakteryzowały się hydrolizaty: HBO<sub>7</sub> (*A. sterilis* AVE 2116) – 90,12 % i HBO<sub>5</sub> (*A. fatua* 51601) – 81,33 %, przy stężeniu peptydów 1 mg/ml. Natomiast hydrolizaty uzyskane w wyniku trawienia białek owsa gatunków *A. maroccana* (HBO<sub>9-10</sub>) i *A. murphyi* (HBO<sub>11-12</sub>) odznaczały się słabszymi zdolnościami do chelatowania jonów Fe(II) (50,07 - 61,75 %). Zhu i wsp. [28] wykazali, że hydrolizaty białek kielków pszenicy uzyskane w wyniku trawienia alkalazą również charakteryzują się silnymi zdolnościami do chelatowania jonów Fe(II) (89 %, przy stężeniu próbki 1 mg/ml). Jamdar i wsp. [10] uzyskali > 95 % zdolności do



chelatowania jonów Fe(II) przez hydrolizaty białek orzechów arachidowych, przy stężeniu próbki 0,16 mg/ml.

Zdolność hydrolizatów TPH i APH, otrzymanych w wyniku trawienia białek owsa odpowiednio trypsyną i alkalazą, do chelatowania jonów Fe(II) badali Tsopmo i wsp. [23]. Cytowani autorzy wykazali, że hydrolizat TPH charakteryzował się lepszymi właściwościami chelatującymi (43,8 %) niż hydrolizat APH (31,8 %).

Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, że gatunkami o największym potencjale przeciwutleniającym są *A. sterilis* i *A. maroccana*. Jednak transfer genów do form uprawnych łatwiejszy jest z *A. sterilis* aniżeli z *A. maroccana* [16]. Z tego względu identyfikację form gatunku charakteryzujących się najsilniejszymi właściwościami przeciwutleniającymi uzyskanych z nich hydrolizatów białkowych powinno się prowadzić wśród genotypów *A. sterilis*.

Krzyżowania międzygatunkowe wpływają korzystnie na właściwości przeciwutleniające hydrolizatów białek owsa, a w konsekwencji na właściwości prozdrowotne ziarna. Krzyżowania międzygatunkowe powinna jednak poprzedzać selekcja najlepszych genotypów w obrębie poszczególnych gatunków.

## Wnioski

1. Izolat białkowy otrzymany z ziaren dzikiej formy owsa *A. maroccana* CN 43136 charakteryzował się największą liczbą polimorficznych frakcji białkowych.
2. Hydrolizaty białek owsa wykazują zróżnicowane właściwości przeciwutleniające, zależnie od gatunku i odmiany.
3. Hydrolizaty białkowe uzyskane z ziarniaków dzikich odmian owsa, należących do gatunków *A. sterilis* i *A. maroccana*, charakteryzują się wyższą aktywnością przeciwrodnikową w porównaniu z odmianami gatunku *A. sativa*.
4. Hydrolizaty białkowe uzyskane z ziarniaków dzikich odmian owsa, należących do gatunków *A. sterilis* i *A. fatua*, charakteryzują się wyższą zdolnością do chelatowania jonów Fe(II) niż odmiany gatunku *A. sativa*.

## Literatura

- [1] Adler-Nissen J.: Determination of the degree of hydrolysis of food protein hydrolysates by trinitrobenzenosulfonic acid. *J. Agric. Food Chem.*, 1979, **27**, 1256-1262.
- [2] Aluko R.E., Monu E.: Functional and bioactive properties of quinoa seed protein hydrolysates. *J. Food Sci.*, 2003, **68** (4), 1254-1258.
- [3] Awika J., Rooney L.W., Wu X., Prior R., Cisneros-Zevallos L.: Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products. *J. Agric. Food Chem.*, 2003, **51**, 6657-6662.
- [4] Bartnikowska E., Lange E., Rakowska M.: Ziarno owsa – niedocenione źródło składników odżywczych i biologicznie czynnych. Cz. I. Ogólna charakterystyka owsa. Białka, tłuszcze. *Biul. Inst. Hod. i Aklim. Roślin*, 2000, **215**, 209-221.




- [5] Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C.: Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm.-Wiss. -Technol.*, 1995, **28**, 25-30.
- [6] Claver I.P., Zhou H.: Enzymatic hydrolysis of defatted wheat germ by proteases and the effect on the functional properties of resulting protein hydrolysates. *J. Food Biochem.*, 2005, **29**, 13-26.
- [7] Decker E., Welch B.: Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food. *J. Agric. Food Chem.*, 1990, **38**, 674.
- [8] Dryáková A., Pihlanto A., Marnila P., Čurda L., Korhonen H.J.T.: Antioxidant properties of whey protein hydrolysates as measured by three methods. *Eur. Food Res. Technol.*, 2010, **230**, 865-874.
- [9] Gibiński M., Gumul D., Korus J.: Prozdrowotne właściwości owsa i produktów owsianych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **4 (45) Supl.**, 49-60.
- [10] Jamdar S.N., Rajalakshmi V., Pednekar M.D., Juan F., Yardi V., Sharma A.: Influence of degree of hydrolysis on functional properties, antioxidant activity and ACE inhibitory activity of peanut protein hydrolysates. *Food Chem.*, 2010, **121 (1)**, 178-184.
- [11] Jellen E.N., Phillips R.L.: C-banded karyotypes and polymorphisms in hexaploid oat accessions (*Avena ssp.*) using Wright's stain. *Genome*, 1993, **36**, 1129-1137.
- [12] Karaś M., Jakubczyk A., Baraniak B.: Antiradical and antihypertensive activity of peptides obtained from proteins pea sprouts (*pisum sativum*) by enzymatic hydrolysis. *Annales UMCS, Sectio DDD, Pharmacia*, 2010, **23 (3)**, 115-121.
- [13] Korhonen H., Pihlanto A.: Food-derived bioactive peptides – opportunities for designing future foods. *Curr. Pharm. Des.*, 2003, **9 (16)**, 1297-1308.
- [14] Ladizinsky G.: Cytogenetic relationships between *A. insularis* (2n=28) and both *A. strigosa* (2n=14) and *A. murphyi* (2n=28). *Genet. Res. Crop Evol.*, 1999, **46**, 501-04.
- [15] Laemmli U.K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 1970, **227 (5259)**, 680-685.
- [16] Leggett J.M.: Classification and speciation in *Avena*. In: *Oat science and technology*. Ed. S. Segoe. American Society of Agronomy. Agronomy Monograph No. 33, Madison, WI, USA, 1992, pp. 29-52.
- [17] Liu G., Li J., Shi K., Wang S., Chen J., Liu Y., Huang Q.: Composition, secondary structure, and self-assembly of oat protein isolate. *J. Agric. Food Chem.*, 2009, **57 (11)**, 4552-4558.
- [18] Naumann E., van Rees A.B., Öning G., Öste R., Wydra M., Mensink R.P.:  $\beta$ -glucan incorporated into a fruit drink effectively lowers serum LDL-cholesterol concentrations. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2006, **83**, 601-605.
- [19] Orsini Delgado M.C., Tironi V. A., Añón M. C.: Antioxidant activity of amaranth protein or their hydrolysates under simulated gastrointestinal digestion. *LWT - Food Sci. Technol.*, 2011, **44**, 1752-1760.
- [20] Paczos-Grzęda E.: Pedigree, RAPD and simplified AFLP-based assessment of genetic relationships among *Avena sativa* L. cultivars. *Euphytica*, 2004, **138**, 13-22.
- [21] Peterson D.M.: Oat antioxidants. *J. Cereal Sci.*, 2001, **33 (2)**, 115-129.
- [22] Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C.: Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.*, 1999, **26 (9-10)**, 1231-1237.
- [23] Tsopmo A., Cooper A., Jodayree S.: Enzymatic hydrolysis of oat flour protein isolates to enhance antioxidative properties. *Adv. J. Food Sci. Technol.*, 2010, **2 (4)**, 206-212.
- [24] Welch R.W., Brown J.C.W., Leggett J.M.: Interspecific and intraspecific variation in grain and groat characteristics of wild oat (*Avena*) species: very high groat (1,3),(1,4)- $\beta$ -D-glucan in an *Avena atlantica* genotype. *J. Cereal Sci.*, 2000, **31**, 273-279.

- [25] Welch R.W., Legget J.M.: Nitrogen content, oil content, oil composition of oat cultivars (*A. sativa*) and wild *Avena* species in relation to nitrogen fertility, yield and partitioning of assimilates. *J. Cereal Sci.*, 1997, **26**, 105-120.
- [26] Valdez-Ortiz A., Fuentes-Gutiérrez C.I., Germán-Báez L.J., Gutiérrez-Dorado R., Medina-Godoy S.: Protein hydrolysates obtained from Azufrado (sulphur yellow) beans (*Phaseolus vulgaris*): nutritional, ACE-inhibitory and antioxidative characterization. *LWT - Food Sci. Technol.*, 2012, **46**, 91-96.
- [27] Yamaguchi F., Ariga T., Yoshimira Y., Nakazawa H.: Antioxidant and antiglycation of carbinol from *Garcinia indica* fruit rind. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, **48**, 180-185.
- [28] Zhu K., Zhou H., Qian H.: Antioxidant and free radical-scavenging activities of wheat germ protein hydrolysates (WGPH) prepared with alcalase. *Process Biochem.*, 2006, **41** (6), 1296-1302.
- [29] Zieliński H., Achremowicz B., Przygodzka M.: Przeciwiutleniacze ziarniaków zbóż. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **1** (80), 5-26.

### ANTIOXIDANT PROPERTIES OF PROTEIN HYDROLYSATES (*AVENA* L.) FROM GRAINS OF CULTIVATED AND WILD OAT SPECIES

#### S u m m a r y

Oatmeal and oat products are an important source of fat, dietary fibre, carbohydrates, mineral compounds, vitamins, and, first of all, proteins. Enzymatic hydrolysis of proteins leads to the release of peptides, which may show various activities including antioxidant activity. The objective of the research study performed was to determine the antioxidant properties of oat protein hydrolysates obtained from the 12 varieties (genotypes) of cultivated and wild hexa- and tetraploid species of the *Avena* L genus. The protein isolate (IBO<sub>9</sub>) obtained from grains of the *A. maroccana* CN 43136 wild oats was characterised by the highest number of polymorphic protein fractions. Furthermore, the HBO<sub>9</sub> hydrolysate obtained from proteins contained in the grains of the *A. maroccana* CN 43136 oats showed the highest ability to neutralize free radicals generated from ABTS and DPPH: 87.27 % and 46 %, respectively. On the other hand, the highest ability to chelate iron (II) - 90.12 % was determined for wild HBO<sub>7</sub> (*A. sterilis* AVE 2116). It was confirmed that the inter-specific crosses increased the antioxidant properties of oat protein hydrolysates and, thus, beneficially impacted the pro-health properties of grains.

**Key words:** oat, protein isolates, protein hydrolysates, antioxidant properties 

ANNA CIOŁEK, EWA MAKARSKA, LESZEK RACHOŃ

**WYKRYWANIE DODATKU MĄKI Z PSZENICY ZWYCZAJNEJ  
(*TRITICUM AESTIVUM* L.) I ORKISZU (*TRITICUM SPELTA* L.)  
W PRODUKTACH MAKARONOWYCH Z MĄKI PSZENICY  
TWARDEJ (*TRITICUM DURUM* DESF.)**

Streszczenie

Przeprowadzono ocenę dwóch metod wykrywania dodatku mąki z pszenicy zwyczajnej i orkiszu w makaronach z mąki z pszenicy twardej: elektroforetycznego rozdziału frakcji gliadynowej białek i immunoenzymatycznego testu do kontroli jakości makaronów. Analizowano także wybrane cechy jakości ziarna nowych linii pszenicy twardej (STH 716, STH 717) i orkiszu (STH 3, STH 715), z którego otrzymano mąkę do produkcji makaronów.

Z ocenianych linii mąka z pszenicy twardej STH 716 cechowała się najlepszymi parametrami jakościowymi, tj. dużą zawartością białka i optymalną liczbą opadania, a ziarniaki tej linii – największą szklistością. Ziarno linii pszenicy twardej: STH 716 i STH 717 w porównaniu z pozostałymi wyróżniało się trzykrotnie niższą aktywnością oksydazy polifenolowej. Wyniki testu do kontroli jakości makaronów (PQC) były obarczone większym błędem w przypadku oznaczania zawartości dodatku mąki z ziarna pszenicy orkisz niż pszenicy zwyczajnej. Rozdział elektroforetyczny białek gliadynowych wyekstrahowanych z badanych makaronów – na podstawie różnic i podobieństw występujących na elektroforegramach, charakterystycznych dla gatunków pszenicy – pozwala na odróżnienie zarówno domieszek mąki z pszenicy zwyczajnej, jak i mąki z orkiszu.

**Słowa kluczowe:** pszenica twarda, orkisz, zafałszowania makaronu, ELISA, elektroforeza

## Wprowadzenie

Odpowiednia jakość makaronów wynika z zastosowania do ich produkcji semoliny, otrzymywanej z przemiału ziarna pszenicy twardej *Triticum durum* Desf.

„Bursztynowa” barwa ziarniaków pszenicy makaronowej, ich szklistość i duża zawartość białka zapewniają pożądane parametry wyrobom makaronowym. W Polsce akceptowana jest produkcja makaronów z mąki z pszenicy zwyczajnej o dobrych pa-

---

*Dr A. Ciołek, prof. dr hab. E. Makarska, Katedra Chemii, Wydz. Nauk o Żywności i Biotechnologii, prof. dr hab. Leszek Rachoń, Katedra Szczegółowej Uprawy Roślin, Wydz. Agrobioinżynierii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin*

rametrach jakościowych [7]. Marconi i wsp. [21] stwierdzili, że przy zastosowaniu optymalnego procesu technologicznego można uzyskać dobrą jakość makaronu z mąki z pszenicy orkisz. Jednak stosowanie surowca innego niż semolina musi być oznaczone na opakowaniu, ponieważ makaron taki po ugotowaniu może się charakteryzować innymi parametrami jakościowymi. Brak rzetelnej informacji o składzie surowcowym traktowane jest jako zafałszowanie. Z tego względu od wielu lat trwają prace nad usprawnieniem metod umożliwiających wykrycie zafałszowań produktów makaronowych mąką z pszenicy zwyczajnej. Większość metod analitycznych wykorzystuje różnice genetyczne pomiędzy tetraploidalną *Triticum durum* a heksaploidalną *Triticum aestivum*.

Pszenica zwyczajna i orkisz są gatunkami heksaploidalnymi, zawierającymi trzy genomy AABBDD z siedmioma chromosomami w każdym. Geny kodujące gliadyny i gluteniny znajdują się w sześciu z dwudziestu jeden chromosomów. Geny  $\alpha$ - i  $\beta$ -gliadyn są usytuowane na krótkich ramionach chromosomów 6A, 6B i 6D, natomiast  $\gamma$ - i  $\omega$ -gliadyny na ramionach chromosomów 1A, 1B i 1D [9]. Pszenica twarda *Triticum durum* Desf., jako pszenica tetraploidalna, pozbawiona jest podjednostek gliadynowych i gluteninowych kodowanych na chromosomach z grupy D. Do wykrywania obecności mąki z pszenicy heksaploidalnej stosuje się m.in. identyfikację białek gliadynowych kodowanych na chromosomach grupy D metodą elektroforezy A-PAGE, chromatografii RP-HPLC [15], metodę immunoenzymatyczną [8, 18, 19] oraz metodę z zastosowaniem spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FT-IR) [12].

Postęp w technologii makaronów związany jest m.in. z zastosowaniem wysokich temperatur suszenia, co może powodować denaturację białek. Jedną z obecnie stosowanych metod wykrywania dodatku mąki z pszenicy zwyczajnej jest metoda wykorzystująca reakcję łańcuchową polimerazy DNA (PCR). Skuteczność tej metody wynika z większej odporności termicznej DNA w porównaniu z białkami oznaczanymi innymi metodami [2]. PCR jest stosowana w badaniach identyfikacyjnych pszenicy [16, 24]. Ibrahim i wsp. [10], przy użyciu tej metody, stwierdzili zanieczyszczenie mąką z pszenicy zwyczajnej siedemnastu z dwudziestu sześciu produktów makaronowych zakupionych w sklepach Jordanii, importowanych z różnych krajów. Wszystkie badane makarony były oznakowane jako produkty otrzymane z semoliny z pszenicy durum. Alternatywną metodę zaproponowali Knoedler i wsp. [13]. Jako wskaźnik zanieczyszczeń mąki i makaronów pełnoziarnistą mąką z pszenicy zwyczajnej zastosowali analizę stosunku homologów alkilozorcynoli C17:0 do C21:0 wynoszący w mące z pszenicy durum 0,01, natomiast z pszenicy zwyczajnej – 0,1. Ze względu na występowanie alkilozorcynoli w zewnętrznych częściach ziarniaków, głównie w warstwie owoconasiennej, metoda ta może mieć zastosowanie w badaniach makaronów pełnoziarnistych. Spożycie takich makaronów wzrasta ze względu na rosnącą świadomość konsumentów.

Celem badań była ocena metod wykrywania w makaronach z mąki z ziarna pszenicy twardej dodatku mąki z pszenicy zwyczajnej i orkiszu oraz analiza wybranych cech jakościowych ziarna i mąki z ziarniaków linii i odmian pszenicy użytych do wyprodukowania makaronów.

### **Material i metody badań**

Materiałem doświadczalnym było ziarno dwóch linii pszenicy orkisz (STH 3, STH 715), dwóch linii pszenicy twardej (STH 716, STH 717) i jednej odmiany pszenicy zwyczajnej ('Tonacja'), pochodzące ze Stacji Hodowli Roślin w Strzelcach.

Ziarno mielono w młynku laboratoryjnym WŻ-1 i uzyskiwano 95-procentowy złot z sita (500). Makaron wykonywano, zagniatając 10 g mąki z 4 ml wody wodociągowej i suszono w temp. 50 °C.

Przygotowano dziesięć wariantów makaronów:

- a) makaron z mąki pszenicy twardej STH 716, makaron z mąki pszenicy twardej STH 716 z 5- i 10-procentowym dodatkiem mąki pszenicy zwyczajnej 'Tonacja', makaron z mąki pszenicy twardej STH 716 z 5- i 10-procentowym dodatkiem mąki pszenicy orkisz STH 3,
- b) makaron z mąki pszenicy twardej STH 717, makaron z mąki pszenicy twardej STH 717 z 5- i 10-procentowym dodatkiem mąki pszenicy zwyczajnej 'Tonacja', makaron z mąki pszenicy twardej STH 717 z 5- i 10-procentowym dodatkiem mąki pszenicy orkisz STH 715.

W ziarnie dwóch linii pszenicy orkisz (STH 3, STH 715), dwóch linii pszenicy twardej (STH 716, STH 717) i odmiany pszenicy zwyczajnej ('Tonacja') oznaczano: szklistość (PN-EN 15585:2008E) [25] oraz aktywność oksydazy polifenolowej metodą Andersona i Morrisa [3]. W mące z ziarna badanych linii pszenicy oznaczano zawartość białka ogółem metodą Kjeldahla [26] oraz aktywność amyloliczną jako liczbę opadania metodą Hagberga-Pertena (PN-EN ISO 3903:2007) [27].

W otrzymanych makaronach wykrywano dodatek mąki pszenicy zwyczajnej i orkiszu (5 i 10 %) na podstawie rozdziału elektroforetycznego frakcji gliadynowej (A-PAGE) zgodnie z metodą Brzezińskiego i wsp. [5]. W tym celu posłużono się także immunoenzymatycznym testem BioKits do kontroli jakości makaronu – PQC (ang. *Pasta Quality Control*) firmy Tepnel BioSystems [4]. Test immunoenzymatyczny (ELISA) polega na reakcji wiązania białek wyekstrahowanych z makaronów z przeciwciałem przeciwko gliadynie specyficznej dla pszenicy zwyczajnej, w obecności enzymu peroksydazy chrzanowej (HRP). Dodawany substrat (tetrametylobenzydyna) utleniany przez enzym HRP zabarwia roztwór na niebiesko z intensywnością proporcjonalną do zawartości białek pszenicy zwyczajnej [4].

Udział mąki z pszenicy zwyczajnej i orkiszu w badanych próbkach makaronów określano metodą półilościową, stosując krzywą kalibracji wykreśloną na podstawie załączonych w zestawie wzorców.

Wyniki oznaczeń z trzech powtórzeń poddano jednoczynnikowej analizie wariancji. Różnice między wartościami średnimi szacowano testem Tukeya. Analizę prowadzono na poziomie istotności  $p \leq 0,05$ , przy użyciu programu Statgraphics Centurion XV.I.

### Wyniki i dyskusja

Ziarniaki pszenicy twardej *Triticum durum* Desf. charakteryzują się zwykle większą twardością i szklistością w porównaniu z ziarnem pszenicy zwyczajnej [6, 17, 28, 29]. W przypadku badanego ziarna (tab. 1) zależność tę potwierdzono w ziarniakach linii durum STH 716. W ziarnie durum STH 717 oznaczono mniejszy udział ziarniaków szklitych w porównaniu z ziarnem pszenicy zwyczajnej 'Tonacja'. Istotnie niższą wartością tego parametru charakteryzowały się ziarniaki linii pszenicy orkisz, w szczególności STH 715, których bielmo było prawie w 100 % mączyste. Podobną zależność w przypadku ziarna orkiszu stwierdzili Makowska i wsp. [20], natomiast Zieliński i wsp. [32] oznaczyli do 34 % szklistości ziarniaków tego gatunku. Mała szklistość ziarna utrudnia przemiał, w wyniku czego z bielma uzyskuje się więcej mąki niż kaszki, co obniża jakość makaronu.

Zawartość białka, jako jakościowa cecha kompleksowa, zależy od bardzo wielu czynników, m.in. od odmiany, warunków klimatycznych podczas wegetacji, zabiegów agrotechnicznych, czasu i sposobu przechowywania ziarna [11].

Zawartość białka ogółem w mące badanych pszenic przedstawiono w tab. 1. Największą zawartością tego składnika charakteryzowała się mąka pszenicy twardej STH 716 - 15,6 % s.m. Mąka pozostałych prób zawierała statystycznie istotnie ( $p \leq 0,05$ ) mniej białka. Najmniej białka stwierdzono w mące pszenicy zwyczajnej 'Tonacja' - 11,1 % s.m.

Ziarno pszenicy durum powinno zawierać minimum 13 % białka, inaczej makaron z niego uzyskany będzie kruchy i łamliwy, a tym samym niższej jakości [22]. W mące z ziarna badanych linii pszenicy makaronowej zawartość białka kształtowała się na odpowiednim poziomie (w STH 716 - 15,6 % s.m. i w STH 717 - 13,2 % s.m.), warunkującym ich przydatność do produkcji makaronu.

Istotnym parametrem charakteryzującym stopień upłynnienia skrobi w wyniku utajonego porostu ziarna jest ocena aktywności amylolitycznej. Najczęściej określa się ją na podstawie liczby opadania. Mąka z ziarna badanych linii pszenicy charakteryzowała się wysoką liczbą opadania. Węgrzyn i wsp. [31] podkreślali, że wartość liczby opadania zależna od intensywności technologii uprawy czy warunków meteorologicznych jest również cechą genetycznie uwarunkowaną. Wykorzystuje się ją do selekcji

genotypów odpornych na porastanie. Stanowi jeden z podstawowych kryteriów oceny przydatności pszenicy do produkcji przetworów zbożowych i wskazuje pośrednio na stan zdrowotny ziarna i stopień uaktywnienia enzymów hydrolitycznych [23, 30].

Wartości liczby opadania oznaczone w mące z badanego ziarna przedstawiono w tab. 1. Wartość liczby opadania mąki z pszenicy zwyczajnej ‘Tonacja’ wynosiła 321 s i była nieznacznie wyższa od wartości optymalnej (200 - 300 s) dla pszenicy zwyczajnej przeznaczonej do produkcji chleba. Z analizy liczby opadania mąki z pszenicy twardej wynika, że wyższą wartością charakteryzowała się mąka z ziarna linii STH 717 tj. 449 s niż z STH 716 (383 s). Obuchowski [23] podaje, że semolina ze zdrowego ziarna pszenicy charakteryzuje się liczbą opadania 350 - 450 s. Badana mąka z *Triticum durum* Desf. spełniała te wymagania.

Wartości liczby opadania mąki z ziarna obu linii *Triticum spelta* L. były zbliżone tj. w STH 3 wynosiła 406 s, a w STH 715 – 417 s i wskazują na niską aktywność amylolytyczną tej pszenicy.

Aktywność oksydazy polifenolowej (PPO) ziarna pszenicy uzależniona jest od cech odmianowych i warunków klimatycznych występujących podczas uprawy. Obecność aktywnej formy enzymu stwierdzono głównie w okrywie ziarna [1].

Aktywność oksydazy polifenolowej, wyrażoną jako zmiana absorbancji  $\Delta A_{475}/1$  g ziarna/min, przedstawiono w tab. 1. Najwyższą aktywnością PPO charakteryzowało się ziarno pszenicy orkisz STH 3 – 0,150 i STH 715 – 0,122 (różnica statystycznie istotna przy  $p \leq 0,05$ ) oraz pszenicy zwyczajnej ‘Tonacja’ – 0,112. Najniższe wartości oznaczono w ziarnie linii pszenicy twardej: STH 716 – 0,035 i STH 717 – 0,033. Podobne różnice gatunkowe aktywności oksydazy polifenolowej ziarniaków pszenicy opisali Lamkin i wsp. [14]. Część enzymów z grupy oksydoredukcyjnych obecna w ziarnie pszenicy zwyczajnej nie występuje w pszenicy durum [14]. Potwierdzono to także pośrednio w analizowanym materiale.

Niższa aktywność PPO ziarna pszenicy durum w porównaniu z pszenicą zwyczajną mogłaby służyć jako marker do wykrywania domieszek ziarna *Triticum aestivum* L. Analiza elektroforetyczna tego białka z makaronów nie jest stosowana ze względu na niską odporność enzymu na wysokie temperatury suszenia produktów makaronowych.

Na podstawie analizy elektroforetycznej (A-PAGE - elektroforeza kwaśna) gliadyn wyekstrahowanych z ziarniaków badanych linii i odmiany pszenicy wykazano zróżnicowanie elektroforegramów tych białek (rys. 1). Zaznaczono na nim prążki podjednostek gliadyn obecnych w ziarnie *Triticum aestivum* L., a niewystępujących w *Triticum durum* Desf. Linia *Triticum spelta* L. STH 3 charakteryzowała się brakiem wyrównania gliadyn (rys. 1).



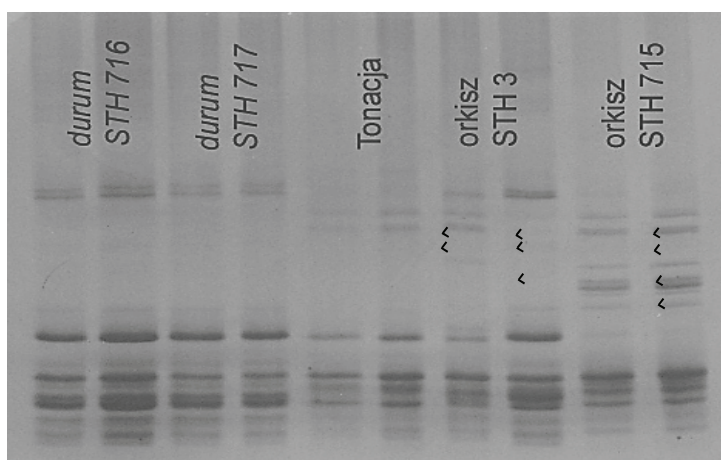
Tabela 1

Wybrane cechy jakości ziarna/mąki z pszenicy zwyczajnej odmiany 'Tonacja', linii pszenicy twardej STH 716, STH 717, linii pszenicy orkisz STH 3 i STH 715.

Selected quality characteristics of common wheat/grain of 'Tonacja' cultivar, durum wheat of STH 716 and STH 717 lines, and spelt wheat of STH 3 and STH 715 lines.

Odmiana/linia Cultivar	Szklistość Vitreousness [%]	Zawartość białka Protein content [% s.m.]	PPO [ $\Delta A_{475}/1g$ ziarna/min] [ $\Delta A_{475}/1g$ grain/min]	Liczba opadania Falling number [s]
Tonacja	84 <sup>b</sup>	11,1 <sup>c</sup>	0,112 <sup>b</sup>	321 <sup>d</sup>
STH 716	96 <sup>a</sup>	15,6 <sup>a</sup>	0,035 <sup>c</sup>	375 <sup>c</sup>
STH 717	73 <sup>c</sup>	13,2 <sup>b</sup>	0,033 <sup>c</sup>	449 <sup>a</sup>
STH 3	30 <sup>d</sup>	13,2 <sup>b</sup>	0,150 <sup>a</sup>	406 <sup>b</sup>
STH 715	2 <sup>e</sup>	12,9 <sup>b</sup>	0,122 <sup>b</sup>	417 <sup>b</sup>

a - e grupy jednorodnie statystycznie w kolumnach przy  $p \leq 0,05$  / statistically homogeneous groups in column at  $p \leq 0.05$ ; PPO – aktywność oksydazy polifenolowej / polyphenol oxidase activity; n = 3.

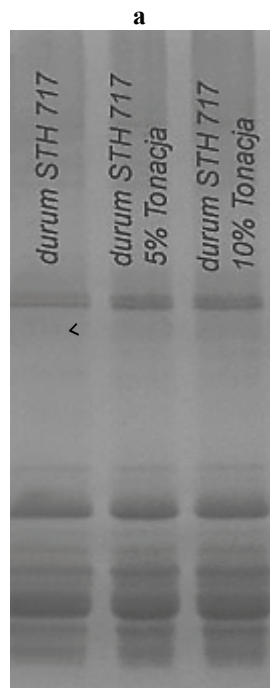


Rys. 1. Rozdział elektroforetyczny białek gliadynowych wyekstrahowanych z ziarniaków badanych odmian i linii pszenicy.

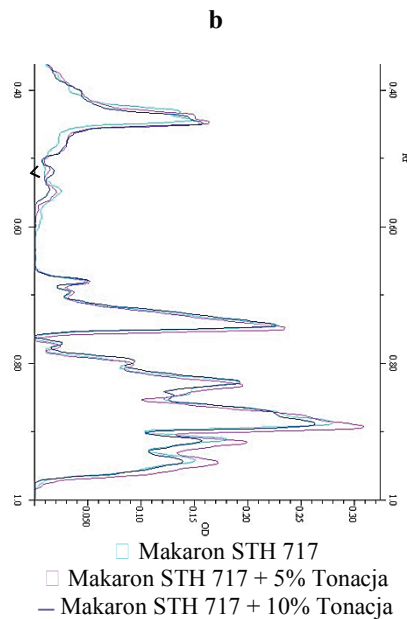
Fig. 1. Electrophoretic separation of gliadin proteins extracted from caryopses of wheat cultivars and lines studied.

Na rys. 2a i 3a przedstawiono przykładowe widma gliadyn wyekstrahowanych z przygotowanych makaronów. Zestawienie densytogramów (rys. 2b i 3b) wybranych widm elektroforegramów przedstawionych na rysunkach 2a i 3a pozwala na dodatkowe porównanie obecności podjednostek. Wysokość pików (gęstość optyczna prążków

na elektroforegramie) jest proporcjonalna do procentowego udziału podjednostek w ekstrakcie białka. Piki obrazujące intensywniej wybarwione prążki pochodzą z makaronu z mąki pszenicy durum z 10-procentową domieszką mąki z pszenicy ‘Tonacja’.



Rys. 2a. Elektroforegram białek gliadynowych wyekstrahowanych z badanych makaronów (STH 717 i domieszki pszenicy ‘Tonacja’).  
Fig. 2a. Electropherogram of gliadin proteins extracted from pasta analyzed (STH 717 and ‘Tonacja’ wheat addition).

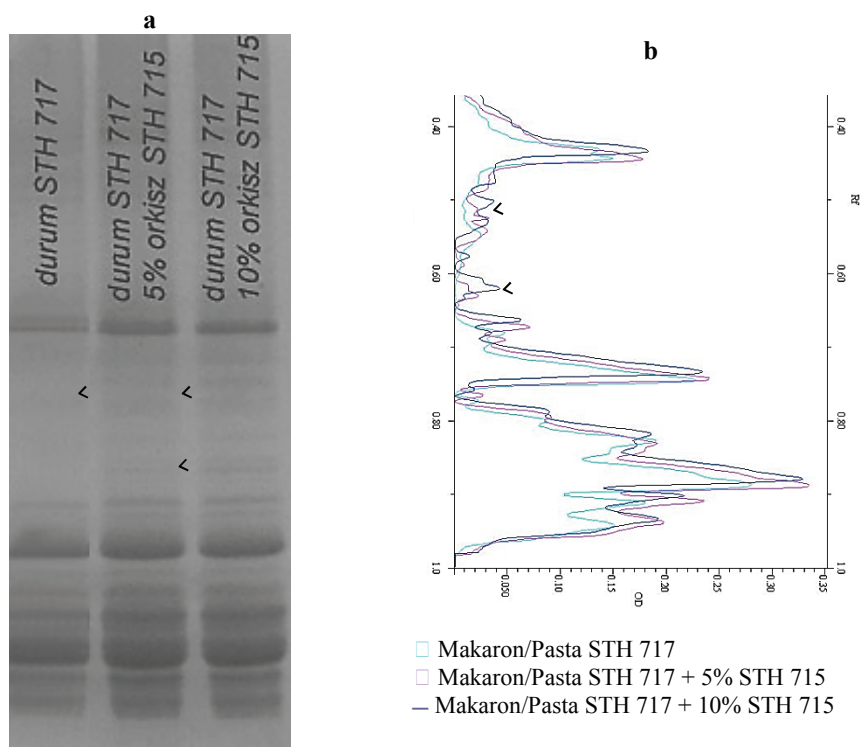


Rys. 2b. Densytogram widma elektroforegramu.  
Fig. 2b. Densitogram of electropherogram spectrum.

Rozdział elektroforetyczny białek gliadynowych wyekstrahowanych z makaronów pozwolił na wykrycie obecności pszenicy zwyczajnej i orkisz oraz uwidocznili zróżnicowanie zabarwienia prążków.

Stwierdzono zawartość mąki z pszenicy zwyczajnej w kontrolnej próbce makaronu równą 5,55 %. Producent testu PQC deklarował ilość domieszki na poziomie 4 - 7 %. Uzyskany wynik mieścił się więc w środku podanego zakresu. W makaronach z mąki z pszenicy durum STH 716 i STH 717 otrzymano wyniki ujemne. W makaronach z 5- i 10-procentowym dodatkiem mąki z pszenicy zwyczajnej wykryto jej zawartość na poziomie deklarowanym, z wyjątkiem makaronu z STH 716 + 10 % ‘Tonacja’,

w którym wynik był wyższy (13,27 %). W przypadku makaronów z 5- i 10-procentowym dodatkiem mąki orkiszowej otrzymano wyniki bardziej odbiegające od wielkości deklarowanych przez producenta. Zróżnicowanie wartości absorbancji kompleksów białko – przeciwciało w zależności od gatunku czy odmiany pszenicy wskazywali również Makowska i Obuchowski [19].



Rys. 3a. Elektroforegram białek gliadynowych wyekstrahowanych z badanych makaronów (STH 717 z domieszką orkisz STH 715).

Fig. 3a. Electrophoregram of gliadin proteins extracted from pasta analyzed (STH 717 with STH 715 spelt added).

Fig. 3b. Densitogram of electrophoretogram spectrum.

Rys. 3b. Densytogram widm elektroforegramu

Zanieczyszczenia surowca do produkcji makaronu mogą powstać na etapie zbioru, przechowywania czy transportu. Zgodnie z wytycznymi niektórych państw europejskich, ilość zanieczyszczeń innymi gatunkami pszenicy nie może przekraczać 3 %. Rosnący areal uprawy pszenicy orkisz powoduje konieczność rozważenia czułości metod wykrywania zanieczyszczenia również tym gatunkiem zboża.

Tabela 2

Zawartość mąki z pszenicy zwyczajnej i orkisz w produktach makaronowych analizowanych testem PQC.

Content of common wheat and spelt flours in pasta products analyzed using PQC test.

Rodzaj makaronu Pasta type	Średnia absorbancja $\lambda = 450 \text{ nm}$ Average absorbance $\lambda = 450 \text{ nm}$	Zawartość domieszki [%] Content of admixture [%]
Próba kontrolna / Control sample	0,387	5,55
STH 716	0,088	-0,97
STH 717	0,109	-0,19
STH 716 + 5% TONACJA	0,326	4,74
STH 716 + 10% TONACJA	0,886	13,27
STH 716 + 5% STH 3	0,397	5,68
STH 716 + 10% STH 3	0,791	11,36
STH 717 + 5% TONACJA	0,341	4,94
STH 717 + 10% TONACJA	0,726	10,06
STH 717 + 5% STH 715	0,603	8,41
STH 717 + 10% STH 715	0,866	12,87

### Wnioski

1. Z ocenianych linii mąka z pszenicy twardej STH 716 cechowała się parametrami jakościowymi najbardziej odpowiednimi do produkcji makaronu, tj. dużą zawartością białka i optymalną liczbą opadania. Ziarniaki tej linii charakteryzowały się również największą szklistością.
2. Ziarno linii pszenicy twardej (STH 716, STH 717), w porównaniu z pozostałymi, wyróżniało się trzykrotnie niższą aktywnością oksydazy polifenolowej.
3. Analiza elektroforetyczna gliadyn na podstawie elektroforegramów charakterystycznych dla obu gatunków umożliwia określenie domieszek mąki pszenicy zwyczajnej, jak i orkisz w makaronach.
4. Test PQC pozwala na oszacowanie 5-procentowej zawartości mąki z pszenicy zwyczajnej i orkisz w produktach makaronowych.
5. Wyniki z PQC były obarczone większym błędem w przypadku oznaczenia zawartości mąki z pszenicy orkisz niż z pszenicy zwyczajnej.

### Literatura

- [1] Aalami M., Leelavathi K., Prasada Rao U.J.S.: Spaghetti making potential of Indian durum wheat varieties in relation to their protein, yellow pigment and enzyme contents. *Food Chem.*, 2007, **100**, 1243-1248.
- [2] Alary R., Serin A., Duviau M.P., Joudrier P., Gautier M.F.: Quantification of common wheat adulteration of durum wheat pasta using real-time Quantitative polymerase chain reaction (PCR). *Cereal Chem.*, 2002, **79** (4), 553-558.
- [3] Anderson J.V., Morris C.F.: An improved whole-seed assay for screening wheat germplasm for polyphenol oxidase activity. *Crop Sci.*, 2001, **41**, 1697-1705.
- [4] BioKits. Pasta Quality Control for the detection of common wheat in durum wheat pasta products by enzyme immunoassay. Cat. No. 902058 M.
- [5] Brzeziński W., van Gelder W.M.J., Mendelewski P., Kolster P.: Polyacrylamide gel electrophoresis of wheat gliadins: the use of a moving boundary for improved resolution. *Euphytica*, 1989, **40**, 207-212.
- [6] Ciołek A., Makarska E.: Ocena jakości nowych linii pszenicy twardej na podstawie charakterystyki białek gliadynowych w warunkach stosowania zróżnicowanego nawożenia azotem. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 2004, **3** (2), 147-155.
- [7] Czerwińska D.: Charakterystyka mąk makaronowych. *Przeł. Zboż. Młyn.*, 2010, **8**, 11-12.
- [8] Denery-Papini S., Samson M.F.; Autran J.C.: Anti-peptide antibodies directed against omega-gliadins for the detection of sequences from bread and durum wheat. *Food Agric. Immunol.*, 2000, **12** (1), 69-75.
- [9] Harsch S., Gunther T., Kling Ch. I., Rozynek B., Hesemann C.U.: Characterization of spelt (*Triticum spelta* L.) forms by gel electrophoretic analyses of seed storage proteins. I. The gliadins. *Theor. Appl., Genet.*, 1997, **94**, 52-60.
- [10] Ibrahim M.A., Al-Hmoud N.D., Al-Rousan H., Hayek B.O.: Detection of durum wheat pasta adulteration in the Jordanian Market by polymerase chain reaction technology. *Am. J. Food Technol.*, 2011, **6**, 492-499.
- [11] Jurga R.: Podstawowe wiadomości o tworzeniu ciasta i suszeniu makaronu. Cz. 1. Wpływ składników chemicznych mąki i semoliny na cechy ciasta makaronowego. *Przeł. Zboż. Młyn.*, 2006, (1), 21-22.
- [12] Kamil M.M., Hussien A.M.S., Ragab G.H., Khalil S.K.H.: Detecting adulteration of durum wheat pasta by FT-IR spectroscopy. *J. Am. Sci.*, 2011, **7** (6), 573-578.
- [13] Knoedler M., Most M., Schieber A., Carle R.: A novel approach to authenticity of whole grain durum wheat (*Triticum durum* Desf.) flour and pasta, based on analysis of alkylresorcinol composition. *Food Chem.*, 2010, **118**, 177-181.
- [14] Lamkin W.M., Miller B.S., Nelson S.W., Traylor D.O., Lee M.S.: Polyphenol oxidase activities of hard red winter, soft red winter, hard reed spring, white common, club, and durum wheat cultivars. *Cereal Chem.*, 1981, **58** (1), 27-31.
- [15] Lookhart G.L., Bean S.R.; Bietz J.A.: Reversed-phase high-performance liquid chromatography in grain applications. *Cereal Foods World*, 2003, **48** (1), 9-16.
- [16] Mafra I., Ferreira I.M.P.L.V.O., Oliveira M.B.P.P.: Food authentication by PCR-based methods. *Eur. Food Res. Technol.*, 2008, **227**, 649-665.
- [17] Makarska E., Szwed-Urbaś K.: Genetic conditionings of the quality of grain of new lines of *Triticum durum* Desf. *Int. Agrophys.*, 2005, **19**, 147-152.
- [18] Makowska A., Strybe K., Obuchowski W.: Analiza wpływu cech odmianowych pszenicy i stopnia wyciągu mąki na wyniki oznaczeń metodą „Durotest”. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2000, **7** (3), 48-57.

- [19] Makowska A., Obuchowski W.: Współczesne metody immunochemiczne umożliwiające określenie gatunku pszenicy *Triticum aestivum* i *Triticum durum*. Pam. Puł., 2004, **135**, 171-179.
- [20] Makowska A., Obuchowski W., Gutsche M.: Właściwości mąki orkiszowej jako surowca do produkcji makaronu. Aparatura Badawcza i Dydaktyczna, 2009, **1**, 41.
- [21] Marconi E., Carcea M., Schiavone M., Cubadda R.: Spelt (*Triticum spelta* L.) pasta quality: Combined effect of flour properties and drying conditions. Cereal Chem., 2002, **79**, 634-639.
- [22] Obuchowski W.: Charakterystyka jakościowa pszenicy durum i jej wpływ na cechy makaronu. Przegł. Zboż. Młyn., 1999, **43 (1)**, 33-34.
- [23] Obuchowski W.: Reakcje brązowienia enzymatycznego i nieenzymatycznego w produkcji makaronu. Przegł. Zboż. Młyn., 2008, **53 (7)**, 16-17.
- [24] Pasqualone A., Montemurro C., Grinn-Gofron A., Sonnante G., Blanco A.: Detection of soft wheat in semolina and durum wheat bread by analysis of DNA micro-satellites. J. Agric. Food Chem., 2007, **55**, 3312-3318.
- [25] PN-EN 15585:2008E. Ziarno zbóż i przetwory zbożowe. Pszenica durum (*T. durum* Desf.). Oznaczanie procentowego udziału ziaren, które utraciły szklistość i obliczanie procentowego udziału ziaren szklistych.
- [26] PN-EN ISO 20483:2007. Ziarno zbóż i nasiona roślin strączkowych. Oznaczanie zawartości azotu i przeliczanie na zawartość białka. Metoda Kjeldahla.
- [27] PN-EN ISO 3093:2007. Pszenica, żyto i mąki z nich uzyskane, pszenica durum i semolina. Oznaczanie liczby opadania metodą Hagberga-Pertena.
- [28] Rachoń L.: Plonowanie i jakość niektórych odmian pszenicy twardej (*Triticum durum* Desf.). Biul. IHAR, 1997, **204**, 141-144.
- [29] Rachoń L., Kulpa D.: Ocena przydatności ziarna pszenicy twardej (*Triticum durum* Desf.) do produkcji pieczywa. Annales UMCS, Sectio E, 2004, **59 (2)**, 995-1000.
- [30] Rothkaehl J., Filipiak K., Podolska G.: Jakość ziarna pszenicy w zależności od rejonu uprawy. Pam. Puł., 2004, **135**, 269-278.
- [31] Węgrzyn S., Gut M., Cyganowicz A., Ptak B.: Odporność rodów i odmian pszenicy na porastanie. Cz. I. Pszenica ozima. Biul. IHAR, 1991, **180**, 135-142.
- [32] Zieliński H., Ceglińska A., Michalska A.: Bioactive compounds in spelt bread, Eur. Food Res. Technol., 2008, **226**, 537-544.

**DETECTING COMMON WHEAT (*TRITICUM AESTIVUM* L.) AND  
SPELT (*TRITICUM SPELTA* L) FLOUR ADDITION IN DURUM WHEAT  
(*TRITICUM DURUM* DESF.) PASTA PRODUCTS**

S u m m a r y

A qualitative assessment was performed of two methods used to detect the addition of common flour and spelt flour in pasta made from durum wheat: electrophoretic separation of gliadin fraction of proteins and immunoenzymatic test of pasta quality control (PQC). Also, analyzed were some selected quality characteristics of grain of new durum wheat (STH 716, STH 717) and spelt (STH 3, STH 715) lines; the grain was used to make flour for pasta.

Of the assessed lines, the STH 716 durum wheat flour was characterized by the best quality parameters, i.e. by a high protein content and an optimal falling number, whereas the caryopses by the highest vitreousness. Compared to the grain of the other wheat lines, the polyphenol oxydase activity of grain of the STH 716 and STH 717 durum wheat lines was three times lower. When determining the content of spelt wheat flour added, the PQC test results performed were encumbered with a bigger error than when

determining the content of common wheat added. Based on the differences and similarities on electropherograms characteristic for the two wheat species, it is possible, using the electrophoretic separation of gliadin proteins extracted from the pasta, to distinguish between the common wheat and spelt wheat admixtures.

**Key words:** durum wheat, spelt, pasta adulteration, ELISA, electrophoretic distribution ☒



ELŻBIETA GUJSKA, JOANNA MICHALAK, MARTA CZARNOWSKA

## WPLYW CZASU I TEMPERATURY PRZECHOWYWANIA NA STABILNOŚĆ KWASU FOLIOWEGO I FOLIANÓW W WYBRANYCH SOKACH OWOCOWYCH I OWOCOWO-WARZYWNYCH

### Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu czasu i temperatury przechowywania na stabilność kwasu foliowego i folianów w fortyfikowanych sokach owocowych i owocowo-warzywnych. Zawartość kwasu foliowego i folianów oznaczano w sokach świeżych oraz po 3, 6 i 9 miesiącach przechowywania w temp. 20 - 22 °C i w chłodziarce (5 - 7 °C). W żadnym badanym soku nie stwierdzono istotnych ubytków kwasu foliowego po 3 miesiącach przechowywania, niezależnie od temperatury przechowywania. Największe straty zaobserwowano w sokach o najniższym pH, wynoszącym 3,45 (sok klarowany owocowy) i 4,25 (sok typu przecierowego, owocowo-warzywny), po 9 miesiącach przechowywania. W badanych próbkach soków oznaczono bardzo małe ilości tylko jednej zidentyfikowanej, naturalnej formy folianów, tj. 5-metylotetrahydrofolianu ( $5\text{CH}_3\text{FH}_4$ ). Do 3 miesięcy przechowywania, zarówno w temp. 20 - 22 °C, jak i chłodniczej, nie wykazano istotnych strat 5-metylotetrahydrofolianu, ale już po 9 miesiącach składowania stwierdzono ubytki tej witaminy, zwłaszcza w sokach przechowywanych w temperaturze pokojowej.

**Słowa kluczowe:** kwas foliowy, foliany, soki, przechowywanie, HPLC

### Wprowadzenie

Foliany w żywności występują w wielu formach różniących się stopniem utlenienia pierścienia pirazynowego, liczbą dołączonych reszt kwasu glutaminowego a także rodzajem jednowęglowego fragmentu, który jest dołączony do tego pierścienia w pozycjach N-5 i/lub N-10 i decyduje w dużym stopniu o udziale folianów w procesach metabolicznych. Gdy rozpoznano biochemiczną funkcję folianów, dowiedziono, że ich niedobór ma istotny wpływ na metabolizm i zdrowie człowieka. Foliany biorą udział w wielu reakcjach transferu jednowęglowej cząsteczki, m.in. w biosyntezie pirymidyn i puryn, metabolizmie aminokwasów, utlenianiu mrówczanów [21]. Foliany to związ-

---

*Prof. dr hab. inż. E. Gujska, dr inż. J. Michalak, dr inż. M. Czarnowska, Katedra Towaroznawstwa i Badań Żywności, Wydz. Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, ul. Heweliusza 6, 10-724 Olsztyn*

ki, które są niezbędne do podziału komórek i prawidłowego rozwoju płodu. Amino-kwasy, takie jak: metionina, seryna, glicyna i histydyna, są metabolizowane przez szereg folianozależnych reakcji [20]. Zawartość homocysteiny (Hcy) w osoczu także jest regulowana obecnością folianów [18]. Hiperhomocysteinemia (tzn. podwyższona zawartość Hcy) jest jednym z czynników ryzyka chorób układu krążenia [7]. Osłabienie łożyska na skutek hiperhomocysteinemii ma ujemny wpływ na cały przebieg ciąży. Z kolei metionina, uformowana z homocysteiny, jest przekształcana do S-adenozylometioniny, która jest donorem grup metylowych dla wielu reakcji, m.in. do metylacji DNA [21]. London i Hyttan [15] oraz Fleming [6] stwierdzili dużo większe zawartości folianów w moczu kobiet ciężarnych niż u niebędących w ciąży. Za obniżenie stężenia folianów we krwi kobiet ciężarnych odpowiada prawdopodobnie wiele mechanizmów.

Badania prowadzone w Polsce wskazują na małe spożycie folianów z dietą, pozwalające na pokrycie średnio około 50 - 60 % dziennego zapotrzebowania [3, 19], biorąc pod uwagę zalecane spożycie dla osób dorosłych w ilości 400 µg dziennie [9]. Najbogatszym źródłem folianów są m.in. rośliny strączkowe, podroby (wątroba), drożdże, warzywa zielonolistne, pomarańcze oraz orzechy. Aby zwiększyć zawartość tej witaminy w diecie, zaleca się spożywanie przynajmniej 5 porcji warzyw i owoców dziennie [5]. Alternatywnym sposobem zwiększenia zawartości folianów jest uzupełnianie diety suplementami lub produktami fortyfikowanymi syntetycznym kwasem foliowym. W niektórych krajach istnieje obowiązek wzbogacania wybranych produktów kwasem foliowym. W Polsce nie ma takiego obowiązku, ale dostępny jest szeroki asortyment produktów wzbogacanych. Wśród nich znaczącą grupę stanowią soki, nektary i napoje owocowe, zbożowe produkty śniadaniowe, przetwory mleczne oraz wyroby cukiernicze [13]. Kwas foliowy jest redukowany do formy czterowodorowej i następnie metylowany podczas transportu w jelitach. Proces ten jest jednak limitowany i nadmiar kwasu foliowego (> 280 µg w jednej dawce) może pojawić się we krwi [11]. Wzbogacanie żywności kwasem foliowym wzbudza wiele kontrowersji ze względu na nie do końca wyjaśnione konsekwencje dla zdrowia nadmiaru syntetycznego kwasu foliowego w organizmie człowieka. Kwas foliowy nie jest naturalnym koenzymem i jego długotrwały wpływ na zdrowie jest wciąż niezny [16]. Dlatego też kraje europejskie nie zdecydowały się na obowiązkowe wzbogacanie wybranych produktów kwasem foliowym, jak ma to miejsce w USA, Kanadzie i w niektórych krajach Ameryki Łacińskiej.

Soki owocowe i owocowo-warzywne są nośnikami wielu składników odżywczych, w tym witamin, i mogą być dobrym uzupełnieniem codziennej diety. Krótki okres wegetacji w Polsce ogranicza dostęp do świeżych owoców i warzyw w ciągu całego roku, dlatego rozwija się rynek soków i napojów owocowo-warzywnych. Mogą one stać się istotnym źródłem składników biologicznie czynnych, w tym folianów.

Niezbędna jest przy tym odpowiednia promocja produktów wzbogacanych, jak również edukacja żywieniowa konsumentów. Na ostateczną zawartość folianów i kwasu foliowego w produktach wzbogacanych wpływ mogą mieć: dobór surowca, jego świeżość oraz warunki, w jakich jest przechowywany, temperatura procesu produkcyjnego (pasteryzacja), warunki transportu i magazynowania wyrobów gotowych oraz okres ich składowania a także rodzaj opakowania produktu, które powinno maksymalnie ograniczać dostęp promieniowania słonecznego.

Celem pracy było określenie wpływu czasu i temperatury przechowywania na stabilność kwasu foliowego i folianów w wybranych, fortyfikowanych sokach owocowych i owocowo-warzywnych.

### **Materiał i metody badań**

Materiał do badań stanowiły soki zakupione w sklepach w Olsztynie:

- owocowe klarowane: czarna porzeczka (1) i pomarańcza (2),
- owocowe typu przecierowego: jabłko (3) i pomarańcza (4),
- owocowo-warzywno przecierowe:
  - marchew, brzoskwinia, pomarańcza, jabłko (5),
  - marchew, pomarańcza, banan, jabłko (6).

Okres przydatności do spożycia wszystkich soków był nie krótszy niż 10 miesięcy. Soki były wzbogacone witaminami, w tym kwasem foliowym, w ilości 30  $\mu\text{g}/100\text{ g}$ .

Zawartość kwasu foliowego i folianów oznaczano w sokach świeżych i w sokach przechowywanych w temp. 20 - 22 °C (pokojowej) oraz w temp. 5 - 7 °C (chłodniczej), przez 3, 6 i 9 miesięcy. Oznaczenie kwasu foliowego i folianów wykonywano metodą HPLC. Wzorce: 5-metylotetrahydrofolian ( $5\text{CH}_3\text{FH}_4$ ) i tetrahydrofolian ( $\text{FH}_4$ ) pochodziły z firmy Sigma Aldrich i zostały przygotowane według metody opisanej przez Koningsa [12]. Stężenie standardów obliczano przy użyciu współczynników absorpcji molarnej podanych przez Blakleya [4].

Enzym  $\alpha$ -amylazę (E.C. 3.2.1.1, Sigma Aldrich A-6211) rozpuszczano w 0,1 M buforze fosforanowym o pH = 7,0 w ilości 2 mg/ml, bezpośrednio przed analizą, aby uniknąć zanieczyszczenia bakteriami, które mogą syntetyzować foliany w czasie inkubacji. Hydrolazę  $\gamma$ -glutamylową pozyskano z plazmy krwi szczura (Europa Bioproducts Ltd., Cambridge) i przygotowano w sposób opisany we wcześniejszej publikacji [8].

Wszystkie próbki do ekstrakcji przygotowywane były w przyciemnionym pomieszczeniu. Do probówek wirowniczych Oak Ridge PPCO (Nalgene Co.) o poj. 50 ml odważano 10 g próbki. Dodawano 25 ml 0,1 M buforu fosforanowego (pH = 6,1) z następującymi dodatkami: 2 % (w/v) kwasu askorbinowego i 0,2 % (v/v) 2-merkaptetanolu. Próbki intensywnie wytrząsano i ogrzewano w łaźni wodnej w temp. 100 °C przez 15 min, od czasu do czasu wstrząsając. Następnie próbki schła-

dzano w łaźni lodowej do temp. 20 °C, dodawano 0,25 ml hydrolazy  $\gamma$ -glutamylowej i 1 ml  $\alpha$ -amylazy. Próbkę inkubowano w temp. 37 °C przez 4 h. Następnie ogrzewano przez 5 min w temp. 100 °C i chłodzono w łaźni lodowej. Próbkę wirowano przez 20 min (12000 rpm) w 4 °C. Supernatant zlewano do kolbek miarowych z ciemnego szkła o pojemności 50 ml. Do osadu pozostałego w probówkach dodawano 10 ml 0,1 M buforu fosforanowego, wstrząsano i ponownie wirowano. Uzyskany supernatant zlewano do tych samych kolbek miarowych. Objętość kolbek uzupełniano do znaku miarowego 0,1 M buforem fosforanowym i całość sączone przez sączki karbowane do buteleczek o pojemności 25 ml.

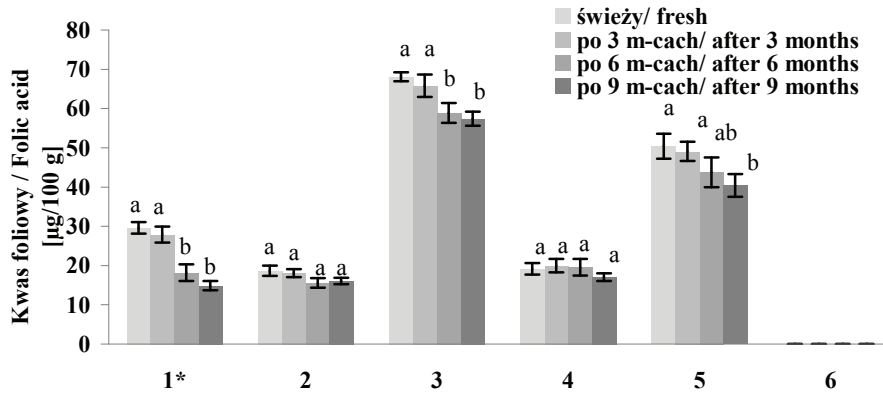
Oczyszczanie próbek przeprowadzono w kolumnach Bakerbond spe J. T. (Baker 7091-03 [czwartorzędowa amina]), a rozdział w kolumnie chromatograficznej Phenomenex Synergi 4a Hydro-RP 80A (4  $\mu$ m, 250  $\times$  4,6 mm), według metody opisanej przez Jastrebową i wsp. [10], przy użyciu chromatografu cieczowego Shimadzu seria LC-10A. Identyfikację i obliczanie zawartości kwasu foliowego i folianów wykonywano na podstawie wzorca ze znaną zawartością folianów. Wzorzec nanoszono kilkakrotnie na szczyt kolumny chromatograficznej podczas całej serii oznaczeń.

Wyniki przedstawiono jako średnią z trzech powtórzeń. Istotność różnic pomiędzy wartościami średnimi oceniano testem Duncana przy użyciu programu Statistica 2010.

## Wyniki i dyskusja

Na rys. 1. i 2. przedstawiono zawartość kwasu foliowego we wzbogaconych, świeżych sokach oraz przechowywanych w temp. 20 - 22 °C i w temp. 5 - 7 °C przez 3, 6 i 9 miesięcy.

Zawartość kwasu foliowego w sokach świeżych wahała się od 18,7 do 68,1  $\mu$ g/100 g soku. Wartości te tylko w jednym przypadku były zgodne z wartością zadeklarowaną przez producenta soku, wynoszącą 30  $\mu$ g/100 g soku, a w dwóch przypadkach znacznie przewyższały wartości deklarowane. Dwa oceniane soki zawierały ponad 30 % mniej kwasu foliowego, a w jednym (6) nie stwierdzono go wcale, mimo deklaracji producenta o zawartości na poziomie 30  $\mu$ g/100 g. Można zatem przypuszczać, że producenci nie zawsze podają rzetelną informację na etykiecie produktu, tym samym wprowadzają klienta w błąd. Z kolei zbyt duża zawartość kwasu foliowego wskazuje, że producenci mogą stosować tzw. naddatki technologiczne w celu uwzględnienia ewentualnych strat w czasie przechowywania. Mniejsze zawartości kwasu foliowego od wartości deklarowanych we wzbogacanych sokach owocowych stwierdzili także Lebedzińska i wsp. [14].



Objaśnienia: / Explanatory notes:

1 - sok owocowy klarowany o pH = 3,45 / clarified fruit juice of pH = 3.45

2 - sok owocowy klarowany o pH = 4,70 / clarified fruit juice of pH = 4.70

3 - sok owocowy przecierowy o pH = 4,38 / fruit puree and fruit juice of pH = 4.38

4 - sok owocowy przecierowy o pH = 5,01 / fruit puree and fruit juice of pH = 5.01

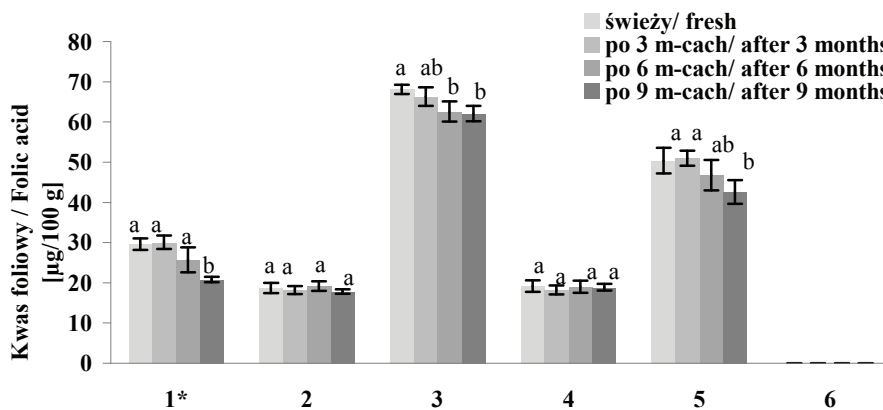
5 - sok owocowo-warzywny o pH = 4,25 / fruit-vegetable juice of pH = 4.25

6 - sok owocowo-warzywny o pH = 4,72 / fruit-vegetable juice of pH = 4.72

Wartości średnie oznaczone tymi samymi literami dla każdego rodzaju soku nie różnią się statystycznie istotnie ( $p \leq 0,05$ ) / Mean values denoted by the same letters for each type of juice do not differ statistically significantly ( $p \leq 0.05$ ).

Rys. 1. Zawartość kwasu foliowego w sokach świeżych i przechowywanych w temp. 20 - 22 °C przez 3, 6 i 9 miesięcy.

Fig. 1. Content of folic acid in fresh juices and in juices stored at temperatures from 20 to 22 °C for 3, 6, and 9 months.

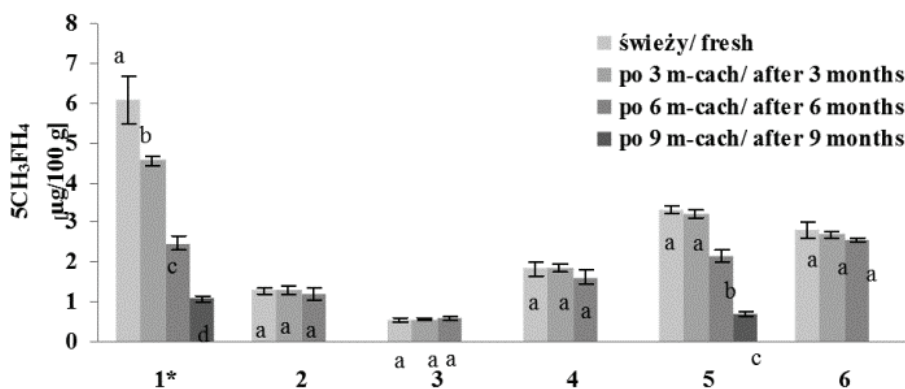


Objaśnienia jak pod rys. 1. / Explanatory notes as under Fig. 1.

Rys. 2. Zawartość kwasu foliowego w sokach świeżych i przechowywanych w temp. 5 - 7 °C przez 3, 6 i 9 miesięcy.

Fig. 2. Content of folic acid in fresh juices and in juices stored at temperatures from 5 to 7 °C for 3, 6, and 9 months.

We wszystkich badanych sokach nie stwierdzono istotnych ubytków kwasu foliowego po 3 miesiącach przechowywania (rys. 1 i 2). Öhrvik i Witthöft [17] nie stwierdzili istotnych zmian zawartości kwasu foliowego w sokach pomarańczowych przechowywanych przez 35 dni. Brakuje natomiast danych dotyczących wpływu dłuższego czasu przechowywania na stabilność dodanego kwasu foliowego. W przedstawionych badaniach największe straty kwasu foliowego po 9 miesiącach przechowywania w temperaturze 20 - 22 °C wyniosły około 50 % w stosunku do zawartości w soku świeżym i dotyczyły soku klarowanego z czarnej porzeczki (1), którego pH było dużo niższe niż pozostałych soków i wynosiło 3,45. Dane literaturowe wskazują, że kwas foliowy jest mniej stabilny w roztworach kwaśnych o pH poniżej 5 [1, 2]. W sokach przechowywanych w chłodziarce straty kwasu foliowego były mniejsze. W dwóch sokach (2 i 4) przechowywanych zarówno w temp. pokojowej, jak i w chłodziarce, nie stwierdzono istotnych zmian zawartości kwasu foliowego – pH tych soków było wyższe i wynosiło 4,70 i 5,01.



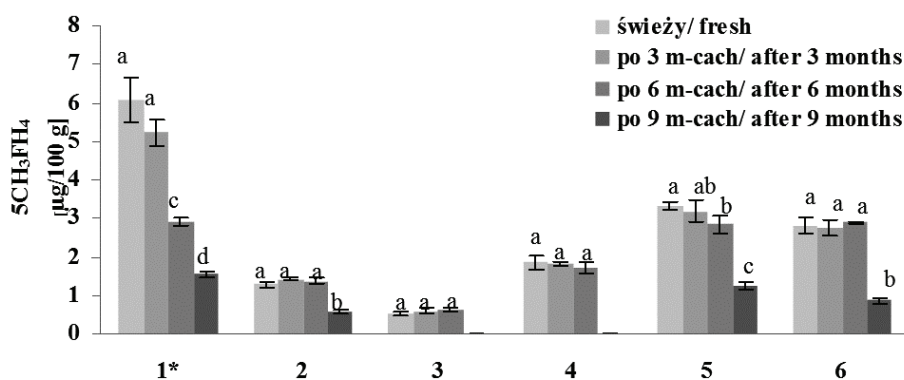
Objaśnienia jak pod rys. 1./ Explanatory notes as under Fig. 1.

Rys. 3. Zawartość 5CH<sub>3</sub>FH<sub>4</sub> w sokach świeżych i przechowywanych w temp. 20 - 22 °C przez 3, 6 i 9 miesięcy.

Fig. 3. Content of 5CH<sub>3</sub>FH<sub>4</sub> (µg/100 g) in fresh juices and in juices stored at temperatures from 20 to 22 °C for 3, 6, and 9 months.

W próbkach soków oznaczono tylko jedną formę folianów, tj. 5-metylotetrahydrofolian (5CH<sub>3</sub>FH<sub>4</sub>). Przeprowadzone badania wskazują na bardzo małą zawartość naturalnych form folianów w różnych gatunkach soków (rys. 3 i 4). Zawartość 5CH<sub>3</sub>FH<sub>4</sub> w sokach świeżych wahała się w granicach 0,54 - 6,08 µg/100 g. Największą zawartość stwierdzono w klarowanym soku z czarnej porzeczki, a najmniejszą – w soku jabłkowym typu przecierowego (3). W sokach pomarańczowych: klarowanym (2) i typu przecierowego (4) zawartość tej formy folianów była na poziomie poniżej

2  $\mu\text{g}/100\text{ g}$ . Dużo większe zawartości naturalnych folianów w sokach pomarańczowych różnego rodzaju, w ilości od 16 do 30  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  uzyskali Öhrvik i Witthöft [17]. Na tak małe zawartości folianów w badanych sokach decydujący wpływ mógł mieć dobór surowca, a przede wszystkim jego świeżość oraz warunki, w jakich był przechowywany (temperatura, promieniowanie słoneczne), temperatura pasteryzacji, a także warunki transportu i magazynowania wyrobów gotowych. Badane soki owocowo-warzywne również nie wyróżniały się znaczącą zawartością folianów.



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

Rys. 4. Zawartość 5CH<sub>3</sub>FH<sub>4</sub> w sokach świeżych i przechowywanych w temp. 5 - 7 °C przez 3, 6 i 9 miesięcy.

Fig. 4. Content of 5CH<sub>3</sub>FH<sub>4</sub> in fresh juices and in juices stored at temperatures from 5 to 7 °C for 3, 6, and 9 months.

Na rys. 3. i 4. przedstawiono także zmiany zawartości 5CH<sub>3</sub>FH<sub>4</sub> w sokach przechowywanych przez 3, 6 i 9 miesięcy. Jedynie w soku (1), charakteryzującym się najniższym pH (3,45) stwierdzono istotne zmniejszenie poziomu tej formy folianów już po 3 miesiącach przechowywania w temp. 20 - 22 °C (rys. 3). W pozostałych sokach po 3 miesiącach przechowywania, zarówno w temp. pokojowej jak i chłodniczej, nie zaobserwowano istotnych strat 5-metylotetrahydrofolianu, ale już po 9 miesiącach przechowywania stwierdzono istotne ubytki tej witaminy, przede wszystkim w sokach przechowywanych w temp. 20 - 22 °C (rys. 3). W czterech spośród sześciu badanych soków nie stwierdzono obecności folianów (3 i 4) lub wykazano śladowe ich ilości (2 i 6). Badając trwałość folianów w soku pomarańczowym Öhrvik i Witthöft [17] nie stwierdzili istotnych zmian ich zawartości po 21 i 35 dniach przechowywania w temperaturze pokojowej. Autorzy sądzą, że znajdujący się w soku pomarańczowym kwas askorbinowy przeciwdziała utlenieniu natywnych folianów.



## Wnioski

1. Badane, wzbogacone witaminami soki charakteryzowały się zróżnicowaną zawartością kwasu foliowego, nie zawsze zgodną z deklarowaną przez producenta. Wyniki badań świadczą o przypadkowym, słabo lub wcale niekontrolowanym dodatku kwasu foliowego w procesie produkcyjnym soków.
2. Stwierdzono, że roztwory syntetycznego kwasu foliowego odznaczają się znaczną stabilnością. W żadnym z badanych soków nie stwierdzono istotnych ubytków kwasu foliowego po 3 miesiącach przechowywania w temp. 20- 22 °C i w temp. 5 - 7 °C. Największe straty wynoszące odpowiednio około 50 i 20 % stwierdzono po 9 miesiącach przechowywania w sokach o najniższym pH, tj. 3,45 (sok klarowany z czarnej porzeczki) i 4,25 (sok typu przecierowego, owocowo-warzywny).
3. Zarówno soki klarowane, jak i przecierowe zawierały bardzo małe ilości naturalnych folianów. Po 3 miesiącach przechowywania w obu zakresach temperatury nie zaobserwowano strat 5-metylotetrahydrofolianu, ale już po 9 miesiącach składowania stwierdzono istotne ubytki tej witaminy, przede wszystkim w sokach przechowywanych w temp. 20 - 22 °C.

*Badania wykonano w ramach projektu badawczego własnego, finansowanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego nr N N312 213536.*

## Literatura

- [1] Akhtar M.J., Khan M.N., Ahmad K.: Photodegradation of folic acid in aqueous solution. J. Pharm. Biomed. Anal., 1999, **25**, 269-275.
- [2] Ball G.W.M.: Vitamins in food: Analysis, bioavailability, and stability. CRC Tylor and Francis Group, Boca Raton, Fl., 2006.
- [3] Bieżanowska-Kopeć R., Leszczyńska T., Pisulewski P.M.: Oszacowanie zawartości folianów i innych witamin z grupy B w dietach młodych kobiet (20-25 lat) z woj. małopolskiego. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2007, 6 (**55**), 352-358.
- [4] Blakley R.L.: The biochemistry of folic acid and related pteridines. Ed. North-Holland, Amsterdam 1969.
- [5] Brzozowska A.: Wzbogacanie żywności i suplementacja diety składnikami odżywczymi – korzyści i zagrożenia. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2001, **4** (**29**) Supl., 16-28.
- [6] Fleming A.F.: Urinary excretion of folate in pregnancy. J. Obstet. Gynaecol. Br. Comm., 1972, **7879**, 916-920.
- [7] Green R., Jacobsen D.W.: Clinical implications of hyperhomocysteinemia. In: Folate in health and disease. Ed. NY: Marcel Dekker, New York 1995, pp. 75-122.
- [8] Gujska E., Czarnowska M.: Wpływ warunków ekstrakcji i hydrolizy na wynik oznaczania zawartości kwasu foliowego i folianów w soku jabłkowym. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2011, **2** (**75**), 77-88.
- [9] Jarosz M., Bułhak-Jachymczyk B.: Normy żywienia człowieka. Wyd. Lek. PZWL, Warszawa 2008.
- [10] Jastrebova J., Witthöft C., Granath A., Svensson U., Jägerstad M.: HPLC determination of folates in raw and processed beetroots. Food Chem., 2003, **80**, 579-588.

- [11] Kelly P., McPartlin J., Weir D.G., Scott J.M.: Unmetabolized folic acid in serum: Acute studies in subjects consuming fortified food and supplements. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1997, **65**, 1790-1795.
- [12] Konings E.J.M.: A Validated Liquid Chromatographic Method for Determining Folates in Vegetables, Milk Powder, Liver, and Flour. *JAOAC Int.*, 1999, **1 (82)**, 119-127.
- [13] Kunachowicz H., Nadolna I., Stoś K., Brożek A., Szponar L.: Produkty wzbogacone w kwas foliowy i ich rola w promocji zdrowia. *Przegl. Lek.*, 2004, **61 (1)**, 30-34.
- [14] Lebedzińska A., Dąbrowska M., Szefer P., Marszałł M.: High-performance liquid chromatography method for determination of folic in fortified food products. *Toxicol. Mech. Methods*, **18**, 463-467.
- [15] London M.J., Hytten F.E.: The excretion of folate in pregnancy. *J. Obstet. Gynaecol. Br. Comm.*, 1971, **78**, 769-775.
- [16] Lucock M.D.: Is folic acid the ultimate functional food component for disease prevention? *Br. Med. J.* 2005, **328**, 211-214.
- [17] Öhrvik V., Witthöft C.: Orange juice is a good folate source in respect to folate content and stability during storage and simulated digestion. *Eur. J. Nutr.* 2008, **47**, 92-98.
- [18] Selhub J., Jacques P.F., Wilson P.W.F., Rush D., Rosenberg I.H.: Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *JAMA*, 1993, **270**, 2693-8.
- [19] Stefańska E., Ostrowska L., Czapska D., Karczewski J.: Ocena zawartosci witamin w całodziennych racjach pokarmowych kobiet o prawidłowej masie ciała oraz z nadwagą i otyłością. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, **4 (65)**, 286-294.
- [20] Tamura T., Picciano M.F.: Folate and human reproduction. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2006, **83**, 993-1016.
- [21] Wagner C.: Biochemical role of folate in cellular metabolism. In: *Folate in health and disease*. Ed. Bailey L.B. NY: Marcel Dekker, New York 1995, pp. 23-42.

#### EFFECT OF TIME AND TEMPERATURE OF STORAGE ON STABILITY OF FOLIC ACID AND FOLATES IN SOME SELECTED FRUIT AND FRUIT-VEGETABLE JUICES

##### Summary

The objective of the research study was to determine the effect of time and temperature of storage on the stability of folic acid and folates in fortified fruit and fruit-vegetable juices.

The contents of folic acid and folates were determined in fresh juices and in juices stored for 3, 6, and 9 months at temperatures ranging between 20 and 22 °C and in juices stored in a refrigerator (5 to 7 °C). No significant losses of folic acid were reported in any of the analyzed juices that were stored for 3 months, irrespective of the storage temperature. The highest losses were reported in the juices having the lowest pH of 3.45 (clarified fruit juice) and 4.25 (fruit-vegetable puree type of juice) and stored for 9 months. In the juice samples analyzed, very low amounts of only one identified natural form of folates were determined, i.e. of 5-methyltetrahydrofolate (5CH<sub>3</sub>FH<sub>4</sub>). No significant losses of 5-methyltetrahydrofolate were found to occur in juices stored not longer than for 3 months at temperatures ranging from 20 to 22 °C; however, in the juices stored for 9 months, there were reported losses of this vitamin, especially in the juices stored at a room temperature.

**Key words:** folic acid, folates, juices, storage, HPLC 

MAŁGORZATA MATERSKA

## WPLYW WARUNKÓW EKSTRAKCJI NA ZAWARTOŚĆ O-GLIKOZYDÓW KWERCETYNY W PREPARATACH Z OWOCÓW PAPRYKI

### Streszczenie

W pracy określono wpływ polarności sorbentów w ekstrakcji do fazy stałej na zawartość fenylopropenoidów w preparatach uzyskanych z owocni papryki. Badano trzy typy sorbentów: żel krzemionkowy modyfikowany oktadecylem (C18), etylofenylem (Phe) oraz cyjanopropylem (CN), ale w każdym przypadku stosowano ten sam układ rozpuszczalników. Oznaczono wydajność ekstrakcji, wykorzystując jako wzorce trzy pochodne kwercetyny, które wyizolowano z owocni papryki w toku wcześniejszych analiz. Wzorcami były: 3-*O*-ramnozyd-7-*O*-glukozyd kwercetyny, 3-*O*-glukozyd kwercetyny oraz 3-*O*-ramnozyd kwercetyny. Następnie wyizolowano frakcje związków fenolowych z owocni papryki przy użyciu wymienionych sorbentów. W otrzymanych preparatach oznaczono ilościowo zawartość pochodnych kwercetyny metodą HPLC i z wykorzystaniem krzywych wzorcowych każdego związku. Oznaczono również sumę związków fenolowych metodą Folina-Ciocalteu oraz ich aktywność antyrodnikową w układzie z rodnikiem DPPH.

Spośród wzorców największą wydajnością ekstrakcji odznaczał się 3-*O*-glukozyd kwercetyny, który charakteryzował się pośrednią polarnością, a wśród badanych sorbentów najefektywniejszy okazał się żel krzemionkowy modyfikowany cyjanopropylem. Również w przypadku frakcji związków fenolowych obecnych w papryce największą wydajność ekstrakcji uzyskano przy zastosowaniu tego samego żelu. Potwierdziły to wyniki sumy związków fenolowych oraz aktywności antyrodnikowej.

**Słowa kluczowe:** *Capsicum annuum*, ekstrakcja do fazy stałej, sorbenty, związki fenolowe, *O*-glikozydy kwercetyny

### Wprowadzenie

Popularność diety owocowo-warzywnej wynika z jej korzystnego wpływu na zdrowie. Wiele badań epidemiologicznych potwierdza, że obecność w codziennej diecie składników pochodzenia roślinnego zmniejsza ryzyko wystąpienia tzw. chorób cywilizacyjnych, m.in. chorób serca, cukrzycy, chorób nowotworowych [3, 6]. Owoce

i warzywa dostarczają, obok składników odżywczych, takich jak białka, węglowodany i tłuszcze, wielu związków o charakterze antyoksydantów. Należą do nich: rozpuszczalna w wodzie witamina C, rozpuszczalna w tłuszczach witamina E oraz związki polifenolowe, które w zależności od budowy cząsteczki mogą wykazywać właściwości od hydrofilowych, poprzez pośrednie, po typowo lipofilowe [6, 7].

Antyoksydanty obecne w żywności hamują procesy utleniania zawartych w niej składników, zatem przyczyniają się do zwiększenia trwałości żywności i wpływają na poprawę jej jakości. Z kolei, dostarczane do organizmu spowalniają procesy oksydoredukcyjne i zmniejszają ilość powstających wolnych rodników na szlakach metabolizmu komórkowego [7]. Stwierdzono, że pod względem zdrowotnym szczególnie ważna jest różnorodność antyoksydantów obecnych w diecie. Występując w mieszaninie, wykazują działanie synergistycznie, wspomagają wzajemne procesy regeneracyjne lub jedno stanowią ochronę antyoksydacyjną dla drugich lub [3, 4, 7]. Szczególne znaczenie mają związki polifenolowe, które określa się mianem związków drugiej bariery antyoksydacyjnej. Należą do nich kwasy fenylokarboksylowe (np. galusowy, wanilinowy, elagowy), kwasy fenylopropanowe (np. kawowy, ferulowy, synapinowy), a także flawonoidy i stilbeny. Wspólną cechą polifenoli jest obecność jednego lub kilku pierścieni aromatycznych z przyłączonymi grupami hydroksylowymi, które decydują o ich potencjale antyoksydacyjnym [1, 18].

Znaczenie związków polifenolowych w puli antyoksydantów obecnych w żywności wynika z ich właściwości hydro- i lipofilowych. Wolne kwasy fenolowe są typowo hydrofilowe, wolne flawonoidy – lipofilowe, jednak najbardziej interesującą grupę związków, zarówno pod względem budowy chemicznej, jak i właściwości, stanowią ich pochodne, występujące jako estry lub glikozydy z cząsteczkami cukrów. Pochodne te wykazują przeważnie właściwości pośrednie pomiędzy hydro- i lipofilnymi. Właśnie ta częściowa rozpuszczalność w wodzie i częściowa w tłuszczach czyni je uniwersalnymi antyoksydantami. Obecne w fazie wodnej wspomagają regenerację witaminy C, a w fazie lipidowej chronią fosfolipidy błon komórkowych przed utlenianiem przez wolne rodniki [1, 7, 18]. O znaczeniu polifenoli w diecie i ich wpływie na zdrowie człowieka świadczą liczne badania na świecie koncentrujące się na tej grupie związków.

Coraz częściej pojawiają się na rynku preparaty związków fenolowych, które otrzymywane są z jednej rośliny lub z mieszaniny kilku roślin, które stosowane są głównie w medycynie, kosmetologii oraz jako suplementy diety [14]. Przykładowo, ekstrakt z grejpfruta zalecany jako suplement diety zawiera ponad 19 % mieszaniny flawonoidów [14]. W ostatnich latach podejmowane są próby zastępowania syntetycznych konserwantów żywności naturalnymi preparatami roślinnymi zawierającymi mieszaninę antyoksydantów z grupy polifenoli [9, 20, 22, 23].

Wśród owoców i warzyw dobrze scharakteryzowanych pod względem zawartości związków fenolowych, jak i innych antyoksydantów jest papryka. Jest to wartościowa roślina, której owoce zawierają szereg związków zaliczanych do antyoksydantów: witaminy C i E, karotenoidy oraz ksantofile [5, 10, 19]. Ostre odmiany papryki zawierają alkaloid – kapsaicynę, który nadaje im specyficzny smak [15]. Pulę antyoksydantów obecnych w owocach papryki uzupełniają związki fenolowe, występujące w większości w połączeniach z cukrami jako estry kwasów ferulowego i synapinowego oraz glikozydy flawonoidów kwercetyny i luteoliny [10, 12]. Ze względu na to, że owoce papryki stanowią bogate źródło różnorodnych pochodnych kwasów fenolowych i flawonoidów, wykorzystuje się je do pozyskiwania tych związków na skalę preparatywną [10, 13]. Jednak zbliżone właściwości hydro- i lipofilowe związków fenolowych stwarzają wiele trudności w ich analizie i wyodrębnianiu, gdyż często eluują się one w grupie, którą trudno rozdzielić [11]. Czasami niewielkie zmiany takich parametrów, jak pH, skład rozpuszczalnika czy rodzaj sorbentu mogą zdecydowanie zmieniać ich profil w otrzymanych preparatach.

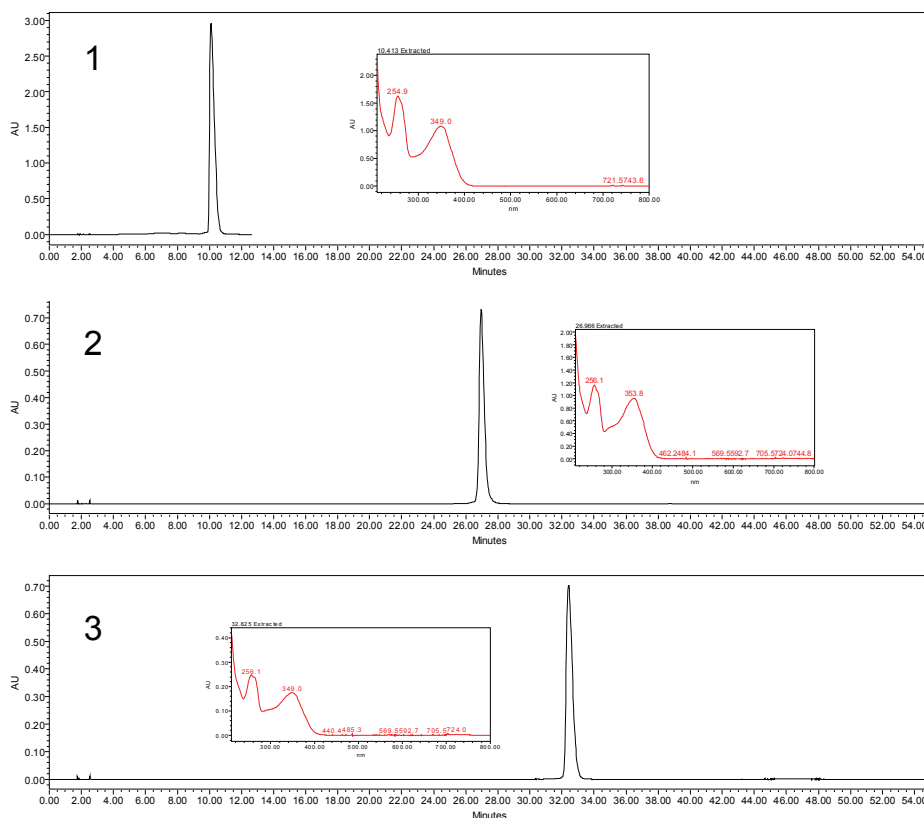
Przedstawione badania miały na celu określenie wpływu rodzaju sorbentu wykorzystywanego na etapie wyodrębniania frakcji związków fenolowych z etanolowego ekstraktu z papryki przed finalną analizą HPLC na wynik oznaczania pochodnych kwercetyny w otrzymanych preparatach.

### **Material i metody badań**

Material roślinny stanowiły owoce papryki ostrej odmiany Capel Hot w fazie pełnej dojrzałości. Owoce papryki pochodziły z gospodarstwa nasiennego Seminis k/Lublina i bezpośrednio po zbiorze dostarczane były do laboratorium, gdzie poddawano je dalszej procedurze. Z dziesięciu w pełni ukształtowanych i nieuszkodzonych owoców, po ich umyciu i osuszeniu, wykrawano po połowie perykarpu, który następnie krojono w kostkę i uśredniano. Uśrednione próbki badano na zawartość suchej masy metodą suszarkową oraz poddawano procesowi liofilizacji. Przygotowane liofilizaty przechowywano w temp -20 °C przed dalszą analizą. Liofilizowane owoce papryki (1,2 g) homogenizowano w wodnym roztworze etanolu (80 %) przy użyciu homogenizatora Diax 900. Otrzymaną zawiesinę wirowano (12000 rpm, 5 min) i zbierano roztwór nad osadu do kolby miarowej, a osad poddawano powtórnej homogenizacji. Czynność tę powtarzano trzykrotnie, a otrzymane ekstrakty łączono. Procedurę homogenizacji w połączeniu z ekstrakcją prowadzono w taki sposób, aby końcowa objętość ekstraktu wynosiła 100 ml.

Izolację frakcji związków fenolowych prowadzono w kolumnkach SPE (firmy Baker) wypełnionych trzema rodzajami sorbentów: żelem krzemionkowym modyfikowanym oktadecylem (C18), etylofenylem (Phe) i cyjanopropylem (CN). Związkami wzorcowymi w przedstawionych badaniach były obecne w papryce: 1: 3-O-ramnozyd-

7-*O*-glukozyd kwercetyny, **2**: 3-*O*-glukozyd kwercetyny oraz **3**: 3-*O*-ramnozyd kwercetyny. Związki te izolowano z owocni papryki metodą preparatywnej cieczonej chromatografii średniociśnieniowej, a ich czystość sprawdzano metodą spektrometrii masowej [12, 13]. Chromatogramy wymienionych związków oraz ich widma UV-Vis przedstawiono na rys. 1.



Rys. 1. Chromatogramy pochodnych kwercetyny stosowanych jako substancje wzorcowe oraz ich widma UV-Vis zarejestrowane na detektorze DAD, związek **1**: 3-*O*-ramnozyd-7-*O*-glukozyd kwercetyny, **2**: 3-*O*-glukozyd kwercetyny, **3**: 3-*O*-ramnozyd kwercetyny.

Fig. 1. HPLC chromatograms and DAD-UV-Vis spectra of quercetin derivatives used as standard compounds; compound **1**: quercetin 3-*O*-rhamnoside-7-*O*-glucoside, **2**: quercetin 3-*O*-glucoside, **3**: quercetin 3-*O*-rhamnoside.

Z przygotowanych ekstraktów etanolowych pobierano po 10 ml i odparowywano do sucha w wyparce obrotowej pod obniżonym ciśnieniem w temperaturze 40 °C. Suche ekstrakty rozpuszczano w 5 ml wody i наносzono na szczyt kolumnienek SPE, które przed użyciem kondycjonowano, przemywając je 100-procentowym metanolem (5 ml),

a następnie wodą (10 ml). Po nałożeniu próbki związki hydrofilowe wmywano 5 ml wody, a następnie zbierano frakcje związków fenolowych, używając 40-procentowego roztworu metanolu (3 ml). Otrzymane frakcje odparowywano do sucha w wyparce obrotowej pod obniżonym ciśnieniem w temp. 40 °C. Suchą pozostałość rozpuszczano 100-procentowym metanolem do objętości 1 ml. Równolegle przygotowywano trzy ekstrakty etanolowe z owocni papryki, a z każdego ekstraktu pobierano po trzy próbki (powtórzenia) dla jednego rodzaju sorbentu. Otrzymane preparaty analizowano metodą HPLC oraz oznaczano w nich sumę związków fenolowych i ich aktywność antyrodnikową.

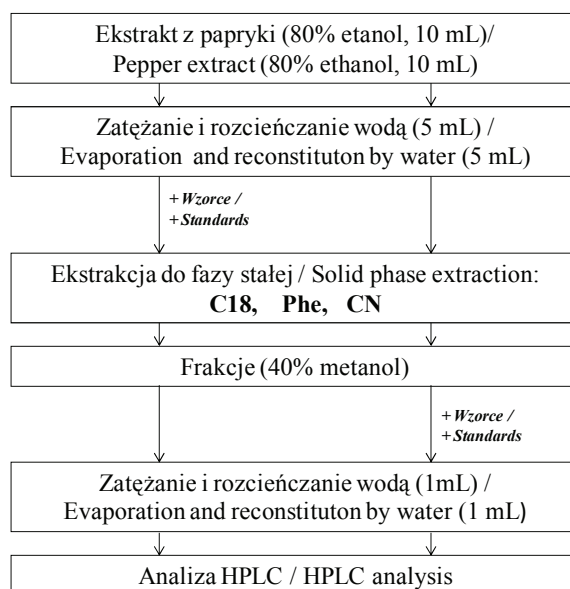
Analizę chromatograficzną frakcji związków fenolowych otrzymanej metodą ekstrakcji do fazy stałej wykonywano przy użyciu chromatografu Empower Pro firmy Waters z kolumną analityczną Atlantis T3 wypełnioną żelazem krzemionkowym C<sub>18</sub> o średnicy porów 3 µm, szerokości 4,6 mm i długości 150 mm. Aparat wyposażony był w pompę firmy Waters M600 o maksymalnym ciśnieniu 6000 psi. Szybkość przepływu wynosiła 1 ml·min<sup>-1</sup>. Używano detektora spektralnego DAD UV-Vis firmy Waters M2998. Pomiary wykonywano przy długości fali  $\lambda = 330$  nm oraz  $\lambda = 250$  nm. Zastosowano gradientową metodę rozdzielania przy wykorzystaniu dwuskładnikowej fazy ruchomej, rozpuszczalnik A stanowił 1-procentowy H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> w wodzie, a rozpuszczalnik B 40-procentowy CH<sub>3</sub>CN w rozpuszczalniku A. Ilościowe oznaczanie zawartości O-glikozydów kwercetyny we frakcjach związków fenolowych wyodrębnionych na trzech typach sorbentów wykonywano metodą krzywej wzorcowej wyznaczonej dla poszczególnych związków oraz równań regresji liniowej (tab. 1).

Sumę zawartości związków fenolowych analizowano metodą Folina-Ciocalteu, z wykorzystaniem krzywej wzorcowej kwasu chlorogenowego [5]. Aktywność antyrodnikową badano wobec rodnika DPPH·(1,1-difenylo-2-pikrylo-hydrazylu) i wyrażano ją jako procent inhibicji odbarwienia rodnika [12].

W celu oznaczenia odzysku pochodnych kwercetyny w procedurze izolacji metodą SPE przygotowywano roztwory startowe wzorców o stężeniu 0,5 g·l<sup>-1</sup>. Z roztworów startowych sporządzano roztwory robocze o stężeniach: 0,25; 0,05 oraz 0,01 g·l<sup>-1</sup>, zawierające mieszaninę trzech analizowanych substancji. Z oddzielnie przygotowanego ekstraktu etanolowego z papryki (400 ml) dla każdego stężenia mieszaniny wzorców pobierano po dwanaście prób (po cztery przy użyciu jednego sorbentu), każda po 10 ml. Następnie do sześciu ekstraktów dodawano po 90 µl mieszaniny wzorców i wszystkie próby poddawano opisanej wyżej procedurze izolacji związków fenolowych metodą SPE. Tym sposobem dla każdego sorbentu przygotowano po dwie próbki bez dodatku wzorców i dwie z ich dodatkiem. Następnie przed końcowym zatężaniem frakcji uzyskanych z kolumnienek SPE, do próbek bez dodatku wzorców dodawano po 90 µl mieszaniny analizowanych substancji. Wszystkie próbki po odparowaniu do sucha i rozpuszczeniu do objętości 1 ml analizowano metodą HPLC zgodnie z wyżej



opisaną procedurą. Odzysk pochodnych kwercetyny [%] obliczano na podstawie pól powierzchni pików substancji wzorcowych, zgodnie z regułą: (powierzchnia pików z SPE/powierzchnia pików bez SPE)  $\times$  100. Schemat procedury oznaczania odzysku pochodnych kwercetyny w kolumnach SPE przedstawiono na rys 2.



Rys. 2. Schemat oznaczania odzysku *O*-glikozydów kwercetyny na trzech typach sorbentów w metodzie ekstrakcji do fazy stałej.

Fig. 2. Diagram of recovery analysis of quercetin *O*-glycosides on three types of sorbents in solid phase extraction method.

Walidację metody HPLC do oznaczeń ilościowych pochodnych kwercetyny przeprowadzono z uwzględnieniem wymienionych wcześniej trzech substancji wzorcowych. W tym celu z roztworów startowych wzorców przygotowywano serie rozcieńczeń uzyskując stężenia od 0,5 do 0,01 g·l<sup>-1</sup>. Następnie wykonywano analizę HPLC, zgodnie z opisaną wyżej procedurą. Na podstawie pól powierzchni pików (*y*) badanych stężeń roztworów (*x*) wykreślono krzywe kalibracyjne  $y = f(x)$ . Zakres stężeń wzorców, przy których krzywe miały charakter liniowy określano na podstawie wartości  $R^2$ , która była co najmniej rzędu 0,999. Limit detekcji (LOD) oraz granicę oznaczalności (LOQ) w przeprowadzonych warunkach chromatograficznych i w zakresie liniowości wyrażano jako stężenie związku, dla którego wielkości sygnału do wielkości szumów wynosiły odpowiednio 3 : 1 i 10 : 1 [8]. Wartości zakresu liniowości oraz równania krzywych przedstawiono w tab. 1.

Tabela 1

Zakres stężeń wzorców glikozydów kwercetyny, przy których krzywe kalibracji mają przebieg liniowy oraz czułość metody HPLC-DAD.

Concentration range of quercetin glycosides standards at which calibration curves are linear, and sensitivity of HPLC-DAD method.

Związek Compound	Zakres stężeń [ $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ] Concentration range ( $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	Równanie regresji liniowej Linear regression equation	$R^2$	LOD [ $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ]	LOQ [ $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ]
<b>1</b>	2,5 - 500	$y=932149x+31214$	0,9998	0,149	0,497
<b>2</b>	2,5 - 100	$y=201402x+6414,9$	0,9993	0,051	0,168
<b>3</b>	0,25 - 500	$y=2E+06x+52995$	0,9999	0,003	0,010

Objaśnienia: / Explanatory notes:

**1** – 3-*O*-ramnozyd-7-*O*-glukozyd kwercetyny / Quercetin 3-*O*-rhamnoside-7-*O*-glucoside; **2** – 3-*O*-glukozyd kwercetyny / Quercetin 3-*O*-glucoside; **3** – 3-*O*-ramnozyd kwercetyny / Quercetin 3-*O*-rhamnoside.

Wyniki przedstawione jako wartości średnie z trzech powtórzeń poddano analizie statystycznej. Istotność różnic między wartościami średnimi określano za pomocą testu Tuckeya na poziomie istotności  $p = 0,05$ . Analizy wykonywano w programie Statgraphic Centurion XVI.

## Wyniki i dyskusja

Zastosowane sorbenty różniły się polarnością. Najbardziej polarny był żel krzemionkowy modyfikowany etylofenylem (Phe), a najmniej – modyfikowany oktedecylem (C18) [21, 26]. Ze względu na swoją pośrednią polarność sorbenty z fazami etylofenylową czy cyjanopropylową mogą działać zarówno w normalnym, jak i w odwróconym układzie rozpuszczalników, w zależności od sposobu kondycjonowania oraz od rodzaju stosowanych eluentów. Z kolei żel modyfikowany oktadecylem to typowy sorbent niepolarny, działający w odwróconym układzie faz [21, 26]. W przedstawionej pracy do wszystkich sorbentów zastosowano odwrócony układ rozpuszczalników, w którym jako eluent zastosowano 40-procentowy wodny roztwór metanolu, oraz tę samą procedurę analityczną. W ten sposób wyeliminowano wpływ mocy eluentu na wydajność ekstrakcji. Wyboru 40-procentowego roztworu metanolu jako rozpuszczalnika do wyodrębniania frakcji związków fenolowych dokonano na podstawie danych literaturowych [16, 24] i badań własnych (wyniki niepublikowane). Przy tym stężeniu metanolu uzyskiwano bowiem najwyższą efektywność wyodrębniania pochodnych kwasów fenolowych i flawonoidów na żelu C18.

W pierwszym etapie badań oznaczono odzysk *O*-glikozydów kwercetyny na badanych sorbentach, analizując wielkość sygnału wzorców po etapie ekstrakcji do fazy stałej oraz z wykluczeniem tego etapu. Schemat procedury oznaczania odzysku przedstawiono na rys. 2., a wyniki badań przedstawiono w tab. 2. Wydajność ekstrakcji *O*-glikozydów kwercetyny zależała od dwóch czynników: polarności badanego związku oraz polarności sorbentu. Wśród badanych związków najwyższą polarność charakteryzował się oznaczony numerem **1**: 3-*O*-ramnozyd-7-*O*-glukozyd kwercetyny, a najniższą oznaczony numerem **3**: 3-*O*-ramnozyd kwercetyny (rys. 1). Otrzymane wydajności ekstrakcji pokrywają się z polarnośćią badanych związków oraz użytych faz stacjonarnych. Największą wydajność ekstrakcji uzyskano w przypadku związku **2**, czyli 3-*O*-glukozydu kwercetyny, który charakteryzował się pośrednią polarnośćią, wynosiła ona średnio dla trzech faz 86,6 %. Wśród badanych sorbentów najefektywniejszy okazał się żel krzemionkowy modyfikowany cyjanopropylem, czyli również ten o pośredniej polarnośći, przy którym średnia wydajność ekstrakcji trzech związków wynosiła 92,7 % (tab. 2).

Tabela 2

Odzysk glikozydów kwercetyny w ekstrakcji do fazy stałej [%].  
Recovery of quercetin glycosides in solid phase extraction [%].

Związek Compound	Stężenie [g·l <sup>-1</sup> ] Concentration [g·l <sup>-1</sup> ]	Rodzaj sorbentu / Sorbent type ( $\bar{x} \pm s / SD$ )		
		C18*	Phe	CN
<b>1</b>	0,25	73,3 ± 0,94**	90,7 ± 2,77	78,3 ± 1,65
	0,05	77,4 ± 0,95	95,5 ± 0,97	83,8 ± 1,05
	0,01	86,2 ± 1,1	101,5 ± 1,49	86,3 ± 1,85
	$\bar{x}$	78,9 ± 5,86	95,9 ± 4,96	82,8 ± 3,77
<b>2</b>	0,25	85,7 ± 0,68	65,8 ± 1,29	90,0 ± 0,53
	0,05	89,5 ± 0,56	74,8 ± 0,98	92,9 ± 1,66
	0,01	98,7 ± 1,03	82,9 ± 0,67	99,2 ± 0,52
	$\bar{x}$	91,3 ± 5,82	74,4 ± 7,43	94,0 ± 4,17
<b>3</b>	0,25	46,4 ± 0,36	91,0 ± 3,74	97,8 ± 1,11
	0,05	51,3 ± 0,80	96,1 ± 1,04	101,4 ± 1,65
	0,01	54,2 ± 0,10	103,0 ± 1,57	104,4 ± 1,88
	$\bar{x}$	50,6 ± 3,44	96,7 ± 5,59	101,2 ± 3,20

Objaśnienia: / Explanatory notes:

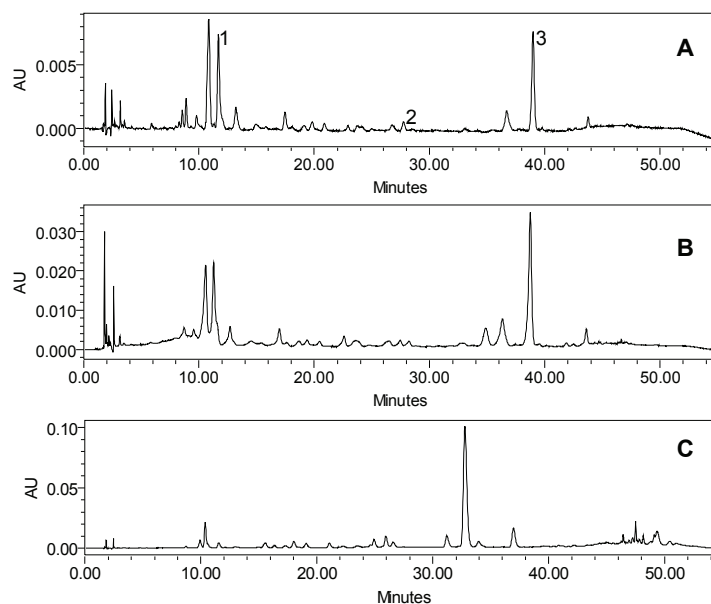
1, 2, 3 – numery i nazwy związków jak w tab. 1 / Numbers and names of compounds as in Tab. 1;

C18 – modyfikowany żel krzemionkowy C18: oktadecylem / silica gel modified with C18: octadecyl; Phe – etylofenylem / elhylophenyl; CN – cyjanopropylem / cyanopropyl;

$\bar{x} \pm s / SD$  – wartość średnia ± odchylenie standardowe / mean value ± standard deviation; n = 4.

Naturalne ekstrakty roślinne stanowią skomplikowaną matrycę i nie można jednoznacznie odnieść uzyskanych wyników do wszystkich układów roślinnych. W niniejszej pracy materiał doświadczalny stanowiły owoce papryki i z nich wyodrębniono

wzorce wykorzystane w badaniach. Z tego względu kolejnym etapem badań było oznaczenie stężenia tych związków w preparatach z papryki przygotowanych na trzech rodzajach sorbentów. Chromatogramy frakcji związków fenolowych wyodrębnionych na wymienionych sorbentach przedstawiono na rys. 3.



Rys. 3. Chromatogramy frakcji związków fenolowych z owoców papryki izolowanych na sorbentach: A - C18, B - Phe, C - CN. Związki oznaczane ilościowo: 1: 3-*O*-ramnozyd-7-*O*-glukozyd kwercetyny, 2: 3-*O*-glukozyd kwercetyny, 3: 3-*O*-ramnozyd kwercetyny.

Fig. 3. Chromatogram of phenolic compounds fraction from pepper fruit obtained on sorbents: A - C18, B - Phe, C - CN. Compounds quantitatively analysed: 1: quercetin 3-*O*-rhamnoside-7-*O*-glucoside, 2: quercetin 3-*O*-glucoside, 3: quercetin 3-*O*-rhamnoside.

Po porównaniu profili frakcji stwierdzono różnice ilościowe oraz jakościowe w ich składzie. Spośród *O*-glikozydów kwercetyny wykorzystywanych jako wzorce dominowały związki 1 i 3, natomiast związek 2 występował w śladowych ilościach. Potwierdziła to analiza ilościowa wykonana metodą krzywej wzorcowej trzech badanych związków w zakresie ich liniowości (tab. 3). Z uwagi na to, że analizowane frakcje związków fenolowych wyodrębnione z owocni papryki zawierały szereg substancji, których nie uwzględniono w analizie ilościowej, przeprowadzono równoległe oznaczenie sumy związków fenolowych omawianych frakcji metodą Folina-Ciocalteu oraz badania ich aktywności antyrodnikowej w układzie z rodnikiem DPPH. Uzyskane wyniki w pełni pokrywają się otrzymanymi wydajnościami ekstrakcji. Największą zawartość sumy związków fenolowych, jak i najwyższą aktywność antyrodnikową stwier-

dzono we frakcji wyodrębnionej na żelu modyfikowanym cyjanopropylem (tab. 3). W wielu wcześniejszych badaniach stwierdzono wysokie korelacje pomiędzy aktywnością antyrodnikową frakcji związków fenolowych mierzoną w układzie z rodnikiem DPPH a sumą związków fenolowych [2, 25]. Uzyskane w przedstawionej pracy wyniki są zgodne z danymi literaturowymi. Współczynniki korelacji pomiędzy aktywnością antyrodnikową a sumą związków fenolowych w ekstraktach z papryki wynosiły odpowiednio dla fazy C18:  $r = 0,94$ , cyjanowej:  $r = 0,99$ , a fenyłowej:  $r = 0,94$ . Wyniki wydajności ekstrakcji papryki potwierdzają informacje podane przez Rodrigueza i wsp. [21], którzy stwierdzili, że w przypadku związków fenolowych większe wydajności ekstrakcji uzyskuje się na sorbentach cykloheksylowym i fenyłowym niż na C18.

Tabela 3

Zawartość *O*-glikozydów kwercetyny, suma związków fenolowych oraz aktywność antyrodnikowa frakcji ekstrahowanych na trzech typach sorbentów.

Content of quercetin *O*-glycosides, total of phenolic compounds, and antiradical activity of fractions extracted on three types of sorbents.

Rodzaj sorbentu Sorbent type	<i>O</i> -glikozydy kwercetyny / Quercetin <i>O</i> -glycosides [ $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ekstraktu] / [ $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ of extract]				Zawartość zw. fenolowych* Content of phenolic compounds	Aktywność antyrodnikowa (DPPH) Antiradical activity [%]
	1	2	3	Suma Total		
C18	0,15 <sup>b</sup> $\pm 0,002^5$	-	0,25 <sup>b</sup> $\pm 0,012$	0,4	1,73 <sup>b</sup> $\pm 0,028$	27,68 <sup>b</sup> $\pm 1,023$
Phe	0,50 <sup>a</sup> $\pm 0,015$	0,28 <sup>b</sup> $\pm 0,019$	1,10 <sup>a</sup> $\pm 0,042$	1,88	1,68 <sup>b</sup> $\pm 0,014$	18,13 <sup>c</sup> $\pm 0,033$
CN	0,41 <sup>a</sup> $\pm 0,031$	1,05 <sup>a</sup> $\pm 0,009$	0,80 <sup>a</sup> $\pm 0,011$	2,26	2,39 <sup>a</sup> $\pm 0,051$	42,13 <sup>a</sup> $\pm 0,048$

Objaśnienia: / Explanatory notes:

1, 2, 3 – numery i nazwy związków jak w tab. 1. / Numbers and names of compounds as in Tab. 1;

\* – [mg kwasu chlorogenowego·ml<sup>-1</sup> ekstraktu] / [mg of chlorogenic acid·ml<sup>-1</sup> of extract];

wartości oznaczone w kolumnach tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ( $p \leq 0,05$ ) / values in the column and denoted with the same letter do not differ statistically significantly ( $p \leq 0,05$ );  $n = 3$ .

## Wnioski

1. Wynik oznaczania zawartości pochodnych kwercetyny w preparatach otrzymanych z papryki zależał od rodzaju sorbentu użytego na etapie wyodrębniania frakcji związków fenolowych z ekstraktów etanolowych.
2. Najefektywniejszym sorbentem w opisaney procedurze był żel krzemionkowy modyfikowany cyjanopropylem (CN), który charakteryzował się pośrednią lipofilnością.

3. Spośród analizowanych trzech pochodnych kwercetyny największą wydajność ekstrakcji uzyskano w przypadku 3-O-glukozydu kwercetyny.

### Literatura

- [1] Aherne S.A., O'Brien N.M.: Dietary flavonols: chemistry, food content, and metabolism. *Nutrition*, 2002, **18**, 1, 75-81.
- [2] Alvarez-Parrilla E., De La Rosa L., Amarowicz R., Shahidi, F.: Antioxidant activity of fresh and processed Jalapeno and Serrano peppers. *J. Agric. Food Chem.*, 2011, **59**, 163-173.
- [3] Chen Z.Y., Jiao R., Ma K.Y.: Cholesterol-lowering nutraceuticals and functional foods. *J. Agric. Food Chem.*, 2008, **56**, 8761-8773.
- [4] Halliwell B.: Antioxidants in human health and disease. *Ann. Rev. Nutr.*, 1996, **16**, 39-50.
- [5] Howard L.R., Talcott S.T., Brenes C.H., Villalon B.: Changes in phytochemical and antioxidant activity of selected pepper cultivars (*Capsicum* species) as influenced by maturity. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, **48**, 1713-1720.
- [6] Janeczko Z.: Owoce i warzywa jako źródło prozdrowotnych substancji o właściwościach antyoksydacyjnych. *Folia Horticulturae*, 2003, **1**, 23-25.
- [7] Kaur Ch., Kapoor H.C. Antioxidants in fruits and vegetables – the millennium's health. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2001, **36**, 703-725.
- [8] Konieczka P., Namieśnik J.: Ocena i kontrola jakości wyników pomiarów analitycznych. WNT, Warszawa 2007.
- [9] Kopjar M., Pilizota V., Subaric D., Babic J.: Prevention of thermal degradation of red currant juice anthocyanins by phenolic compounds addition. *Croat. J. Food Sci. Technol.*, 2009, **1** (1), 24-30.
- [10] Marin A., Ferreres F., Tomas-Barberan F.A., Gil M.I.: Characterization and quantitation of antioxidant constituents of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). *J. Agric. Food Chem.*, 2004, **52**, 3861-3869.
- [11] Materska M.: The scavenging effect and flavonoid glycosides content in fractions from fruits of hot pepper *Capsicum annuum* L. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* 2012, **11** (4), 363-371.
- [12] Materska M., Perucka I.: Antioxidant activity of the main phenolic compounds isolated from hot pepper fruit (*Capsicum annuum* L.). *J. Agric. Food Chem.*, 2005, **53**, 1750-1756.
- [13] Materska M., Piacente S., Stochmal A., Pizza C., Oleszek W., Perucka I.: Isolation and structure elucidation of flavonoid and phenolic acid glycosides from pericarp of hot pepper fruit *Capsicum annuum* L. *Phytochemistry*, 2003, **63**, 893-898.
- [14] Miller E., Malinowska K., Gałęcka E., Mrowiska M., Kędziora J.: Rola flawonoidów jako przeciwutleniaczy w organizmie człowieka. *Pol. Merk. Lek.*, 2008, XXIV, **144**, 556-560.
- [15] Nowaczyk L.: Ocena jakości i przydatności technologicznej papryki (*Capsicum spp.*) linii miękkomięszkowej (soft-flesh). *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **3** (82), 179-186.
- [16] Olas B., Wachowicz B., Stochmal A., Oleszek W.: Inhibition of oxidative stress in blond platelets by different phenolics from *Yucca schidigera* Roetzl. *Bark. Nutr.*, 2003, **19**, 633-640.
- [17] Perucka I., Materska M., Jachacz L.: Ocena jakości preparatów otrzymanych z wysuszonych owoców papryki (*Capsicum annuum* L.). *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **1** (68), 30-39.
- [18] Prior R.L.: Fruits and vegetables in the prevention of cellular oxidative damage. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2003, **78**, 570-578.
- [19] Palevitch D., Craker L.E.: Nutritional and medical importance of red pepper (*Capsicum* spp.). *J. Herbs, Spices Med. Plants*, 1995, **3**, 55-83.
- [20] Puupponen-Pimia R., Nohynek L., Hartmann-Schmidlin S., Kahkonen M., Heinonen M., Maatta-Riihinen K., Oksman-Caldetey K.M.: Berry phenolics selectively inhibit the growth of intestinal pathogens. *J. Appl. Microbiol.*, 2005, **98**, 991-1000.


- [21] Rodriguez I., Llompart M.P., Cela R.: Solid phase extraction of phenols. *J. Chrom. A.*, 2000, **885**, 291-304.
- [22] Sanitas J., Pilar Almajano M., Carbo R. Onion.: A natural alternative to artificial food preservatives. *Agro Food Industry Hi-Tech*, 2010, **21** (5), 44-46.
- [23] Seetaramaiah K., Smith A.A., Murali R., Manavalan R.: Preservatives in food products-review. *Int. J. Pharm. Biol. Arch.*, 2011, **2** (2), 583-599.
- [24] Stochmal A., Piacente S., Pizza C., De Riccardi F., Leitz R. Oleszek W.: Alfalfa (*Medicago sativa* L.) flavonoids. 1. Apigenin and luteolin glycosides from aerial parts. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, **49**, 753-758.
- [25] Wu R., Frei B., Kennedy J.A., Zhao Y.: Effects of refrigerated storage and processing technologies on the bioactive compounds and antioxidant capacities of Marion and Evergreen blackberries. *LWT – Food Sci. Technol.*, 2010, **43**, 1253-1264.
- [26] Żwir-Ferenc A., Biziuk M.: Solid phase extraction technique-trends, Opportunities and applications. *Pol. J. Environ. Stud.*, 2006, **15** (5), 677-690.

### EFFECT OF EXTRACTION CONDITIONS ON CONTENT OF QUERCETIN O-GLYCOSIDES IN EXTRACTS FROM PEPPER FRUIT

#### S u m m a r y

In the paper as presented, the effect was determined of the polarity of sorbents in solid phase extraction on the contents of phenylpropanoids in extracts obtained from a pepper pericarp. Three types of sorbents were analyzed: silica gel modified with octadecyl (C18), ethylphenyl (Phe), and cyanopropyl (CN), and, in every case, the same system of solvents was applied. The extraction yield was determined using three derivatives of quercetin as the standards; those derivatives were isolated from the pepper pericarp during the preceding studies. The standards comprised: quercetin 3-*O*-rhamnoside-7-*O*-glucoside, quercetin-3-*O*-glucoside, and quercetin-3-*O*-rhamnoside. Next, the fractions of phenolic compounds were isolated from the pepper pericarp with the use of the three above indicated sorbents. In the fractions obtained, the content of quercetin derivatives was quantitatively determined by a HPLC method and with the use of the standard curves for each compound. Additionally, there were determined the total of phenolic compounds by a Folin-Ciocalteu method and their antiradical activity in the system with DPPH radical.

Of the three standards applied, the quercetin-3-*O*-glucoside was recognized for its highest extraction yield; it was characterized by an intermediate polarity. Among the sorbents analyzed, the most effective sorbent was the silica gel modified with cyanopropyl. Also in the case of the fraction of phenolic compounds present in the pepper fruits, the highest extraction efficiency was obtained for the same gel used. This fact was confirmed by the results of total phenolic compounds and antiradical activity.

**Key words:** *Capsicum annum*, solid phase extraction, phenolic compounds, quercetin *O*-glycosides 



ADRIAN CZERNIAK, TOMASZ JANKOWSKI

## MIKROKAPSULKOWANIE $\alpha$ -TOKOFEROLU WEWNĄTRZ KOMÓREK DROŻDŻY *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

### Streszczenie

W pracy oceniono przydatność drożdży *Saccharomyces cerevisiae* jako naturalnego materiału nośnikowego w procesie mikrokapsulkowania witaminy E oraz ustalono optymalne warunki tego procesu.

Witaminę E, w formie DL- $\alpha$ -tokoferolu, mieszano z porcją drożdży oraz wodnym roztworem alkoholu etylowego i inkubowano przez 48 h w temperaturze od 25 do 55 °C. Przy użyciu metody płaszczyzny odpowiedzi (RSM) oceniono wpływ temperatury ( $X_1$ ), stężenia etanolu ( $X_2$ ) oraz stosunku drożdży do witaminy ( $X_3$ ) na końcową zawartość witaminy E w komórkach drożdżowych (wydajność procesu).

Stwierdzono, że w badanym zakresie, wydajność procesu jest nieliniową funkcją stężenia etanolu. Po przekroczeniu określonej wartości stężenia wydajność malała. Zaobserwowano również liniowy, ujemny wpływ stosunku masowego drożdży do witaminy na ten proces. W badanym zakresie temperatura wywierała niewielki, dodatni wpływ na wydajność procesu. Po zastosowaniu optymalnych warunków mikrokapsulkowania witaminy E w komórkach drożdży (temperatura 25 - 55 °C, stężenie etanolu – 54,3 % i stosunek drożdży do witaminy równy 1) uzyskano wydajność procesu na poziomie 36,1 %.

**Słowa kluczowe:** przeciwutleniacze, witamina E, *Saccharomyces cerevisiae*, mikrokapsulkowanie witamin, metoda płaszczyzny odpowiedzi (RSM)

### Wprowadzenie

Przeciwutleniacze są związkami o zdolności do wiązania wolnych rodników. Dzięki tej właściwości są w stanie chronić wrażliwe składniki komórek (kwasy nukleinowe, białka, fosfolipidy błonowe) przed degradacją na drodze utleniania, a tym samym zapobiegać uszkodzeniom tkanek pod wpływem zwiększonej aktywności wolnych rodników. Prowadzi to do obniżenia ryzyka wystąpienia niektórych schorzeń, takich jak: choroby układu sercowo-naczyniowego, choroby układu nerwowego i nowotwory [9, 12]. Jednym z najczęściej występujących naturalnie przeciwutleniaczy jest witamina E, będąca grupą związków chemicznych o zbliżonej budowie i aktywności.

---

Mgr inż. A. Czerniak, prof. dr hab. T. Jankowski, Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Wydz. Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wojska Polskiego 48, 60-637 Poznań

Wśród nich największą aktywność przeciwutleniającą wykazuje  $\alpha$ -tokoferol ( $\alpha$ TP), stosowany powszechnie do produkcji żywności, m.in. jako dodatek do margaryn i olejów, smalcu, pieczywa cukierniczego oraz odwodnionego tłuszczu mlecznego. Powszechnie występuje także jako jeden ze składników suplementów diety [18]. Ze względu na ograniczoną trwałość w warunkach dostępności tlenu i światła, a także uleganie szybkiej degradacji pod wpływem wysokiej temperatury, zastosowanie  $\alpha$ TP jest w wielu procesach technologicznych mocno utrudnione [3]. Dodatkowo, lipidowy charakter witaminy E wymusza konieczność stosowania emulgatorów, natomiast ciętkła jej postać ogranicza użycie w produktach suchych i sproszkowanych [25].

Zwiększenie stabilności wrażliwych dodatków do żywności, takich jak aromaty czy witaminy uzyskuje się zwykle poprzez zastosowanie metod mikrokapsułkowania, polegających na wytworzeniu wokół substancji otoczki o specyficznych właściwościach [13]. W literaturze opisano wiele metod mikrokapsułkowania używanych w procesie ochrony i zwiększania dostępności  $\alpha$ TP. Najczęściej stosowanymi technikami są: suszenie rozpyłowe, zestalanie rozpyłowe, ekstruzja w biomateriałach, prosta i złożona koacerwacja oraz suszenie sublimacyjne. W charakterze materiałów otoczujących wykorzystywane są przede wszystkim naturalne polimery, tłuszcze, woski i białka [11, 20]. W nowszych metodach wykorzystuje się kapsułki alginianowe [27], otoczki białkowe uzyskane techniką wymuszonego żelowania [23], żele pektynowe [24], nanocząsteczki uzyskane z polimeru  $\epsilon$ -kapolaktonu [4] oraz kompleksy białko-chitozanowe [15].

Alternatywę dla wymienionych metod może stanowić użycie struktur komórkowych jako naturalnego nośnika w procesie mikrokapsułkowania. Najczęściej wymienia się drożdże z gatunku *Saccharomyces cerevisiae* (drożdże piekarskie), stanowiące tani i ogólnodostępny produkt [1, 16]. Głównymi zaletami biomasy drożdżowej, w porównaniu z materiałami tradycyjnymi, jest pełna biokompatybilność z produktem oraz nietoksyczność, pozwalająca na niemal nieograniczone stosowanie w produkcji żywności. Dodatkowo, drożdże odznaczają się niewielkimi wymiarami oraz dużą odpornością na działanie czynników zewnętrznych (wysoka temperatura, siły ścinające). Istnieje również możliwość wykorzystania w procesie drożdży odpadowych, powstających w dużych ilościach w takich gałęziach przemysłu spożywczego, jak browarnictwo czy gorzelnictwo.

Proces mikrokapsułkowania w komórkach drożdżowych prowadzi się zwykle poprzez zmieszanie wodnej emulsji substancji kapsułkowanej z porcją biomasy i inkubację w określonej temperaturze przez kilka do kilkudziesięciu godzin, po którym biomasa jest oddzielana, płukana i suszona. Ze względu na pasywny, dyfuzyjny charakter, proces ten nie wymaga stosowania skomplikowanej i drogiej aparatury, co znacząco wpływa na obniżenie kosztów. Do tej pory z powodzeniem wykorzystano tę metodę do

mikrokapsułkowania barwników [1], aromatów [16, 26], przeciwutleniaczy [17, 21, 22] oraz składników preparatów farmaceutycznych [19].

Celem badań była ocena przydatności drożdży z gatunku *Saccharomyces cerevisiae* jako naturalnego nośnika w procesie mikrokapsułkowania witaminy E oraz optymalizacja tego procesu. Testowanymi czynnikami była temperatura inkubacji oraz stężenie etanolu i stosunek suchej masy drożdży do witaminy w mieszaninie kapsułkującej.

### **Material i metody badań**

#### *Witamina E*

Substancję o aktywności witaminy E stanowił syntetyczny DL- $\alpha$ -tokoferol o 97-procentowej czystości (Sigma-Aldrich, Polska).

#### *Drożdże*

W badaniach wykorzystano komercyjnie dostępne drożdże piekarskie (Lesaffre Polska). Przed procesem drożdże zostały poddane płukaniu w celu usunięcia pozostałości pożywki oraz fragmentów komórek. W tym celu porcję ok. 500 g drożdży zawieszano w 0,5 M buforze fosforanowym (pH 6,8) i oddzielano przez wirowanie ( $3950 \times g$ , 10 min). Procedurę płukania powtarzano trzykrotnie. Uzyskaną pastę drożdżową poddawano następnie liofilizacji przez 48 h.

#### *Mikrokapsułkowanie witaminy E*

Proces mikrokapsułkowania wykonywano w zamkniętych szklanych wialach z ciemnego szkła o poj. 40 ml przy użyciu termostatowanego bloku aluminiowego, umieszczonego na mieszadle magnetycznym (IKA, Niemcy). Odpowiednią porcję drożdży zawieszano w 15 ml wody destylowanej i dodawano 200 mg  $\alpha$ TP rozpuszczonego w takiej ilości etanolu, by jego końcowe stężenie w mieszaninie było zgodne z przyjętym planem doświadczenia (tab. 2). Zawartość wial inkubowano przez 48 h w temp. 25 - 55 °C, przy mieszaniu na poziomie 150 obr.  $\cdot$  min<sup>-1</sup>. Po zakończeniu inkubacji zawiesinę wirowano ( $3950 \times g$ , 15 min), po czym pozostały osad komórek zawieszano w wodzie destylowanej i ponownie wirowano w celu usunięcia pozostałości niezakapsułkowanej witaminy. Procedurę powtarzano trzykrotnie, po czym biomasę drożdżową poddawano suszeniu sublimacyjnemu przez 24 h.

#### *Oznaczenie wydajności mikrokapsułkowania witaminy E*

Zawartość witaminy E w komórkach określano metodą ekstrakcji i analizy chromatograficznej [6]. W tym celu naważkę suchych mikrokapsułek (10 mg) zawieszano w 0,5 ml wody destylowanej i ekstrahowano porcją bezwodnego alkoholu etylowego. Dla polepszenia ekstrakcji próby poddano sonikacji przez 20 min. W celu określenia

strat podczas ekstrakcji dodawano znaną ilość standardu wewnętrznego w postaci octanu DL- $\alpha$ - tokoferolu. Uzyskany ekstrakt filtrowano przez filtr strzykawkowy (0,45  $\mu\text{m}$ ), po czym mierzono zawartość DL- $\alpha$ - tokoferolu w filtracji metodą szybkiej chromatografii cieczowej (RRLC) w chromatografie Infinite 1200 (Agilent Technologies, USA), wyposażonym w kolumnę XDB-C18, z detekcją sygnału przy długości fali  $\lambda = 280 \text{ nm}$ . Jako eluent stosowano 97-procentowy metanol w przepływie  $2 \text{ ml /min}^{-1}$ . Identyfikacji jakościowej i ilościowej dokonywano metodą kalibracji zewnętrznej, z wykorzystaniem wzorca o znanym stężeniu.

Wydajność procesu (ang. *Encapsulation yield*, EY) wyrażano procentową zawartością witaminy E w komórkach drożdży piekarskich i obliczano z równania:

$$EY [\% \text{ wag.}] = \frac{C_e}{m_k \times D_k} \times 100$$

$C_e$  – zawartość witaminy E w ekstrakcie [mg],

$m_k$  – masa próby [mg],

$D_k$  – sucha masa kapsułek [% (m/m)].

#### Plan doświadczenia optymalizacyjnego

Optymalizację procesu mikrokapsułkowania przeprowadzano metodą płaszczyzny odpowiedzi (ang. *Response surface methodology*, RSM), przy uwzględnieniu metody centralnego planu kompozycyjnego. W badaniach oceniano wpływ: temperatury inkubacji w zakresie  $25 - 55 \text{ }^\circ\text{C}$  ( $X_1$ ), stężenia etanolu w zakresie  $50 - 85 \%$  (obj.) ( $X_2$ ) oraz stosunku masowego drożdży do witaminy w zakresie  $1 - 2,5$  ( $X_3$ ) na końcową zawartość witaminy E w komórkach drożdży *Saccharomyces cerevisiae*. Poszczególne poziomy badanych czynników zakodowano dla ułatwienia późniejszej analizy wariancji (tab. 1). Dla analizowanej zmiennej zależnej wyznaczono metodą regresji krokowej wstecznej równanie wielomianu o ogólnej postaci:

$$Y = b_0 + b_1 X_1 + \dots + b_k X_k + b_{12} X_1 X_2 + \dots + b_{1-k,k} X_{k-1} X_k + b_{11} X_1^2 + \dots + b_{kk} X_k^2$$

gdzie: Y to zmienna zależna, natomiast  $b_0$ ,  $b_k$ ,  $b_{k-1,k}$  i  $b_{kk}$  to odpowiednio współczynniki określające wyraz wolny, efekty główne, ich interakcję oraz wyrazy kwadratowe. W trakcie opracowywania modelu regresji, wartości zmiennej zależnej poddano transformacji zgodnie z równaniem:

$$y' = \sqrt{y + k},$$

gdzie:  $y'$  to zmienna transformowana, natomiast  $y$  to zmienna zależna w postaci pierwotnej (EY),  $k$  to stała równa 0,4. Typ transformacji ustalono na podstawie wyników testu Box-Cox, stanowiącego narzędzie wspomagające procedury wyboru formy funkcyjnej modeli regresji w przypadku wykrycia nieprawidłowości związanych z występowaniem korelacji pomiędzy średnią a wariancją [2]. Poprawność dopasowania mo-

delu matematycznego opisującego zależności między zmiennymi oraz ich wpływ na wartość EY oceniano na podstawie testu braku dopasowania (ang. *Lack of fit*) oraz skorygowanego współczynnika determinacji  $R^2$ . We wszystkich analizach przyjęto poziom istotności  $p = 0,05$ . Analizę statystyczną wykonano w programie Statistica 6.0 PL.

#### *Uwalnianie witaminy E z mikrokapsulek w sztucznych płynach trawiennych*

Doświadczenie dotyczące uwalniania witaminy E w sztucznych płynach trawiennych przeprowadzono z mikrokapsułkami wykonanymi w optymalnych warunkach procesu. Do wytworzenia symulującego płynu żołądkowego (ang. *Simulated gastric fluid*, SGF) użyto 0,05 M HCl (pH 1,2) zawierającego (m/m): 0,2 % NaCl, 0,5 % Tweenu 80 oraz 0,1 % pepsyny. Tween 80 dodano w celu zwiększenia dyspersyjności uwolnionej witaminy E. Jako sztuczny płyn jelitowy (ang. *Simulated intestinal fluid*, SIF) zastosowano 0,05 M PBS (pH 7,4) zawierający (m/m): 0,5 % Tweenu 80 i 1 % trypsyny [27]. Próbkę kontrolną stanowiła woda destylowana zawierająca 0,5 % Tweenu 80. Porcję 150 mg mikrokapsulek o znanej zawartości witaminy E zawieszono w 25 ml SGF, SIF lub próby kontrolnej i inkubowano przez minimum 8 h w temp. 37 °C, przy ciągłym mieszaniu 120 obr·min<sup>-1</sup>. Próbkę (20  $\mu$ l) pobierano co 30 min i zastępowano świeżą porcją cieczy, po czym ekstrahowano 1 ml dichlorometanu. Po odparowaniu rozpuszczalnika w strumieniu azotu i rozpuszczeniu pozostałości w metanolu oznaczano zawartość DL- $\alpha$ -tokoferolu metodą chromatograficzną.

Wynik wyrażano procentowo, jako stosunek ilości witaminy E uwolnionej do roztworu do początkowej ilości witaminy, wprowadzonej w formie mikrokapsulek. Doświadczenie wykonano w trzech powtórzeniach ( $n = 3$ ).

Tabela 1

Wartości kodowe zmiennych niezależnych użytych w doświadczeniu optymalizacyjnym.  
Coded levels for independent variables used in optimisation experiment.

Zmienna / Variable	Kod, $X_i$ Code, $X_i$	Wartość kodowa / Coded level				
		-2	-1	0	1	2
Temperatura [°C] Temperature [°C]	$X_1$	15	25	40	55	65
Stężenie etanolu [% obj.] Ethanol concentration [% vol.]	$X_2$	38	50	67,5	85	97
Stosunek drożdży do $\alpha$ TP Yeast to $\alpha$ TP ratio	$X_3$	0,5	1	1,75	2,5	3

## Wyniki i dyskusja

### Optymalizacja procesu mikrokapsułkowania

W pierwszych etapie badań przeprowadzono ocenę wpływu wybranych czynników (zmiennych wejściowych) na końcową wydajność procesu (EY), wyrażoną jako procent masowy  $\alpha$ TP w suchej masie mikrokapsulek. Schemat wykonanego doświadczenia oraz uzyskane wyniki w postaci średniej z trzech powtórzeń przedstawiono w tab. 2.

Tabela 2

Plan doświadczenia optymalizacyjnego z uwzględnieniem wybranych zakresów: temperatury ( $X_1$ ), stężenia etanolu ( $X_2$ ) i stosunku masowego drożdży do  $\alpha$ TP ( $X_3$ ) oraz uzyskane wartości wydajności procesu mikrokapsułkowania witaminy E (EY).

Optimisation experiment plan including selected ranges of: temperature ( $X_1$ ), ethanol concentration ( $X_2$ ), and yeast to  $\alpha$ TP mass ratio, and vitamin E microencapsulation yield (EY) values obtained.

Lp. No.	Temperatura Temperature [°C]	Stężenie etanolu Ethanol concentration [% obj. / vol.]	Stosunek drożdży do $\alpha$ TP Yeast to $\alpha$ TP Ratio	Wydajność <sup>a</sup> Encaps. yield <sup>a</sup> [% (m/m / w/w)]
1	25	50,0	2,5	28,3
2	25	85,0	2,5	0,0
3	40	67,5	0,5	31,2
4	55	50,0	2,5	30,1
5	40	67,5	1,75	24,9
6	40	97,0	1,75	0,0
7	25	50,0	1	35,3
8	40	38,0	1,75	20,6
9	25	85,0	1	1,1
10	40	67,5	1,75	25,1
11	55	85,0	2,5	0,0
12	40	67,5	1,75	25,8
13	55	50,0	1	43,0
14	40	67,5	1,75	28,3
15	65	67,5	1,75	24,4
16	15	67,5	1,75	22,3
17	40	67,5	1,75	25,0
18	40	67,5	3	19,5
19	55	85,0	1	0,1
20	40	67,5	1,75	24,7

<sup>a</sup> – wartość średnia z 3 powtórzeń / mean value from 3 runs

Wybrany model matematyczny (tab. 3) o postaci wielomianu drugiego stopnia, zastosowany do opisu uzyskanych wyników, był istotny na poziomie  $p < 0,0001$ . Charakteryzował się dobrym dopasowaniem, na co wskazuje wartość skorygowanego współczynnika determinacji  $R^2 = 0,98$ . Na podstawie wyniku testu braku dopasowania równego (0,0909) można stwierdzić, że dla badanych przedziałów zmiennych wejściowych wybrany model może być wykorzystany do przewidywania zawartości witaminy E w komórkach. Analiza statystyczna wykazała, że spośród ocenianych zmiennych wejściowych istotny wpływ na końcową zawartość witaminy E w mikrokapsułkach miało stężenie etanolu ( $X_2$ ,  $p < 0,0001$ ) oraz stosunek masowy drożdży do  $\alpha$ TP ( $X_3$ ,  $p < 0,0001$ ), natomiast temperatura inkubacji w badanym zakresie wywierała niewielki (statystycznie nieistotny), dodatni efekt ( $X_1$ ,  $p = 0,4174$ ). Wielkość wpływu poszczególnych czynników na wartość EY oceniono na podstawie wykresu PARETO efektów (rys. 1). Wyznaczone równanie regresji w postaci wielomianu kwadratowego dla wartości EY miało następującą postać:

$$y' = 0,048X_1 - 2,53X_2 - 0,31X_3 - 1,68X_2^2 + 5,04.$$

Tabela 3

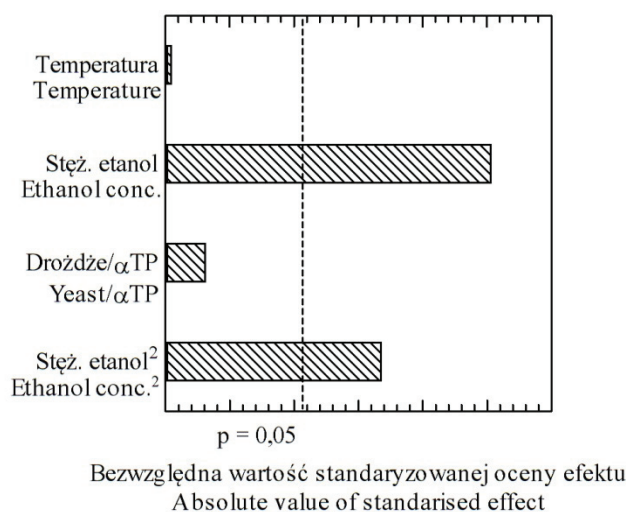
Wyniki analizy wariancji zredukowanego modelu w postaci wielomianu kwadratowego.  
Results of reduced model analysis of variance in the form of quadratic polynomial.

Źródło Source	Suma kwadratów Sum of squares	Stopnie swobody Degree of freedom	Średni kwadrat Mean square	Wartość F F value	Prawdopodobieństwo Probability
Model	65,33	4	16,33	365,26	< 0,0001
Temp., $X_1$	0,031	1	0,031	0,70	0,4174
Stęż. etanol, $X_2$	59,11	1	59,11	1321,85	< 0,0001
Drożdże/ $\alpha$ TP, $X_3$	1,33	1	1,33	29,83	< 0,0001
Stęż. etanol <sup>2</sup> , $X_2^2$	23,98	1	23,98	536,39	< 0,0001
Reszty Residues	0,63	14	0,045	-	-
Brak dopasowania Lack of fit	0,54	9	0,06	3,49	0,0909
Błąd czysty Pure error	0,086	5	0,017	-	-

W przeprowadzonym doświadczeniu wydajność mikrokapsułkowania witaminy E w komórkach drożdży piekarskich była bardzo zróżnicowana i wahała się od 0 do 42,99 % (m/m). Spośród analizowanych zmiennych wejściowych największy wpływ na wydajność miało końcowe stężenie etanolu w mieszaninie kapsułkującej, natomiast



stosunek masowy drożdży do witaminy wpływał na tę wartość w nieznacznym stopniu (rys. 2). Zaobserwowano, że w mieszaninie kapsułkującej zawierającej powyżej 85 % (obj.) etanolu proces mikrokapsułkowania praktycznie nie zachodził, gdyż końcowa wydajność wynosiła poniżej 0,1 % (m/m). Zmniejszanie zawartości etanolu w mieszaninie powodowało wzrost końcowej zawartości witaminy E w komórkach, przy czym największą wartość stwierdzono w wariantach zawierających ok. 55 % (obj.) etanolu. Po przekroczeniu tej ilości obserwowano zmniejszanie wydajności procesu.



Rys. 1. Wykres PARETO efektów dla analizowanych czynników.

Fig. 1. PARETO chart of effects for factors analysed.

Wcześniejsze badania wykazały, że obecność rozpuszczalnika organicznego, takiego jak np. etanol, jest niezbędne do uzyskania statystycznie istotnych zawartości witaminy E w komórkach. Stwierdzono, że w układach niezawierających rozpuszczalnika ilość związanej witaminy nie przekraczała 1 - 2 % (m/m) [7]. Zjawisko to można tłumaczyć koniecznością zwiększenia rozpuszczalności hydrofobowego DL- $\alpha$ -tokoferolu w ścianie komórki drożdżowej, która jest głównym składnikiem tej komórki decydującym o wnikiwaniu związków do jej wnętrza [28]. Prosty model mikrokapsułkowania związków hydrofobowych wewnątrz komórek *Saccharomyces cerevisiae* został zaproponowany przez Ciamponi i wsp. [5], którzy określili ścianę komórki jako hydrofilową, selektywną membranę. Przedstawiony w wymienionej pracy model dyfuzji Ficka wskazuje, że im substancja lepiej rozpuszcza się w ścianie komórki drożdżowej, tym wydajniejszy jest proces mikrokapsułkowania. Niewielkie związki o małej masie cząsteczkowej, takie jak terpeny i węglowodory niskocząsteczkowe, mogą dość swobodnie przenikać do wnętrza komórki [26]. Ze względu na dość dużą masę cząstecz-

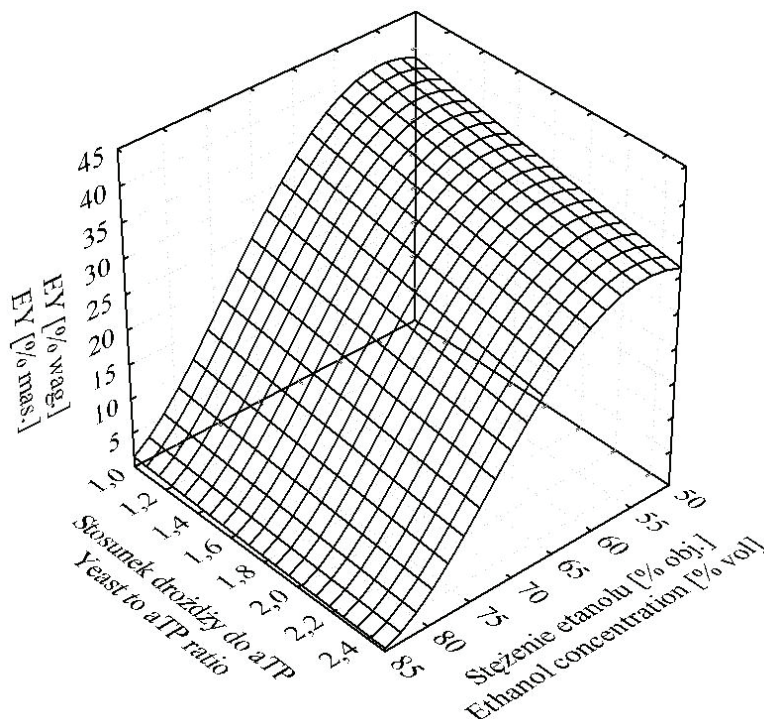
kową ( $430,7 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) oraz obecność w cząsteczce silnie hydrofobowego łańcucha bocznego, DL- $\alpha$ -tokoferol praktycznie nie dyfunduje w sposób bierny przez ścianę komórkową. Podobne wyniki uzyskali Kilcher i wsp. [14] w badaniach nad wnikaniem syntetycznych oligomerów do wnętrza komórki drożdży *Saccharomyces cerevisiae*. Oligomery te różniły się między sobą tylko liczbą jednostek monomeru, a tym samym masą cząsteczkową. Związki o dużej masie nie były w stanie przenikać do wnętrza, w przeciwieństwie do zbudowanych z niewielkiej liczby podjednostek. Wyznaczona dla danego oligomeru granica masy cząsteczkowej może być modyfikowana poprzez zmianę polarności środowiska. Zastosowany w wymienionej pracy sulfotlenek dimetylu (DMSO) znacząco zwiększał rozpuszczalność wysokocząsteczkowych oligomerów w ścianie komórki *Saccharomyces cerevisiae*, a tym samym ich zawartość w komórkach. Użyty w niniejszych badaniach optymalizacyjnych etanol powodował zwiększenie rozpuszczalności DL- $\alpha$ -tokoferolu w ścianie komórkowej, co zwiększyło jego końcową zawartość w mikrokapsułkach. Zaobserwowano, że w badanych układach wydajność była nieliniową funkcją stężenia etanolu. Po przekroczeniu pewnego stężenia etanolu, wielkość EY malała (rys. 2). Za efekt ten odpowiada prawdopodobnie degradujący wpływ etanolu na struktury komórki drożdżowej, takie jak błony cytoplazmatyczne, będące przypuszczalnie głównym miejscem wiązania i stabilizacji kapsułkowanego DL- $\alpha$ -tokoferolu [10].

Analiza zmian wydajności procesu mikrokapsułkowania witaminy E w zależności od stosunku masowego drożdży do witaminy ( $X_3$ ) wykazała, że w badanym zakresie zmiennej wraz z jej wzrostem dochodziło do obniżenia EY, z wartości 28,2, w przypadku stosunku równego 1, do 21,9 w odniesieniu do stosunku równego 2,5 ( $X_1 = 40$ ,  $X_2 = 67,5$ ). Efekt ten przypuszczalnie można tłumaczyć ustaleniem się specyficznego stanu równowagi pomiędzy biomasą drożdżową, a DL- $\alpha$ -tokoferolem. W stanie równowagi dana ilość biomasy w określonych warunkach temperatury i stężenia etanolu może związać określoną ilość witaminy E. Wzrost udziału suchej masy drożdży w mieszaninie kapsułkującej powodował przesunięcie tego stanu w stronę mniejszych zawartości końcowych witaminy w komórkach.

Zbliżony efekt zaobserwowano w badaniach nad stabilizacją kurkuminy wewnątrz komórek drożdży *Saccharomyces cerevisiae* [17]. Kurkumina, podobnie jak DL- $\alpha$ -tokoferol, jest związkiem słabo rozpuszczalnym w wodzie i o dużej masie cząsteczkowej ( $368,4 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ). Wykazano, że do uzyskania wysokiej wydajności procesu mikrokapsułkowania, stosunek drożdży do kurkuminy nie powinien przekraczać 0,5. Szczegółowy mechanizm tego zjawiska, w odniesieniu do witaminy E, nie został jednak jeszcze poznany.

Wykonane doświadczenie optymalizacyjne pozwoliło na określenie optymalnych warunków mikrokapsułkowania  $\alpha$ TP do uzyskania maksymalnej wydajności procesu w badanym zakresie zmiennych wejściowych. Ich wartości liczbowe wyniosły kolejno:

temperatura ( $X_1$ ) – 25 - 55 °C, stężenie etanolu ( $X_2$ ) – 54,3 % (obj.) oraz stosunek masowy drożdży do witaminy ( $X_3$ ) równy 1. Rzeczywista, uzyskana doświadczalnie w wymienionych warunkach, wartość liczbowa EY wyniosła  $36,1 \pm 0,7$  % i była zbliżona do oczekiwanej (39,9 %) oraz mieściła się w wyznaczonym przedziale ufności (37,1 - 42,8 %).



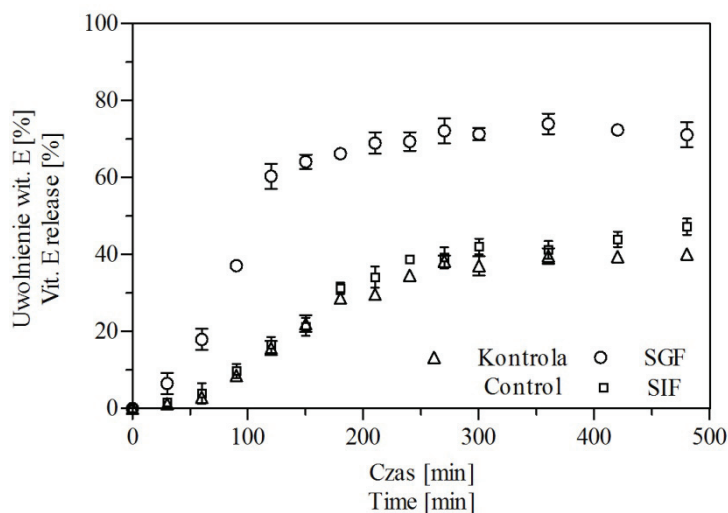
Rys. 2. Płaszczyzna odpowiedzi dla wartości EY w funkcji stężenia etanolu i stosunku drożdży do  $\alpha$ TP. Temperatura inkubacji równa 40 °C.

Fig. 2. Response surface for EY value as a function of ethanol concentration and yeast to  $\alpha$ TP ratio. Incubation temperature equalling 40 °C.

#### *Uwalnianie witaminy E z mikrokapsulek w SGF i SIF*

Drugi etap doświadczenia polegał na ocenie kinetyki uwalniania DL- $\alpha$ -tokoferolu z mikrokapsulek drożdżowych w symulowanych płynach trawiennych. Uzyskane profile uwalniania przedstawiono na rys. 3. Stwierdzono, że w środowisku kwaśnym (symulowany sok żołądkowy) uwolnienie witaminy E z mikrokapsulek zachodziło istotnie szybciej niż w słabo zasadowym pH (symulowany sok jelitowy) oraz w próbie kontrolnej. W SGF w ciągu 4 godzin uwolniło się 69,4 %  $\alpha$ TP, w SIF – 38,7 %, natomiast w próbie kontrolnej – 34,7 %. Stwierdzono również, że po tym czasie dalsze

uwalnianie witaminy E było istotnie wolniejsze i po 8 h wyniosło kolejno: 71,1, 47,3 i 40,1 %. Niska retencja witaminy  $\alpha$ TP w mikrokapsułkach znajdujących się w warunkach symulowanego płynu żołądka jest przypuszczalnie spowodowana specyficzną budową komórki *Saccharomyces cerevisiae*, zawierającej sztywną ścianę złożoną głównie z  $\beta$ -1,3- i  $\beta$ -1,6-glukanów oraz niewielkie ilości chityny [8]. W warunkach kwaśnych struktura ta ulega degradacji poprzez hydrolizę, wpływając na zwiększoną szybkość uwalniania witaminy. Podobną zależność zaobserwowano podczas oceny uwalniania kwasu chlorogenowego mikrokapsułkowanego w komórkach drożdży *Saccharomyces cerevisiae*, w których stwierdzono ubytek 95 % tego kwasu w ciągu 2 h inkubacji w SGF [21]. Obserwowane uwolnienie znaczących ilości witaminy E z mikrokapsułek w krótkim czasie sugeruje jej względnie nietrwałe związanie ze strukturami komórki, np. z  $\beta$ -glukanami lub mannoproteinami ściany komórkowej. Dodatkowo stwierdzone niepełne uwolnienie  $\alpha$ TP w trakcie doświadczenia wskazuje, że podczas mikrokapsułkowania część witaminy wiąże się z innymi strukturami komórki, takimi jak np. błony lipidowe [10], wykazując tym samym mniejszą podatność na testowane warunki. Jednym z dalszych etapów badań powinna być próba określenia miejsca wiązania się witaminy E z komórką drożdżową oraz poznania czynników mających wpływ na ten proces.



Rys. 3. Profile uwalniania witaminy E z mikrokapsułek ( $X_1 = 55$  °C,  $X_2 = 54,3$  %,  $X_3 = 1$ ) w symulowanych płynach trawiennych oraz w wodzie destylowanej (próba kontrolna).

Fig. 3. Release profiles of vitamin E from microcapsules ( $X_1 = 55$  °C,  $X_2 = 54,3$  %,  $X_3 = 1$ ) in simulated digestive fluids and in distilled water (control sample).

## Wnioski

1. Spośród badanych czynników największy wpływ na końcową zawartość witaminy E w komórkach (wydajność mikrokapsułkowania) ma stężenie etanolu w mieszaninie kapsułkującej.
2. Zwiększenie stosunku masowego drożdży do witaminy ma negatywny wpływ na wydajność mikrokapsułkowania.
3. W analizowanym zakresie temperatura inkubacji wywierała niewielki dodatni wpływ na proces mikrokapsułkowania.
4. Wyznaczone, optymalne wartości zmiennych wejściowych w przypadku maksymalnej wartości EY wynoszą: temperatura ( $X_1$ ) 25 - 55 °C, stężenie etanolu ( $X_2$ ) – 54,3 % (obj.) i stosunek masowy drożdży do witaminy ( $X_3$ ) równy 1.
5. Uwalnianie witaminy E z mikrokapsulek przebiega istotnie szybciej w warunkach kwaśnych niż w słabo zasadowym pH.

*Badania zrealizowano w ramach Projektu Badawczego nr N N312 213638 Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego.*

## Literatura

- [1] Bishop J., Nelson G., Lamb J.: Microencapsulation in yeast cells. *J. Microencaps.*, 1998, **15**, 791-773.
- [2] Box G.E.P., Cox D.R.: An analysis of transformations. *J. R. Stat. Soc. Ser. B.*, 1964, **26**, 211-246.
- [3] Bramley P., Elmadfa I., Kafatos A., Kelly F., Manios Y., Roxborough H., Schuch W., Sheehy P., Wagner K-H.: Vitamin E. *J. Sci. Food Agric.*, 2000, **7 (80)**, 913-938.
- [4] Byung Y., Hwang J., Bang S., Darby D., Cooksey K., Dawson P., Park H., Whiteside S.: Formulation and characterization of  $\alpha$ -tocopherol loaded poly  $\epsilon$ -caprolactone (PCL) nanoparticles. *Food Sci. Technol.*, 2011, **(44)**, 24-28.
- [5] Ciamponi F., Duckham C., Tirelli N.: Yeast cells as microcapsules. Analytical tools and process variables in the encapsulation of hydrophobes in *S. cerevisiae*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2012, **95**, 1445-1456.
- [6] Czerniak A., Dziadas M.: Zastosowanie LLE/HPLC do oceny on-line efektywności mikrokapsułkowania witaminy E w drożdżach piekarskich (*Saccharomyces cerevisiae*). *Mat. IX Konferencji Chromatograficznej, Uniwersytet im. A. Mickiewicza w Poznaniu, Poznań 2011*.
- [7] Czerniak A., Łakowiecki Ł., Jankowski T.: Encapsulation of lipid-soluble functional food ingredients in commercial yeast cells. *Proc. 2nd Int. ISEKI Food Conference, Milan 2011, 9 September*, p. 120.
- [8] De Nobel J.G., Klis F.M., Munnik T., Priem J., van den Ende H.: An assay of the relative cell wall porosity of *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluveromyces lactis* and *Schizasaccharomyces pombe*. *Yeast*, 1990, **6 (6)**, 483-490.
- [9] Dwiecki K., Górnaś P., Nogala-Kałużka M., Witkowski S., Polewski K.: Wpływ izomerów optycznych  $\alpha$ -tokoferolu na przepuszczalność membrany lipidowej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **2 (43)**, 30-40.

- [10] Dwiecki K., Sieger A., Górna P., Nogala-Kałucka M., Polewski K.: Oddziaływanie membrany lipidowej z D- $\alpha$ -tokoferolem w zależności od jego stężenia. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **3** (40) Supl., 3-11.
- [11] Dziezak J.: Microencapsulation and encapsulated ingredients. *Food Technol.*, 1988, **4** (42), 136-151.
- [12] Grajek W.: Rola przeciwutleniaczy w zmniejszaniu ryzyka wystąpienia nowotworów i chorób układu krążenia. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **3** (35), 3-11.
- [13] Jankowski T.: Mikrokapsułkowanie składników żywności. W: Food product development. Opracowywanie nowych produktów żywnościowych. Red. J. Czapski. Wyd. AR w Poznaniu., 1995, ss. 259-276.
- [14] Kilcher G., Delneri D., Duckham C., Tirelli N.: Probing (macro)molecular transport through cell walls. *Faraday Discuss.*, 2008, **139**, 199-212
- [15] Luo Y., Zhang B., Whent M., Yu L., Wang Q.: Preparation and characterization of zein/chitosan complex for encapsulation of  $\alpha$ -tocopherol, and its in vitro release study. *Colloids Surf. B.*, 2011, **2** (85), 145-152.
- [16] Normand V., Dardelle G., Bouquerand P-E., Nicolas L., Johnston D.: Flavor encapsulation in yeast: limonene used as a model system for characterization of release mechanism. *J. Agric. Food. Chem.*, 2005, **53**, 7532-7543.
- [17] Paramera E., Konteles S., Karathanos V.: Microencapsulation of curcumin in cells of *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Chem.*, 2011, **125**, 892-902.
- [18] Rutkowski A., Gwiazda S., Dąbrowski K.: Substancje dodatkowe i składniki funkcjonalne żywności. Wyd. Agro and Food Technology, Czeladź 1997.
- [19] Sangwai M., Vavia P.: Effect of decisive formulation variables on bioencapsulation efficiency and integrity of yeast biocapsules for oral itraconazole delivery. *J. Microencaps.*, 2011, **4** (28), 311-322.
- [20] Schrooyen P., van der Meer R., De Kruif C.: Microencapsulation: its application in nutrition. *P. Nutr. Soc.*, 2001, **60**, 475-479.
- [21] Shi G., Rao L., Yu R., Xiang H., Pen H., Long S., Yang C.: Yeast-cell-based microencapsulation of chlorogenic acid as a water-soluble antioxidant. *J. Food Eng.*, 2007, **80**, 1060-1067.
- [22] Shi G., Rao L., Yu R., Xiang H., Yang H., Ji R.: Stabilization and encapsulation of photosensitive resveratrol within yeast cell. *Int. J. Pharm.*, 2008, **349**, 83-93.
- [23] Somchue W., Sermsri W., Shiwatana J., Siripinyanond A.: Encapsulation of  $\alpha$ -tocopherol in protein-based delivery particles. *Food Res. Int.*, 2009, **8** (42), 909-914.
- [24] Song Y-B., Lee J-S., Lee H.:  $\alpha$ -Tocopherol-loaded Ca-pectinate microcapsules: Optimization, in vitro release, and bioavailability. *Colloids Surf. B.*, 2009, **73**, 394-398.
- [25] Surh J.: Influence of pH, emulsifier concentration, and homogenization condition on the production of stable oil-in-water emulsion droplets coated with fish gelatin. *Food Sci. Biotechnol.*, 2007, **6** (16), 999-1005.
- [26] Wojtyś A., Jankowski T.: Wpływ temperatury na szybkość przenikania wybranych olejków eterycznych do komórek drożdży piekarskich. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **3** (40), 77-86.
- [27] Yoo S-H., Song Y-B., Chang P-S., Lee H.: Microencapsulation of  $\alpha$ -tocopherol using sodium alginate and its controlled release properties. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2006, **38**, 25-30.
- [28] Zlotnik H., Fernandez M.P., Bowers B., Cabib E.: *Saccharomyces cerevisiae* mannoproteins from an external cell wall layer that determines wall porosity. *J. Bacteriol.*, 1984, **3** (159), 1018-1026.

---


**MICROENCAPSULATION OF  $\alpha$ -TOCOPHEROL INSIDE  
*SACCHAROMYCES CEREVISIAE* YEAST CELLS**

S u m m a r y

The objective of the paper was to assess the *Saccharomyces cerevisiae* cells as a natural carrier matrix for the vitamin E microencapsulation process and to set optimal parameters thereof.

Vitamin E, in the form of DL- $\alpha$ -tocopherol, was mixed with a suspension of yeast cells in the ethyl alcohol - water solution and incubated for 48 h at a temperature ranging from 25 to 55 °C. The effect was assessed of the temperature ( $X_1$ ), ethanol concentration ( $X_2$ ), and yeast to vitamin E ( $X_3$ ) mass ratio on the final amount of vitamin E in yeast cells (process yield).

It was found that, within the scope of the research study, the process yield was a non-linear function of ethanol concentration. As soon as the predetermined concentration value was exceeded, the yield decreased. Furthermore, a linear negative effect of yeast to vitamin E mass ratio on the process was observed. When the predetermined optimal conditions were applied to microencapsulate vitamin E in yeast cells (temperature: 25 - 55 °C; ethanol concentration: 54.3 %; yeast cells to vitamin E mass ratio: 1), the process yield obtained was at a level of 36.1 %.

**Key words:** antioxidants, vitamin E, *Saccharomyces cerevisiae*, vitamin microencapsulation, response surface methodology (RSM) 



KATARZYNA RYMUZA, ELŻBIETA RADZKA

## ZASTOSOWANIE ANALIZ WIELOWYMIAROWYCH DO OCENY JAKOŚCI WODY PITNEJ

### Streszczenie

W pracy przedstawiono możliwość zastosowania metod wielowymiarowych do analizy jakości wody pitnej. Na podstawie wyników trzyletnich badań (2009 - 2011) przeanalizowano parametry fizykochemiczne wody pitnej z 15 wodociągów powiatu łosickiego. Wszystkie wodociągi ujmowały wodę podziemną dobrej jakości, gdyż w badanym okresie zaobserwowano tylko 7 przekroczeń zawartości żelaza, 2 przekroczenia poziomu barwy i 1 przekroczenie utleniałości. Analiza PCA wykazała, że jakość wody najsilniej różnicowały wskaźniki związane z pierwszymi czterema składowymi. Analiza skupień pozwoliła zaś na wyodrębnienie 4 grup wodociągów różniących się jakością dostarczanej wody. Grupę I stanowiły wodociągi, w których woda była twarda, ale jednocześnie zawierała mało żelaza i manganu. Wodociągi z grupy II dostarczały wodę o małej zawartości związków azotowych. Woda z wodociągów grupy III zawierała relatywnie dużo żelaza i manganu, ale jednocześnie była najmniej twarda i charakteryzowała się najniższym wskaźnikiem przewodności elektrycznej. Grupę IV tworzyły wodociągi, które doprowadzały wodę o relatywnie dużej mętności i dużej zawartości żelaza, ale o bardzo niskim pH.

**Słowa kluczowe:** woda pitna, wskaźniki jakości wody, analiza składowych głównych, analiza skupień

### Wprowadzenie

Woda pitna jako środek spożywczy dostępna jest w formie butelkowanej, pobierana ze studni lub dostarczana siecią wodociągową. Woda wodociągowa ujmowana jest z wód powierzchniowych lub podziemnych, lecz bez względu na źródło ujęcia powinna odpowiadać standardom w zakresie czystości. Stosowane technologie uzdatniania wody niespełniającej norm powinny skutecznie poprawiać jej walory sensoryczne i zdrowotne [17]. Jakość wody pitnej jest normowana i kontrolowana, dlatego ocena jej przydatności do spożycia jest przedmiotem licznych badań [1, 10, 11, 13, 14, 21, 25]. Woda pitna w małych miejscowościach i wsiach najczęściej pobierana jest

---

*Dr inż. K. Rymuza, Katedra Metod Ilościowych i Gospodarki Przestrzennej, dr inż. E. Radzka, Pracownia Agrometeorologii i Podstaw Melioracji, Wydz. Przyrodniczy, Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach, ul. B. Prusa 14, 08-110 Siedlce*

z wód podziemnych, które bardzo często charakteryzują się podwyższonym stężeniem substancji mineralnych i organicznych [18].

W Polsce jakość wody do spożycia określają załączniki do rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 29 marca 2007 roku [20]. Uwzględniają one zalecenia Światowej Organizacji Zdrowia, ale przede wszystkim są zgodne z Dyrektywą Rady Unii Europejskiej 98/83/EC, która określa parametry dopuszczalnego stężenia substancji szkodliwych dla zdrowia, barwę, mętność, ogólną liczbę bakterii, zawartość ogólnego węgla organicznego, smak i zapach [6, 7].

Analiza jakości wody najczęściej dotyczy wielu wskaźników, które są opisywane i analizowane oddzielnie [4, 9]. Ocenę wody pod względem wszystkich parametrów jednocześnie stwarzają metody wielowymiarowe, dzięki którym możliwe jest zbadanie wielocechowych zależności pomiędzy parametrami lub pogrupowanie obiektów o cechach podobnych [2, 3, 12].

Celem pracy była ocena fizykochemicznych właściwości wody pitnej w powiecie łosickim z zastosowaniem analizy składowych głównych i analizy skupień.

### **Material i metody badań**

Wyniki badań dotyczące jakości wody wodociągowej w powiecie łosickim zostały pozyskane od Państwowego Powiatowego Inspektora Sanitarnego w Łosicach. Trzyletnimi badaniami (2009 - 2011) objęto 15 wodociągów w zakresie oceny jakości wody pod względem parametrów fizykochemicznych. Zgodnie z rozporządzeniem Ministra Zdrowia z dnia 29 marca 2007 r. w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi, próbki wody do badań były pobierane cztery razy w roku. Analizą objęto zawartość: azotanów(III), azotanów(V), żelaza, manganu oraz twardość wody i jej utlenialność. Twardość wody wynika z obecności w niej jonów wapnia i magnezu oraz innych jonów metali wielowartościowych. Wyraża się ją w  $\text{mg/dm}^3 \text{ CaCO}_3$ . Utlenialność wody jest umownym wskaźnikiem określający zdolność wody do pobierania tlenu z nadmanganianu potasowego ( $\text{KMnO}_4$ ) w roztworze kwaśnym lub alkalicznym w ściśle określonych warunkach. Wynik oznaczenia utlenialności podaje się w  $\text{mgO}_2/\text{dm}^3$ .

Analizę statystyczną wyników odnoszących się do jakości wody w poszczególnych wodociągach wykonano w trzech etapach. W pierwszym etapie określono średnie, minimalne i maksymalne wartości badanych wskaźników, obliczono ich zmienność oraz ustalono, ile razy w trzyletnim okresie badań dany parametr uległ przekroczeniu.

Z uwagi na to, że badane wskaźniki wyrażone były w różnych jednostkach, przed przeprowadzeniem analiz wielowymiarowych dokonano standaryzacji zmiennych. W drugim etapie zastosowano analizę składowych głównych, która charakteryzuje się tym, że obejmuje wariancję całkowitą zmiennych, wyjaśnia maksimum zmienności

w zbiorze danych. Ponadto główne składowe są funkcją zmiennej pierwotnej i są zawsze niezależne [5]. Liczbę składowych uwzględnianych w dalszej analizie wybrano na podstawie kryterium Kaisera, zgodnie z którym analizuje się składowe, których wartość własna jest większa od 1 [15, 22]. W trzecim etapie zastosowano analizę skupień, za pomocą której pogrupowano wodociągi pod względem jakości dostarczanej wody. Grupowania dokonano metodą Warda, stosując odległość euklidesową. Do oznaczenia miejsca odcięcia dendrogramu wykorzystano wskaźnik Calińskiego i Harabasa [24]. Celem sprawdzenia, czy dokonany na podstawie metody aglomeracyjnej podział jest słuszny, dokonano ponownego podziału obiektów (metodą k-średnich) na liczbę grup uzyskaną metodą aglomeracyjną. W obu przypadkach uzyskano takie same wyniki grupowania.

### Wyniki i dyskusja

Wszystkie analizowane sieci dostarczające wodę ujmowały ją z wód podziemnych, które stanowią prawie 70 % źródeł zaopatrzenia ludności w wodę [8].

Tabela 1

Średnie, minimalne, maksymalne oraz dopuszczalne wartości parametrów jakości wody.  
Mean, minimum, maximum and permissible values of water quality parameters.

Cecha Parameter	$\bar{x}$	Współczynnik zmienności (V) [%] Coefficient of variation [%]	Min. Min.	Maks. Max.	Wartość normatywna Permissible standard	Liczba przekroczeń Number of Failures to meet standards
Mętność / Turbidity	0,85	0,52	0,17	4,86	1	-
Barwa / Colour	8,25	6,67	5,00	21,00	15	2
Przewodność el- ektrolityczna Conductivity	455,50	429,13	291,00	628,00	2500	-
pH /pH	7,41	7,40	7,03	7,70	6,5-9,5	-
Azotany(III) / Nitrates (III)	0,04	0,04	0,03	0,04	0,50	-
Azotany(V) / Nitrates(V)	6,38	3,08	1,80	38,0	50	-
Żelazo / Iron	0,16	0,08	0,05	0,70	0,200	7
Mangan / Manganese	0,05	0,03	0,02	0,15	0,05	-
Twardość / Hardness	237,00	227,50	151,00	311,00	60-500	-
Utlenialność / COD	2,15	1,14	0,500	17,30	5	1

$\bar{x}$  - wartość średnia / mean value n = 180.

Średnie, minimalne oraz maksymalne wartości parametrów jakości wody dostarczanej przez wodociągi powiatu łosickiego przedstawiono w tab. 1. Najmniejszym zróżnicowaniem charakteryzował się odczyn wody ( $V = 2,57\%$ ) oraz zawartość azotanów(III) ( $V = 4,98\%$ ). Największą zmienność wykazały natomiast parametry: utlenialności ( $196,792\%$ ) i zawartości azotanów(V) ( $144,19\%$ ). Maksymalne wartości oznaczanych parametrów wskazują na to, że zawartość żelaza oraz utlenialność wody przekroczyły w niektórych wodociągach dopuszczalną normę. Ponadnormatywną zawartość żelaza stwierdzono w wodzie z 7 wodociągów, barwy – w 2, natomiast utlenialność przekroczona była w jednym (tab. 1). Przekroczenia te są jednak nieznaczne w stosunku do danych ogólnopolskich, z których wynika, że odsetek ludności zaopatrywanej w wodę wodociągową nieodpowiadającą wymaganiom sanitarnym w 2005 roku wynosił  $14,3\%$  [16].

Analiza składowych głównych wykazała, że jakość wody w powiecie łosickim różnicowały cechy związane z pierwszymi czterema składowymi PC1, PC2, PC3, PC4 (na co wskazują ich wartości własne większe od 1). Składowe te wyjaśniały  $75,37\%$  wariancji całkowitej, czyli łącznej, wielowymiarowej zmienności parametrów jakości wody (tab. 2).

Pierwsza składowa główna była silnie ujemnie skorelowana z przewodnością elektrolityczną ( $r = -0,84$ ), zawartością azotanów ( $r = -0,70$ ) oraz twardością wody ( $r = -0,76$ ). Parametry te mają największy udział w wielocechowym zróżnicowaniu jakości wody. Wartości współczynników korelacji świadczą o tym, że woda, która zawierała relatywnie dużo azotanów(V) charakteryzowała się większą przewodnością elektrolityczną i większą twardością. Barwa wody i zawartość manganu, cechy najsilniej związane z drugą składową ( $r = 0,68$  i  $r = 0,68$ ), w mniejszym stopniu różnicowały jej jakość (PC2 wyjaśniała  $20\%$  zmienności). Wraz ze wzrostem zawartości manganu zwiększała się liczba jednostek barwy (tab. 3, rys. 1). Mangan, podobnie jak żelazo, barwi wodę na żółto, a ponadto stymuluje rozwój bakterii, które nadają wodzie nieprzyjemny, stęchły smak i zapach. [19]. Trzecia składowa związana przede wszystkim z mętnością wody ( $r = -0,81$ ) oraz z zawartością żelaza ( $r = -0,80$ ) w  $19,17\%$  różnicowała wielocechową jakość wody.

Wartości współczynników korelacji potwierdzają wyniki dotychczasowych badań, że wraz ze wzrostem zawartości żelaza wzrasta jej mętność, gdyż wytrącają się osady związków żelaza [17, 23]. Utlenialność oraz zawartość azotanów(III) w najmniejszym stopniu różnicowały jakość dostarczanej wody, gdyż cechy te najsilniej związane były z PC 4, która w  $10\%$  wyjaśniała zmienność jej jakości. Obliczone współczynniki korelacji PC4 z badanymi parametrami wskazują na to, że woda, która zawierała relatywnie dużo azotanów charakteryzowała się również większą utlenialnością (tab. 3, rys. 2). Zależność ta świadczy o tym, że woda zanieczyszczona została związkami organicznymi pochodzenia zwierzęcego, gdyż utlenialność wywołana

związkami antropogenicznymi wskazuje na obecność w wodzie związków azotowych i chlorków [23].

Tabela 2

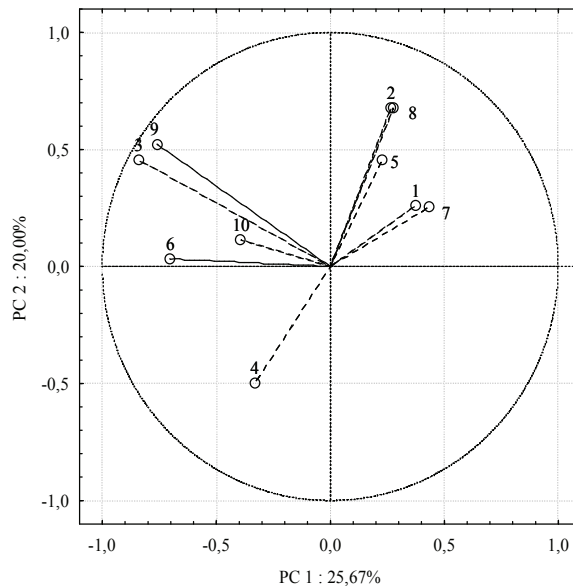
Wartości własne, procent wariancji i skumulowany procent wariancji otrzymanych składowych.  
Eigenvalues, variance percentage, and cumulated variance percentage of components obtained.

Składowe główne Principal components	Wartości własne Eigenvalues	Wyjaśniana część zmienności wieloczechowej [%] Explained part of multivariate variability of accessions [%]	Skumulowana część zmienności wieloczechowej [%] Cumulative part of multivariate variability [%]
PC 1	2,56	25,67	25,67
PC 2	2,00	20,00	45,67
PC 3	1,91	19,17	64,85
PC 4	1,05	10,52	75,37
PC 5	0,86	8,63	84,00
PC 6	0,67	6,71	90,71
PC 7	0,59	5,91	96,62
PC 8	0,28	2,82	99,43
PC 9	0,05	0,53	99,96
PC 10	0,00	0,03	100,0

Tabela 3

Ładunki czynnikowe obrazujące wpływ parametrów jakości wody na cztery składowe główne.  
Factor loads depicting impact of water quality parameters on four main components.

Cecha / Parameter	PC 1	PC 2	PC 3	PC 4
Mętność / Turbidity	0,375	0,261	-0,810	-0,278
Barwa / Colour	0,266	0,678	0,083	0,288
Przewodność elektrolityczna / Conductivity	-0,840	0,454	-0,249	0,095
pH / pH	-0,332	-0,498	-0,261	0,169
Azotany(III) / Nitrates (III)	0,228	0,455	0,554	-0,501
Azotany(V) / Nitrates(V)	-0,703	0,031	-0,100	-0,331
Żelazo / Iron	0,432	0,257	-0,796	-0,229
Mangan / Manganese	0,275	0,677	0,260	0,259
Twardość / Hardness	-0,761	0,523	-0,210	0,202
Utlenialność / COD	-0,393	0,113	0,249	-0,578

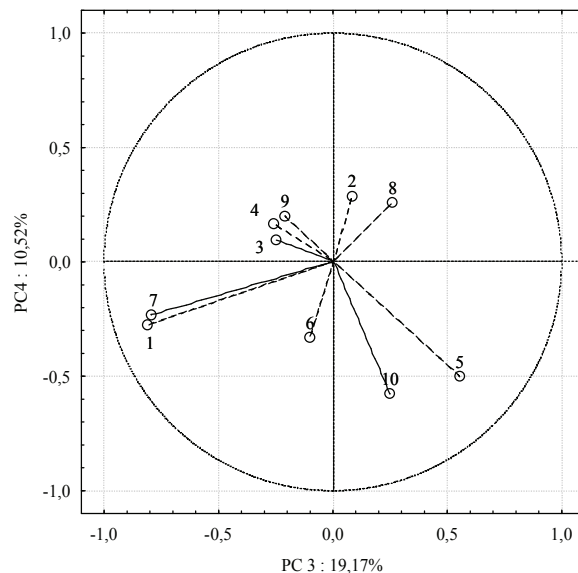


1 – mętność / turbidity; 2 – barwa / colour ; 3 – przewodność elektrolityczna / conductivity; 4 – pH; 5 – azotany(III) / nitrates(III); 6 – azotany(V) / nitrates(V); 7 – żelazo / iron; 8 – mangan / manganese; 9 – twardość / hardness; 10 – utlenialność / COD.

Rys. 1. Rozmieszczenie parametrów jakości wody w przestrzeni: pierwszej i drugiej składowej głównej.  
Fig. 1. Distribution of water quality parameters in the first and second principal component space.

Za pomocą analizy skupień wyodrębniono 4 grupy wodociągów, które różniły się jakością dostarczonej wody (rys. 3). Wykresy średnich dla każdego skupienia (grupy) obrazujące poziom wartości każdej cechy (wskaźnika jakości wody) przedstawiono na rys. 4.

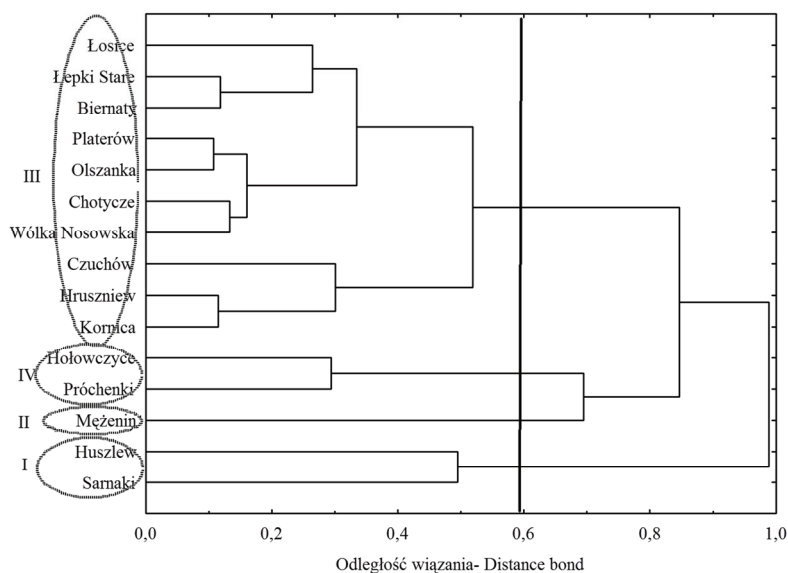
Grupę 1. utworzyły sieci wodociągowe w Huszlewie i Sarnakach, które dostarczały wodę o barwie, mętności, zawartości żelaza i zawartości manganu mniejszej niż średnia dla całego powiatu. Woda dostarczana przez te wodociągi charakteryzowała się natomiast wysoką przewodnością elektrolityczną, zawartością związków azotowych, twardością i utlenialnością. Woda dostarczana przez sieci wodociągowe z grupy drugiej reprezentowanej przez wodociąg w Mężeninie charakteryzowała się najmniejszą zawartością azotanów(III), żelaza i manganu. Trzecia grupa, którą tworzyło 10 wodociągów dostarczała wodę o dużej mętności oraz dużej zawartości żelaza i manganu. Wartości tych parametrów były znacznie wyższe niż uzyskane wartości średnie ze wszystkich sieci dostarczających wodę w powiecie. Woda ta ponadto charakteryzowała



1 – mętność / turbidity; 2 – barwa / colour; 3 – przewodność elektrolityczna / conductivity; 4 – pH; 5 – azotany(III) / nitrates(III); 6 – azotany(V) / nitrates(V); 7 – żelazo / iron; 8 – mangan / manganese; 9 – twardość / hardness; 10 – utlenialność / COD.

Rys. 2. Rozmieszczenie parametrów jakości wody w przestrzeni: trzeciej i czwartej składowej głównej.

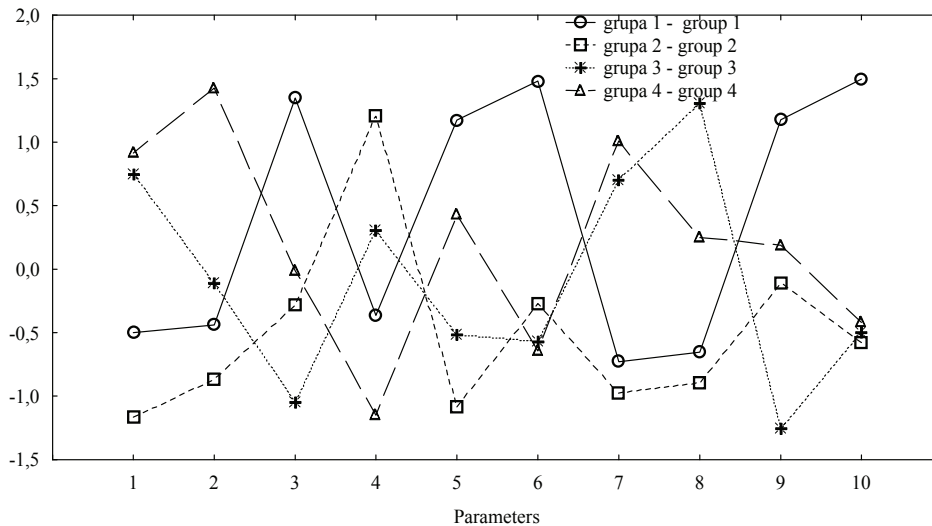
Fig. 2. Distribution of water quality parameters in the third and fourth principal component space.



Rys. 3. Dendrogram przedstawiający grupy wodociągów wyłonionych na podstawie analizy skupień.

Fig. 3. Dendrogram to represent groups of water supply systems identified using cluster analysis.





Parametry / Parameters

1 – mętność / turbidity; 2 – barwa / colour; 3 – przewodność elektrolityczna / conductivity; 4. – pH; 5 – azotany(III) / nitrates(III); 6 – azotany(V) / nitrates(V); 7 – żelazo / iron; 8 – mangan / manganese; 9 – twardość / hardness; 10 – utlenialność / COD.

Rys. 4. Wykresy średnich znormalizowanych wartości parametrów każdego skupienia (grupy).

Fig. 4. Graphs of means of normalized parameter values for each cluster (group).

się bardzo niską przewodnością elektrolityczną, twardością, niską zawartością azotanów(III) i azotanów(V) oraz średnią wartością pH. Ostatnią grupę utworzyły wodociągi z Hołowczyc i Próchenek, dostarczające wodę najbardziej mętną, o największym wskaźniku barwy i dużej zawartości żelaza (rys. 3 i 4).

## Wnioski

1. Woda pitna z wodociągów w powiecie łosickim charakteryzowała się dobrą jakością, na co wskazuje niewielka liczba przekroczeń norm (żelazo – 7 razy, barwa – 2 razy i utlenialność – 1 raz).
2. Jakość wody dostarczanej przez poszczególne wodociągi w największym stopniu była zróżnicowana pod względem barwy, mętności, zawartości żelaza i manganu.
3. Pod względem jakości dostarczanej wody wodociągi można sklasyfikować w 4 grupach. Wodociągi z grupy pierwszej dostarczały wodę o największej przewodności elektrolitycznej, twardości i utlenialności, zawartości azotanów(III) i azotanów(V). Niewielką mętnością, małą zawartością żelaza i manganu oraz relatywnie najwyższą wartością pH charakteryzowała się woda dostarczana przez wodociągi grupy 2. Najmniejszą twardością i przewodnością elektrolityczną odznaczała się

- woda w wodociągach grupy 3. Wodociągi grupy 4. dostarczały wodę o największej mętności, największej liczbie jednostek barwy przy jednocześnie niskim pH.
4. Dowiedziono, że analiza składowych głównych oraz analiza skupień są technikami przydatnymi do oceny jakości wody pitnej. Metody te pozwalają na zbadanie wielowymiarowych zależności zachodzących pomiędzy cechami (wskaźnikami jakości wody) oraz umożliwiają pogrupowanie obiektów (wodociągów) o podobnej jakości wody pitnej.

### Literatura


- [1] Blicharska E., Komsta Ł., Kocjan R., Gumieniczek A., Wiśniewska A.: Chemometric processing of ion chromatograms application to comparative analysis of Polish bottled mineral and spring waters. *Pol. J. Environ. Stud.*, 2010, **19** (5) 1071-1075.
- [2] Boyacioglu H., Boyacioglu H.: Water pollution sources assessment by multivariate statistical methods in the Tahtali Basin. Turkey, *Environmental Geology*, 2008, **54** (2), 275-282.
- [3] Boyacioglu H.: Surface water quality assessment using factor analysis. *Water SA*, 2006, **32** (3), 389-393.
- [4] Czaplicka-Kotas A., Ślusarczyk M., Pięta M., Szostak A.: Analiza zależności pomiędzy wskaźnikami jakości wody w Jeziorze Goczałkowickim w aspekcie fitoplanktonu. *Ochrona Środowiska*, 2012, **34** (1), 21-27.
- [5] Czernyszewicz E.: Zastosowanie analizy składowych głównych do opisu konsumenckiej struktury jakości jabłek. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **2** (57), 119-127.
- [6] Granops M., Kaleta J.: Woda – uzdatnianie i odnowa. Wyd. SGGW, Warszawa 2002.
- [7] Gromiec M.: Postanowienia traktatu akcesyjnego i zobowiązania wynikające z przystąpienia Polski do UE w zakresie jakości zasobów. *Gospodarka Wodna*, 2004, **4**, 129-132.
- [8] Jakość wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi w 2010 roku. [online]. [dostęp: 15. 10. 2012]. Dostępny na stronie: <http://www.gis.gov.pl/dep/?lang=pl&dep=4&id=9>
- [9] Kłos M., Zimoch I.: Wykorzystanie analizy jakości wody do oceny pracy sieci wodociągowej. *Ochrona Środowiska*, 2005, **27** (4), 27-31.
- [10] Kot A.: Determination of content of zinc and cooper in table and therapeutic mineral water. *Przegl. Lek.*, 2001, **58** (7), 14-17.
- [11] Kot B., Baranowski R., Rybak A.: Analysis of mine waters using X-ray fluorescence spectrometry. *Pol. J. Environ. Stud.*, 2000, **9** (5), 429-431.
- [12] Kotowski T., Kachnic M.: Formowanie składu chemicznego wód podziemnych w warstwach mioceenu i plejstocenu w rejonie występowania głębokiej doliny kopalnej w pobliżu Wysokiej (pojezierze krajeńskie). *Biul Państ. Inst. Geol.*, 2007, **427**, 47-60.
- [13] Kregiel D., Rygała A., Libudzisz Z.: Bakterie z rodzaju *Asaia* – nowe zanieczyszczenie smakowych wód mineralnych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, **2** (75), 5-16.
- [14] Michalik A.: The use of chemical and cluster analysis for studying spring water quality in Świętokrzyski National Park. *Pol. J. Environ. Stud.*, 2008, **17** (3), 357-362.
- [15] Morrison D.: Wielowymiarowa analiza statystyczna. PWN, Warszawa 1990.
- [16] Odsetki ludności zaopatrywanej w wodę wodociągową nie odpowiadającą wymaganiom sanitarnym według ostatnich danych udostępnionych opinii publicznej przez Głównego Inspektora Sanitarnego dane za rok 2005 [online]. Instytut Wody [dostęp: 20.10.2012]. Dostępna w Internecie: <http://halat.pl/instytut.html>
- [17] Pekutin J.: Ocena jakości wody do spożycia dostarczanej przez wodociągi wiejskie. *Gaz, Woda i Technika Sanitarna*, 2012, **6**, 266-269.

- [18] Pepliński M., Malecki A.: Usuwanie żelaza, manganu i azotu amonowego z wody podziemnej (część I). *Ochrona Środowiska i Gospodarka Komunalna*, 2008, **6**, 33-35.
- [19] Podstawy hydrogeologii stosowanej. Red. A. Macioszczyk. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2011.
- [20] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 29 marca 2007 roku w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi. *Dz. U.* 2007 r. Nr. 61, poz. 417.
- [21] Soylak M., Armagan Aydin F., Saracoglu S., Elci L., Dogan M.: Chemical analysis of drinking water samples from Yozgat, Turkey. *Pol. J. Environ. Stud.*, 2002, **11 (2)**, 151-156.
- [22] Stanisław A.: Przystępny kurs statystyki z zastosowaniem STATISTICA PL na przykładach z medycyny. T. 3. Analizy wielowymiarowe. StatSoft, Kraków 2007.
- [23] Świdarska-Bróż M., Wolska M.: Główne przyczyny wtórnego zanieczyszczenia wody w systemie dystrybucji. *Ochrona Środowiska*, 2006, **28 (4)**, 29-34.
- [24] Walesiak M., Dudek A.: Symulacyjna optymalizacja wyboru procedury klasyfikacyjnej dla danego typu danych – charakterystyka problemu. *Zesz. Nauk. Uniwersytetu Szczecińskiego*, 2006, **450**, 634-646.
- [25] Wichrowska B., Kozłowski J., Jankowska D.: Ocena ryzyka zdrowotnego w świetle przepisów Unii Europejskiej dotyczącej jakości wody do picia. *Ochrona Środowiska*, 2001, **83 (4)**, 19-22.

## APPLYING MULTIDIMENSIONAL ANALYSES TO ASSESS DRINKING WATER QUALITY

### S u m m a r y

In the paper, there were presented the possibilities of applying multidimensional methods to analyse the quality of drinking water. Based on the three year research results (2009 - 2011), analyzed were the physical and chemical parameters of drinking water from 15 water supply systems in the district (in Polish: powiat) of Łosice. Groundwater supplied by all the systems was of good quality as, during the period studied, only 7 cases were reported where the content of iron was exceeded, 2 cases where the colour level was exceeded, and 1 case with the exceeded level of  $\text{KMnO}_4$  oxidation. The principal component analysis (PCA) showed that the parameters associated with the first four components impacted the quality of water analyzed most of all. The cluster analysis made it possible to distinguish 4 groups of water supply systems, which differed as regards the quality of water supplied. Group I comprised the systems with hard water and, at the same time, with low contents of iron and manganese. The water systems in group II supplied water with a low content of nitrates. The water in the systems of group III contained relatively high amounts of iron and manganese, but, at the same time, its hardness was the lowest and it was characterized by the lowest value of the electrical conductivity index. Group IV comprised the water supply systems that provided water with a relatively high turbidity level and a high content of iron; however, its pH value was very low.

**Key words:** drinking water, water quality indicators, principal component analysis, cluster analysis 

WACŁAW ADAMCZYK, ARTUR JACHIMOWSKI

## WPLYW SKŁADNIKÓW BIOGENNYCH NA JAKOŚĆ I EUTROFIZACJĘ POWIERZCHNIOWYCH WÓD PŁYNĄCYCH, STANOWIĄCYCH ŹRÓDŁO WODY PITNEJ KRAKOWA

### Streszczenie

W pracy określono wpływ składników biogenych, będących efektem działalności rolniczej, na jakość wód surowych pobieranych przez Zakłady Uzdatniania Wody Miejskiego Przedsiębiorstwa Wodociągów i Kanalizacji w Krakowie, w latach 2007 - 2011. W wodach z Rudawy, Zbiornika Dobczyckiego, Dłubni i Sanki oznaczono mętność oraz zawartość: azotu amonowego, azotanów(III), azotanów(V), azotu Kjeldahla, azotu ogólnego, fosforanów(V), fosforu ogólnego i chlorofilu a.

Na podstawie wyników pięcioletnich badań stwierdzono występowanie statystycznie istotnych różnic ( $p < 0,05$ ) pomiędzy wartościami średnimi wszystkich analizowanych wskaźników jakości wód surowych. Zawartości azotanów(V) i fosforanów(V), analizowane w odstępach miesięcznych w ciągu 60 miesięcy, umożliwiły wykreślenie trendów. Trend nieznacznie malejący i o niskich wartościach wystąpił w przypadku azotanów(V) zawartych w wodzie ze Zbiornika Dobczyckiego, a trend o stałych, lecz wyższych wartościach charakteryzował wody z Rudawy i z Dłubni. Największe wahania zawartości azotanów(V) stwierdzono w wodzie z Sanki, przy czym maksimum tego wskaźnika ( $34,91 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ ) wystąpiło w 28. tygodniu badań. Z kolei średniomiesięczny poziom fosforanów(V) w wodach z analizowanych źródeł przez 26 tygodni badań sporadycznie przekraczał  $0,29 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Zakłócenie tego trendu od 27. tygodnia badań skutkowało wysokimi współczynnikami zmienności, niezależnie od miejsca pobrania wody. Największa zmienność dotyczyła zawartości fosforanów(V) w Zbiorniku Dobczyckim –  $C_v = 532 \%$ , chociaż w wartościach bezwzględnych maksymalna ich ilość w wodzie z tego źródła była i tak 2- lub 3-krotnie mniejsza od maksymalnych zawartości fosforanów w pozostałych wodach. Oceny stopnia eutrofizacji dokonano zgodnie z normami prawnymi na podstawie rocznych wskaźników biogenych. Największa średnioroczna zawartość azotu ogólnego ( $1,72 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ ) wystąpiła w wodzie z Rudawy w 2009 r. Także w wodzie z Rudawy (w 2007 r.) stwierdzono największą średnioroczną zawartość fosforu ogólnego ( $0,19 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ ). Najwięcej chlorofilu a ( $3,26 \mu\text{m}\cdot\text{dm}^{-3}$ ) było w wodzie z Sanki w 2010 r. Żaden z powyższych wskaźników nie przekroczył poziomu normatywnego, powyżej którego występuje eutrofizacja. Eutrofizację stwierdzono natomiast w wodach z rzek: Rudawy, Dłubni i Sanki, w których średnioroczne zawartości azotanów(V) były większe od wartości granicznej, czyli  $10 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Pomimo wystąpienia eutrofizacji w trzech rzekach, wody surowe nie kwalifikowały się do zagrożonych zanieczyszczeniem związkami azotu ze źródeł rolniczych, gdyż w żadnej z próbek zawartość azotanów(V) nie przekroczyła limitu  $40 - 50 \text{ mg NO}_3\cdot\text{dm}^{-3}$ , określonego w rozporządzeniu Ministra Środowiska.

**Słowa kluczowe:** wody powierzchniowe, jakość wód surowych, składniki biogenne, wskaźniki eutrofizacji

---

*Prof. dr hab. W. Adamczyk, mgr inż. A. Jachimowski, Katedra Technologii i Ekologii Wyrobów, Wydz. Towaroznawstwa, Uniwersytet Ekonomiczny w Krakowie, ul. Rakowicka 27, 31-510 Kraków*

## Wprowadzenie

Rozwój rolnictwa, a zwłaszcza jego chemizacja w znacznym stopniu przyczyniają się do wzrostu zawartości składników mineralnych w wodach odpływowych z terenów rolniczych. Skutkuje to nadmiernym użyżnieniem powierzchniowych wód płynących, co prowadzi do zjawiska eutrofizacji.

W ustawie Prawo wodne z dnia 18 lipca 2001 [22] eutrofizację definiuje się jako: „wzbogacanie wody biogenami, w szczególności związkami azotu lub fosforu, powodującymi przyspieszony wzrost glonów oraz wyższych form życia roślinnego, w wyniku którego następują niepożądane zakłócenia biologicznych stosunków w środowisku wodnym oraz pogorszenie jakości tych wód”.

Do głównych źródeł zanieczyszczenia związkami biogennymi i nasilającego się procesu eutrofizacji wód należą: intensyfikacja produkcji rolniczej (m.in. nadmierne nawożenie upraw składnikami mineralnymi i organicznymi zawierającymi związki biogenne) na obszarach drenażu wód oraz wzrastająca ilość ścieków bytowo-gospodarczych i przemysłowych. Efektem procesu eutrofizacji jest m.in. ograniczenie możliwości wykorzystania wód do zaopatrzenia ludności w wodę przeznaczoną do spożycia [12, 20].

Najbardziej widocznym skutkiem procesu eutrofizacji jest podwyższona mętność. Zależy ona głównie od obecności w wodzie różnych nierozpuszczalnych nieorganicznych i organicznych związków pochodzenia naturalnego lub antropogennego, takich jak: cząsteczki skał i gleb, związki żelaza, manganu, wapnia i fosforu, substancje humusowe, plankton, wyższe mikroorganizmy [1, 7, 8].

Związki azotu występujące w wodach powierzchniowych mogą być pochodzenia organicznego i nieorganicznego. Istnieje ścisła zależność pomiędzy obecnymi w wodach związkami azotu. Najczęściej pojawiają się nieorganiczne formy azotu, takie jak: azot amonowy, azot azotanowy(III) oraz azot azotanowy(V). Organizmy planktonowe (fitoplankton, bakterie) mogą asymilować azot z różnych jego związków chemicznych (nieorganicznych i organicznych), a niektóre (np. cyjanobakterie) wiążą także azot atmosferyczny. Prawie każda forma chemiczna azotu stymuluje więc proces eutrofizacji i doprowadza do podwyższenia produktywności biologicznej wód [7].

Występujący w wodach powierzchniowych azot amonowy (amoniak) pochodzi z biochemicznego rozkładu organicznych związków azotowych pochodzenia roślinnego i zwierzęcego oraz ze ścieków przemysłowych lub bytowych. Ta forma azotu jest łatwo przyswajalna przez autotrofy, stąd stanowi podstawowe źródło pokarmowe fitoplanktonu. Duża zawartość jonów amonowych w wodach przeznaczonych do spożycia jest niepożądana i utrudnia proces uzdatniania wody zwłaszcza przy chlorowaniu. Oprócz stężenia amoniaku istotne znaczenie ma również jego pochodzenie [17].

Azotany(III) stanowią produkt przejściowy cyklu azotowego zachodzącego w wodach naturalnych. Wskutek biochemicznego rozkładu związków azotowych po-

wstaje amoniak, występujący w wodzie w formie jonów amonowych. W środowisku tlenowym jony te przekształcają się w azotany(III), które w obecności bakterii *Nitrobacter* łatwo ulegają utlenieniu do azotanów(V). Natomiast w warunkach beztlenowych powstanie azotanów(III) łączy się z redukcją azotanów(V). Obecność azotanów(III) w wodzie jest wyznacznikiem zachodzących procesów utleniania i redukcji, dlatego też są związkami nietrwałymi [3].

Azotany(V) występują zwykle w niewielkich stężeniach i świadczą o najwyższym stopniu utlenienia organicznych i nieorganicznych związków azotowych. Przyczyniają się one do przyspieszenia procesu eutrofizacji, przez co wody stają się mało przydatne do celów spożywczych. Do wód powierzchniowych przedostają się najczęściej ze ściekami bytowymi lub przemysłowymi, z odwodnień kopalń oraz wskutek spływu wody z pól zasobnych w azot z nawozów mineralnych i stymulatorów wzrostu roślin. Stężenie azotanów(V) jako substancji pożywkowych organizmów wodnych maleje wraz ze wzrostem biomasy roślin w zbiorniku wodnym [3, 8, 17].

Azot ogólny stanowi sumę azotu organicznego oraz azotu amonowego, azotanowego(III) i azotanowego(V), tworzących sumę zawartości form nieorganicznych azotu.

Na eutrofizację wód powierzchniowych bardzo silny wpływ wywierają związki fosforu, zarówno organiczne, jak i nieorganiczne, w tym rozpuszczalne i nierozpuszczalne w wodzie. Pochodzą one w głównej mierze ze ścieków komunalnych (detergenty), z wymywania pól (nawozy, środki ochrony roślin), erozji gleby oraz z wietrzenia i rozpuszczania minerałów. W środowisku wodnym fosfor występuje w postaci fosforanów(V) i jest wykorzystywany w formie rozpuszczonej przez organizmy wodne do budowy własnych komórek. Fosforany nierozpuszczalne tworzą zawiesiny unoszące się w wodzie lub występujące w osadach dennych. Przeważa opinia, że to fosfor jest głównym czynnikiem limitującym produkcję pierwotną [3, 10, 13, 14].

Chlorofil a stanowi ważny wskaźnik jakości wód powierzchniowych, gdyż jego zawartość jest wyznacznikiem rozwoju biomasy fitoplanktonu. Wraz ze wzrostem użyźniania wód powierzchniowych zanieczyszczającymi je związkami azotu i fosforu zwiększa się produktywność biologiczna ekosystemów wodnych. Stąd też stężenie chlorofilu a jest użytecznym parametrem do oceny stopnia eutrofizacji tych wód [7, 16].

Przekroczenie dopuszczalnych zawartości związków biogenych, a przede wszystkim azotanów(V) może spowodować nieprzydatność wody do celów spożywczych [20]. W krajach Unii Europejskiej problem ochrony wód przed zanieczyszczeniami spowodowanymi azotanami(V) pochodzącymi z rolnictwa został uregulowany dyrektywą 91/676/EWG z 12 grudnia 1991 [9]. Jej postanowienia zostały wprowadzone do prawa polskiego w rozporządzeniu Ministra Środowiska z dnia 23 grudnia 2002 r. w sprawie kryteriów wyznaczania wód wrażliwych na zanieczyszczenia związkami azotu ze źródeł rolniczych [19], a także w ustawie Prawo wodne [22]. W rozporządze-

niu określone zostały wartości graniczne podstawowych składników biogenych wód, których przekroczenie wskazuje na wystąpienie eutrofizacji. Zgodnie z podanymi wielkościami, w płynących wodach powierzchniowych występuje eutrofizacja, gdy zawierają: azot ogólny powyżej  $5 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ , azotany – powyżej  $10 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ , fosfor ogólny – powyżej  $0,25 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  i chlorofil a – powyżej  $25 \mu\text{m} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Określone zostały także dwa kolejne poziomy odnoszące się tylko do azotanów(V). Za zagrożone zanieczyszczeniem azotanami(V) i zanieczyszczone azotanami(V) pochodzącymi ze źródeł rolniczych uznawane są wody powierzchniowe pobierane na potrzeby zaopatrzenia ludności w wodę przeznaczoną do spożycia, w których zawartość azotanów wynosi odpowiednio:  $40 - 50 \text{ mg NO}_3 \cdot \text{dm}^{-3}$  i powyżej  $50 \text{ mg NO}_3 \cdot \text{dm}^{-3}$  [19].

Celem pracy było określenie jakości powierzchniowych wód płynących oraz stopnia ich eutrofizacji, determinowanych zawartością składników biogenych, na przykładzie czterech rzek małopolskich, stanowiących źródło wody pitnej dla mieszkańców Krakowa.

### **Material i metody badań**

Materiałem doświadczalnym były próbki powierzchniowych wód płynących z: Rudawy, Dłubni, Zbiornika Dobczyckiego i Sanki, doprowadzanych w postaci wody surowej do czterech krakowskich Zakładów Uzdatniania Wody Miejskiego Przedsiębiorstwa Wodociągów i Kanalizacji w latach 2007 - 2011. Wyniki badań zostały udostępnione przez centralne laboratorium MPWiK S.A. w Krakowie [6]. Próbki wód pobierano z częstotliwością tygodniową w ciągu każdego miesiąca, a z uzyskanych wyników obliczano wartości średnie roczne i z pięciu lat. W ustawie Prawo wodne [22] ustawodawca podkreślił szczególnie niekorzystną rolę azotanów(V) i fosforanów(V) w eutrofizacji wód powierzchniowych, dlatego też zawartość tych związków przeanalizowano także w okresach miesięcznych.

Badania jakości wody obejmowały te składniki biogenne, na które największy wpływ w regionie ma oddziaływanie rolnictwa. W wodach z czterech źródeł oznaczano mętność oraz zawartość: azotu amonowego, azotanów(III), azotanów(V), azotu ogólnego (Kjeldahla), fosforu ogólnego, fosforanów(V) i chlorofilu a (w wodach Dłubni i Sanki).

Mętność, rozumianą jako optyczne właściwości drobnych zawiesin powodujące rozproszenie wiązki światła, oznaczano przez porównanie ze wzorcami zawierającymi zawiesiny krzemionki ( $\text{SiO}_2$ ). Za jednostkę przyjmuje się mętność powstałą po dodaniu do  $1 \text{ dm}^3$  wody destylowanej  $1 \text{ mg}$  zawiesiny krzemionki. Jednostka  $1 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  równoważna jest  $1 \text{ NTU}$  (Nephelometric Turbidity Unit) [11]. Próbki wody analizowano w dniu pobrania.

Pozostałe oznaczenia wykonywane były zgodnie z Rejestrem metod badawczych MPWiK S.A. w Krakowie [5].



Analizę statystyczną wykonywano przy użyciu arkusza kalkulacyjnego Excel w programie SPSS Statistics. Wyniki przedstawiono w postaci: wartości średnich, wartości minimalnych i maksymalnych, odchyłeń standardowych oraz współczynników zmienności. W celu oszacowania różnic pomiędzy średnimi wartościami parametrów fizykochemicznych wód surowych zastosowano test Kruskala-Walisa. Testowanie prowadzono na poziomie istotności  $p = 0,05$ .

### Wyniki i dyskusja

Gospodarka komunalna województwa małopolskiego, w tym pobór wody pitnej, w ok. 67 % bazuje na wodzie powierzchniowej (tzw. wodzie surowej), zatem bardzo ważna jest jej jakość i ochrona zlewni powyżej ujęć [4]. Głównymi źródłami wody dla Krakowa są rzeki: Rudawa, Dłubnia, Raba (Zbiornik Dobczycki) i Sanka. Jakość wody surowej wyznaczają przede wszystkim składniki biogenne, które decydują o wielkości wskaźników eutrofizacji.

W badanym okresie największą średnią mętność stwierdzono w wodzie z Sanki (15,72 NTU), a najmniejszą – ze Zbiornika Dobczyckiego (5,94 NTU). Woda z pierwszej rzeki charakteryzowała się także największym rozrzutem wyników (4,28 - 102,50 NTU.) w odróżnieniu od wody ze Zbiornika Dobczyckiego, ale największa względna zmienność wyników była cechą dominującą w przypadku wody z Rudawy –  $C_v = 106\%$  (tab. 1). Pawełek i Grenda [18] podają mętność wody w Rudawie z lat 2006-2010 na średnim poziomie 15,82 NTU. Niska mętność wody w Zbiorniku Dobczyckim wynika z sedimentacji cięższych cząstek przed miejscem ujęcia, co wpływa na samooczyszczanie wody.

Azot amonowy, będący wskaźnikiem biochemicznego rozkładu organicznych związków azotowych, występował w największym stężeniu w wodzie z Sanki – średnio  $0,25 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  (przy  $x_{\text{max.}} = 5,22 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ ), a w wodach z pozostałych rzek oscylował wokół  $0,1 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ . W pięcioletnim okresie badań największą zmienność tego wskaźnika obserwowano w wodzie ze Zbiornika Dobczyckiego i Sanki, odpowiednio: 360 i 300 % (tab. 1). Na podobnym poziomie ( $0,124 - 0,161 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ ) azot amonowy oznaczyli Czaplicka-Kotas i wsp. [8] w wodzie z Jeziora Goczałkowickiego. Najwięcej azotanów(III) występowało w wodzie z Rudawy (średnio  $0,15 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ ), a najmniej w wodzie ze Zbiornika Dobczyckiego –  $0,04 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ , przy czym maksymalną ich zawartość oznaczono w wodzie z Sanki –  $0,79 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  (tab. 1). Azotany(V) przeważały w wodzie z Dłubni – średnia zawartość  $17,92 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  i, podobnie, jak w przypadku azotanów(III), najmniej było ich w wodzie ze Zbiornika Dobczyckiego –

Tabela 1

Zawartość składników biogenych w wodach powierzchniowych pobieranych przez krakowskie Zakłady Uzdatniania Wody (ZUW) w latach 2007 – 2011 – wartości średnie z pięciolecia.

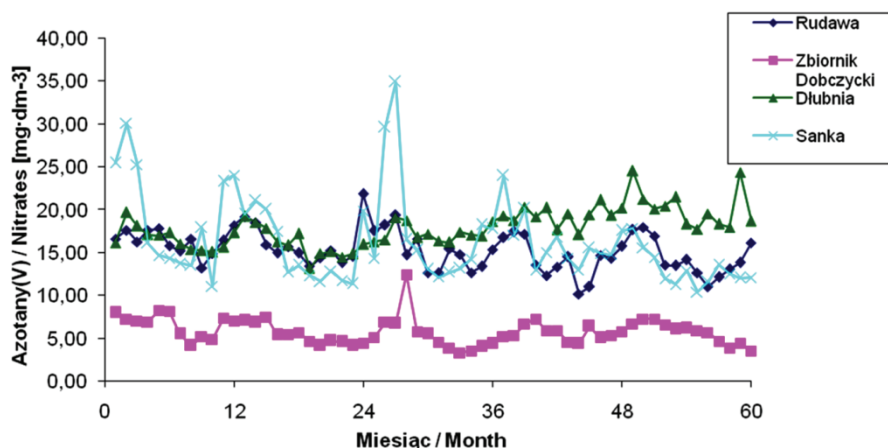
Content of biogenic components in surface waters abstracted by the Water Treatment Plant (referred to as ZUF in Polish) in Kraków from 2007 to 2011; five-year mean values.

Źródło wody surowej Raw water source	Miara statyst. Statistical measure	Mętność [NTU] Turbidity	Azot amonowy Ammonium nitrogen	Azotany(III) Nitrites	Azotany(V) Nitrates	Azot Kjeldahla Kjeldahl nitrogen	Fosfor ogólny Total phosphorus	Fosforany(V) Phosphates
			[mg·dm <sup>-3</sup> ]					
Rudawa River	x <sub>min.</sub>	2,64	0,01	0,06	10,16	0,00	0,00	0,00
	x <sub>max.</sub>	69,48	0,44	0,31	21,84	3,67	0,29	21,23
	$\bar{x}$	<b>8,34</b>	<b>0,12</b>	<b>0,15</b>	<b>15,26</b>	<b>1,08</b>	<b>0,13</b>	<b>1,67</b>
	s / SD	8,83	0,09	0,06	2,29	0,69	0,06	4,32
	Cv [%]	106	77	44	15	63	50	259
	n	60	60	60	60	56	59	60
Zbiornik Dobczycki Lake of Dobczyce	x <sub>min.</sub>	1,46	0,00	0,00	3,30	0,00	0,00	0,00
	x <sub>max.</sub>	25,56	2,41	0,16	12,41	3,12	0,07	5,35
	$\bar{x}$	<b>5,94</b>	<b>0,08</b>	<b>0,04</b>	<b>5,75</b>	<b>0,71</b>	<b>0,02</b>	<b>0,18</b>
	s / SD	4,96	0,31	0,04	1,55	0,64	0,02	0,96
	Cv [%]	84	362	91	27	89	124	532
	n	60	60	60	60	56	59	60
Dłubnia River	x <sub>min.</sub>	2,15	0,00	0,00	13,15	0,00	0,00	0,04
	x <sub>max.</sub>	53,25	1,86	0,16	24,55	3,29	0,22	9,44
	$\bar{x}$	<b>12,78</b>	<b>0,09</b>	<b>0,06</b>	<b>17,92</b>	<b>0,78</b>	<b>0,10</b>	<b>0,33</b>
	s / SD	10,55	0,23	0,04	2,23	0,66	0,05	1,20
	Cv [%]	83	276	60	12	85	54	360
	n	60	60	60	60	56	58	60
Sanka River	x <sub>min.</sub>	4,28	0,00	0,02	10,40	0,10	0,00	0,00
	x <sub>max.</sub>	102,50	5,22	0,79	34,91	3,80	0,35	21,25
	$\bar{x}$	<b>15,72</b>	<b>0,25</b>	<b>0,11</b>	<b>16,30</b>	<b>1,22</b>	<b>0,09</b>	<b>0,78</b>
	s / SD	13,92	0,76	0,11	5,15	0,76	0,07	3,69
	Cv [%]	89	300	95	32	62	70	471
	n	60	60	60	60	56	58	60

Objaśnienia: / Explanatory notes:

$x_{\min}$ . – wartość minimalna / minimum value;  $x_{\max}$  – wartość maksymalna / maximum value;  $\bar{x}$  – wartość średnia / mean value;  $s$  / SD – odchylenie standardowe / standard deviation;  $C_v$  – współczynnik zmienności / variation coefficient

Źródło: / Source: opracowanie własne na podstawie wyników analiz MPWiK / The authors' own study based on the results of the analyses performed by MPWiK (Municipal Waterworks and Wastewater Systems)



Rys. 1. Zmiany zawartości azotanów(V) w wodach powierzchniowych pobieranych przez krakowskie ZUW, w ciągu 60 miesięcy (2007 - 2011).

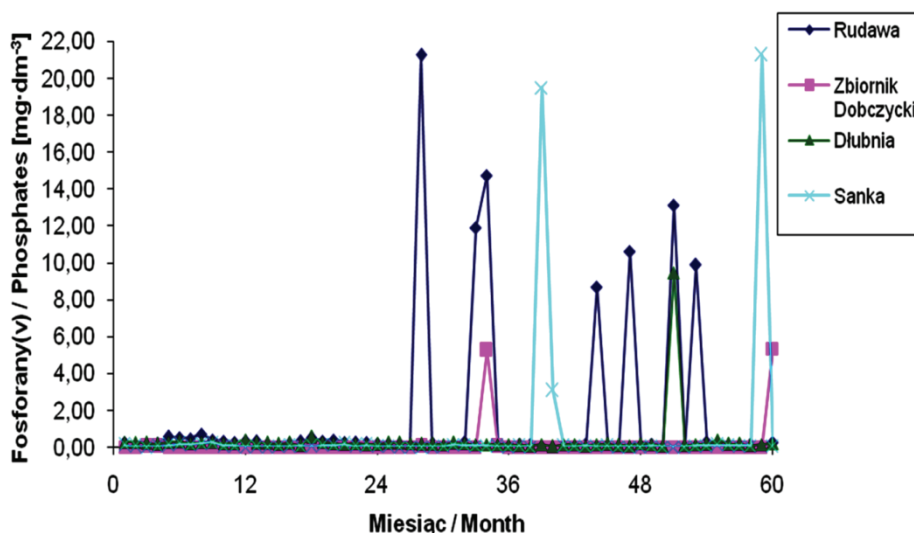
Fig. 1. Changes in content of nitrates(V) in surface water abstracted by ZUW in Kraków during a period of 60 months (2007 – 2011).

Źródło: / Source: opracowanie własne na podstawie wyników analiz MPWiK. / The authors' own study based on the results of the analyses performed by MPWiK.

średnio  $5,75 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  (tab. 1). Po przeanalizowaniu zawartości azotanów(V) w okresach miesięcznych, w ciągu 60 miesięcy (rys. 1), stwierdzono występowanie trendu o niskich i nieznacznie malejących wartościach w przypadku wody ze Zbiornika Dobczyckiego. Wody z Rudawy i z Dłubni charakteryzowały się występowaniem trendu na wyższym poziomie wartości niż w Zbiorniku, ale zbliżonym dla tych dwóch rzek i o większej amplitudzie wyników. Największe wahania zawartości tych związków wystąpiły w wodzie z Sanki, przy czym maksimum zawartości azotanów(V) ( $34,91 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  – tab. 1) stwierdzono w 28. tygodniu badań (rys. 1). Także w wodzie ze Zbiornika Dobczyckiego w 28. miesiącu analiz (kwiecień 2009 r.) zaobserwowano gwałtowny wzrost zawartości azotanów(V) ( $12,41 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  – tab. 1) w stosunku do ogólnego przebiegu zawartości tych związków w okresie pięcioletnim (rys. 1). Jak można sądzić, zjawisko to wiązało się z wiosennym nawożeniem pól. W kwietniu 2009 roku, w Polsce wystąpił drastyczny niedobór opadów (17 % normy średnich opadów dla kraju), ponadto średnia temperatura kwietnia znacznie przewyższała odpowiadają-

ce jej wartości z lat poprzednich [15]. Nagły wzrost zawartości azotanów(V) w wodach powierzchniowych powszechnie wiąże się z nadmiarem opadów atmosferycznych [17]. Jednak w tym przypadku równoczesne wystąpienie trzech czynników (okres wzmożonego nawożenia pól, mały dopływ opadów atmosferycznych i podwyższona temperatura) mogło skutkować zagęszczeniem azotanów(V) w wodach spływowych. Balcerzak i Rybicki [2] sugerują, że w tzw. latach suchych należy się liczyć nawet ze zjawiskiem hipertrofii składników biogenych, chociaż swoje wnioski odnoszą przede wszystkim do związków fosforu. Dla porównania, według Pawełka i Spytek [17] najwyższe stężenie azotanów w wodach pochodzących ze Zbiornika Dobczyckiego wystąpiło w lipcu 2003 r. –  $10 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ .

Największą zawartość azotu Kjeldahla oznaczono w wodzie z Sanki (średnio  $1,22 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ ), najmniejszą zaś w wodzie ze Zbiornika Dobczyckiego – średnio  $0,71 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  (tab. 1). Podobna tendencja wystąpiła w przypadku azotu amonowego, który jest składnikiem azotu Kjeldahla.



Rys. 2. Zmiany zawartości fosforanów(V) w wodach powierzchniowych pobieranych przez krakowskie ZUW, w ciągu 60 miesięcy (2007 - 2011).

Fig. 2. Changes in content of phosphates in surface water abstracted by ZUW in Kraków during a period of 60 months (2007 – 2011).

Źródło: / Source: opracowanie własne na podstawie wyników analiz MPWiK. / The authors' own study based on the results of the analyses performed by MPWiK.

Drugim, istotnym składnikiem biogenym decydującym o eutrofizacji wód powierzchniowych jest fosfor. Według Pawełka i Grendy [18] związki fosforu stanowią podstawowy czynnik biogeny, powodujący masowy rozwój glonów i zanieczyszcze-

nie cieków wodnych. Najbardziej zanieczyszczona była woda pobierana z Rudawy i to zarówno z uwagi na stężenie fosforu ogólnego ( $0,13 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ ), jak i pod względem zawartości fosforanów ( $1,67 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ ). Najmniej tych związków było w Zbiorniku Dobczyckim: fosforu ogólnego –  $0,02 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ , a fosforanów –  $0,18 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  (tab. 1).

Analizując zawartość fosforanów(V) w odstępach miesięcznych można zauważyć dwa różniące się okresy. Do 27. miesiąca badań poziom fosforanów(V) w wodach z analizowanych rzek był bardzo niski – sporadycznie przekraczał  $0,29 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  (rys. 2). Natomiast od marca 2009 r. obserwowano gwałtowny wzrost zawartości fosforanów(V), najpierw w wodzie z Rudawy, a w kolejnych miesiącach stwierdzono wzrost i znaczne wahania tego wskaźnika w wodach z czterech badanych źródeł (rys. 2). Ewentualność zanieczyszczenia wód spływowym fosforem z różnych źródeł (m.in. z nawozów, środków ochrony roślin lub ze ścieków komunalnych) powoduje, że na podstawie wykonanych oznaczeń nie można wnioskować o przyczynach takich fluktuacji.

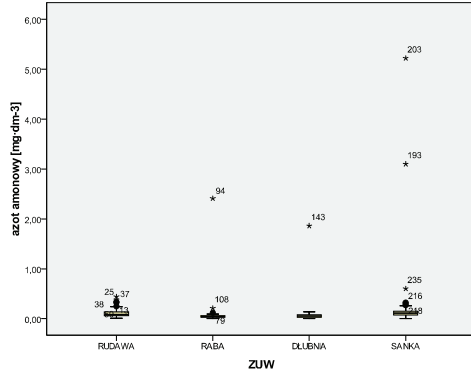
Zakłócenie początkowego, 26-miesięcznego trendu zawartości fosforanów(V) skutkowało wysokimi współczynnikami zmienności, niezależnie od miejsca pobrania wody do badań. Niemniej jednak największa zmienność dotyczyła zawartości fosforanów(V) w Zbiorniku Dobczyckim –  $C_v = 532 \%$  (tab. 1), chociaż w wartościach bezwzględnych maksymalne oznaczone ilości w wodzie z tego źródła były i tak ok. 2- lub 3-krotnie mniejsze od maksymalnych zawartości fosforanów w wodach z pozostałych rzek.

Tabela 2

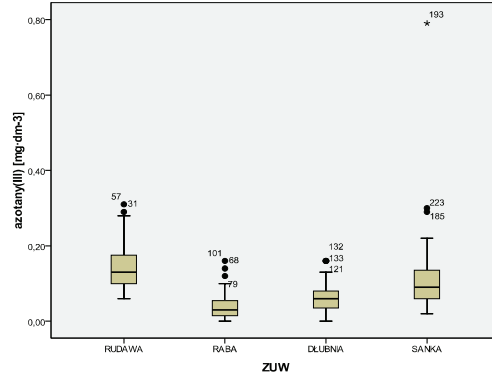
Wyniki testu Kruskala-Wallisa.  
Results of Kruskal -Wallis test

Miara statyst. Statistical measure	Składniki biogenne / Biogenic Components					
	Azot amonowy Ammonium nitrogen	Azotany(III) Nitrites	Azotany(V) Nitrates	Azot Kjeldahla Kjeldahl nitrogen	Fosfor ogólny Total phosphorus	Fosforany(V) Phosphates
$\chi^2$	61,919	104,994	151,594	29,456	100,074	131,870
df	3	3	3	3	3	3
p	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

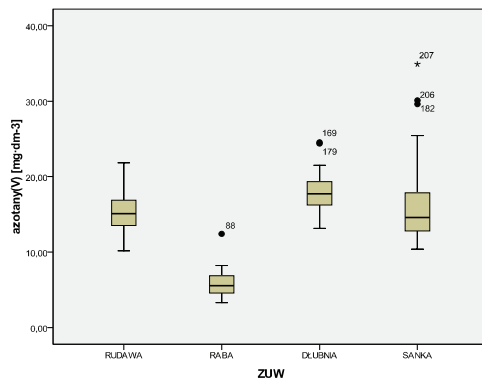
Źródło: / Source: Opracowanie własne na podstawie wyników analiz MPWiK / The authors' own study based on the results of the analyses performed by MPWiK.



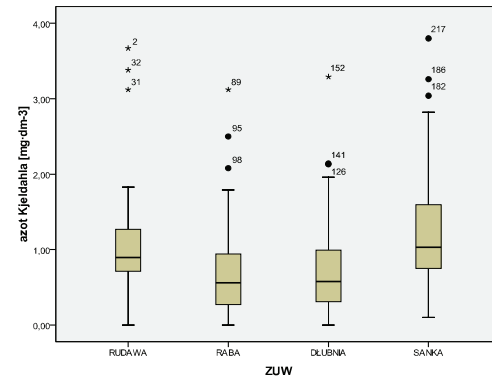
Rys. 3a – Azot amonowy / Ammonium nitrogen



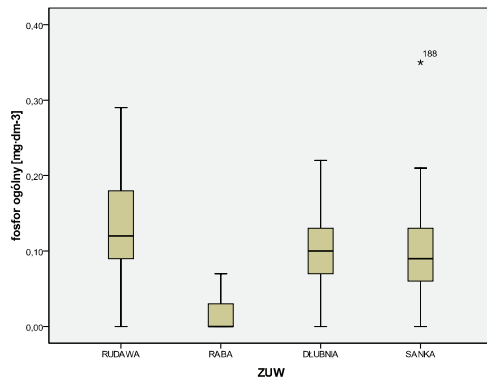
Rys. 3b – Azotany(III) / Nitrites



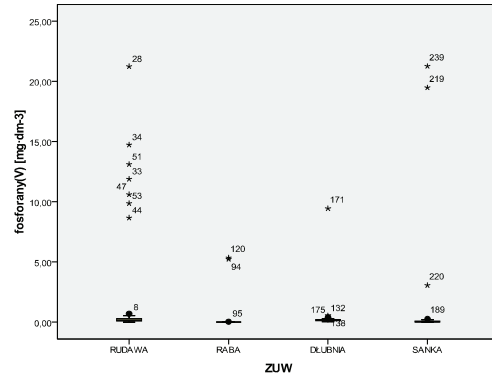
Rys. 3c – Azotany(V) / Nitrates



Rys. 3d – Azot Kjeldahla / Kjeldahl N Nitrogen



Rys. 3e – Fosfor ogólny / Total phosphorus



Rys. 3f – Fosforany(V) / Phosphates

Rys. 3. Pogrupowane wartości składników biogenych w wodach powierzchniowych doprowadzanych do krakowskich ZUW w latach 2007 - 2011.

Fig. 3. Grouped values of biogenic components in surface waters channeled to ZUW in Kraków from 2007 to 2011.

Źródło: / Source: Opracowanie własne na podstawie wyników analiz MPWiK/ The authors' own study based on the results of the analyses performed by MPWiK.

Analizę zawartości chlorofilu a wykonano w wodzie z Dłubni i Sanki. Stwierdzono, że w obu wodach średnia zawartość chlorofilu a była zbliżona i wynosiła odpowiednio  $1,99$  i  $2,08 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$ , przy czym większa zmienność dotyczyła wody z Dłubni ( $0,36$  do  $6,15 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$ ). Można stąd wnioskować, że także poziom fitoplanktonu był zbliżony w obu rzekach.

W celu porównania jakości wody surowej pochodzącej z czterech rzek wykorzystano nieparametryczny test Kruskala-Wallisa. Test ten stanowi alternatywę dla jednozmiennikowej analizy wariancji ANOVA. W tym przypadku liczba porównywanych grup (wody surowej) była większa od 2, a analizie poddano sześć wskaźników biogennych (tab. 2). Wyniki testu wskazują na statystycznie istotne różnice pomiędzy wartościami średnimi z pięcioletnia wszystkich analizowanych wskaźników jakości wód surowych ( $p < 0,05$ ), które doprowadzane były do czterech krakowskich ZUW. Otrzymane wyniki wskaźników biogennych przedstawiono na rys. 3. Graficzną interpretacją testu Kruskala-Wallisa są wykresy skrzyniowe (pudełkowe) przedstawiające rozkład uporządkowanych wartości danej cechy. W tym przypadku były to zawartości wybranych wskaźników biogennych w wodach ujmowanych przez krakowskie ZUW. Na wykresach przedstawiono: położenie wartości środkowej analizowanego wskaźnika, najwyższe i najniższe wartości wyników nieodstające od pozostałych, a także wartości ekstremalnie skrajne (\*) oraz wartości nietypowe (•).

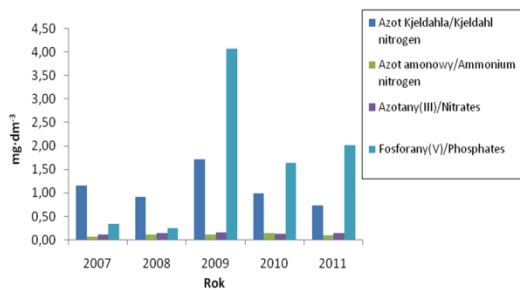
Oceny stopnia eutrofizacji dokonuje się na podstawie średniorocznych wartości wskaźników biogennych wód płynących [19]. Stąd też w kolejnym etapie badań dokonano oceny jakości wody surowej w rocznych zestawieniach wyników. Na rys. 4. przedstawiono wybrane wskaźniki jakości wody surowej, a w tab. 3. składniki biogenne przyjęte za wskaźniki eutrofizacji [19].

Największą zawartość azotu amonowego oznaczono w 2008 r. w wodzie z Sanki –  $0,76 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  oraz z Dłubni –  $0,20 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Woda z Rudawy zawierała najmniej azotu amonowego, chociaż w okresie pięcioletnim wystąpiła niewielka tendencja wzrostowa od  $0,07$  do  $0,16 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ . W Zbiorniku Dobczyckim największą roczną (ale jednorazową w ciągu 5 lat) zawartość tego azotu stwierdzono w 2009 r. – średnio  $0,24 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  (rys. 4). Jest to wartość znacznie niższa od oznaczonej przez Pawełka i Spytek [18] w 2003 roku, kiedy wodę ze Zbiornika Dobczyckiego zakwalifikowano do III (do  $2 \text{ mg NH}_4\cdot\text{dm}^{-3}$ ) i IV (do  $4 \text{ mg NH}_4\cdot\text{dm}^{-3}$ ) klasy czystości pod względem zawartości azotu amonowego.

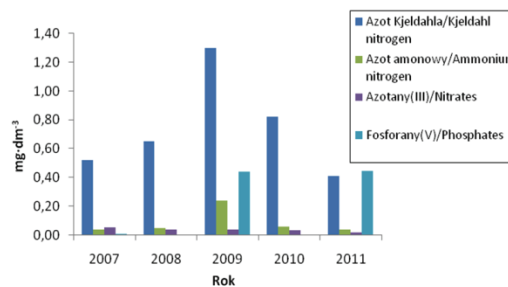
W badanych wodach zawartość azotanów(III) utrzymywała się niemal na stałym poziomie, z nieznacznymi zmianami w poszczególnych latach (rys. 4). Natomiast zawartość azotu Kjeldahla ulegała znacznym wahaniom w badanych przedziałach czasowych (rys. 4). Analizując jakość wody surowej pod względem zawartości azotanów(V) można stwierdzić, że w trzech z czterech rzek wystąpiła eutrofizacja tym składnikiem biogenym (tab. 3). W porównaniu z wartością normatywną ( $> 10 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ )



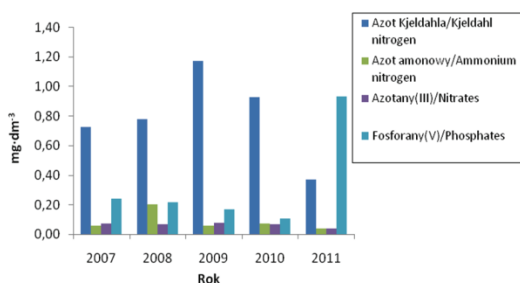
wszystkie średnioroczne zawartości azotanów(V) (w okresie pięcioletnim) w wodach Rudawy (14,39 - 16,35 mg·dm<sup>-3</sup>), Dłubni (16,11 - 20,22 mg·dm<sup>-3</sup>) i Sanki (13,02 - 19,13 mg·dm<sup>-3</sup>) były większe od tego poziomu granicznego. Maksymalne zawartości azotanów(V) przekroczyły poziom 10 mg·dm<sup>-3</sup> o 63,5 % w Rudawie, o 102,2 % w Dłubni i o 91,3 % w Sance. Jedynie w Zbiorniku Dobczyckim nie stwierdzono zagrożenia eutrofizacją (tab. 3). Wody z czterech rzek, pobieranych w latach 2007 - 2011 przez krakowskie ZUW na zaopatrzenie ludności w wodę przeznaczoną do spożycia, nie kwalifikowały się jednak do zagrożonych zanieczyszczeniem związkami azotu ze źródeł rolniczych, gdyż w żadnej z próbek zawartość azotanów(V) nie przekroczyła limitu 40 - 50 mg NO<sub>3</sub>·dm<sup>-3</sup>, określonego w rozporządzeniu Ministra Środowiska [19].



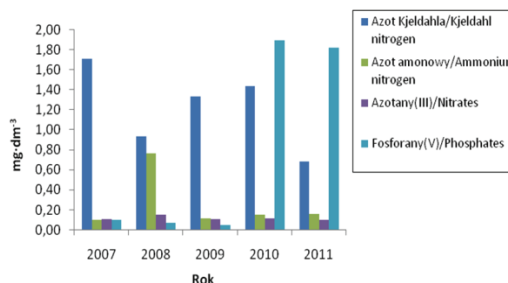
Rys. 4a. Rudawa



Rys. 4b. Zbiornik Dobczycki



Rys. 4c. Dłubnia



Rys. 4d. Sanka

Rys. 4. Wybrane wskaźniki jakości wód surowych pobieranych przez krakowskie ZUW w latach 2007 - 2011.

Fig. 4. Nutrients concentration in period 2007 - 2011.

Źródło: / Source: Opracowanie własne na podstawie wyników analiz MPWiK / The authors' own study based on the results of the analyses performed by MPWiK.

Tabela 3

Wyniki oceny wód powierzchniowych, pobieranych przez krakowskie ZUW w latach 2007 - 2011, pod względem eutrofizacji.

Assessment results of surface waters abstracted by ZUW in Kraków from 2007 to 2011 as regards eutrophication.

Źródło wody surowej Raw water source	Rok Year	Wskaźniki eutrofizacji Eutrophication indicators				Ocena zagrożenia zanieczyszczeniem związkami azotu z rolnictwa Assessing the danger of polluting by agriculture-derived nitrogen - compounds
		[mg·dm <sup>-3</sup> ]			[µm·dm <sup>-3</sup> ]	
		Azot ogólny Total nitrogen	Azotany(V) Nitrates	Fosfor ogólny Total phosphorus	Chlorofil a Chlorophyll a	
Rudawa River	2007	1,16	16,35	0,19	brak oznaczenia not determined	wystąpiła eutrofizacja ze względu na zawartość azotanów(V) / eutrophication occurred as a result of nitrates present in waters
	2008	0,92	16,04	0,14		
	2009	1,72	15,28	0,13		
	2010	1,00	14,25	0,06		
	2011	0,74	14,39	0,13		
Zbiornik Dobczycki Lake of Dobczyce	2007	0,52	6,63	0,03	brak oznaczenia not determined	brak zagrożenia eutrofizacją no danger of eutrophication
	2008	0,65	5,37	0,01		
	2009	1,30	5,49	0,01		
	2010	0,82	5,64	0,01		
	2011	0,41	5,66	0,02		
Dłubnia River	2007	0,73	16,67	0,12	2,6	wystąpiła eutrofizacja ze względu na zawartość azotanów(V) / eutrophication occurred as a result of nitrates present in waters
	2008	0,78	16,11	0,09	2,12	
	2009	1,17	17,26	0,10	2,2	
	2010	0,93	19,35	0,08	1,68	
	2011	0,37	20,22	0,10	1,34	
Sanka	2007	1,71	19,13	0,13	1,93	wystąpiła eutrofizacja ze względu na zawartość azotanów(V) / eutrophication occurred as a result of nitrates present in waters
	2008	0,94	15,33	0,05	1,83	
	2009	1,33	17,67	0,09	1,62	
	2010	1,44	16,33	0,10	3,26	
	2011	0,68	13,02	0,11	1,73	

Źródło: / Source: Opracowanie własne na podstawie wyników analiz MPWiK / The authors' own study based on the results of the analyses performed by MPWiK.

W okresach rocznych, w ciągu 5 lat, najwięcej fosforu ogólnego oznaczono w wodach Dłubni i Sanki. Maksimum zawartości tego wskaźnika we wszystkich badanych wodach wystąpiło w 2007 r. Tendencję malejącą zawartości fosforu ogólnego od

wartości 0,19 do 0,06 mg·dm<sup>-3</sup> obserwowano w wodzie surowej z Rudawy (tab. 3). W przypadku tego wskaźnika biogenego nie zaobserwowano zagrożenia eutrofizacją.

Największą zawartość fosforanów stwierdzono w 2009 r. w wodzie z Rudawy – średnio 4,08 mg·dm<sup>-3</sup>. W tym samym roku wystąpiło największe stężenie fosforanów w Zbiorniku Dobczyckim – średnio 0,44 mg·dm<sup>-3</sup>, jednak było ono 10 razy mniejsze niż w Rudawie oraz dwa razy mniejsze niż oznaczone przez Pawełka i Spytek w sierpniu 2003 roku w tych wodach [17]. Natomiast wody Dłubni wykazywały tendencję malejącą pod względem zawartości tego wskaźnika. Duży wzrost zaobserwowano w 2010 r. w Sance, w której średnioroczne stężenie fosforanów wyniosło 1,90 mg·dm<sup>-3</sup> (rys. 4).

Porównując wody surowe z badanych źródeł można stwierdzić, że były one umiarkowanie zasobne w związki fosforu, a nadmiernie obciążone azotanami(V). Tylko woda surowa ze Zbiornika Dobczyckiego charakteryzowała się wysoką jakością.

### Wnioski

1. Wody surowe pobierane z rzek: Rudawy, Dłubni, Sanki i Zbiornika Dobczyckiego (w latach 2007 - 2011) przez Zakłady Uzdatniania Wody MPWiK na zaopatrzenie mieszkańców Krakowa w wodę pitną charakteryzowały się istotnie zróżnicowaną jakością pod względem zawartości składników biogenych, co potwierdzono testem Kruskala-Walisa ( $p < 0,05$ ).
2. Wody z Sanki i Dłubni charakteryzowały się najniższą jakością, o czym świadczy zawartość składników biogenych o najwyższych wartościach w pięcioletnim okresie badań. Woda pochodząca ze Zbiornika Dobczyckiego była najwyższej jakości.
3. Przekroczenie średniorocznych zawartości azotanów(V) powyżej 10 mg NO<sub>3</sub> w 1 dm<sup>3</sup> wody (graniczna wartość normatywna) z rzek: Rudawy, Dłubni i Sanki skutkowało ich zakwalifikowaniem do powierzchniowych wód płynących obciążonych eutrofizacją. Największą średnioroczną zawartość azotanów(V) stwierdzono w wodzie z Dłubni w 2011 r. – 20,22 mg·dm<sup>-3</sup>.
4. Pomimo wystąpienia eutrofizacji w wodach trzech z czterech badanych rzek, nie kwalifikowały się one do zagrożonych zanieczyszczeniem związkami azotu ze źródeł rolniczych, gdyż w żadnej z próbek wody surowej zawartość azotanów(V) nie przekroczyła limitu 40 - 50 mg NO<sub>3</sub>·dm<sup>3</sup>, określonego w rozporządzeniu Ministra Środowiska.

### Literatura

- [1] Badanie jakości wody użytkowej [on-line] Dostępne w Internecie [10.01.2013]: <http://www.kmsios.utp.edu.pl/instrukcje/Badania%20jakosci%20wody%20uzytkowej.pdf>.

- [2] Balcerzak W., Rybicki S.: Ocena stopnia zagrożenia wody eutrofizacją na przykładzie zbiornika zaporowego w Świnnej Porębie. *Ochrona Środowiska*, 2011, **4 (33)**, 67-69.
- [3] Bielak S.: Zagrożony raj. Eutrofizacja wód powierzchniowych Biebrzańskiego Parku Narodowego. [on-line] *Zielona Polska*, 2005, ss. 92-101. Dostępne w Internecie [10.01.2013]: [http://www.sebastianbielak.pl/uploads/pdf/Eutrofizacja\\_wod\\_powierzchniowych\\_Biebrzanskiego\\_Parku\\_Narodowego\\_S\\_Bielak.pdf](http://www.sebastianbielak.pl/uploads/pdf/Eutrofizacja_wod_powierzchniowych_Biebrzanskiego_Parku_Narodowego_S_Bielak.pdf)
- [4] Burek M., Budzińska M., Łojan-Tomal E., Łyczko P., Woźniak M., Gach E.: Zagrożenie i stan środowiska przyrodniczego. W: *Województwo Małopolskie 2011*. [on-line]. Wyd. Urząd Marszałkowski Województwa Małopolskiego, Kraków 2011, ss. 11-17. Dostępne w Internecie [10.01.2013]: [http://www.malopolskie.pl/Pliki/2011/wojewodztwo\\_2011.pdf](http://www.malopolskie.pl/Pliki/2011/wojewodztwo_2011.pdf)
- [5] Centralne Laboratorium MPWiK S.A.: Rejestr metod badawczych, Kraków 2011.
- [6] Centralne Laboratorium MPWiK S.A.: Wyniki analiz laboratoryjnych wskaźników jakości wody surowej i pitnej w ZUW: Bielany, Raba, Dłubnia, Rudawa wykonane w Centralnym Laboratorium w latach 2007 -2011. MPWiK S.A., Kraków 2007- 2011.
- [7] Chróst R.J.: Ocena aktualnego stanu jakości ekologicznej wód oraz analiza zagrożeń eutrofizacyjnych systemu jeziora Śniardwy [on-line]. Zakład Ekologii Mikroorganizmów UW. Lokalna Grupa Działania „Mazurskie Morze” 2012. Dostępne w Internecie [10.01.2013]: [http://www.zemuw.pl/pl/files/docs/JM\\_Raport\\_Sniardwy.pdf](http://www.zemuw.pl/pl/files/docs/JM_Raport_Sniardwy.pdf)
- [8] Czaplicka-Kotas A., Ślusarczyk Z., Pięta M., Szostak A.: Analiza zależności między wskaźnikami jakości wody w Jeziorze Goczałkowickim w aspekcie zakwitów fitoplanktonu. *Ochrona Środowiska*, 2012, **1 (34)**, 21-27.
- [9] Dyrektywa Rady z dnia 12 grudnia 1991 r. dotycząca ochrony wód przed zanieczyszczeniami powodowanymi przez azotany pochodzenia rolniczego, 91/676/EWG. Dz. U. L 375 z 31.12.1991, 1.
- [10] Ekogrup: Przyczyny i konsekwencje eutrofizacji wód [on-line]. Ekogrup 2010. Dostępne w Internecie [20.01.2013]: <http://www.ekogrup.info/635/przyczyny-i-konsekwencje-eutrofizacji-wod>.
- [11] Elbanowska H., Zerbe J., Siepak J.: *Fizykochemiczne badanie wód*. Wyd. Nauk. UAM, Poznań 1999.
- [12] Ilnicki P.: *Polskie rolnictwo a ochrona środowiska*. Wyd. AR, Poznań 2004, s. 485.
- [13] Kaniuczak J., Augustyn Ł.: Zawartość związków azotowych i fosforanów w wodach powierzchniowych przeznaczonych do zaopatrzenia ludności w wodę do spożycia. *Inżynieria Ekologiczna*, 2011, **27**, 46-59.
- [14] Kiryluk A., Rauba M.: Wpływ rolnictwa na stężenie fosforu ogólnego w wodach powierzchniowych zlewni rzeki Świny. *Inżynieria Ekologiczna*, 2011, **26**, 122-132.
- [15] *Lasy Polskie: Monitoring lasów w Polsce. Stan zdrowotny lasów Polski w 2010 roku*. [on-line]. Raport GIOŚ, Warszawa 2009. Dostępne w Internecie [20.12.2013]: [http://www.gios.gov.pl/monlas/raporty/raport\\_2010/05.html](http://www.gios.gov.pl/monlas/raporty/raport_2010/05.html)
- [16] Osińska-Skotak K.: Możliwości teledetekcyjnego monitorowania zawartości chlorofilu-a w wodach śródlądowych. *Teledetekcja Środowiska*, 2009, **42**, 59-68.
- [17] Pawełek J., Spytek M.: Substancje biogenne w dopływach Zbiornika Dobczyckiego. *Infrastruktura i Ekologia Terenów Wiejskich*, 2005, **4**, 99-113.
- [18] Pawełek J., Grenda W.: Wpływ zbiorników retencyjnych na ujęciu z Rudawy na jakość wody przeznaczonej do zaopatrzenia Krakowa. *Ochrona Środowiska*, 2011, **4 (33)**, 63-66.
- [19] Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 23 grudnia 2002 r. w sprawie kryteriów wyznaczania wód wrażliwych na zanieczyszczenia związkami azotu ze źródeł rolniczych. Dz. U. 2002 r. Nr 241 poz. 2093.
- [20] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 20 kwietnia 2010 r. w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi. Dz. U. 2010 r. Nr 72, poz. 466.


- [21] Smoroń S.: Zagrożenie eutrofizacją wód powierzchniowych wyżyn lessowych Małopolski. Woda. Środowisko-Obszary Wiejskie, 2012, **1 (37)**, 12, 181-191.
- [22] Ustawa z dnia 18 lipca 2001 r. Prawo wodne. Tekst ujednolicony. Dz. U. 2012 r., poz. 145.

## IMPACT OF BIOGENIC COMPONENTS ON QUALITY AND EUTROPHICATION OF FLOWING SURFACE WATERS CONSTITUTING THE SOURCE OF DRINKING WATER FOR THE CITY OF KRAKÓW

### Summary

In this paper, there was determined the impact of agriculture-derived biogenic components on the quality of raw water abstracted by the Water Treatment Plant, a facility of the Municipal Waterworks and Wastewater Systems in Kraków (referred to as MPWiK) during a period from 2007 to 2011. The following water parameters were determined in water samples from the Rudawa river, the artificial Lake of Dobczyce, and the Dłubia and Sanka rivers: turbidity, ammonium nitrogen, nitrites, nitrates, Kjeldahl nitrogen, total nitrogen, phosphates (V), total phosphorus, and chlorophyll a.

Based on the results of the analyses performed during those 5 years, statistically significant differences ( $p < 0.05$ ) were found among the mean values of all the raw water quality indicators. The contents of nitrates and phosphates(V), analyzed at one month intervals for the duration of 60 months, made it possible to draw trends. A slightly descending trend of low values occurred in the case of nitrates contained in the Lake of Dobczyce water, whereas the waters in the Rudawa and Dłubia rivers were characterized by a trend showing steady, but higher values. The highest fluctuations in the content of nitrates were determined in the water of the Sanka river; the maximum value of this indicator ( $34.91 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ ) was reported in the 28<sup>th</sup> week of performing the analyses. Then again, the mean-monthly content level of phosphates (V) in the waters from the sources analyzed during a 26 week period hardly ever exceeded  $0.29 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Beginning in the 27<sup>th</sup> week, a disruption occurred in this trend causing high coefficients of variation to appear regardless of where the water samples were taken from. The variations in the content of phosphates in the Lake of Dobczyce water,  $C_v = 532 \%$ , were the highest, although the maximum content of this component in the Lake water, expressed as an absolute value, was two or three times lower than the maximum content thereof in all other waters analyzed. The eutrophication degree was assessed according to the legal standards and based on the annual biogenic indicators. The highest mean annual content of total nitrogen ( $1.72 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ ) was reported in the Rudawa river waters in 2009. Moreover, the highest mean annual content of total phosphorus was also reported in the Rudawa river water in 2007 ( $0.19 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ ). The highest amounts of chlorophyll a ( $3.26 \mu\text{m}\cdot\text{dm}^{-3}$ ) were determined in the Sanka river waters in 2010. Of all the indicators analysed, no indicator exceeded the normative standard level above which the eutrophication would take place. But the eutrophication process was found in the waters of the Rudawa, Dłubnia, and Sanka rivers; the mean annual contents of nitrates were higher than the limit value of  $10 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Despite the eutrophication in those three rivers, their raw waters were not classified as waters in danger of being polluted by agriculture-derived nitrogen since the content of nitrates in any of the samples studied did not exceed the limit values of 40 to 50  $\text{mg}$  of  $\text{NO}_3\cdot\text{dm}^{-3}$  as determined in the regulation issued by the Minister of the Environment.

**Key words:** surface waters, raw water quality, biogenic components, eutrophication indicators 

JACEK NOWAK, BARBARA GÓRNA, WŁODZIMIERZ NOWAK

**WYKORZYSTANIE GRZYBÓW STRZĘPKOWYCH  
DO BIODEGRADACJI ŚCIEKÓW Z PRZEMYSŁU  
ZIEMNIACZANEGO Z JEDNOCZESNĄ PRODUKCJĄ  
BIOMASY PLEŚNIOWEJ NA CELE PASZOWE**

Streszczenie

W badaniach użyto trzech szczepów grzybów strzępkowych: *Aspergillus oryzae* 448, *Aspergillus niger* 334, *Rhizopus oligosporus* 2710 do biodegradacji wysoko obciążonych ścieków z przemysłu ziemniaczanego. Ściek pochodził ze stacji odzyskania białka, z wód sokowych ziemniaków (ściek odbiałczony). Oczyszczanie ścieku prowadzono przez 48 i 72 h w fermentorze laboratoryjnym Biostat B o pojemności roboczej 1,5 l. Podczas 72-godzinnej procesu *A. oryzae* 448 spowodował 70-procentową redukcję chemicznego zapotrzebowania tlenu (ChZT). Oczyszczenie ścieku przez szczepy *A. niger* i *R. oligosporus* było na zbliżonym poziomie i wynosiło odpowiednio 58 i 52 %. Biodegradacja ścieku ziemniaczanego po zastosowaniu wybranych pleśni spowodowała bardzo dużą redukcję pierwiastków biogenych. W przypadku fosforu ogólnego korzystne okazało się prowadzenie 48-godzinnej hodowli szczepu *R. oligosporus* 2710, podczas której uzyskano 82,6-procentową redukcję zawartości tego pierwiastka w ścieku. Z kolei największe odfermentowanie związków azotowych – o 83 % – nastąpiło podczas 72-godzinnej procesu biodegradacji z udziałem *A. oryzae* 448. Niezależnie od rodzaju testowanych pleśni, największą ilość biomasy pleśniowej uzyskano podczas 48-godzinnej procesu fermentacji. Największą produktywnością biomasy wykazał się szczep *A. niger* 334 (13,2 g s.m./l ścieku). Wytworzona biomasa charakteryzowała się dużą zawartością białka (42 - 44 %) i wysoką energetyczną wartością paszową.

**Słowa kluczowe:** ścieki ziemniaczane, grzyby strzępkowe, ChZT, pierwiastki biogenne, biodegradacja, biomasa pleśniowa

## Wprowadzenie

Grzyby strzępkowe spełniają ważną rolę w przemyśle spożywczym. Na ogół rozwijają się na powierzchni produktu, dlatego postrzegane są jako mikroorganizmy, które

---

*Prof. dr hab. J. Nowak, mgr inż. B. Górna, Instytut Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego, Wydz. Nauk o Żywności i Żywieniu Człowieka, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wojska Polskiego 28, 60-637 Poznań, prof. dr hab. W. Nowak, Katedra Żywienia Zwierząt i Gospodarki Paszowej, Wydz. Hodowli i Biologii Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wołyńska 33, 60-637 Poznań*

są przyczyną psucia się żywności. Oprócz szkodliwej działalności można wymienić przykłady ich pozytywnego i celowego wykorzystania w produkcji żywności [3]. Należą do nich: enzymy, witaminy, kwasy organiczne i lipidy [2, 3].

Zastosowanie grzybów mikroskopowych do produkcji żywności przyczynia się bardzo często do nadawania wyrobom specyficznych cech sensorycznych i reologicznych. Pleśnie znalazły zastosowanie w produkcji serów (*Penicillium* i *Geotrichum*) i w produkcji żywności fermentowanej w krajach południowo-wschodniej Azji (*Rhizopus*, *Aspergillus*) [14].

Podstawowym wymogiem stawianym wszystkim mikroorganizmom wykorzystywanym na cele spożywcze i przemysłowe jest ich udokumentowane całkowite bezpieczeństwo dla zdrowia człowieka. Powinny być one również nieszkodliwe dla środowiska, szczególnie dla zwierząt i roślin [24].

W przemyśle spożywczym w Polsce zużywa się znaczne ilości wody, w wyniku czego powstaje duża ilość ścieków o bardzo zmiennym składzie. Zakłady branży spożywczej są zazwyczaj źródłem ścieków o dużym ładunku zanieczyszczeń, obejmujących substancje rozpuszczone w wodzie i substancje koloidalne lub zawiesiny, reprezentowane przez związki organiczne (białko, tłuszcze) i nieorganiczne (chlorki, azotany, siarczany, fosforany i inne) [9]. Jakość i zróżnicowanie ścieków wytwarzanych w zakładach przetwórstwa ziemniaków zależy od profilu produkcji w konkretnym zakładzie oraz od stosowanych procesów przetwórczych. Najważniejszymi wskaźnikami zanieczyszczeń w ściekach z zakładów przetwórstwa ziemniaków i produkcji skrobi są: chemiczne zapotrzebowanie tlenu, zawiesiny, azot i fosfor. Ścieki te często charakteryzują się znacznym, ale zmiennym udziałem zanieczyszczeń rozpuszczalnych. Zróżnicowany jest także skład chemiczny ścieków powstałych w kampanii jesiennej i wiosennej [20].

Grzyby *Rhizopus oligosporus* mają zastosowanie w produkcji żywności fermentowanej typu tempeh. Grzyb ten jest zdolny do rozkładu skrobi. W związku z tym istnieje możliwość zastosowania go do biodegradacji ścieków zawierających skrobię. Jednak badania dotyczące możliwości zastosowania grzybów strzępkowych w oczyszczaniu ścieków pochodzących z przetwórstwa ziemniaków, w szczególności tych pochodzących z kwasowo-termicznego wydzielenia białka z wód sokowych, są nieliczne, więc podjęto próbę oceny skuteczności zastosowania grzybów strzępkowych w procesie biodegradacji tego typu ścieków.

Celem pracy było określenie zdolności wybranych pleśni do oczyszczania ścieków wysoko obciążonych, pochodzących z przemysłu ziemniaczanego. Ponadto podjęto próbę określenia ilości wytworzonej podczas biodegradacji biomasy i jej wartości paszowej.



### Material i metody badań

Do badań zastosowano szczepy pleśni: *Rhizopus oligosporus* NRRL 2710, *Aspergillus niger* NRRL 334 i *Aspergillus oryzae* NRRL 448 pochodzące z Northern Regional Research Laboratory (Peoria, USA).

Grzyby namnażano i przechowywano na podłożu glukozowo-ziemniaczano-agarowym (PDA) w temp. 30 °C lub 37 °C przez 48 - 72 h, w zależności od zastosowanego szczepu. Materiałem doświadczalnym był ściek pochodzący z Wielkopolskiego Przedsiębiorstwa Przemysłu Ziemniaczanego w Stawach koło Poznania. Do celów badawczych wykorzystano ściek pobrany ze stacji odzyskiwania białka z wód sokowych ziemniaków (ściek odbiałczony). Powstaje on po procesie wytrącania białka z wód sokowych w wyniku przeprowadzenia koagulacji kwasowo-termicznej. Przeprowadzono hodowle wybranych szczepów grzybów z użyciem bioreaktora laboratoryjnego Biostat B. (Braun, Niemcy). Procesy biodegradacji w bioreaktorze prowadzono w następujących warunkach: pojemność robocza 1,5 l ścieku, napowietrzanie – 1 l powietrza/min, mieszanie – 120 rpm, przy pH początkowym w zakresie 5,35 - 5,45, temp. 37 °C. Ściek sterylizowano wraz z naczyniem fermentacyjnym w autoklawie, w temp. 121 °C przez 40 min i po ostygnięciu zaszczipiano inokulum w ilości 10 % (v/v). Inokulum stanowił zmyw badanego szczepu pleśni ze skosu PDA. Inokulum stanowiła 24-godzinna hodowla poszczególnych szczepów. Po odfermentowaniu próby wirowano przy 1409 · g przez 10 min.

W supernatancie oznaczano:

- zawartość substancji redukujących w przeliczeniu na glukozę. Oznaczenie wykonywano metodą z kwasem 3,5 DNS [12]. Metoda polega na redukcji kwasu 3,5-dinitrosalicylowego do kwasu 3,5-dwuaminosalicylowego ze zmianą barwy. Pomiaru spektrofotometrycznego dokonywano przy długości fali  $\lambda = 530$  nm,
- chemiczne zapotrzebowanie tlenu (ChZT) – metodą dwuchromianową zgodnie z PN-ISO 6060:2006 [16],
- zawartość suchej masy – metodą suszarkową, a wydajność tworzącej się biomasy grzybowej wyrażano w gramach suchej masy na 1 l podłoża hodowlanego (g s.m./l) [23],
- zawartość fosforu ogólnego – przy użyciu testów kuwetowych dr Lange LCK 350 – zasada oznaczenia polega na przeprowadzeniu za pomocą mineralizacji wszystkich połączeń fosforu, obecnych w badanej próbce, w ortofosforany i następnie ich pomiarze w fotometrze spektralnym Cadas 30s. Wyniki wyrażano w mg/l [25],
- zawartość azotu ogólnego – przy użyciu testów kuwetowych dr Lange LCK 338 – azot związany w związkach organicznych i nieorganicznych utleniało za pomocą nadsiarczanu zawartego w kuvecie reakcyjnej do azotanów(V); jony azotowe w środowisku kwasu siarkowego i fosforowego reagują z 2,6-dimetylofenolem

tworząc 4-nitro-2,6-dimetylofenol. Pomiaru dokonywano przy użyciu fotometru spektralnego Cadas 30s i wyrażano w mg/l [25].

W drugim etapie badań podjęto próbę scharakteryzowania uzyskanych biomas pleśniowych. Biomase pleśniową z bioreaktora po zakończeniu procesu biodegradacji przenoszono ilościowo na sito i przemywano wodą destylowaną, a następnie suszono. W uzyskanej biomacie oznaczano:

- suchą substancję – metodą suszarkową [23],
- popiół surowy – uzyskaną zawartość popiołu wyrażano w % s.m. [23],
- białko ogólne – metodą Kjeldahla [17],
- strawność białka *in vitro* – metodą pepsynowo-pankreatynową [23],
- tłuszcz surowy – metodą Soxhleta [23],
- włókno surowe – metodą Henneberga i Stohmana [4].

W kolejnym etapie badań dokonano oceny energetycznej przydatności paszowej uzyskanych biomas dla trzody chlewnej i bydła. Przy ocenie wartości pokarmowej pasz dla świń stosuje się wskaźnik energii metabolicznej wyrażonej w MJ na 1 kilogram suchej substancji. W przypadku bydła jednym z najpowszechniej stosowanych wskaźników energetycznych są jednostki paszowe produkcji mleka (JPM) lub jednostki paszowe produkcji żywca (JPŻ) (system INRA). Jedna jednostka JPM stanowi 1700 kcal energii netto laktacji, natomiast jednostka JPŻ odpowiada 1820 kcal energii netto żywca [26]. W JPM wyrażone są potrzeby krów mlecznych, jałówek hodowlanych i buhajów oraz bydła rzeźnego w opasie ekstensywnym, a w JPM – potrzeby pokarmowe bydła rzeźnego w opasie intensywnym [19].

## Wyniki i dyskusja

Przed przystąpieniem do oceny zdolności grzybów strzępkowych do biodegradacji ścieków przemysłu ziemniaczanego dokonano charakterystyki składu chemicznego surowego ścieku odbiałzonego (tab. 1).

Przeprowadzono hodowle bioreaktorowe 48- i 72-godzinne bez regulacji pH. Ze względów ekonomicznych zrezygnowano z regulacji pH w prowadzonych procesach. W przypadku wszystkich przeprowadzonych hodowli zaobserwowano wzrost wartości pH, z początkowego zakresu 5,35 - 5,45 do pH równego 7,8 - 9,4 po 72 h hodowli. Przebieg zmian pH był zbliżony we wszystkich prowadzonych hodowlach, niezależnie od zastosowanych szczepów grzybów strzępkowych (tab. 2).

Jednym z najistotniejszych parametrów charakteryzujących stopień oczyszczenia ścieków jest wskaźnik chemicznego zapotrzebowania tlenu. Zmiany tego wskaźnika były różne w zależności od czasu prowadzenia procesu biodegradacji, jak również od rodzaju użytego szczepu grzybów. Stwierdzono, że 72-godzinny proces pozwolił na uzyskanie wyższego stopnia redukcji ChZT aniżeli 48-godzinna hodowla. Najwyższą,

70-procentową redukcję wskaźnika ChZT uzyskano w 72-godzinnej hodowli szczepu *A. oryzae* 448, natomiast w przypadku szczepów *A. niger* 334 i *R. oligosporus* 2710 poziom redukcji był zbliżony i wyniósł odpowiednio 58 i 52 % (tab. 3).

Tabela 1

Charakterystyka ścieku odbiałzonego.  
Chemical profile of deproteinized wastewater.

pH	Zawartość suchej masy Dry matter content [g s.m./l] $\bar{x} \pm s / SD$	Zawartość substancji redukujących Content of reducing substances [g/l] $\bar{x} \pm s / SD$	ChZT / COD [mgO <sub>2</sub> /l] $\bar{x} \pm s / SD$	Zawartość fosforu Phosphate content [mg/l] $\bar{x} \pm s / SD$	Zawartość azotu Nitrogen content [mg/l] $\bar{x} \pm s / SD$
5,30	31,17 ± 5,41	4,392 ± 0,031	4120 ± 283,84	1018	3886

Objaśnienie: / Explanatory notes:

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

Tabela 2

Wartości pH ścieku po hodowli z użyciem grzybów strzępkowych.  
pH values of wastewater after cultivation with use of filamentous fungi.

Czas procesu Process duration time [h]	pH		
	<i>A. oryzae</i> 448	<i>A. niger</i> 334	<i>R. oligosporus</i> 2710
0	5,35	5,45	5,36
48	8,32	6,70	7,84
72	9,45	9,35	7,86

Tabela 3

Wyniki redukcji wskaźnika ChZT w ścieku po hodowli z użyciem grzybów strzępkowych.  
Results of COD reduction in wastewater after cultivation with use of filamentous fungi

Czas procesu Process duration time [h]	Redukcja wskaźnika ChZT COD reduction [%]		
	<i>A. oryzae</i> 448	<i>A. niger</i> 334	<i>R. oligosporus</i> 2710
48	41	24	28
72	70	58	52

Jin i wsp. [6] wykazali, że szczep *R. oligosporus* DAR 2710 był zdolny do redukcji ChZT ścieku krochmalniczego o 97 %. Z kolei mieszana kultura *R. oligosporus*

DAR 2710 i *A. oryzae* 3699 pozwoliła na redukcję ChZT o ponad 95 % [8]. Zastosowany w niniejszej pracy ściek był dużo bardziej oporny na procesy biodegradacji ze względu na skład chemiczny. Mishra i wsp [10], stosując kultury mieszane grzybów strzępkowych *A. niger* ITCC 2021 i *A. foetidus* MTTC 508 do oczyszczania ścieków pochodzących z produkcji chipsów ziemniaczanych, zaobserwowali zwiększenie redukcji ChZT w przypadku hodowli mieszanej, w stosunku do hodowli pojedynczych szczepów. Każdy z poszczególnych szczepów zmniejszył ChZT o 60 %, natomiast hodowla mieszana – o 90 %.

Dynamika wykorzystania cukrów redukujących z podłoża hodowlanego była zbliżona dla wszystkich testowanych mikroorganizmów. W hodowli 72-godzinnej najwyższym stopniem wykorzystania substancji redukujących (90 %) charakteryzował się szczep *R. oligosporus* 2710. W przypadku hodowli 48-godzinnych najefektywniejszym szczepem był *A. niger* 334. Jego stopień wykorzystania substancji redukujących oznaczonych wprost wyniósł 88 % (tab. 4).

Tabela 4

Stopień wykorzystania substancji redukujących w ścieku po hodowli z użyciem grzybów strzępkowych.  
Degree of utilization of reducing substances in wastewater after cultivation with use of filamentous fungi.

Czas procesu Process duration time [h]	Wykorzystanie subst. red. / Utilization of reducing substances [%]		
	<i>A. oryzae</i> 448	<i>A. niger</i> 334	<i>R. oligosporus</i> 2710
48	86,41	87,94	85,17
72	88,61	84,85	90,04

Przeprowadzone procesy biodegradacji ścieku z przemysłu ziemniaczanego pozwoliły na uzyskanie znacznej redukcji zawartości pierwiastków biogenych. W przypadku fosforu ogólnego korzystna okazała się hodowla 48-godzinna przy użyciu szczepu *R. oligosporus* 2710, w wyniku której redukcji uległo 83,2 % zawartości tego pierwiastka w ścieku. Niższy stopień redukcji fosforu otrzymano w hodowli 72-godzinnej. Kształtował się on w granicach 57,4 % w przypadku *R. oligosporus* 2710. Z kolei 72-godzinny proces biodegradacji ścieku powodował większą redukcję azotu ogólnego. Największe wykorzystanie tego pierwiastka biogenego zaobserwowano podczas hodowli z użyciem *A. oryzae* 448. Pleśń ta powodowała redukcję azotu ogólnego w ścieku o około 82 % (tab. 5).

Jin i wsp. [7] wykazali, że mieszana kultura *R. oligosporus* DAR 2710 i *A. oryzae* 3699 w hodowli bioreaktorowej zdolna jest usunąć ok. 75 % fosforu ogólnego i azotu ogólnego ze ścieków pochodzących z zakładu produkującego skrobię i gluten z kukurydzy i pszenicy. Kida i wsp. [8] zaobserwowali ubytek zawartości fosforu o 80 % przy

zastosowaniu szczepu *A. awamori* do biodegradacji ścieków z produkcji shochu z ryżu. Natomiast *R. oryzae* AS 3254 zdolny był do redukcji zawartości azotu o 50,3 % podczas hodowli 30-godzinnej w ścieku pochodzącym z przetwórstwa ryb morskich [5]. Ilość wytworzonej biomasy w poszczególnych hodowlach ścieku ziemniaczanego różniła się w zależności od zastosowanych szczepów, jak i od czasu prowadzenia procesu oczyszczania. W wyniku przeprowadzonych eksperymentów stwierdzono, że 48-godzinny proces hodowli był wystarczający, aby uzyskać największą ilość biomasy pleśniowej, niezależnie od rodzaju zastosowanego szczepu pleśni. Największą produktywnością biomasy wykazał się szczep *A. niger* 334 zarówno podczas 48-, jak i 72-godzinnej hodowli i wytworzył jej odpowiednio 13,2 g s.m./l (48 h) i 8,7 g s.m./l (72 h) (tab. 6).

Tabela 5

Stopień redukcji fosforu ogólnego i azotu ogólnego w ścieku po hodowli z użyciem grzybów strzępkowych.

Reduction degree of total phosphorus and total nitrogen in wastewater after cultivation with use of filamentous fungi.

Czas procesu Process duration time [h]	Redukcja pierwiastków biogenych / Reduction of biogenic substances [%]					
	<i>A. oryzae</i> 448		<i>A. niger</i> 334		<i>R. oligosporus</i> 2710	
	Fosfor ogólny Total phosphorus	Azot ogólny Total nitrogen	Fosfor ogólny Total phosphorus	Azot ogólny Total nitrogen	Fosfor ogólny Total phosphorus	Azot ogólny Total nitrogen
48	73,68	48,71	79,67	50,32	83,23	52,88
72	60,19	82,55	65,21	66,93	57,35	53,24

Tabela 6

Ilość biomasy grzybowej uzyskanej w bioreaktorze laboratoryjnym podczas hodowli z użyciem grzybów strzępkowych.

Amount of fungal biomass obtained in laboratory bioreactor during cultivation with use of filamentous fungi.

Czas procesu Process duration time [h]	Biomasa grzybowa / Fungal biomass [g s.m./l] / [g d.m./l]		
	<i>A. oryzae</i> 448	<i>A. Niger</i> 334	<i>R. oligosporus</i> 2710
48	6,32	13,22	7,84
72	5,77	8,69	5,57

Mishra i wsp. [10], stosując kultury mieszane grzybów strzępkowych *A. niger* ITCC 2021 i *A. foetidus* MTTC 508 do oczyszczania ścieków pochodzących z produkcji chipsów ziemniaczanych, zaobserwowali wzrost produkcji biomasy w przypadku

hodowli mieszanych (4,55 g s.m./l) w stosunku do hodowli pojedynczych szczepów (*A. niger* - 2,8 g s.m./l i *A. foetidus* 2,4 g s.m./l).

Kolejnym etapem badań było sprawdzenie przydatności paszowej uzyskanych biomas pleśniowych, które polegało na porównaniu składu chemicznego i wartości energetycznej. W podstawowej ocenie wartości pokarmowej paszy uwzględniono zawartość takich składników, jak: białko ogólne, tłuszcz, związki mineralne w postaci popiołu, włókno surowe oraz suchą substancję i uzyskaną energię [22]. W tab. 7. przedstawiono charakterystykę chemiczną uzyskanych biomas pleśniowych.

Tabela 7

Charakterystyka chemiczna uzyskanych biomas pleśniowych.  
Chemical profile of fungal biomass.

Szczep Strain	Zawartość suchej masy Dry matter content	Zawartość popiołu Ash content	Zawartość białka Protein content	Zawartość tłuszczu Fat content	Zawartość włókna surowego Content of raw fibre	Zawartość związków bezzotowych wyciągowych Content of nitrogen-free extract	Strawność białka Protein digestibility
	[%]	[% s.m.]					[%]
<i>A. oryzae</i> 448	93,11 ± 0,42	0,21 ± 0,07	41,98 ± 1,36	11,59 ± 1,65	22,77 ± 0,54	31,43 ± 0,87	40,76 ± 0,31
<i>A. niger</i> 334	94,06 ± 0,84	0,116 ± 0,34	44,39 ± 0,65	12,42 ± 0,45	27,525 ± 0,55	23,36 ± 1,09	31,00 ± 0,71
<i>R. oligosporus</i> 2710	91,85 ± 0,94	0,15 ± 0,09	42,46 ± 0,89	16,22 ± 1,12	14,61 ± 0,99	36,35 ± 0,60	59,90 ± 0,83

Objaśnienie: / Explanatory notes:

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

Wytworzona biomasa charakteryzowała się dużą zawartością białka ogólnego. Najwięcej – ponad 44 % s.m. stanowiło białko w biomacie uzyskanej z *A. niger* 334, natomiast nieznacznie mniej – około 42 % w biomacie powstałej w wyniku fermentacji z użyciem *R. oligosporus* 2710 i *A. oryzae* 334. Białko biomas grzybowych charakteryzowało się strawnością w przedziale od 31 do 59,9 %. Największą przyswajalnością białka cechowała się biomasa *R. oligosporus* 2710, a najmniejszą, znacznie odbiegającą od pozostałych, biomasa z *A. niger* 334.

Jak podaje Szoltysek [24], grzybnia *A. niger* 334 powstała podczas produkcji kwasu cytrynowego zawierała znaczne ilości białka (18,3 - 26,7 % s.m.), ale były one mniejsze od wartości uzyskanych w niniejszych badaniach, w przypadku biomas grzybowych pozyskanych w wyniku biodegradacji ścieku ziemniaczanego. Strawność białka biomasy, uzyskanej w procesie produkcji kwasu cytrynowego, kształtowała się na

poziomie 50,1 % [22]. Z kolei biomasa *A. oryzae* 11 z kolekcji Instytutu Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego w Warszawie, uzyskana w wyniku hodowli na podłożu stałym, charakteryzowała się zawartością białka na poziomie od 31,4 do 32,8 %, ale jego strawność była znacznie większa niż uzyskana w niniejszych badaniach i sięgała nawet 78,2 % [2].

Zawartość tłuszczu w biomacie pleśniowej *A. niger* wyhodowanej w ścieku odbiałczonym wynosiła 12,5 % s.m. Była ona znacznie większa od wartości otrzymanej przez Santosa i Gómeza [21] w biomacie *A. fumigatus* wyhodowanej na odpadach z manioku (3,1 %) i oznaczonej przez Szołtysek [24] w biomacie *A. niger* pochodzącej z produkcji kwasu cytrynowego (3,6 % s.m.). Najwięcej związków mineralnych (popiołu) zawierała biomasa *A. oryzae* (0,21 % s.m.), a najmniej – biomasa *A. niger* (0,11 % s.m.) (tab. 7). Natomiast w innych badaniach zawartość ta kształtowała się w granicach od 1,7 do 6 % w biomacie *A. niger* [24] oraz ok. 4,3 % w *A. fumigatus* [21]. Przebadana biomasa pleśniowa zawierała włókno surowe w ilości od 14,6 do 27,5 % s.m., a związki bezazotowe wyciągowe stanowiły od 23,3 do 36,4 % s.m. Santos i Gómez [21] wykazali, że w biomacie *A. fumigatus* ilość tych frakcji kształtuje się na poziomie odpowiednio 20 i 27,9 % s.m., a Szołtysek [24] oznaczyła aż 35 % włókna w biomacie *A. niger*. Zawartość analizowanych substancji, jak i gatunek zwierząt, dla którego przeznaczona jest pasza, wpływają na jej strawność. Bardzo ważnym czynnikiem ograniczającym przyswajalność składników karmy jest włókno surowe zarówno przy zastosowaniu dla przeżuwaczy, jak i dla zwierząt monogastrycznych. Wzrost jego zawartości w paszy o 1 % zmniejsza strawność substancji organicznej w przypadku bydła o 0,88 %, świń – o 1,68 % i kur – o 2,33 % [1]. Tłuszcz nie ma większego wpływu na strawność, dopiero jego duże ilości przyczynią się do przyspieszenia pasażu treści przez przewód pokarmowy, wpływając tym samym negatywnie na przyswajalność składników odżywczych. Natomiast dodatek białka ogólnego wpływa z reguły korzystnie na strawność u wszystkich zwierząt pod warunkiem dobrego zbilansowania go w stosunku do energii w dawce. Zwiększenie zawartości białka w paszy dla bydła o ok. 18 % s.m. spowodowało wzrost współczynników strawności substancji organicznych o 15 % [1, 19].

Przydatność paszową uzyskanych biomas dla trzody chlewnej mierzono wskaźnikiem energii metabolicznej (EM), wyrażonej w MJ na 1 kilogram suchej masy. Najwięcej energii metabolicznej dostarczyła biomasa *R. oligosporus* 2710 (ok. 14,5 MJ/kg s.m.), a najmniej – biomasa *A. niger* 448 – około 10,66 MJ/kg s.m (tab. 8). Mimo takiego zróżnicowania, uzyskane wartości są dużo wyższe od EM biomasy *Medusomyces giseveii* (ok. 8,9 MJ/kg s.m.), powstającej w procesie fermentacji czarnej herbaty, obliczonej przez Murugesana [11]. Dla trzody chlewnej prawidłowa koncentracja energii metabolicznej w dawkach powinna wynosić od 14 do 15 MJ w 1 kg suchej masy, co odpowiada 12 - 13 MJ/kg mieszanki pełnodawkowej. Zatem biomasa uży-



skana w wyniku biodegradacji ścieków ziemniaczanych przy użyciu grzybów strzępkowych może być wartościowym komponentem znacznie zwiększającym wartość energetyczną paszy dla świń. W odniesieniu do bydła, w biomase pleśniowej wszystkich zastosowanych szczepów, otrzymanej w wyniku biodegradacji ścieków, jednostki energetyczne miały zbliżoną wartość i kształtowały się na poziomie od 1,41 do 1,77 JPM oraz od 1,42 do 1,87 JPŻ. Dla porównania, w przypadku owsa jest to odpowiednio 1,03 JPM i 0,98 JPŻ, a żyta – 1,18 JPM i 1,22 JPŻ [18]. W systemie francuskim INRA wyrażana jest również wartość białkowa pasz, która uwzględnia powiązanie przemian azotowych w żywcu z przemianami energetycznymi. Określa się ją dwoma wskaźnikami: BTJN – białko trawione w jelicie z przemian azotowych i BTJE – białko trawione w jelicie z przemian energetycznych. W biomase grzybowej BTJN wyniosła od 243,66 do 260,84 g/kg s.m. (tab. 8) i była znacznie wyższa od wartości odnoszących się do owsa – 74 g/kg s.m.) i żyta – 80 g/kg s.m. Natomiast BTJE odznaczało się zawartością od 54,40 do 70,97 g/kg s.m. (tab. 8) i było mniejsze od BTJE odnoszącego się do owsa – 84 g/kg s.m. i żyta – 104 g/kg s.m.) [13, 15]

Tabela 8

Wyniki energetycznej oceny przydatności paszowej biomasy uzyskanej w wyniku biodegradacji ścieków przemysłu ziemniaczanego.

Results of assessing energy value-related feed usefulness of biomass, obtained from biodegradation of wastewater from potato industry

Szczep Strain	Przydatność paszowa biomasy: / Feed usefulness of biomass:								
	dla trzody chlewnej / for pigs					dla bydła / for cattle			
	BS	TS	WS	BWS	EM [MJ/kg s.m.]	JPM [jednostka JPM]	JPŻ [jednostka JPŻ]	BTJN [g/kg s.m.]	BTJE [g/kg s.m.]
<i>A. oryzae</i> 448	160,46	65,22	106,75	271,12	11,98	1,41	1,43	245,92	62,82
<i>A. Niger</i> 334	129,44	70,08	129,45	202,12	10,66	1,41	1,42	260,84	66,12
<i>R. oligosporus</i> 2710	233,63	89,40	67,10	307,19	14,47	1,54	1,59	243,66	62,31

Objaśnienia: / Explanatory notes:

BS – białko strawne / digestible protein; TS – tłuszcz strawny / digestible fat; WS – włókno surowe / digestible fiber; BWS – strawne związki bezazotowe wyciągowe / digestible compounds nitrogen-free extraction; EM – wskaźnik energii metabolicznej / metabolic energy indicator; JPM – jednostka paszowa produkcji mleka (1 jednostka JPM odpowiada 1700 kcal energii netto laktacji) / FUL Feed Unit for Lactation (1 FUL unit equals 1700 kcal of net energy of lactation); JPŻ – jednostka paszowa produkcji żywca (1 jednostka JPŻ odpowiada 1820 kcal energii netto żywca / FUEC Feed Unit Energy for Cattle (1 FUEC equals 1820 kcal of net energy for cattle); BTJN – białko trawione w jelicie z przemian azotowych / protein digested in intestine, from nitrogen transformation; BTJE – białko trawione w jelicie z przemian energetycznych / protein digested in intestine, from energy transformations.

Suplementację paszy biomasa pleśniową, otrzymaną w procesie biodegradacji ścieków odbiałczonych należy uznać za zasadną w skarmianiu bydła i trzody chlewnej. Biomasa ta może w znacznym stopniu zaspokoić potrzeby energetyczne zwierząt oraz dostarczyć wartościowego białka. Może ona stanowić cenny dodatek do paszowej mieszanki produkcyjnej.

### Wnioski

1. Efektywność biodegradacji ścieku z przemysłu ziemniaczanego i produkcja biomasy zależą od rodzaju użytego szczepu grzybów strzępkowych i od czasu hodowli.
2. W hodowlach bioreaktorowych prowadzonych przez 48 h uzyskano większy przyrost biomasy grzybowej niż w hodowlach 72-godzinnych. Przedłużenie czasu biodegradacji do 72 h wpłynęło ujemnie na produkcję biomasy, pozwoliło jednak na uzyskanie wyższego stopnia oczyszczenia ścieku.
3. Największą redukcję ChZT (o 70 %) uzyskano po zastosowaniu *A. oryzae* 448.
4. Prowadzone procesy oczyszczania pozwoliły na wysoką redukcję zawartości pierwiastków biogennych, przy czym czas hodowli 48-godzinnej był korzystniejszy do usunięcia fosforu (o 74 - 83 %), a 72-godzinna hodowla powodowała większy stopień redukcji azotu (o 53 - 82 %).
5. Wytworzona biomasa charakteryzowała się dużą zawartością białka (42 - 44 %) i wysoką energetyczną wartością paszową zarówno dla trzody chlewnej (EM od 10,7 do 14,5 MJ/kg s.m.), jak i dla bydła (od 1,41 do 1,54 JPM).

### Literatura

- [1] Abgarowicz F., Burzyński B., Chachułowa J., Fabiańska M., Karaś J., Szymona K., Witczak F.: Żywnienie zwierząt. PWRiL, Warszawa 1976.
- [2] Czajkowska D., Zakrzewski A., Myszka L.: Wzbogacenie odpadów przemysłu spożywczego w białko grzybów mikroskopowych, hodowanych na podłożu stałym. W: Wykorzystanie biotechnologii w produkcji pasz dla zwierząt gospodarskich. Red. S. Sobczak. Wyd. SGGW-AR w Warszawie, Warszawa 1983.
- [3] Czarnecki Z., Czarnecka M.: Tradycyjne wykorzystanie mikroorganizmów w produkcji żywności. W: Mikroorganizmy w żywności i żywieniu. Red. J. Gawęcki i Z. Libudzisz. Wyd. Akademii Rolniczej im. A. Cieszkowskiego w Poznaniu, Poznań 2006.
- [4] Gawęcki K.: Ćwiczenia z żywienia zwierząt i paszoznawstwa. Wyd. AR w Poznaniu, Poznań 1994.
- [5] Huang L.P., Dong T., Chen J. W.: Biotechnological production of lactic acid integrated with fish-meal wastewater treatment by *Rhizopus oryzae*. Bioproc. Biosyst. Eng., 2007, **30**, 135-140.
- [6] Jin B., van Leeuwen J.H., YU Q., Patel B.: Screening and selection of microfungi for microbial biomass protein production and water reclamation from starch processing wastewater. J. Chem. Technol. Biotechnol., 1999, **74**, 106-110.
- [7] Jin B., Yan X.Q., YU Q., Van Leeuwen J.H.: A comprehensive pilot plant system for fungal biomass protein production and wastewater reclamation. Adv. Environ. Res., 2002, **6**, 179-189.

- [8] Kida K., Morimura S., Abe N., Sonada Y.: Biological treatment of shochu distillery wastewater. *Process Biochem.*, 1995, **39**, (2), 125-132.
- [9] Konieczny P., Szymański M.: Ścieki z przemysłu spożywczego – charakterystyka, zagrożenia, korzyści. *Przegl. Komunalny*, 2007, **2**, 88-100.
- [10] Mishra K., Aurora A., Lata M.: Optimization of a biological process for treating potato chips industry using a mixed culture of *Aspergillus foetidus* and *Aspergillus niger*. *Bioresour. Technol.*, 2003, **94**, 9-12.
- [11] Murugesan G.S., Sathishkumar M., Swamina Than K.: Supplementation of waste tea fungal biomass as a dietary ingredient for broiler chicks. *Bioresour. Technol.*, 2005, **96**, 1743-1748.
- [12] Muller G.L.: Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.*, 1959, **31**, (3), 426-428.
- [13] Normy żywienia bydła, owiec i kóz. Wartość pokarmowa pasz dla przeżuwaczy. Wydanie II. IZ, Kraków 1993.
- [14] Nowak J.: Żywność fermentowana w kuchni różnych narodów. *Mikroorganizmy w żywności i żywieniu* Wyd. AR w Poznaniu, Poznań 2006.
- [15] Nowak W.: Żywnienie krów według norm INRA. *Top Agar Polska*, 1998, **3**, 120-123.
- [16] PN-ISO 6060:2006. Woda i ścieki. Badanie zapotrzebowania tlenu i zawartości węgla organicznego. Oznaczenie chemicznego zapotrzebowania tlenu (ChZT) metodą dwuchromianową.
- [17] PN-EN ISO 5983-2:2006. Pasze – oznaczanie zawartości azotu i obliczanie zawartości białka ogólnego. Cz. 2: Metoda mineralizacji w bloku/destylacji z parą wodną.
- [18] Dymniecka M., Sokoła J.L. (Red.): *Podstawy żywienia zwierząt*. Wyd. SGGW, Warszawa 2001.
- [19] Jamroz D., Podkówa W., Chachułowa J. (Red.): *Żywnienie zwierząt i paszoznawstwo*. Paszoznawstwo. T. III. Wyd. Naukowe PWN, Warszawa 2006.
- [20] Project QLK3 -1999 - 00004: "Enhanced, Intelligent Processing of Food and Related Wastes using Thermophilic Populations", realizowany w ramach V Programu Ramowego UE.
- [21] Santos J., Gomez G.: Fungal protein produced on Cassava for growing rats and pigs. *J. Anim. Sci.*, 1983, **56**, 264-270.
- [22] Skulimowski J.: *Metody oznaczania składu pasz i ich jakości PWRiL*, Warszawa.
- [23] Skupin J., Chełkowski J., Olejnik D.: *Ćwiczenia z metod analizy żywności*. Wyd. AR w Poznaniu, Poznań 1978.
- [24] Szołtysek K.: Ocena przydatności grzybní *Aspergillus niger* w przemyśle paszowym. *Przem. Ferment. Owoc. Warz.*, 1997, **7**, 25 -26.
- [25] Tomczak E., Nowak J., Czarnecki Z.: Przydatność testów kuwetowych do analizy składu i obciążenia ścieków przemysłu spożywczego. *Aparatura Badawcza i Dydaktyczna*, 2002, **7** (1), 143-149.
- [26] Wróbel B.: Obliczanie wartości energii netto pasz objętościowych na podstawie systemu INRA. *Chów Bydła*, 2002, **2**, 20-22.

## **APPLYING FILAMENTOUS FUNGI TO BIODEGRADATION OF WASTEWATER FROM POTATO INDUSTRY WITH SIMULTANEOUS PRODUCTION OF MOULD BIOMASS FOR FORAGE**

### **S u m m a r y**

Three strains of filamentous fungi (*A. oryzae* 448, *A. niger* 334, and *R. oligosporus* 2710) were used for the biodegradation of highly loaded wastewater from the potato industry. The wastewater was obtained in a protein recovery unit from potato juice water (deproteinized wastewater). The wastewater treatment process was carried out 48 and 72 h in a Biostat B laboratory fermentor the working volume of

which was 1.5 l. During the 72h process, the *A. oryzae* 448 strain caused the COD to decrease by 70 %. The *A. niger* and *R. oligosporus* strains used to treat the wastewater caused the COD level to similarly decrease, i.e. by 58 % and 52 %, respectively. The application of the selected moulds to the biodegradation of potato wastewater resulted in a very high reduction of biogenic substances. In the case of total phosphorus, cultivating the *R. oligosporus* 2710 strain for 48 h proved beneficial; during this period, the amount of this element in wastewater was reduced by 82 %. Then again, the amount of the nitrogen compounds was reduced by 83 % during the 72h biodegradation process with the use of the *A. oryzae* 448 strain. Regardless of the type of mould tested, the highest amount of mould biomass was produced during the 48h fermentation process. The *A. niger* 334 strain proved to have the highest biomass productivity (13.2 g d.m. / l of wastewater). The biomass produced was characterized by a high content of protein (42 - 44 %) and a high feed energy value.

**Key words:** biodegradation, filamentous fungi, COD, biogenic substances, biodegradation, mould biomass 

MAGDALENA NIEWCZAS

## KRYTERIA WYBORU ŻYWNOSCI

### Streszczenie

Na rynku żywności występuje nadwyżka podaży nad popytem. Istniejący stan nierównowagi skłania producentów do poznawania kryteriów wyboru żywności przez konsumentów, aby sprostać ich oczekiwaniom, a tym samym skutecznie konkurować na tym rynku.

Celem pracy było określenie preferencji i kryteriów wyboru żywności na podstawie wyników badań przeprowadzonych wśród konsumentów z rejonu południowo-wschodniej Polski. Stwierdzono, że przy wyborze żywności konsumenci zwracali uwagę przede wszystkim na termin przydatności do spożycia (93,7 % wskazań), cenę (63,6 %) i jej skład (62,2 %). W bardzo małym stopniu interesowały ich informacje o wyprodukowaniu zgodnie z zasadami HACCP/ISO 22000 (11,9 %). Kobiety częściej niż mężczyźni zwracały uwagę na skład produktu – 69 % kobiet biorących udział w badaniu wybrało tę odpowiedź ( $p = 0,05$ ). Osoby legitymujące się wykształceniem wyższym (51,1 % wskazań) częściej niż pozostali respondenci zwracały uwagę na ten element znakowania żywności. Mieszkańcy miast przywiązywali większą wagę do składu wybieranych produktów niż mieszkańcy wsi. Skład produktu był szczególnie ważny dla osób z gospodarstw o miesięcznym dochodzie wynoszącym powyżej 1600 zł netto na osobę. Ten element oznakowania etykiet był najmniej ważny dla respondentów z gospodarstw o dochodzie do 800 zł. Dla tych konsumentów czynnikiem wpływającym na zakup żywności była przede wszystkim cena. Na informację o wyprodukowaniu wyrobu zgodnie z zasadami HACCP/ISO 22000 większą uwagę zwracały kobiety (76,5 % wskazań). Była ona również ważna przy wyborze produktu spożywczego dla respondentów w wieku powyżej 40 lat (38,2 % wskazań).

**Słowa kluczowe:** wybór żywności, preferencje, cena, skład produktu, termin przydatności do spożycia

### Wprowadzenie

Zachowania konsumentkie to: „czynności i działania podejmowane w celu pozyskania dóbr i usług służących zaspokojeniu potrzeb zgodnie z odczuwaną hierarchią preferencji oraz ogół sposobów ich wykorzystania” [13]. Zdaniem Falkowskiego i Tyszki [3] zachowania konsumentkie „obejmują wszystko to, co poprzedza, zachodzi w trakcie i następuje po nabyciu przez konsumenta dóbr i usług”.

Sposób odżywiania się i zachowania konsumentów wobec żywności można scharakteryzować poprzez [5]:

- bodźce wewnętrzne – odczuwany głód, łaknienie, zinternalizowane normy konsumpcyjne (traktowane jako własne zasady postępowania, które są przyjęte przez jednostkę w konsekwencji wychowania, socjalizacji),
- bodźce zewnętrzne – czynniki ekonomiczne związane z oddziaływaniem elementów marketingu żywnościowego.

Podaż żywności jest uwarunkowana ogólnym poziomem rozwoju gospodarczego kraju. Dochód konsumenta decyduje o możliwości zaspokojenia potrzeb żywnościowych. Nadkonsumpcję żywności, spożywanie żywności o wysokiej wartości energetycznej, głównie tłuszczów, mięsa, można zaobserwować w krajach o wyższym poziomie PKB w przeliczeniu na jednego mieszkańca. W krajach o najniższym PKB na mieszkańca występuje niedostateczna podaż żywności. Na podstawie analizy dochodów i wydatków konsumentów stwierdzono, że im wyższy stopień rozwoju gospodarczego danego kraju i dochodów mieszkańców, tym mniejszy udział wydatków na żywność w całości wydatków gospodarstw domowych [5].

Konsument nabywają produkty, aby zaspokoić swoje potrzeby. Na decyzję o zakupie wpływają również ich preferencje, czyli układ ocen produktu, gusty – upodobania i zamiłowanie do wyboru określonego produktu.

Na proces dokonywania zakupów składa się 10 etapów [11]: 1) odczucie potrzeby, 2) ogólna, niesprecyzowana wiedza o towarze, nieświadomość dotycząca marki i dostawcy, 3) świadomość – konsument wie o istnieniu na rynku towaru danej marki lub określonego dostawcy, 4) zrozumienie – poznanie podstawowych informacji o towarze, 5) przekonanie o słuszności argumentów przemawiających za towarem, 6) preferencje – potencjalny nabywca jest przekonany o tym, że dany towar jest lepszy od innych, 7) zamiar zakupu, 8) zakup, 9) pozytywna lub negatywna ocena dokonanego zakupu, 10) następstwa zakupu – lojalność lub dysonans pozakupowy.

Preferencje żywieniowe są rezultatem oddziaływania genetycznych predyspozycji oraz czynników środowiskowych. Człowiek ma genetycznie uwarunkowane preferencje względem smaku słodkiego i słonego oraz awersje względem smaku gorzkiego i kwaśnego. Preferencje wyuczone powstają pod wpływem oddziaływania otoczenia, doświadczeń. O preferencjach względem żywności decydują [6]:

- cechy charakterystyczne żywności: smak, zapach, konsystencja, wygląd,
- cechy indywidualne: wiek, płeć, masa ciała, światopogląd, status ekonomiczny, wiedza o żywności, osobowość,
- cechy związane z otoczeniem społecznym: postawy rodziców, relacje rodzinne, oddziaływanie rówieśników, środki masowej komunikacji, religia.

Na wybór określonego towaru przez konsumenta ma wpływ również opinia innych osób, reklama, przeznaczenie tego produktu – mniej czasu poświęca się na zakup

podstawowych produktów spożywczych, np. mleka, a więcej na zakup produktu spożywczego, który ma być prezentem, wyrazem wdzięczności, np. bombonierka.

Konsumenci mogą wybierać spośród szerokiej oferty asortymentowej produktów spożywczych. Każdy konsument ma własną hierarchię preferencji. Wybiera ten produkt, który w największym stopniu spełnia jego wymagania. Wśród czynników, które są brane pod uwagę przez konsumenta przy dokonywaniu zakupu żywności w pierwszej kolejności należy wymienić: świeżość, cechy sensoryczne produktów oraz ich wpływ na zdrowie.

Do istotnych czynników wpływających na zachowanie konsumenta podczas dokonywania wyboru żywności, zdaniem Ozimek i Gutkowskiej [9], można zaliczyć: indywidualne preferencje (lubię produkt, smakuje mi), kulturę, zwłaszcza zwyczaje, tradycję, religię, presję społeczną (produkt jest rekomendowanych przez innych), dostępność na rynku (brak substytutów lub ich nadmiar), walory użytkowe (wygoda, łatwość w przygotowaniu posiłków), aspekty ekonomiczne (cena i związany z nią ekwiwalent korzyści, dochód konsumenta), charakterystykę żywieniową produktu, działania promocyjne, przyzwyczajenie. Na zakup żywności w dużym stopniu wpływają również czynniki związane z postrzeganiem jakości przez konsumenta, np. przez określoną markę czy w mniejszym stopniu certyfikaty wdrożenia systemów zarządzania i zapewnienia jakości.

Płeć jest jednym z kluczowych czynników charakteryzujących konsumenta. Kobiety na ogół poszukują żywności o mniejszej wartości energetycznej, spożywają mniej mięsa, dążą do odżywiania się w sposób racjonalny, często kierują się modą w sposobie odżywiania. W większym stopniu niż mężczyźni są zainteresowane kwestiami dotyczącymi żywności i sposobu odżywiania.

Celem pracy było określenie na podstawie badań ankietowych kryteriów wyboru żywności oraz ich zróżnicowania w różnych segmentach konsumentów.

### **Material i metody badań**

Badania przeprowadzono w okresie od września do końca grudnia 2011 r. Zostały one poprzedzone badaniami pilotażowymi, które przeprowadzono dwukrotnie: w styczniu 2010 roku w Nowym Sączu na grupie 100 respondentów, dobranych do badania w sposób przypadkowy oraz w marcu 2011 r. w Krakowie na grupie 100 respondentów. Miały one charakter badań ilościowych przeprowadzonych za pomocą kwestionariusza ankiety. Celem badań pilotażowych było testowanie kwestionariusza ankiety oraz doprecyzowanie/uzupełnienie pytań. Badania właściwe prowadzone były przez przeszkolonych ankietów w wywiadach bezpośrednich. Kwestionariusz ankiety stosowany w badaniach właściwych był ustrukturyzowany, składał się z 22 pytań. Większość pytań było typu zamkniętego z możliwością wyboru jednej lub kilku odpowiedzi. W niektórych możliwe było uzupełnieniem podanych do wyboru odpowiedzi



Tabela 1

Charakterystyka respondentów.  
Profile of respondents.

Cecha Feature	Segment Section	Miara Measure	Województwo: / Province:			Razem Total
			małopolskie	podkarpackie	lubelskie	
Płeć Gender	kobiety women	N	246	78	144	468
		[%]	61,8	72,2	69,9	65,7
	mężczyźni men	N	152	30	62	244
		[%]	38,2	27,8	30,1	34,3
Wiek Age	16 - 24 lata / years	N	105	38	89	232
		[%]	26,4	35,2	43,2	32,6
	25 - 39 lat / years	N	155	37	59	251
		[%]	38,9	34,3	28,6	35,3
	40 - 59 lat / years	N	111	26	48	185
		[%]	27,9	24,1	23,3	26,0
	60+ lat / years	N	27	7	10	44
		[%]	6,8	6,5	4,9	6,2
Wykształcenie Education	podstawowe lub zasadnicze zawodowe primary or basic vocational	N	74	11	13	98
		[%]	18,6	10,2	6,3	13,8
	średnie secondary	N	160	51	79	290
		[%]	40,2	47,2	38,4	40,7
	wyższe higher	N	164	46	114	324
		[%]	41,2	42,6	55,3	45,5
Liczba osób w gospodarstwie domowym Number of persons in household	1	N	27	5	3	35
		[%]	6,8	4,6	1,5	4,9
	2	N	68	17	38	123
		[%]	17,1	15,7	18,5	17,3
	3	N	82	18	47	147
		[%]	20,6	16,7	22,8	20,7
	4	N	119	41	72	232
		[%]	29,9	38,0	35,0	32,6
	5+	N	102	27	46	175
		[%]	25,6	25,00	22,3	24,6
Miejsce zamieszkania Place of residence	miasto powyżej 100 tys. mieszkańców city with more than 100,000 residents	N	116	33	88	237
		[%]	29,2	31,1	43,1	33,3
	miasto do 100 tys. miesz- kańców / city with less than 100,000 residents	N	164	33	43	240
		[%]	41,3	31,1	21,1	33,7
	wieś / village	N	117	40	73	230
		[%]	29,5	37,7	35,8	32,3

c.d. Tab. 1

Dochód netto na osobę w rodzinie Net income per member of family	poniżej / below 800 zł	N	84	37	46	167
		[%]	21,6	34,6	22,3	23,5
	800 - 1200 zł	N	107	30	79	216
		[%]	27,5	28,0	38,4	30,3
	1201 - 1600 zł	N	81	14	41	136
		[%]	20,8	13,1	19,9	19,1
	1600+ zł	N	117	26	40	183
		[%]	30,1	24,3	19,4	25,7

Źródło: badania własne / Source: the author's own study.

o własne opinie. W badaniu uczestniczyło 712 respondentów z trzech województw południowo-wschodniej Polski: małopolskiego, podkarpackiego i lubelskiego. Respondenci byli dobierani do badania w sposób przypadkowy. Charakterystykę respondentów przedstawiono w tab. 1.

Do analizy wyników zastosowano test niezależności  $\chi^2$ . Hipotezę zerową o niezależności obu zmiennych odrzucano, jeśli obliczona wartość  $\chi^2$  była wyższa od wartości granicznej (na poziomie istotności  $p = 0,05$ ). Orzekano wówczas, że zmienna niezależna (cecha charakteryzująca respondentów) wpływa na zmienną zależną (częstość występowania określonej kategorii odpowiedzi na postawione pytanie). Obliczenia wykonano w programie Statistica 9.

## Wyniki i dyskusja

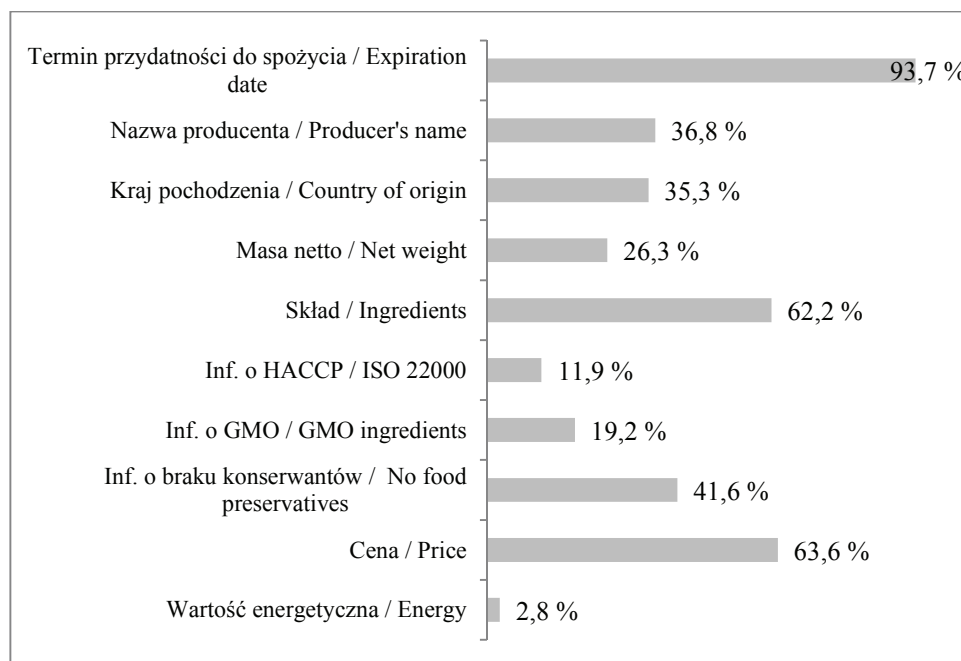
Podmioty wprowadzające żywność do obrotu mają obowiązek odpowiedniego jej znakowania. Etykieta produktu stanowi również prezentację cech żywności dla konsumenta oraz wpływa na akceptację i wybór produktu. Dla pewnych grup konsumentów określone informacje mają szczególną wagę. Konsumenty biorący udział w badaniu przy wyborze żywności najczęściej zwracali uwagę na: termin przydatności do spożycia (93,7 % wskazań), cenę (63,6 %) oraz skład produktu (62,2 %) (rys. 1). Rzadziej na ich wybory wpływały informacje o braku konserwantów, nazwie producenta oraz kraju pochodzenia. Rzadziej deklarowali, że przywiązują wagę do informacji o wyprodukowaniu zgodnie z zasadami HACCP/ ISO 22000. Spoza zaproponowanego zestawu odpowiedzi do wyboru, kobiety (głównie w wieku do 24 lat) wskazywały również wartość energetyczną produktu.

Na podstawie analizy wartości  $\chi^2$  stwierdzono, że statystycznie istotny ( $p = 0,05$ ) wpływ na postrzeganie określonych informacji na opakowaniu żywności miały: wiek, płeć, dochód, poziom wykształcenia, miejsce zamieszkania, województwo. Nie stwierdzono statystycznie istotnego różnicowania odpowiedzi ze względu na liczbę osób w gospodarstwie domowym (tab. 2).

*Kraj pochodzenia żywności*

Kraj pochodzenia był ważny dla osób w wieku powyżej 40 lat (39,0 % wskazań). Ta informacja natomiast była rzadziej brana pod uwagę przez młodych konsumentów w wieku 16 - 24 lat (24,3 % wskazań). Tym rodzajem informacji byli bardziej zainteresowani mieszkańcy miast powyżej 100 tys. mieszkańców aniżeli mieszkańcy mniejszych miast (odpowiednio 40,6 i 28,3 % wskazań). Wyniki analizy zróżnicowania odpowiedzi przedstawiono w tab. 3.

Według Baruk [2] większość mężczyzn uważa, że kraj pochodzenia ma wpływ na jakość produktu. Pod względem jakości wyższej oceniają oni produkty zagraniczne. Kobiety nie wyraziły takiego poglądu. Według Ozimek i Gutkowskiej [9] Polacy chętniej wybierają produkty polskiego pochodzenia, ponieważ uważają je za bardziej bezpieczne.



Objaśnienie: / Explanatory note: możliwe było wybranie więcej niż jednej odpowiedzi. / It was possible to select more than one answer.

Rys. 1. Informacje, na które konsumenci zwracają uwagę przy wyborze żywności [% wskazań].

Fig. 1. Information on food label, which consumers pay attention to while choosing food [The percentage of selected answers].

Źródło: / Source: wyniki badań własnych / results of the author's own study.

### *Skład produktu żywnościowego*

Zmiennymi istotnie różnicującymi zwracanie uwagi na skład produktu podczas zakupu były: województwo, płeć, poziom wykształcenia, dochód, miejsce zamieszkania.

Respondenci z województwa małopolskiego (63,8 % wskazań), częściej niż z pozostałych województw, zwracali uwagę na skład produktu (podkarpackie 13,5 %, lubelskie 20,4 % wskazań). Kobiety zwracały uwagę na skład produktu częściej niż mężczyźni (69 % kobiet i 61,1 % mężczyzn biorących udział w badaniu). Osoby legitymujące się wykształceniem wyższym częściej niż pozostali respondenci zwracały uwagę na ten element znakowania żywności (50,1 % osób z wykształceniem wyższym, 38 % – ze średnim, 11,7 % – z zasadniczym zawodowym lub podstawowym). Mieszkańcy miast przywiązywali większą wagę do składu wybieranych produktów niż mieszkańcy wsi (odpowiednio 72,8 % i 27 % wskazań). Skład produktu był ważny dla osób z gospodarstw o dochodzie netto powyżej 1600 zł na osobę (27,9 % wskazań). Tym elementem oznakowania etykiet rzadziej zainteresowani byli respondenci z gospodarstw o dochodzie netto do 800 zł na osobę (20,9 % wskazań), dla których czynnikiem wpływającym na zakup żywności była przede wszystkim cena.

### *Informacja o wyprodukowaniu zgodnie z zasadami HACCP/ISO 22000*

Zwracanie uwagi na informację o wyprodukowaniu artykułu spożywczego zgodnie z zasadami HACCP/ISO 22000 było zróżnicowane w zależności od płci i wieku respondentów. Na informację tę większą uwagę zwracały kobiety (76,5 %, mężczyźni – 23,5 %) oraz respondenci w wieku powyżej 40 lat (44,7 % wskazań). Młodzi konsumenci (w wieku do 24 lat) nie postrzegali tej informacji jako ważnej (18,8 % wskazań).

### *Informacja o braku konserwantów*

Brak dodatku substancji konserwujących był ważnym aspektem przy wyborze żywności przez kobiety – 71,6 % (mężczyźni – 28,4 %). Na tę informację na etykiecie częściej zwracały uwagę również osoby mieszkające w miastach powyżej 100 tys. mieszkańców (38,9 % wskazań). Osoby legitymujące się wyższym wykształceniem, decydujące się na zakup produktu spożywczego, przywiązywały wagę do informacji o braku konserwantów (12,1 % wskazań). Zmienną istotnie różnicującą odpowiedzi był wiek – młodzi konsumenci nie przypisywali szczególnej wagi informacji o braku konserwantów (26 % wskazań), natomiast ten element etykiety produktu był ważny dla konsumentów w wieku powyżej 40 lat (38,2 % wskazań).

### *Informacja o składnikach z udziałem organizmów genetycznie zmodyfikowanych*

Konsumenci polscy, jak i większość konsumentów europejskich, nie chcą spożywać produktów zawierających składniki GMO. Informacją o udziale organizmów ge-

netycznie zmodyfikowanych szczególnie zainteresowane były kobiety – 75,9 % wskazań (mężczyźni – 24,1 % wskazań). Badani mieszkańcy województwa lubelskiego zadeklarowali zwracanie uwagi na tę informację podczas wyboru żywności (59,1 % wskazań). Rzadziej wskazywali na to respondenci z województwa małopolskiego (14,6 % wskazań). Podobne zachowanie zauważono w przypadku mieszkańców miast do 100 tys. mieszkańców (22,6 % wskazań). Natomiast dla osób mieszkających w miastach powyżej 100 tys. mieszkańców informacja, czy produkt zawiera składniki GMO była ważna przy zakupie żywności (45,3 % wskazań).

#### *Cena*

Dla młodych konsumentów ważną cechą żywności, decydującą o jej wyborze, była cena (37,2 % wskazań). Zróżnicowanie odpowiedzi na temat zwracania uwagi na cenę przy zakupie żywności odnotowano ze względu na miejsce zamieszkania – była ona ważnym aspektem dla mieszkańców wsi (36,1 % wskazań). Mieszkańcy miast w mniejszym stopniu zwracali uwagę na cenę żywności (31,6 % wskazań).

#### *Termin przydatności do spożycia/data minimalnej trwałości*

Przy wyborze żywności kobiety częściej niż mężczyźni zwracały uwagę na termin przydatności do spożycia / datę minimalnej trwałości – 67 % wskazań (mężczyźni – 33 % wskazań). Zachowanie takie było również zróżnicowane ze względu na wykształcenie badanych konsumentów. Osoby z wyższym wykształceniem częściej deklarowały zwracanie uwagi na ten element znakowania żywności (46 % wskazań, osoby ze średnim wykształceniem – 40,9 %, a z zasadniczym zawodowym lub podstawowym – 12,9 % wskazań).

#### *Masa netto*

Informacją na temat masy netto produktu spożywczego byli zainteresowani respondenci z województwa lubelskiego (54,3 % wskazań). Takie postępowanie rzadziej deklarowali konsumenci z województwa małopolskiego (13,3 % wskazań).

Według badań przeprowadzonych przez Ozimek i Gutkowską w 2004 r. [cyt. za 10] w województwach mazowieckim i świętokrzyskim na grupie 1250 respondentów, konsumenci wybierając produkt żywnościowy zwracają uwagę przede wszystkim na: termin przydatności do spożycia (57,8 %) oraz cenę. W badaniach przeprowadzonych przez CBOS „Nawyki żywieniowe i upodobania kulinarne Polaków” [14], w 2000 r. 36 % respondentów zadeklarowało, że sprawdza termin przydatności do spożycia. W raporcie z badania „Polska na widelcu – zwyczaje żywieniowe Polaków”, przeprowadzonego w 2010 r. [16], dla respondentów ważne było przy wyborze produktu żywnościowego, aby był on: wysokiej jakości (89 % ankietowanych), wart swojej ceny (89 % ankietowanych), naturalny (88 % ankietowanych), bez konserwantów (78 %

ankietowanych), pozbawiony sztucznych dodatków smakowych (78 % ankietowanych), bez sztucznych barwników (78 % ankietowanych), tani (77 % ankietowanych), wyprodukowany w Polsce (71 % ankietowanych). W tym badaniu również kobiety oceniły wyżej ważność tych cech niż mężczyźni (tab. 4).

Konsumenci, których celem jest zdrowy sposób odżywiania lub poprawa swojego sposobu odżywiania, są bardziej zainteresowani informacją na opakowaniu żywności [1, 12]. Znaczenie informacji na etykiecie produktu spożywczego jest również większe dla konsumentów, którzy w sposób świadomy dokonują wyboru żywności. Zdaniem Kümpel, Nřrgaard i Brunsř [8], zamieszczanie informacji o wartości odżywczej może wpłynąć na zmianę sposobu odżywiania się konsumentów. Zwracanie uwagi na skład i wartość odżywczą jest zróżnicowane ze względu na rodzaj produktu. Najczęściej konsumenci zwracają uwagę na ten aspekt przy zakupie żywności, która jest uważana za „zdrową”, np. jogurtów, a w najmniejszym stopniu przy zakupie słodczy. Rozumienie informacji na opakowaniu zależy od statusu społecznego i wiedzy żywieniowej [4].

Według badań francuskiej agencji SPAD [15], najczęściej czytany w sklepie informacjami są: cena, termin przydatności do spożycia/data minimalnej trwałości i marka produktu. Inaczej wyglądają wyniki badań nad polskimi konsumentami. Spośród badanych Polaków 77 % zadeklarowało, że interesuje się zagadnieniami żywienia, a dla 23 % nie mają one żadnego lub prawie żadnego znaczenia. Jako główne źródła informacji żywieniowej respondenci podali telewizję (56 %), gazety codzienne i czasopisma (43 %), informacje umieszczone na etykietach i opakowaniach żywności (40 %), opinie rodziny i przyjaciół (33 %). Mniejsze znaczenie mają specjalistyczne książki o żywności i żywieniu, opinie lekarzy, dietetyków i farmaceutów. Pozostałe źródła, jak: porady konsumenckie, Internet, infolinie producentów, nie mają większego znaczenia. Kupując żywność Polacy zwracają uwagę głównie na cenę (88 %), datę minimalnej trwałości lub termin przydatności do spożycia (87 %), zawartość netto (70 %), markę (64 %) i te informacje są czytane w sklepie.

Zdaniem Krasnowskiej i Salejdy [7] polscy konsumenci, podobnie jak konsumenci w innych krajach europejskich, kupując żywność najczęściej zwracają uwagę na cenę, datę minimalnej trwałości lub termin przydatności do spożycia oraz markę. Ponad połowa respondentów zadeklarowała, że czyta etykiety na opakowaniu żywności.

Tabela 2

Wyniki testu  $\chi^2$  dotyczące odpowiedzi na pytanie „Na jakie informacje na etykiecie zwraca Pan/Pani uwagę podczas zakupu żywności?”, w zależności od wybranych cech socjodemograficznych respondentów.  
 Results of  $\chi^2$  test as regards the question: "What information on the food label do you pay attention to while buying food?" depending on selected socio-demographic characteristics of respondents.

Kategorie odpowiedzi Categories of answers	Termin przydatności do spożycia / data minimalnej trwałości Expiration date / shelf date	Nazwa producenta Producer's name	Kraj pochodzenia Country of origin	Masa netto Net weight	Skład produktu Composition of product	HACCP/ISO 22000	Informacja o GMO Information about GMO	Informacja o konserwantach Information about food preservatives	Cena Price
Województwo Province	1,48 0,476	4,49 0,106	1,3 0,521	<b>11,31*</b> <b>0,004</b>	<b>5,98*</b> <b>0,047</b>	0,91 0,636	<b>10,85*</b> <b>0,004</b>	1,44 0,486	1,34 0,51
Płeć Gender	<b>7,75*</b> <b>0,005</b>	1,81 0,179	1,34 0,246	0 0,988	<b>5,06*</b> <b>0,024</b>	<b>4,94*</b> <b>0,026</b>	<b>7,81*</b> <b>0,005</b>	<b>7,81*</b> <b>0,005</b>	0,02 0,9
Wiek Age	0,85 0,652	3,01 0,222	<b>14,08*</b> <b>0,001</b>	2,05 0,36	4,74 0,094	<b>10,37*</b> <b>0,006</b>	2,08 0,352	<b>9,21*</b> <b>0,01</b>	<b>11,52*</b> <b>0,003</b>
Wykształcenie Education	<b>6,96*</b> <b>0,031</b>	3,57 0,168	2,42 0,297	1,13 0,569	<b>12,74*</b> <b>0,002</b>	0,82 0,663	5,27 0,072	<b>10,61*</b> <b>0,005</b>	2,33 0,311
Liczba osób w gospodarstwie domowym Number of persons in household	5,82 0,121	2,81 0,423	2,27 0,518	2,45 0,482	1,35 0,717	2,69 0,442	0,19 0,978	3,58 0,311	3,23 0,357
Miejsce zamieszkania Place of residence	1,16 0,561	5,39 0,067	<b>9,80*</b> <b>0,007</b>	1,05 0,592	<b>17,99*</b> <b>0</b>	1,24 0,537	<b>13,40*</b> <b>0,001</b>	<b>6,77*</b> <b>0,034</b>	<b>7,33*</b> <b>0,026</b>
Dochód miesięczny netto na członka gosp. domowego Monthly net income per person in household	0,07 0,995	0,81 0,847	2,42 0,49	1,09 0,779	<b>8,13*</b> <b>0,043</b>	0,87 0,833	0,8 0,849	0,22 0,974	0,89 0,827

Objaśnienia: / Explanatory notes:



Symbol \* oznacza, że hipotezę o niezależności zmiennych należy odrzucić na poziomie istotności  $p = 0,05$ . / \* symbol indicates that the hypothesis of independence of variables should be rejected at a significance level of  $p = 0.05$ .

Źródło: / Source: wyniki badań własnych / results of the author's own study.

Tabela 3

Wyniki analizy różnicowania odpowiedzi w zależności od wybranych cech socjodemograficznych respondentów - wartości liczebności resztkowej.  
Results of the diversity of responses, depending on the selected socio-demographic characteristics of the respondents - the number of residual values.

Cecha socjo-demograficzna Socio-demographic characteristic	Segment Section	Termin przydatności do spożycia/ data minimalnej trwałości / Expiration date /shelf date		Nazwa producenta		Kraj pochodzenia		Masa netto Net weight		Skład produktu Composition of product		HACCP/ ISO 22000		Informacja o GMO Information about GMO		Informacja o konserwantach Information on food preservatives		Cena Price	
		N	T	N	T	N	T	N	T	N	T	N	T	N	T	N	T	N	T
		Kategorie odpowiedzi / Categories of answers																	
Województwo Province	małopolskie	-	-	-	-	-	-	<b>14,5</b>	-14,5	<b>15,4</b>	-15,4	-	-	<b>14,6</b>	-14,6	-	-	-	-
	podkarpackie	-	-	-	-	-	-	3,4	-3,4	7,2	-7,2	-	-	0,8	-0,8	-	-	-	-
	lubelskie	-	-	-	-	-	-	-17,9	<b>17,9</b>	8,2	-8,2	-	-	-15,4	<b>15,4</b>	-	-	-	-
Płeć / Gender	Kobieta Female	-8,4	<b>8,4</b>	-	-	-	-	-	-	-13,8	<b>13,8</b>	-9,0	<b>9,0</b>	-14,0	<b>14,0</b>	-17,4	<b>17,4</b>	-	-
	mężczyzna male	8,4	-8,4	-	-	-	-	-	-	13,8	-13,8	9,0	-9,0	14,0	-14,0	17,4	-17,4	-	-
Wiek / Age	16 - 24 lata years	-	-	-	-	<b>20,8</b>	-20,8	-	-	-	-	<b>11,7</b>	-11,7	-	-	<b>13,4</b>	-13,4	<b>20,4</b>	<b>20,4</b>
	25 - 39 lat years	-	-	-	-	-3,5	3,5	-	-	-	-	-1,0	1,0	-	-	4,3	-4,3	9,7	-9,7
	40+ lat years	-	-	-	-	-17,3	<b>17,3</b>	-	-	-	-	-10,7	<b>10,7</b>	-	-	-17,8	<b>17,8</b>	10,7	-10,7

Wykształcenie Education	podst. lub zas. zawod. basic	5,8	-5,8	-	-	-	-	-	-	9,8	-9,8	-	-	-	-	5,5	-5,5	-	-	
	średnie secondary	-1,4	1,4	-	-	-	-	-	-	12,4	-12,4	-	-	-	-	15,3	-15,3	-	-	
	wyższe higher	-4,4	4,4	-	-	-	-	-	-	-22,2	22,2	-	-	-	-	-20,8	20,8	-	-	
Miejsce zamieszkania Place of residence	miasto powyżej 100 tys. city up 100,000	-	-	-	-	-	-	17,9	-17,9	-	17,8	-	-	-	-	-	16,1	-	5,5	-5,5
	miasto do 100 tys. city to 100,000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15,5	-	8,1	-8,1	10,4	-	10,4
Miesięczny dochód netto [zł] na osobę w gospodarstwie domowym Monthly net income per per- son in household	wieś village	-	-	-	-	-	-	-	-	24,8	-24,8	-	-	-	-	8,0	-8,0	-	16,0	-16,0
	poniżej 800 to 800	-	-	-	-	-	-	-	-	11,5	-11,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	800-1200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1201-1600	-	-	-	-	-	-	-	-	5,5	-5,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1600+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Nie stwierdzono różnicowania odpowiedzi ze względu na cechę socjodemograficzną: liczba osób w gospodarstwie domowym, dlatego nie została ona ujęta w tabeli. /

There were no differences in responses as regards the socio-demographic characteristic: the number of persons in the household; therefore it was not included in this

Table; N – nie / no; T – tak / yes.

Źródło: / Source: wyniki badań własnych / results of the author's own study.

Tabela 4

Wyniki badania „Polska na widelcu”  
Results of the survey „Poland on a fork”

Cecha / Characteristic	Kobiety / Women [%]	Mężczyźni / Men [%]
Był wysokiej jakości / Of a high quality	91	86
Był wart swojej ceny / Worth its price	91	86
Był naturalny / Natural	92	83
Nie zawierał konserwantów / No food preservatives added	81	75
Nie zawierał sztucznych dodatków smakowych / No artificial flavours added	82	75
Nie zawierał sztucznych barwników / No artificial food colouring	82	74
Był tani / Inexpensive	80	74
Był wyprodukowany w Polsce / Produced in Poland	76	66

Źródło: / Source: opracowano na podstawie [16] / developed on the basis of [16]

## Wnioski

1. Przy wyborze żywności konsumenci najczęściej zwracali uwagę na termin przydatności do spożycia (93,7 % wskazań), cenę (63,6 % wskazań) oraz skład produktu (62,2 % wskazań). Najmniej ważnym czynnikiem przy wyborze żywności była informacja o wyprodukowaniu zgodnie z zasadami HACCP/ISO 22000 (11,9 % wskazań).
2. Zachowanie konsumentów w zakresie wyboru żywności było zróżnicowane przez takie cechy socjodemograficzne, jak: wiek, płeć, dochód, poziom wykształcenia, miejsce zamieszkania, województwo.
3. Konsumenci w wieku do 24 lat biorący udział w badaniu nie postrzegali informacji o wyprodukowaniu produktu zgodnie z zasadami HACCP/ISO 22000 jako istotniejszej (18,8 % wskazań). Taką samą postawę zadeklarowali w przypadku informacji o braku konserwantów (26 % wskazań) oraz kraju pochodzenia żywności (24,3 % wskazań). Ważnym aspektem była dla nich cena żywności (37,2 % wskazań). Informacje na temat kraju pochodzenia, braku konserwantów oraz o wyprodukowaniu zgodnie z zasadami HACCP/ISO 22000 były ważne dla konsumentów w wieku powyżej 40 lat (odpowiednio 39,0 %, 38,2 %, 44,7 % wskazań).
4. Informacje dotyczące składu produktu spożywczego (69 % kobiet i 61,1 % mężczyzn biorących udział w badaniu), braku konserwantów (kobiety – 71,6 %, mężczyźni – 28,4 %), składników GMO (kobiety – 75,9 %, mężczyźni – 24,1 %) oraz

- wyprodukowania zgodnie z HACCP/ISO 22000 (76,5 % kobiety, mężczyźni – 23,5 %) były szczególnie ważne dla kobiet.
5. Dla osób z gospodarstw o miesięcznym dochodzie powyżej 1600 zł netto na osobę informacja o składzie produktu była ważna (27,9 % wskazań). Ten element oznakowania etykiet jest najmniej ważny dla respondentów z gospodarstw o dochodzie do 800 zł (20,9 % wskazań).
  6. Osoby legitymujące się wykształceniem wyższym częściej niż pozostali respondenci zwracały uwagę na skład produktów spożywczych (50,1 % osób z wykształceniem wyższym, 38 % – ze średnim, 11,7 % – z zasadniczym zawodowym lub podstawowym) oraz na informację o braku konserwantów (12,1 % wskazań).
  7. Informacją na temat kraju pochodzenia byli bardziej zainteresowani mieszkańcy miast powyżej 100 tys. mieszkańców aniżeli mieszkańcy mniejszych miast (odpowiednio 40,6 i 28,3 % wskazań). Mieszkańcy miast częściej zwracali uwagę na skład wybieranych produktów niż mieszkańcy wsi. Dla osób mieszkających w miastach powyżej 100 tys. mieszkańców informacja czy produkt zawiera składniki GMO była ważna przy zakupie żywności (45,3 % wskazań). Mieszkańcy miast rzadziej zwracali uwagę na cenę żywności (31,6 % wskazań) – była ona ważnym czynnikiem dla mieszkańców wsi (36,1 % wskazań).
  8. Respondenci z województwa małopolskiego częściej niż pozostali respondenci zwracali uwagę na skład produktu (63,8 % wskazań). Mieszkańcy województwa lubelskiego zadeklarowali, że zwracają uwagę na informację o składnikach GMO podczas wyboru żywności (59,1 % wskazań). Takiego poglądu nie wyrazili respondenci z województwa małopolskiego (14,6 % wskazań).

### Literatura

- [1] Abbott R.: Food and nutrition information: a study of sources, uses, and understanding. *Br. Food J.*, 1997, **99** (2), 43-49.
- [2] Baruk A.I.: Etyczny kontekst marketingu produktów spożywczych. Nabywcy finalni o poziomie etyki oferentów żywności. Wyd. Dom Organizatora, Toruń 2011.
- [3] Falkowski A., Tyszka T.: Psychologia zachowań konsumenckich. Gdańskie Wyd. Psychol., Gdańsk 2001.
- [4] Grunert K.G., Wills J.M., Fernandez-Celemin L.: Nutrition knowledge, and use and understanding of nutrition information on food labels among consumers in the UK. *Appetite*, 2010, **55**, 177-189.
- [5] Gutkowska K., Ozimek I.: Czynniki ekonomiczne warunkujące sposób żywienia populacji. W: *Żywienie człowieka a zdrowie publiczne*. Red. J. Gawęcki, W. Roszkowski. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2009, ss. 118-132.
- [6] Jeżewska-Zychowicz M., Babicz-Zielińska E., Laskowski W.: Konsument na rynku nowej żywności. Wybrane uwarunkowania spożycia. Wyd. SGGW, Warszawa 2009.
- [7] Krasnowska G., Salejda A.M.: Ocena wiedzy konsumentów na temat znakowania żywności. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, **1** (74), 173-189.
- [8] Kümpel Nfirgaard M., Brunsř K.: Families' use of nutritional information on food labels. *Food Quality and Preferences*, 2009, **20**, 597-606.


- [9] Ozimek I., Gutkowska K.: Wybrane aspekty zachowań konsumentów na rynku żywności – kryteria różnicowania. Wyd. SGGW, Warszawa 2005.
- [10] Pilska M., Jeżewska-Zychowicz M.: Psychologia żywienia. Wybrane zagadnienia. Wyd. SGGW, Warszawa 2008.
- [11] Urban S.: Marketing produktów spożywczych. Wyd. UE we Wrocławiu, Wrocław 2008.
- [12] Wandel M.: Food labelling from consumer perspective. Br. Food J., 1997, **99** (6), 212-219.
- [13] Żelazna K., Kowalczyk I., Mikuta B. (Red.): Ekonomika konsumpcji. Elementy teorii. Wyd. SGGW, Warszawa 2002.
- [14] Wyniki badań: Nawyki żywieniowe i upodobania kulinarne Polaków [online], [dostęp: 17.01.2013]. Dostępne w Internecie: [www.cbos.pl/SPISKOM.POL/2000/K\\_145\\_00.PDF](http://www.cbos.pl/SPISKOM.POL/2000/K_145_00.PDF).
- [15] Wyniki badań: Rozumienie znakowania żywności przez konsumentów europejskich [online], [dostęp: 17.01.2013]. Dostępne w Internecie: [www.federacja-konsumentow.org.pl/story.php?story=440](http://www.federacja-konsumentow.org.pl/story.php?story=440)
- [16] Wyniki badań: Polska na widelcu, [online], [dostęp: 17.01.2013]. Dostępne w Internecie: [www.gfk.pl/public\\_relations/pressreleases/press\\_articles/007478/index.pl.html](http://www.gfk.pl/public_relations/pressreleases/press_articles/007478/index.pl.html).

## FOOD CHOICE CRITERIA

### S u m m a r y

In the food market, an excess of supply over demand exists. This state of imbalance prompts food manufacturers to study consumer criteria for choosing food in order to meet consumer requirements, and, thus, to successfully compete in the food market.

The objective of this paper was to determine the preferences and food choice criteria on the basis of the survey results conducted among consumers in the region of South-East Poland. It was found that when choosing food, the consumers checked, in the first place, the expiration date (93.7 % of the responses), next: price (63.6 %), and composition of food product (62.2 %). The level of consumer interest in information on whether or not the product was produced in accordance with the principles of HACCP/ISO 22000 (11.9 %) was very low. The women were interested in the composition of food more often than men: 69 % of all the women participating in the survey chose that answer ( $p = 0.05$ ). The respondents – graduates of universities (51.1 %) paid attention to that particular element shown on the food label more often than other respondents. The composition of food was more important for the city residents surveyed than for the rural residents. The composition of a food product was particularly important for the persons living in the households with a monthly income of more than net 1,600 zł per person. The respondents from the households with incomes not exceeding 800 zł regarded this element on the food label as the least important for them. For those consumers, the most important factor to impact their food purchase was the price in the first place. The women surveyed (76.5 %) paid more attention to the information on whether the product was produced in accordance with the principles of HACCP/ISO 22000. The respondents aged above 40 (38.2 %) regarded this information to be important for them.

**Key words:** food choice, preferences, price, composition of food product, expiration date 

HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA

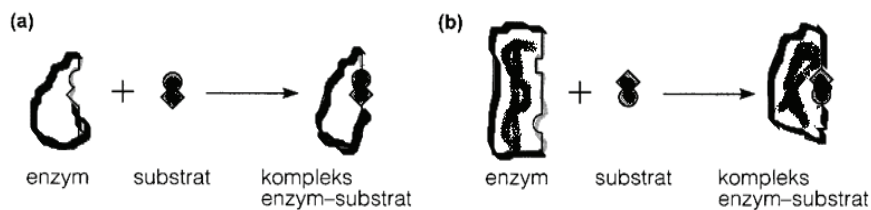
## INTERAKCJE SKŁADNIKÓW ŻYWNOSCI

Prezentujemy 18. część cyklu nt. „Interakcje składników żywności”. Druk materiałów z tego cyklu rozpoczęliśmy w Żywności nr 1 (74), 2011.

Wiele pokoleń biochemików trwało w przekonaniu, że białka mają w określonych warunkach fizjologicznych stabilną strukturę trzeciorzędową. Ten strukturalny obraz białka był wykorzystywany do wyjaśniania tworzenia kompleksu enzym - substrat, a w konsekwencji katalizy enzymatycznej. W tym celu zaproponowano dwa modele połączenia enzymu z substratem.

### Pytanie: Czy paradygmat strukturalno-funkcjonalny tłumaczy wszystkie aktywności biochemiczne białek?

Emil Fischer jest autorem modelu „zamka i klucza”, który polega na założeniu, że kształt substratu i aktywnego centrum enzymu pasują do siebie jak klucz do zamka (rys. 1a). Oznacza to, że oba kształty charakteryzują się sztywną trwałą strukturą idealnie tworzącą kompleks po połączeniu się ze sobą. Natomiast Daniel Koshland zaproponował model „indukowanego dopasowania” który zakłada, że przyłączenie substratu indukuje zmianę konformacyjną w aktywnym centrum enzymu (rys. 1b).



Rys. 1. Wiązanie substratu do enzymu. (a) model klucza i zamka, (b) model indukowanego dopasowania

Możliwe jest również inne wzajemne oddziaływanie, a mianowicie enzym powoduje zmianę konformacji substratu, tak by ona odpowiadała strukturze jego centrum aktywnego. Obydwa zaproponowane modele łączenia się enzymu z substratem zakładają występowanie substratu w natywnych warunkach w trwałej strukturze trzeciorzędowej. Wiarygodność tych modeli dodatkowo potwierdzały badania Christiana Anfinsena dotyczące renaturacji rybonukleazy, które dowiodły istnienia jednej struktury enzymu w warunkach natywnych. Obecnie ten paradygmat nie może być uogólniany na wszystkie białka. Badania ostatnich lat wykazały istnienie białek inherentnie nieuporządkowanych. Białka te, w przeciwieństwie do białek globularnych, w określonych warunkach *in vivo* i *in vitro* pozbawione są stabilnej struktury trzeciorzędowej, natomiast charakteryzują się bardzo plastyczną i dynamiczną konformacją. Powoduje to, że mogą one łatwo przyjmować różne struktury konformacyjne w odpowiedzi na zmiany warunków środowiska. Te różne struktury konformacyjne białka mogą być dodatkowo modyfikowane reakcjami postranslacyjnymi (np. glikozylacją, fosforylacją). Ich specyficzne właściwości powodują, że białka inherentnie nieuporządkowane są zaangażowane w rozmaite metaboliczne szlaki regulacyjne i interakcje prowadzące do tworzenia się kompleksów supramolekularnych. Mobilność strukturalną tych białek poglądowo przedstawiono na rys. 2.



Rys. 2. Przykład indukowanego dopasowania białka inherentnego.

Obecność białek inherentnie nieuporządkowanych kojarzona jest z takimi ludzkimi schorzeniami, jak: nowotwory, choroby układu krążenia, amyloidoza, cukrzyca i choroby neurodegeneracyjne. Badania białek żywności zakładają do tej pory istnienie tylko stabilnej struktury trzeciorzędowej. Udowodnioną nowością jest definiowanie białek żywności jako prekursorów biologicznie aktywnych peptydów. Czy białka inherentnie nieuporządkowane występują w surowcach i produktach żywnościowych nadal pozostaje pytaniem otwartym. Nanotechnologiczna konstrukcja nowych rodzajów żywności sugeruje dużą większą elastyczność strukturalną białek surowców do produkcji żywności, co umożliwi im wchodzenie w różnorodne interakcje na poziomie nanomolekularnym. Można stwierdzić, że białka o elastycznej konformacji mają różne właściwości biologiczne i funkcjonalne, pożądane w produkcji żywności funkcjonalnej. ☒



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 listopada 2013 r.

### **Polskie akty prawne**

1. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 18 grudnia 2006 r. w sprawie określenia spraw rozstrzyganych w drodze decyzji administracyjnych przez powiatowego lekarza weterynarii (tekst jednolity) (Dz. U. 2013 r., poz. 1286). Został ogłoszony jednolity tekst rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 18 grudnia 2006 r. w sprawie określenia spraw rozstrzyganych w drodze decyzji administracyjnych przez powiatowego lekarza weterynarii. Zgodnie z ww. rozporządzeniem powiatowy lekarz weterynarii, w celu realizacji zadań wynikających z przepisów rozporządzenia (WE) nr 183/2005 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 12 stycznia 2005 r. ustanawiającego wymagania dotyczące higieny pasz (Dz. Urz. UE L 35 z 8.02.2005, str. 1, z późn. zm.), wydaje decyzje administracyjne w sprawie:
  - zatwierdzenia zakładów,
  - dokonania zmian w zatwierdzeniu zakładów,
  - cofnięcia zatwierdzenia zakładów,
  - warunkowego zatwierdzenia zakładów albo przedłużenia warunkowego zatwierdzenia zakładów,
  - zawieszenia zatwierdzenia zakładów,
  - odmowy rejestracji zakładów,
  - odmowy dokonania zmian w rejestracji zakładów,

- zawieszenia rejestracji zakładów,
  - cofnięcia rejestracji zakładów.
2. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 27 września 2013 r. w sprawie szczegółowych wymagań weterynaryjnych mających zastosowanie do drobiu i jaj wylęgowych (Dz. U. 2013 r., poz. 1301).
- W rozporządzeniu zostały określone szczegółowe:
- wymagania weterynaryjne: dla prowadzenia zakładu drobiu, w handlu wewnątrzspółnotowym drobiem i jajami wylęgowymi, przy przywozie drobiu i jaj wylęgowych z państw trzecich,
  - wymagania oraz sposób wystawiania i wzory świadectw zdrowia dla drobiu i jaj wylęgowych, w handlu i przy przywozie.
- Natomiast szczegółowe wymagania weterynaryjne do prowadzenia zakładu drobiu są określone w załączniku nr 1 do niniejszego rozporządzenia.

### Unijne akty prawne

1. Rozporządzenie Wykonawcze Komisji (UE) Nr 1222/2013 z dn. 29 listopada 2013 r. dotyczące zezwolenia na stosowanie kwasu propionowego, propionianu sodu oraz propionianu amonu jako dodatków paszowych dla przeżuwaczy, świń i drobiu (Dz. Urz. UE L, Nr 320. s. 16).
- Substancje wyszczególnione w załączniku do niniejszego rozporządzenia, a należące do kategorii „dodatki technologiczne” i do grupy funkcjonalnej „dodatki do kiszonki” (kwas propionowy, propionian sodu oraz propionian amonu) zostały dopuszczone jako dodatki stosowane w żywieniu zwierząt zgodnie z warunkami określonymi w załączniku.
2. Rozporządzenie Wykonawcze Komisji (UE) NR 1113/2013 z dn. 7 listopada 2013 r. dotyczące zezwolenia na stosowanie preparatów *Lactobacillus plantarum* NCIMB 40027, *Lactobacillus buchneri* DSM 22501, *Lactobacillus buchneri* NCIMB 40788/CNCM I-4323, *Lactobacillus buchneri* LN 40177/ATCC PTA-6138 i *Lactobacillus buchneri* LN 4637/ATCC PTA- 2494 jako dodatków paszowych dla wszystkich gatunków zwierząt. (Tekst mający znaczenie dla EOG) (Dz. Urz. UE L, Nr 298. s. 29).
- Preparaty wyszczególnione w załączniku do niniejszego rozporządzenia, a należące do kategorii „dodatki technologiczne” i do grupy funkcjonalnej „dodatki do kiszonki” (*Lactobacillus plantarum* NCIMB 40027, *Lactobacillus Buchneri* DSM 22501, *Lactobacillus buchneri* NCIMB 40788/CNCM I-4323, *Lactobacillus buchneri* LN 40177/ATCC PTA-6138 i *Lactobacillus buchneri* LN 4637/ATCC PTA- 2494), zostają dopuszczone jako dodatki stosowane w żywieniu zwierząt zgodnie z warunkami określonymi w załączniku.

Preparaty wyszczególnione w załączniku oraz pasza zawierająca te preparaty, wyprodukowane i opatrzone etykietami przed dn. 28 maja 2014 r. zgodnie z przepisami obowiązującymi przed dn. 28 listopada 2013 r. mogą być nadal wprowadzane do obrotu i stosowane do wyczerpania istniejących zapasów.

3. Rozporządzenie Wykonawcze Komisji (UE) NR 1078/2013 z dn. 31 października 2013 r. dotyczące zezwolenia na stosowanie kwasu fumarowego jako dodatku paszowego dla wszystkich gatunków zwierząt (Tekst mający znaczenie dla EOG) (Dz. Urz. UE L Nr 292, s. 7).

Dodatek paszowy wyszczególniony w załączniku do niniejszego zarządzenia, a należący do kategorii „dodatki technologiczne” i do grupy funkcjonalnej „konserwanty” (kwas fumarowy), zostaje dopuszczony jako dodatek stosowany w żywieniu zwierząt zgodnie z warunkami określonymi w załączniku.

Dodatek paszowy wyszczególniony w załączniku oraz pasza zawierająca ten dodatek, wyprodukowane i opatrzone etykietami przed dniem 21 maja 2014 r. zgodnie z przepisami obowiązującymi przed dniem 21 listopada 2013 r. mogą być nadal wprowadzane do obrotu i stosowane aż do wyczerpania zapasów. ☒

## NOWE KSIĄŻKI

### **System zarządzania jakością w organizacji. Funkcjonowanie, doskonalenie, dokumentowanie**

Czernyszewicz E.

Wydawnictwo: Wyd. Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, Lublin 2013, ISBN 978-83-7259-212-5, stron 180, cena 60 zł

Zamówienia: [www.larix.lublin.pl](http://www.larix.lublin.pl)

Autorka podjęła tematykę funkcjonowania i doskonalenia systemu zarządzania jakością. Scharakteryzowała wymagania systemu zarządzania według normy ISO 9000, jego wdrażanie, utrzymanie i dokumentowanie, a także zasady audytu i integracji systemów zarządzania w organizacji. Książka składa się z siedmiu rozdziałów: 1. System zarządzania jakością wg norm serii ISO 9000; 2. Wdrażanie, utrzymanie i doskonalenie systemu zarządzania jakością; 3. Dokumentacja systemu zarządzania jakością; 4. Audyt systemu zarządzania jakością; 5. Doskonalenie systemu zarządzania jakością; 6. Integracja systemów zarządzania w organizacji; 7. Motywy i bariery wdrażania i funkcjonowania systemu zarządzania jakością.

### **Marketing żywności**

Górska-Warsewicz H., Świątkowska M., Krajewski K.

Wydawnictwo: Wolters Kluwer, Warszawa 2013, ISBN 978-83-264-4417-3, stron 568, cena 80,10 zł

Zamówienia: [www.proinfo.pl](http://www.proinfo.pl)

W książce przybliżono zagadnienia współczesnego marketingu żywności. Zawarto odpowiedzi na pytania z zakresu marketingu żywności, tj. jak skutecznie wprowadzić na rynek produkty stanowiące ofertę wartości i zarządzać nimi, w jaki sposób kreować markę produktu żywnościowego, jak prowadzić komunikację z aktualnymi i potencjalnymi konsumentami, jak realizować cele strategii dystrybucyjnych oraz doskonalić ofertę asortymentową produktów żywnościowych. Szczegółowo scharakteryzowano następujące zagadnienia: specyfika rynku żywności, mechanizmy jego funkcjonowania i struktura, wybrane aspekty zachowań konsumenckich i ewolucja koncepcji marketingowych, narzędzia marketingowe, informacja rynkowa. Książka jest szczególnie polecana dla studentów uczelni ekonomicznych i technicznych. Będzie również przydatna

dla menedżerów oraz osób odpowiedzialnych za praktyki marketingowe. W publikacji, obok teorii, zawarto również liczne przykłady z praktyki marketingowej przedsiębiorstw działających na rynku produktów spożywczych.

### **Fundamental Food Microbiology. Fifth Edition**

[Podstawy mikrobiologii żywności. Wydanie V]

Ray B., Bhunia A.

Wydawnictwo: CRC Press, 2013, ISBN 9781466564435, stron 663, cena 42,39 £

Zamówienia: [www.crcpress.com](http://www.crcpress.com)

W sposób wyczerpujący przedstawiono zagadnienia pozytywnego oraz negatywnego działania mikroorganizmów w żywności. Szczególną uwagę zwrócono na patogeny w żywności – ich charakterystykę, kontrolę i wykrywanie. Scharakteryzowano nowe patogeny, takie jak: *Cronobacter sakazaki*, *E. coli* O104:H4, *Clostridium difficile*, i Nipah Virus. Podjęto również zagadnienia nanotechnologii w utrwalaniu i przetwarzaniu żywności z zastosowaniem plazmy. Książka może być cennym źródłem wiedzy zarówno dla studentów, jak również osób zawodowo zajmujących się mikrobiologią żywności.

### **Probiotics and Prebiotics in Food, Nutrition and Health**

[Probiotyki i prebiotyki w żywności, wartość odżywcza i wpływ na zdrowie]

Otles S.

Wydawnictwo: CRC Press, 2013, ISBN 9781466586239, stron 512, cena 76,00 £

Zamówienia: [www.crcpress.com](http://www.crcpress.com)

Autor opisał źródła i produkcję probiotyków i prebiotyków, ich wartość biologiczną i funkcjonalną, wpływ na zdrowie i bezpieczeństwo stosowania. Scharakteryzował ich zastosowanie w zaburzeniach przewodu pokarmowego, infekcjach, zapobieganiu chorobom nowotworowym, alergiom, astmie i innych schorzeniach. Przedstawił również zagadnienia stosowania tych substancji w postaci suplementów przez niemowlęta, osoby w podeszłym wieku oraz w żywieniu zwierząt, biorąc pod uwagę wymagania prawne.

*Opracowała: Magdalena Niewczas*

## TWÓRCY POLSKIEJ NAUKI O ŻYWNOSCI

### **POLSCY UCZENI PO II WOJNIE ŚWIATOWEJ PROF. DR DR H.C. WINCENY PEZACKI (1914 – 2008)**



Prof. dr dr h.c. Wincenty Pezacki urodził się 16 stycznia 1914 r. w Kcyni w woj. bydgoskim, a zmarł w Poznaniu 21 kwietnia 2008 r.

Po maturze w 1933 r. Profesor rozpoczął studia na Wydziale Weterynarii Uniwersytetu Warszawskiego. Interesował Go nadzór sanitarno-weterynaryjny nad zwierzętami rzeźnymi i surowcami zwierzęcymi, a także problematyka ich przetwarzania. Studia ukończył w 1939 r. Wojna uniemożliwiła mu pracę w Katedrze Higieny Środków Spożywczych w tej uczelni. Po zakończeniu działań wojennych w 1946 r. obronił pracę doktorską pt.: "Konserwacja warunkowo zdatnego mięsa świń dobytých z powodu różycy przez zatopienie we własnym tłuszczu" na Wydziale Lekarsko-Weterynaryjnym Uniwersytetu im. Marii Skłodowskiej-Curie w Lublinie, uzyskując stopień doktora nauk weterynaryjnych. Promotorem był wybitny mięsoznawca prof. A. Trawiński. Następnie przeniósł się do Łodzi, gdzie został zatrudniony w Wyższej Szkole Gospodarstwa Wiejskiego na Wydziale Przemysłu Rolnego jako wykładowca technologii przetwórstwa mięsnego. Zorganizował Zakład Technologii Mięsa, którym kierował. W zakładzie tym pracował do sierpnia 1950 r. Od 1947 r. do końca zatrudnienia pełnił również funkcję Dziekana tego Wydziału. W 1950 r. Zakład prowadzony przez Profesora został podniesiony do rangi Katedry i przeniesiony na Wydział Chemii Spożywczej Politechniki Łódzkiej, a w 1953 r. do Poznania na Wydział Rolny Wyższej Szkoły Rolniczej. Profesor przeniósł się do Poznania i do 1981 r. kierował utworzoną przez siebie Katedrą Technologii Mięsa, która w 1969 r. przekształcona została w Instytut Technologii Żywności Pochodzenia Zwierzęcego.

W 1946 r., mając stopień doktora, został nominowany na zastępcę profesora w Wyższej Szkole Gospodarstwa Wiejskiego w Łodzi, w 1954 r. – stopień docenta,

w 1960 r. uzyskał tytuł profesora nadzwyczajnego, a profesora zwyczajnego w 1968 r. Ostatnie stopnie i tytuły wiążą się z uczelnią poznańską. W latach 1957 - 1961 był prodziekanem Wydziału Rolnego Wyższej Szkoły Rolniczej w Poznaniu, a w okresie 1961 - 1967 jej prorektorem ds. studiów. W roku 1984 Profesor Pezacki przeszedł na emeryturę.

Dwa ostatnie tytuły zostały nadane Profesorowi w zakresie nauk weterynaryjnych, mimo że podstawą Jego zainteresowań była nauka o mięsie i technologia jego przerobu. W uznaniu zasług w dziedzinie rozwoju technologii i chemii żywności, szczególnie biofizykochemii i technologii mięsa, jak również za stworzenie podstaw naukowych procesów przetwórczych surowców rzeźnych oraz poznańskiej szkoły technologów mięsa, otrzymał w 1987 r. tytuł *doktora honoris causa* Akademii Rolniczej w Poznaniu. Tytuł *doktora honoris causa* uzyskał także w Akademii Rolniczej we Wrocławiu w 1994 r. w uznaniu Jego zasług we współpracy i rozwoju kadr naukowych tej uczelni.

Niezwykła działalność organizacyjna i naukowo-badawcza sprawiła, że Profesor Pezacki przygotowywał studentów wszechstronnie do ich przyszłej pracy zawodowej. Był pierwszym, który wprowadził zajęcia terenowe do harmonogramu zajęć studentów, mimo braku tego zapisu w programie nauczania. Były one finansowane przez przemysł, który w ten sposób, przy wykorzystaniu kadry uczelnianej, przygotowywał w najlepszy sposób swoich przyszłych pracowników. Idea ta została przyjęta przez przemysł i podobne zajęcia terenowe były organizowane dla kadry przemysłowej. Niektóre z tych wyjazdów, zarówno studenckich, jak i pracowników branży, odbywały się za granicę, uzyskując rozgłos i uznanie w kraju i poza nim. Swoje koncepcje propagował również biorąc udział w pracach komisji na szczeblu Ministerstwa Szkół Wyższych. Jego program nauczania gwarantował, że studenci obok teorii znali praktykę i wiedzieli, jak kierować procesami przetwórczymi i zakładami. Pomocną w tym zakresie była przetwórcza doświadczalna, którą posiadała Katedra, a potem Instytut.

Co pięć lat odbywały się organizowane przez Profesora Pezackiego zjazdy, które nie tylko podtrzymywały więzi przyjaźni między absolwentami, ale miały również charakter naukowych spotkań będących platformą wymiany wiedzy między nauką i praktyką.

Pod kierunkiem Profesora Pezackiego studiowało 1120 technologów mięsa, z których 935 uzyskało stopień magistra inżyniera, a pozostali inżyniera. Był On promotorem 20 przewodów doktorskich, a w 10 habilitacjach doradcą. Doktorzy i habilitanci wywodzili się z całej Polski. Wiele tych rozpraw zostało wyróżnionych nagrodą Ministra Nauki, Szkolnictwa Wyższego i Techniki.

Zakres prac prowadzonych pod kierunkiem Profesora był bardzo szeroki. Zainicjował badania nad produkcją wędlin surowych, wykorzystując najbardziej skomplikowane metody do oceny dyfuzji różnych związków stosowanych w ich produkcji,



w tym badania z wykorzystaniem izotopów. Wyniki były publikowane przede wszystkim w czasopiśmie *Die Fleischwirtschaft* i wzbudzały zainteresowanie. Profesor prowadził również mniej popularne, przynajmniej na początku, doświadczenia nad zastosowaniem zamienników białka mięsnego w przetwórstwie mięsnym. Współuczestniczył w pracach nad obiektywizacją oceny procesów ogrzewania przetworów mięsnych, programowania i sterowania jakością wyrobów. Do dziś w kręgu zainteresowań naukowców pozostają np. prace nad zastosowaniem ogrzewania elektrokontaktowego rozdrobnionych wyrobów mięsnych. Propagował metodę kompleksowego zagospodarowania niejadalnych surowców zwierzęcych.

Na szczególne podkreślenie zasługuje publikacyjna działalność Profesora. Napisał dwanaście podręczników, z których trzy zostały przetłumaczone na języki: niemiecki, rosyjski i serbski. Był autorem dwóch skryptów i wielu innych opracowań zwartych. W Jego dorobku znajduje się sześć patentów. W okresie działalności naukowo-badawczej i dydaktycznej Profesora ukazało się ponad 400 prac. Zasięg tych prac był niezwykle szeroki. Niektóre z nich były przetłumaczone *in extenso* na języki obce, w tym nawet na japoński. Niekiedy, jak np. w przypadku książki „Mięsa kęs. Nostalgie” autorstwa Diany Kolbuszewskiej, która ukazała się w 1999 r., służył jako konsultant, oddając na ten cel środki swej fundacji „Chrońmy przed zapomnieniem”.

Profesor znany był także z działalności społeczno-organizacyjnej. Uczestniczył lub był organizatorem licznych kongresów i sympozjów. Przez 20 lat prowadził na Uniwersytecie Humboldta w Berlinie wykłady z wybranych działów chemii i technologii mięsa. W kraju zainicjował szkolenie kadr inżynierskich w przemyśle mięsnym. Uczestniczył w tym szkoleniu, wygłaszając liczne referaty i odczyty. Temu miały służyć m.in. wspomniane wyżej sympozja naukowe organizowane z okazji narad absolwentów technologii mięsa, czy „objazdy terenowe” o charakterze podobnym do zajęć terenowych dla studentów. Działalność Profesora odpowiadała zapotrzebowaniu przemysłu.

Profesor Wincenty Pezacki piastował liczne funkcje. Od 1959 r. był członkiem Komitetu Technologii i Chemii Żywności PAN, a w okresie trzech kadencji jego wice- i następnie przewodniczącym. Przewodniczył Sekcji Technologii i Chemii Białka, był stałym członkiem prezydium ww. Komitetu. Przez 25 lat Profesor był przewodniczącym Rady Naukowej Instytutu Przemysłu Mięsnego i Tłuszczowego (obecnie Oddział Instytutu Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego), członkiem rad programowych przy Ministrze Szkolnictwa Wyższego i Techniki oraz rad programowych takich czasopism specjalistycznych, jak: *Medycyna Weterynaryjna*, *Przemysł Spożywczy*, *Acta Alimentaria Polonica* i *Gospodarka Mięsna*.

Za działalność Profesor Pezacki otrzymał wiele dowodów uznania, które obejmują m.in. siedem nagród Ministra Nauki Szkolnictwa Wyższego i Techniki, liczne ordeiry, w tym Sztandar Pracy I klasy, Krzyż Kawalerski Orderu Odrodzenia Polski, Krzyż

Oficerski Orderu Odrodzenia Polski, Medal Zasłużony Nauczyciel PRL i Medal Komisji Edukacji Narodowej, 16 medali lub tytułów honorowych, w tym między innymi medal im. M. Oczapowskiego przyznawany przez Wydział V Nauk Rolniczych, Leśnych i Weterynaryjnych Polskiej Akademii Nauk, Medal Zasłużony dla Akademii Rolniczej w Szczecinie, Członek Honorowy Komitetu Technologii i Chemii Żywności Polskiej Akademii Nauk, Członek Honorowy Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności, Stowarzyszenia Inżynierów i Techników Przemysłu Spożywczego NOT, Honorowy Prezes Towarzystwa Miłośników Rydzyny, Honorowy Obywatel m. Rydzyny, Kcyni i Leszna, medal „*Ad Perpetuum Rei Memoriam*”, Złota Odznaka Za Zasługi w Rozwoju Rzemiosła Wielkopolskiego, Zasłużony Pracownik Przemysłu Spożywczego i Skupu, Wojewódzkiego Związku Spółdzielni Mleczarskich, Zasłużony dla Rozwoju Województwa Poznańskiego, Indywidualna Nagroda Naukowa m. Poznania, Odznaka Honorowa m. Poznania, Odznaka Zasłużonego Pracownika Przemysłu Spożywczego i Skupu, Medal 50-lecia Kroniki m. Poznania, laureat “Złotego Hipolita 2005” jako “Wybitna Osobistość Pracy Organicznej”. Ostatnie z wymienionych odznaczeń było dla Profesora niezwykle ważne.

Prof. dr h.c. Wincenty Pezacki był osobą niezwykle, niestrudzoną w swych działaniach, o niewyczerpalnych zasobach sił. Był człowiekiem, który położył olbrzymie zasługi w powojennym przeobrażaniu branży mięsnej z charakteru rzemieślniczego w wielkoprzemysłowy, człowiekiem łączącym przez cały okres swojej pracy i służby dla Polski pracę dydaktyczno-wychowawczą z badaniami, utrzymującym ciągle kontakt z przemysłem, który stanowił dla Niego źródło pomysłów, weryfikacji nowych idei, a także podstawę działania dydaktycznego i organizacyjnego. Był osobą utrzymującą kontakty z ludźmi prostymi i osobami na stanowiskach. Powyższy sposób działania Profesora był konsekwencją Jego drogi życiowej, która była niezwykle i wymagająca od Niego ogromnego wysiłku, zaangażowania i samokontroli.

Życie i działalność Profesora Wincentego Pezackiego wywarło wpływ na wiele osób i instytucji. W pamięci tych, z którymi miał bezpośredni kontakt pozostał jako niezwykle osobowość. Tym, którzy nie mieli szczęścia się z nim spotkać, pozostanie spuścizna w postaci Jego prac i osiągnięć, których efekty można oglądać również i dziś. Jednym z tych dzieł jest Muzeum Gospodarki Mięsnej, będące częścią Muzeum Narodowego Rolnictwa i Przemysłu Rolno-Spożywczego w Szreniawie k. Poznania, które zrodziło się jako hobby, a dzięki szerokiej pomocy niezliczonej rzeszy rzeźniczej będzie służyć Polsce, dla której służył niezależnie od tego, kto sprawował władzę.

Jego uczniowie pozostali na poznańskiej uczelni, gdzie działał przez znaczną część swego pracowitego życia. Na 50-lecie Wydziału Nauk o Żywności i Żywieniu, które obchodzono w 2012 r., jedną z sal seminaryjnych nazwali Jego imieniem. Pragnęli w ten sposób utrwalić i pokazać nowej generacji technologów mięsa jego dokonania.

*Edward Pospiech*

## TECHNOLOG ŻYWNOSCI

### INFORMATOR POLSKIEGO TOWARZYSTWA TECHNOLOGÓW ŻYWNOSCI

Rok 23 Nr 6

grudzień 2013

---

#### DZIAŁALNOŚĆ TOWARZYSTWA

##### Zarząd Główny

W dniu 13 grudnia 2013 r. odbyło się posiedzenie Zarządu Głównego PTTŻ, na którym podsumowano działalność Towarzystwa w 2013 r. oraz przedstawiono plany działalności ZG i Oddziałów w 2014 r. Po raz pierwszy w historii działalności Towarzystwa posiedzenie ZG odbyło się na zasadzie telekonferencji.

#### WAŻNIEJSZE MIĘDZYKRAJOWE I KRAJOWE KONFERENCJE NAUKOWE W 2014 r.

##### Maj

**7 – 9 WARSZAWA = XIX Sesja Naukowa i III Międzynarodowa Sekcja Młodej Kadry Naukowej PTTŻ**

Kontakt: Dr inż. Katarzyna Marciniak-Łukasiak,  
mail: katarzyna\_marciniak\_lukasiak@sggw.pl

**11 – 13 GDYNIA = Ogólnopolska Konferencja Naukowa „Jakość towarów i usług w innowacyjnej gospodarce”**

Organizatorzy: Wydział Przedsiębiorczości i Towaroznawstwa Akademii Morskiej w Gdyni; Polskie Towarzystwa Towaroznawcze – Oddział Morski; Polskie Towarzystwo Technologów Żywności – Oddział Gdański.

Kontakt: Dr inż. Agnieszka Palka; e-mail: jak2014@conferences.am.gdynia.pl

**12 – 14 BRUNÓW k. Lwówka Śląskiego = VIII Ogólnopolska Konferencja nt. „Ziemniak rośliną uprawną XXI wieku. Teraźniejszość i perspektywy”**

Organizatorzy: Wydział Nauk o Żywności UP we Wrocławiu oraz Oddział Wrocławski PTTŻ

Informacje: <http://wnoz.up.wroc.pl/ziemniak>

Czerwiec

**26 – 27 WROCŁAW = VI Międzynarodowa Konferencja z cyklu: "Quality and safety in food production chain"/„Jakość i bezpieczeństwo zdrowotne w łańcuchu produkcji żywności".**

Informacje: <http://wnoz.up.wroc.pl/quality/>

Kontakt: e-mail: [ktsz@wnoz.up.wroc.pl](mailto:ktsz@wnoz.up.wroc.pl)

Lipiec

**1 – 2 WARSZAWA = IV Sympozjum Inżynierii Żywności**

Organizatorzy: Wydział Nauk o Żywności SGGW, PAN, Oddział Warszawski PTTŻ oraz Oddział Warszawski Polskiego Towarzystwa Agrofizycznego

Informacje: <http://kizop.sggw.pl/siz2014/>

Kontakt: [kizopsiz@sggw.pl](mailto:kizopsiz@sggw.pl)

Wrzesień

**15 – 19 KRAKÓW = 19th IGWT Symposium Commodity Science in research and practice – current achievements and future challenges.**

Organizatorzy: Cracow University of Economics – Faculty of Commodity Science; International Society of Commodity Science and Technology.

Informacje: [www.igwt2014.uek.krakow.pl](http://www.igwt2014.uek.krakow.pl)

Kontakt: e-mail: [igwt2014@uek.krakow.pl](mailto:igwt2014@uek.krakow.pl)

CZŁONKOWIE WSPIERAJĄCY POLSKIEGO TOWARZYSTWA  
TECHNOLOGÓW ŻYWNOCI

Przy Zarządzie Głównym: **TCHIBO – WARSZAWA Sp. z o.o. Marki, BUNGE POLSKA Sp. z o.o. Karczew, HORTIMEX Plus Spółka komandytowa Konin.**

Przy Oddziale Małopolskim: **ZAKŁADY PRZEMYSŁU TŁUSZCZOWEGO BIELMAR Sp. z o.o., Bielsko-Biała.**

---

*Material zawarty w Nr 6 (91)/2013 Biuletynu podano według stanu informacji do 15 grudnia 2013 r. Materiały do Nr 1 (92)/2014 prosimy nadsyłać do 1 lutego 2014 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>

**SPIS TREŚCI**  
**CZASOPISMA „ŻYWNOSĆ”**  
**NR 86–91**

**Wykaz opublikowanych materiałów**

**Nr 86**

Od Redakcji .....	3
<i>Katarzyna Śliżewska, Adriana Nowak, Renata Barczyńska, Zdzisława Libudzisz</i> : Prebiotyki – definicja, właściwości i zastosowanie w przemyśle .....	5
<i>Ewelina Basiak, Andrzej Lenart</i> : Powłoki skrobiowe stosowane w opakownictwie żywności .....	21
<i>Stanisław Tyszkiewicz</i> : Rozwój światowej standaryzacji żywności na przykładzie normy na mięso wieprzowe w tuszach i elementach handlowych .....	32
<i>Elżbieta Biller</i> : Wpływ wybranych cech surowca na wskaźnik zbrązowienia i teksturę modelowego wyrobu pieczonego z mięsa mielonego .....	43
<i>Anna Milczarek, Maria Osek, Bogusław Olkowski, Barbara Klocek</i> : Porównanie składu chemicznego świeżych i zamrażalniczo przechowywanych mięśni kurcząt brojlerów żywionych mieszankami paszowymi z różną ilością oleju sojowego, lnianego i witaminy E .....	59
<i>Grzegorz Bienkiewicz, Zdzisław Domiszewski, Grzegorz Tokarczyk, Dominika Plust</i> : Rozmieszczenie lipidów i ich zmiany oksydacyjne w poszczególnych częściach filetów z pstrąga tęczowego .....	70
<i>Ryszard Rezler, Hanna M. Baranowska</i> : Właściwości reologiczne i zdolność wiązania wody przez stabilizowane skrobią ziemniaczaną emulsje typu tłuszcz w wodzie .....	81
<i>Małgorzata Wroniak, Aleksandra Ptaszek, Katarzyna Ratusz</i> : Ocena wpływu warunków tłoczenia w prasie ślimakowej na jakość i skład chemiczny olejów rzepakowych .....	92
<i>Ewelina Eckert, Aleksandra Zambrowicz, Marta Pokora, Anna Dąbrowska, Marek Szoltyśik, Józefa Chrzanowska, Tadeusz Trziszka</i> : Zastosowanie proteaz pochodzenia mikrobiologicznego do otrzymywania hydrolizatów o aktywności przeciwutleniającej i przeciwdrobnoustrojowej z białek żółtka jaja .....	105
<i>Radosław Dembczyński, Aleksandra M. Dolata, Kinga Bombczyńska, Wojciech Białas, Tomasz Jankowski</i> : Separacja laktoferyny z serwatki w ekstrakcyjnych układach trójfazowych .....	119
<i>Bartosz Sołowiej, Waldemar Gustaw</i> : Wpływ chlorku wapnia na właściwości fizykochemiczne analogów serów topionych na bazie białek mleka i tłuszczu mlecznego .....	137
<i>Krzysztof Siemianowski, Jerzy Szpendowski, Krzysztof Bohdziewicz, Piotr Kołakowski, Katarzyna Pawlikowska, Jacek Bardowski, Magdalena Chmielewska, Joanna Żylińska</i> : Wpływ zawartości suchej masy w mleku na dynamikę ukwaszania oraz cechy jakościowe skrzepu twarogowego .....	151
<i>Joanna Rozmierska, Andrzej Uzar, Krystyna M. Stecka, Beata Chabłowska, Katarzyna Piasecka-Jóźwiak, Elżbieta Słowik, Emilia Szkudzińska-Rzeszowiak</i> : Zastosowanie kultur starterowych bakterii fermentacji mlekowej do produkcji pieczywa z wysokim udziałem mąki owsianej .....	166

<i>Paulina Pawłowska, Anna Diowks, Edyta Kordialik-Bogacka</i> : Bezglutenowy słód owsiany jako surowiec browarniczy.....	181
<i>Elżbieta Rytel, Agnieszka Nemś, Klaudia Kułakowska</i> : Wpływ temperatury podsuszania na zawartość glikoalkaloidów i azotanów(V) podczas laboratoryjnej produkcji suszu z ziemniaków gotowanych.....	191
<i>Piotr Kafel, Tadeusz Sikora</i> : Wykorzystanie metod i narzędzi zarządzania jakością w przedsiębiorstwach branży spożywczej .....	204
<i>Joanna Trafiałek, Joanna Pawłowska</i> : Analiza efektów szkolenia pracowników firmy cateringowej z wdrożonym systemem zarządzania bezpieczeństwem żywności, zgodnym z normą ISO serii 22000.....	217
<i>Henryk Kostyra, Elżbieta Kostyra</i> : Interakcje składników żywności .....	230
<i>Grażyna Morkis</i> : Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym.....	233
<i>Magdalena Niewczas</i> : Nowe książki .....	235
Twórcy polskiej nauki o żywności.....	238
Technolog Żywności .....	242

## Nr 87

Od Redakcji .....	3
<i>Paulina Pająk, Teresa Fortuna, Izabela Przetaczek-Rożnowska</i> : Opakowania jadalne na bazie białek i polisacharydów – charakterystyka i zastosowanie .....	5
<i>Bogdan Janicki, Mateusz Buzala</i> : Wpływ kolagenu na jakość technologiczną mięsa .....	19
<i>Dorota Pietrzak, Monika Michalczyk, Jan Niemiec, Jan Mroczek, Lech Adamczak, Monika Łukasiewicz</i> : Porównanie wybranych wyróżników jakości mięsa kurcząt szybko i wolno rosnących.....	30
<i>Adam Więk, Katarzyna Tkacz, Ryszard Żywica</i> : Zawartość wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) w mięsnych produktach grillowanych w zależności od zawartości tłuszczu w surowcu .....	39
<i>Halina Sieczkowska, Katarzyna Antosik, Elżbieta Krzęcio-Nieczyporuk, Andrzej Zybert, Maria Koćwin-Podsiadła</i> : Przydatność wybranych parametrów oznaczanych 45 min <i>post mortem</i> w mięśniu <i>Longissimus lumborum</i> do oceny jakości wieprzowiny.....	51
<i>Urszula Tril, Anna M. Salejda, Grażyna Krasnowska</i> : Zastosowanie hydrolizatów z białek jaj w produkcji modelowych przetworów mięsnych .....	61
<i>Jolanta Calik</i> : Zmiany cech jakościowych jaj, pochodzących od kur nieśnych Żółtonóżka kuropatwiana (Ż-33), w zależności od warunków ich przechowywania.....	73
<i>Bartosz Sołowiej</i> : Wpływ preparatów serwatkowych na przyległość analogów serów topionych do różnych materiałów opakowaniowych.....	80
<i>Waldemar Gustaw, Bartosz Sołowiej, Ewa Jabłońska-Ryś, Marta Zalewska-Korona</i> : Wybrane właściwości reologiczne wodnych dyspersji kazeinowo-polisacharydowych .....	92
<i>Anna Dankowska, Maria Malecka, Wojciech Kowalewski</i> : Zastosowanie fluorymetrii synchronicznej do wykrywania zafałszowania oliwy z oliwek wybranymi olejami z nasion.....	106
<i>Michalina Adaszyńska, Maria Swarczewicz, Agata Markowska-Szczupak, Dorota Jadczak</i> : Skład chemiczny i właściwości przeciwdrobnoustrojowe olejku eterycznego i ekstraktu z mięty pieprzowej odmiany ‘Asia’ .....	116
<i>Grażyna Gozdecka, Błażej Domowicz</i> : Charakterystyka cech akustycznych czipsów ziemniaczanych w zależności od rodzaju testu mechanicznego.....	126
<i>Hanna Śmigiełska, Jacek Lewandowicz, Joanna Le Thanh-Blicharz</i> : Wpływ skrobi opornej typu RS4 na barwę i właściwości reologiczne keczupu .....	137

<i>Agnieszka Ciurzyńska, Andrzej Lenart</i> : Wpływ blanszowania i sposobu mrożenia na wybrane właściwości liofilizowanej dyni.....	150
<i>Grzegorz Zaguła, Czesław Puchalski</i> : Zmiany glukozydo-fruktozowe w jabłkach poddanych oddziaływaniu stałych i wolnozmiennych pól magnetycznych.....	162
<i>Piotr Kafel, Paweł Nowicki, Tadeusz Sikora</i> : Planowanie w integrowaniu systemów zarządzania w przedsiębiorstwach branży spożywczej.....	173
<i>Henryk Kostyra, Elżbieta Kostyra</i> : Interakcje składników żywności.....	185
<i>Grażyna Morkis</i> : Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym.....	188
<i>Magdalena Niewczas</i> : Nowe książki.....	190
Twórcy polskiej nauki o żywności.....	193
Technolog Żywności.....	196

## Nr 88

Od Redakcji.....	3
<i>Joanna Stadnik</i> : Aminy biogenne w wyrobach mięsnych surowo dojrzewających.....	5
<i>Mirosław Gabryś, Tomasz Sakowski, Ewa Metera, Beata Kuczyńska, Ewa Rembalkowska</i> : Wpływ żywienia na zawartość składników bioaktywnych w mleku krów z gospodarstw ekologicznych.....	16
<i>Barbara Bugaj, Teresa Leszczyńska, Mirosław Pysz, Aneta Kopeć, Joanna Pacholarz, Katarzyna Pysz-Izdebska</i> : Charakterystyka i prozdrowotne właściwości <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni.....	27
<i>Krzysztof Karpiesiuk, Wojciech Kozera, Dorota Bugnacka, Janusz Falkowski</i> : Wpływ warunków chowu tuczników na jakość mięsa i profil kwasów tłuszczowych w mięśni najdłuższym grzbiecie.....	39
<i>Zenon Nogalski, Paulina Pogorzelska-Przybyłek, Zofia Wielgosz-Groth, Monika Sobczuk-Szul, Cezary Purwin, Rafał Winarski, Jacek Niedźwiedź</i> : Wartość rzeźna wolców mieszańców mięsnych w zależności od intensywności opasu i wieku zwierząt w momencie uboju.....	51
<i>Piotr Szymański, Danuta Kołozyn-Krajewska</i> : Ocena możliwości zastosowania szczepu bakterii <i>Staphylococcus carnosus</i> ATCC-51365 w procesie peklowania mięsa.....	61
<i>Monika Skwarek, Zbigniew J. Dolatowski</i> : Wpływ bakterii probiotycznych na właściwości reologiczne szynki surowo dojrzewających.....	73
<i>Justyna Kozioł, Katarzyna Skrzypczak, Waldemar Gustaw, Adam Waśko</i> : Wpływ preparatów białek mleka na wzrost bakterii z rodzaju <i>Bifidobacterium</i> .....	83
<i>Anna Mituniewicz-Malek, Izabela Dmytrów, Jerzy Balejko, Małgorzata Ziarno</i> : Komercyjne kultury probiotyczne <i>Lactobacillus sp.</i> ( <i>Lb. paracasei</i> , <i>Lb. casei</i> i <i>Lb. acidophilus</i> ) w napojach fermentowanych z mleka koziego.....	99
<i>Anna Chlebowska-Śmigiel, Małgorzata Gniewosz</i> : Próba zastosowania pullulanu jako stymulatora wzrostu wybranych bakterii probiotycznych i potencjalnie probiotycznych.....	111
<i>Sławomir Pietrzyk, Lesław Juszcak, Teresa Fortuna, Karolina Królikowska</i> : Wpływ kompleksowania skrobi utlenionych składnikami mineralnymi na ich właściwości reologiczne.....	125
<i>Anna Ptaszek, Paweł Ptaszek, Mirosław Grzesik</i> : Zastosowanie wykładniczych reologicznych równań stanu do opisu strukturalnych właściwości hydrokoloidów.....	140
<i>Katarzyna Marciniak-Lukasiak, Anna Żbikowska</i> : Jakość makaronów instant w zależności od warunków procesu smażenia.....	151
<i>Agata Górka, Karolina Szulc, Ewa Ostrowska-Ligeza, Magdalena Wirkowska, Joanna Bryś</i> : Próba zastosowania $\beta$ -laktoglobuliny jako nośnika palmitynianu retinolu w układach beztłuszczowych.....	164
<i>Emilia Janiszewska, Monika Arciszewska, Dorota Witrowa-Rajchert</i> : Zależność między efektywnością mikrokapsułkowania aromatu wanilinowego i właściwościami fizycznymi uzyskanych proszków.....	174



<i>Anna S. Tarczyńska</i> : Projektowanie żywności wygodnej z wykorzystaniem metody QFD .....	187
<i>Henryk Kostyra, Elżbieta Kostyra</i> : Interakcje składników żywności .....	200
<i>Grażyna Morkis</i> : Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym.....	203
<i>Magdalena Niewczas</i> : Nowe książki .....	206
Twórcy polskiej nauki o żywności.....	209
Technolog Żywności .....	213

**Nr 89**

Od Redakcji .....	3
<i>Monika Trzaskowska</i> : Probiotyki w produktach pochodzenia roślinnego .....	5
<i>Michał Pałys, Zdzisław Targoński</i> : Produkcja kwasu mlekowego przez grzyby z rodzaju <i>Rhizopus</i> .....	21
<i>Jarosław Kowalik, Adriana Łobacz, Sylwia Tarczyńska</i> : Prognozowanie wzrostu liczby komórek <i>Listeria monocytogenes</i> w serku wiejskim .....	37
<i>Marek Szoltyś, Anna Dąbrowska, Konrad Babij, Marta Pokora, Aleksandra Zambrowicz, Xymena Połomska, Maria Wojtatowicz, Józefa Chrzanowska</i> : Zmiany biochemiczne i mikrobiologiczne w serze wyprodukowanym przy udziale drożdży <i>Yarrowia lipolytica</i> .....	49
<i>Marta Liszka-Skoczylas, Anna Ptaszek, Monika Halik, Mirosław Grzesik</i> : Zastosowanie pomiarów osmometrycznych do oceny oddziaływań pomiędzy białkami i polisacharydami w wodnych roztworach.....	65
<i>Tomasz Daszkiewicz, Karolina Wilga, Paweł Janiszewski, Katarzyna Śmiecińska, Dorota Kubiak</i> : Porównanie jakości mięsa jeleni szlachetnych ( <i>Cervus elaphus</i> L.) pozyskanych na terenie Polski i Węgier .....	77
<i>Tomasz Florowski, Anna Florowska, Anna Kur, Andrzej Pisula</i> : Porównanie wpływu dodatku białka kolagenowego i sojowego na jakość restrukturyzowanych szynek parzonych wyprodukowanych z mięsa PSE .....	90
<i>Elżbieta Biller</i> : Próba identyfikacji cech sensorycznych mięsa pieczonego związkami lotnymi powstającymi w modelowej reakcji lizyny z rybozą.....	100
<i>Karol Mińkowski, Katarzyna Zawada, Stanisław Ptasznik, Artur Kalinowski</i> : Wpływ związków fenolowych nasion na stabilność oksydacyjną i aktywność antyrodnikową wytłoczonych z nich olejów bogatych w PUFA n-3 .....	118
<i>Małgorzata Wroniak, Anna Chlebowska-Śmigiel</i> : Wpływ czystości nasion rzepaku i sposobu oczyszczania oleju na wybrane właściwości olejów tłoczonych na zimno .....	133
<i>Hanna M. Baranowska, Ryszard Rezler</i> : Dynamika molekularna wody w emulsjach typu tłuszcz w wodzie, emulgowanych skrobią ziemniaczaną .....	150
<i>Magdalena Grudzińska, Kazimiera Zgórska</i> : Wpływ zastosowania S-karwonu jako naturalnego inhibitora wzrostu kiełków ziemniaka na jasność barwy chipsów ziemniaczanych .....	161
<i>Wiktor Obuchowski, Mateusz Gutsche, Agnieszka Makowska</i> : Czynniki kształtujące cechy jakościowe mąki przeznaczonej do produkcji wafli.....	170
<i>Katarzyna Sujka, Piotr Koczoń, Agata Górską, Magdalena Wirkowska, Magdalena Reder</i> : Sensoryczne i spektralne cechy wybranych wyrobów spirytusowych poddanych procesowi liofilizacji .....	184
<i>Beata Ślaska-Grzywna, Dariusz Andrejko, Izabela Kuna-Broniowska, Agnieszka Sagan, Agata Blicharz-Kania</i> : Kształtowanie wybranych właściwości teksturalnych dyni optymalizowaną obróbką cieplną .....	195
<i>Agata Marzec, Hanna Kowalska, Beata Oldak</i> : Wpływ techniki suszenia wiśni na właściwości teksturalne suszu oceniane metodą akustyczną i mechaniczną.....	210

<i>Henryk Kostyra, Elżbieta Kostyra: Interakcje składników żywności</i> .....	222
<i>Grażyna Morkis: Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym</i> .....	225
<i>Magdalena Niewczas: Nowe książki</i> .....	228
<i>Twórcy polskiej nauki o żywności</i> .....	230
<i>XVIII Sesja Naukowa Sekcji Młodej Kadry Naukowej Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności – II Sesja Międzynarodowa - Quo Vadis Alimentum?</i> .....	233
<i>XLI Sesja Naukowa Komitetu Nauk o Żywności PAN „Innowacyjność w nauce o żywności i żywieniu”</i> .....	235
<i>Z żałobnej karty: Prof. dr hab. Jacek Kijowski 1948 – 2013</i> .....	239
<i>Technolog Żywności</i> .....	242

## Nr 90

<i>Od Redakcji</i> .....	3
<i>Artur Wiktor, Magdalena Śledź, Małgorzata Nowacka, Dorota Witrowa-Rajchert: Możliwości zastosowania niskotemperaturowej plazmy w technologii żywności</i> .....	5
<i>Magdalena Olszewska, Lucja Łaniewska-Trokenheim: Odpowiedź bakterii fermentacji mlekowej na stres - stadium VBNC</i> .....	15
<b>Jacek Kijowski</b> , <i>Grzegorz Leśniewski, Renata Cegielska-Radziejewska: Jaja cennym źródłem składników bioaktywnych</i> .....	29
<i>Tomasz Szablewski, Ewa Gornowicz, Kinga Stuper-Szablewska, Anna Kaczmarek, Renata Cegielska-Radziejewska: Skład mineralny treści jaj kur ras zachowawczych z chowu ekologicznego</i> .....	42
<i>Tomasz Daszkiewicz, Milena Więckowska, Dorota Kubiak, Natalia Hnatyk, Milena Koba-Kowalczyk: Charakterystyka jakości mięsa z różnych elementów tuszy kozłów sarny europejskiej (<i>Capreolus capreolus</i> L.) odstrzelonych w północno-wschodniej i południowo-wschodniej Polsce</i> .....	52
<i>Tadeusz Szmańko, Justyna Górecka, Jakub Niedźwiedź, Adam Malicki: Wybrane wyróżniki jakościowe polędwic sopockich zapakowanych w stanie niewychłodzonym (badania modelowe)</i> .....	64
<i>Joanna Miazek, Jan Mroczek: Wpływ dodatku preparatu Gel-fat i czasu sterylizacji na właściwości modelowej konserwy mięsnej</i> .....	80
<i>Małgorzata Wroniak, Andrzej Anders, Arkadiusz Szerk, Radosław Szymczak: Wpływ obłuskiwania nasion na jakość sensoryczną i fizykochemiczną oraz wartość żywieniową oleju rzepakowego tłoczonego na zimno</i> .....	90
<i>Katarzyna Kozłowicz, Franciszek Kluza, Dariusz Góral: Wpływ metody zamrażania na wyciek i twardość żeli żelatynowych otrzymanywanych w różnych środowiskach</i> .....	107
<i>Julita Reguła, Anna Gramza-Michałowska: Wartość odżywcza oraz indeks glikemiczny produktów zbożowych z dodatkiem suszu bocznika ostrygowatego (<i>Pleurotus ostreatus</i>)</i> .....	119
<i>Iwona Jasińska-Kuligowska, Maciej Kuligowski, Piotr Kołodziejczyk, Jan Michniewicz: Wpływ procesów fermentacji, ekstruzji i wypieku na zawartość fruktanów w produktach żytnich</i> .....	129
<i>Adam Kopeć, Aldona Bać: Wpływ dodatku mąki łubinowej na jakość chleba pszenżytniego</i> .....	142
<i>Joanna Milala, Michał Sójka, Katarzyna Król, Maria Buczek: Charakterystyka składu chemicznego owoców <i>Rosa pomifera</i> ‘Karpattia’</i> .....	154
<i>Arkadiusz Telesiński, Monika Grzeszczuk, Dorota Jadczyk, Gabriela Wysocka, Mirosław Onyszek: Ocena zmian zawartości azotanów(V) w wybranych ziołach przyprawowych w zależności od sposobu ich utrwalenia i czasu przechowywania</i> .....	168
<i>Iwona Kowalczyk, Krystyna Gutkowska, Marta Sajdakowska, Sylwia Żakowska-Biemans, Anna Kozłowska, Anna Olewnik-Mikołajewska: Innowacyjny konsument żywności pochodzenia zwierzęcego</i> .....	177

<i>Marek Nowak, Maciej Oziębłowski, Tadeusz Trziszka, Halina Beń</i> : Ocena ważności cech sera twardego i miejsca jego zakupu w opiniach konsumentów z Holandii, Niemiec i Polski .....	195
<i>Henryk Kostyra, Elżbieta Kostyra</i> : Interakcje składników żywności .....	211
<i>Grażyna Morkis</i> : Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym.....	214
<i>Magdalena Niewczas</i> : Nowe książki .....	217
Twórcy polskiej nauki o żywności.....	220
Prof. dr hab. dr h.c. Jan Gawęcki Honorowym Doktorem Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie .....	225
Technolog Żywności .....	228

**Nr 91**

Od Redakcji .....	3
<i>Emilia Janiszewska, Dorota Witrowa-Rajchert, Edward Rój</i> : Metody i kierunki wykorzystania mikronizacji nadkrytycznej.....	5
<i>Greta Adamczyk, Magdalena Krystijan, Anna Dobosz, Marek Sikora</i> : Tiksotropowe właściwości skrobi .....	16
<i>Jacek Kijowski, Emilia Kupińska</i> : Dylematy ograniczania miopatii mięśni piersiowych typu DPM u kurcząt brojlerów .....	32
<i>Katarzyna Neffe-Skocińska, Danuta Kołożyn-Krajewska, Antoni Goryl</i> : Wpływ dodatku szczepu <i>Lactobacillus casei</i> LOCK 0900 i warunków dojrzewania na jakość fermentowanych poledwic podczas przechowywania.....	45
<i>Agnieszka Staszowska, Piotr Skąlecki, Mariusz Florek, Anna Litwińczuk</i> : Wpływ gatunku i środowiska życia ryb na zawartość ołowiu oraz oszacowanie jego pobrania z tkanki mięśniowej .....	60
<i>Joanna Barłowska, Anna Wolanciuk, Monika Kędzierska-Matysek, Zygmunt Litwińczuk</i> : Wpływ sezonu produkcji na podstawowy skład chemiczny oraz zawartość makro- i mikroelementów w mleku krowim i kozim .....	69
<i>Mariola Kozłowska, Anna Żbikowska</i> : Wpływ dodatku ekstraktów z przypraw na jakość i trwałość krakersów.....	79
<i>Ewa Piątkowska, Aneta Kopeć, Agnieszka Kidacka, Teresa Leszczyńska, Elżbieta Pisulewska</i> : Zawartość składników odżywczych i właściwości antyoksydacyjne różnych frakcji ziarna wybranych odmian i rodów owsa.....	91
<i>Monika Karaś, Anna Jakubczyk, Edyta Paczos-Grzęda</i> : Właściwości przeciwutleniające hydrolizatów białek z ziarna uprawnych i dzikich gatunków owsa ( <i>Avena L.</i> ) .....	106
<i>Anna Ciołek, Ewa Makarska, Leszek Rachoń</i> : Wykrywanie dodatku mąki z pszenicy zwyczajnej ( <i>Triticum aestivum L.</i> ) i orkiszu ( <i>Triticum spelta L.</i> ) w produktach makaronowych z mąki pszenicy twardej ( <i>Triticum durum Desf.</i> ) .....	118
<i>Elżbieta Gujska, Joanna Michalak, Marta Czarnowska</i> : Wpływ czasu i temperatury przechowywania na stabilność kwasu foliowego i folianów w wybranych sokach owocowych i owocowo-warzywnych.....	130
<i>Małgorzata Materska</i> : Wpływ warunków ekstrakcji na zawartość o-glikozydów kwercetyny w preparatach z owoców papryki.....	139
<i>Adrian Czerniak, Tomasz Jankowski</i> : Mikrokapsułkowanie $\alpha$ - tokoferolu wewnątrz komórek drożdży <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	151
<i>Katarzyna Rymuza, Elżbieta Radzka</i> : Zastosowanie analiz wielowymiarowych do oceny jakości wody pitnej.....	165

---

<i>Wacław Adameczyk, Artur Jachimowski</i> : Wpływ składników biogenych na jakość i eutrofizację powierzchniowych wód płynących, stanowiących źródło wody pitnej Krakowa .....	175
<i>Jacek Nowak, Barbara Górna, Włodzimierz Nowak</i> : Wykorzystanie grzybów strzępkowych do biodegradacji ścieków z przemysłu ziemniaczanego z jednoczesną produkcją biomasy pleśniowej na cele paszowe .....	191
<i>Magdalena Niewczas</i> : Kryteria wyboru żywności .....	204
<i>Henryk Kostyra, Elżbieta Kostyra</i> : Interakcje składników żywności .....	219
<i>Grażyna Morkis</i> : Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym .....	221
<i>Magdalena Niewczas</i> : Nowe książki .....	224
Twórcy polskiej nauki o żywności .....	226
<b>Technolog Żywności</b> .....	<b>230</b>
Spis treści czasopisma „Żywność” Nr 86–91 .....	232
Wykaz nazwisk Autorów w 2013 roku .....	239
Wykaz nazwisk Recenzentów w 2013 roku .....	243

## WYKAZ NAZWISK AUTORÓW W 2013 ROKU

- Adamczak L. 87/30*  
*Adamczyk G. 91/16*  
*Adamczyk W. 91/175*  
*Adaszyńska M. 87/116*  
*Anders A. 90/90*  
*Andrejko D. 89/195*  
*Antosik K. 87/51*  
*Arciszewska M. 88/174*  
*Babij K. 89/49*  
*Bać A. 90/142*  
*Balejko J. 88/99*  
*Baranowska H.M. 86/81, 89/150*  
*Barczyńska R. 86/5*  
*Bardowski J. 86/151*  
*Barłowska J. 91/69*  
*Basiak E. 86/21*  
*Beń H. 90/195*  
*Białas W. 86/119*  
*Bienkiewicz G. 86/70*  
*Biller E. 86/43, 89/100*  
*Blicharz-Kania A. 89/195*  
*Bohdziewicz K. 86/151*  
*Bombczyńska K. 86/119*  
*Bryś J. 88/164*  
*Buczek M. 90/154*  
*Bugaj B. 88/27*  
*Bugnacka D. 88/39*  
*Buzala M. 87/19*  
*Calik J. 87/73*  
*Cegielska-Radziejewska R. 90/29, 90/42*  
*Chablowska B. 86/166*  
*Chlebowska-Śmigiel A. 88/111, 89/133*  
*Chmielewska M. 86/151*  
*Chrzanowska J. 86/105, 89/49*  
*Ciolek A. 91/118*  
*Ciurzyńska A. 87/150*  
*Czarnowska M. 91/130*  
*Czerniak A. 91/151*  
*Dankowska A. 87/106*  
*Daszkiewicz T. 89/77, 90/52*  
*Dąbrowska A. 86/105, 89/49*  
*Dembczyński R. 86/119*  
*Diowksza A. 86/181*  
*Dmytrów I. 88/99*  
*Dobosz A. 91/16*  
*Dolata A.M. 86/119*  
*Dolatowski Z.J. 88/73*  
*Domiszewski Z. 86/70*  
*Domowicz B. 87/126*  
*Eckert E. 86/105*  
*Falkowski J. 88/39*  
*Florek M. 91/60*  
*Florowska A. 89/90*  
*Florowski T. 89/90*  
*Fortuna T. 87/5, 88/125*  
*Gabryszuk M. 88/16*  
*Gniewosz M. 88/111*  
*Gornowicz E. 90/42*  
*Goryl A. 91/45*  
*Gozdecka G. 87/126*  
*Góral D. 90/107*  
*Górecka J. 90/64*  
*Górna B. 91/191*  
*Górska A. 88/164, 89/184*  
*Gramza-Michałowska A. 90/119*  
*Grudzińska M. 89/161*  
*Grzesik M. 88/140, 89/65*  
*Grzeszczuk M. 90/168*  
*Gujka E. 91/130*  
*Gustaw W. 86/137, 87/92, 88/83*  
*Gutkowska K. 90/177*  
*Gutsche M. 89/170*  
*Halik M. 89/65*  
*Hnatyk N. 90/52*

- Jabłońska-Ryś E.* 87/92  
*Jachimowski A.* 91/175  
*Jadczak D.* 87/116, 90/168  
*Jakubczyk A.* 91/106  
*Janicki B.* 87/19  
*Janiszewska E.* 88/174, 91/5  
*Janiszewski P.* 89/77  
*Jankowski T.* 86/119, 91/151  
*Jasińska-Kuligowska I.* 90/129  
*Juszczak L.* 88/125  
*Kaczmarek A.* 90/42  
*Kafel P.* 86/204, 87/173  
*Kalinowski A.* 89/118  
*Karaś M.* 91/106  
*Karpiesiuk K.* 88/39  
*Kędzińska-Matysek M.* 91/69  
*Kidacka A.* 91/91  
*Kijowski J.* 90/29, 91/32  
*Klocek B.* 86/59  
*Kluza F.* 90/107  
*Koba-Kowalczyk M.* 90/52  
*Koczoń P.* 89/184  
*Koćwin-Podsiadła M.* 87/51  
*Kołakowski P.* 86/151  
*Kołodziejczyk P.* 90/129  
*Kołożyn-Krajewska D.* 88/61, 91/45  
*Kopeć A.* 88/27, 91/91  
*Kopeć A.* 90/142  
*Kordialik-Bogacka E.* 86/181  
*Kostyra E.* 86/230, 87/185, 88/200, 89/222, 90/211, 91/219  
*Kostyra H.* 86/230, 87/185, 88/200, 89/222, 90/211, 91/219  
*Kowalczyk I.* 90/177  
*Kowalewski W.* 87/106  
*Kowalik J.* 89/37  
*Kowalska H.* 89/210  
*Kozera W.* 88/39  
*Koziół J.* 88/83  
*Kozłowicz K.* 90/107  
*Kozłowska A.* 90/177  
*Kozłowska M.* 91/79  
*Krasnowska G.* 87/61  
*Król K.* 90/154  
*Królikowska K.* 88/125  
*Krystyjan M.* 91/16  
*Krzęcio-Nieczyporuk E.* 87/51  
*Kubiak D.* 89/77, 90/52  
*Kuczyńska B.* 88/16  
*Kuligowski M.* 90/129  
*Kulakowska K.* 86/191  
*Kuna-Broniowska I.* 89/195  
*Kupińska E.* 91/32  
*Kur A.* 89/90  
*Le Thanh-Blicharz J.* 87/137  
*Lenart A.* 86/21, 87/150  
*Leszczyńska T.* 88/27, 91/91  
*Leśniewski G.* 90/29  
*Lewandowicz J.* 87/137  
*Libudzisz Z.* 86/5  
*Liszka-Skoczylas M.* 89/65  
*Litwińczuk A.* 91/60  
*Litwińczuk Z.* 91/69  
*Laniewska-Trokenheim Ł.* 90/15  
*Łobacz A.* 89/37  
*Łukasiewicz M.* 87/30  
*Makarska E.* 91/118  
*Makowska A.* 89/170  
*Malicki A.* 90/64  
*Małecka M.* 87/106  
*Marciniak-Łukasiak K.* 88/151  
*Markowska-Szczupak A.* 87/116  
*Marzec A.* 89/210  
*Materska M.* 91/139  
*Metera E.* 88/16  
*Miazek J.* 90/80  
*Michalak J.* 91/130  
*Michalczyk M.* 87/30  
*Michniewicz J.* 90/129  
*Milala J.* 90/154  
*Milczarek A.* 86/59  
*Mińkowski K.* 89/118  
*Mituniewicz-Matek A.* 88/99

- Morkis G. 86/233, 87/188, 88/203, 89/225,  
90/214, 91/221
- Mroczek J. 87/30, 90/80
- Neffe-Skocińska K. 91/45
- Nemś A. 86/191
- Niedźwiedz J. 88/51, 90/64
- Niemiec J. 87/30
- Niewczas M. 86/235, 87/190, 88/206, 89/228,  
90/217, 91/204, 91/224
- Nogalski Z. 88/51
- Nowacka M. 90/5
- Nowak A. 86/5
- Nowak J. 91/191
- Nowak M. 90/195
- Nowak W. 91/191
- Nowicki P. 87/173
- Obuchowski W. 89/170
- Olewnik-Mikołajewska A. 90/177
- Olkowski B. 86/59
- Olszewska M. 90/15
- Oldak B. 89/210
- Onyszko M. 90/168
- Osek M. 86/59
- Ostrowska-Ligeża E. 88/164
- Oziemłowski M. 90/195
- Pacholarz J. 88/27
- Paczos-Grzęda E. 91/106
- Pająk P. 87/5
- Pałys M. 89/21
- Pawlikowska K. 86/151
- Pawłowska J. 86/217
- Pawłowska P. 86/181
- Piasecka-Jóźwiak K. 86/166
- Piątkowska E. 91/91
- Pietrzak D. 87/30
- Pietrzyk S. 88/125
- Pisula A. 89/90
- Pisulewska E. 91/91
- Plust D. 86/70
- Pogorzelska-Przybyłek P. 88/51
- Pokora M. 86/105, 89/49
- Połomska X. 89/49
- Przetaczek-Rożnowska I. 87/5
- Ptaszek A. 86/92
- Ptaszek A. 88/140, 89/65
- Ptaszek P. 88/140
- Ptasznik S. 89/118
- Puchalski C. 87/162
- Purwin C. 88/51
- Pysz M. 88/27
- Pysz-Izdebska K. 88/27
- Rachoń L. 91/118
- Radzka E. 91/165
- Ratusz K. 86/92
- Reder M. 89/184
- Reguła J. 90/119
- Rembiałkowska E. 88/16
- Rezler R. 86/81, 89/150
- Rozmierska J. 86/166
- Rój E. 91/5
- Rymuza K. 91/165
- Rytel E. 86/191
- Sagan A. 89/195
- Sajdakowska M. 90/177
- Sakowski T. 88/16
- Salejda A.M. 87/61
- Sieczkowska H. 87/51
- Siemianowski K. 86/151
- Sikora M. 91/16
- Sikora T. 86/204, 87/173
- Skalecki P. 91/60
- Skrzypczak K. 88/83
- Skwarek M. 88/73
- Słowik E. 86/166
- Sobczuk-Szul M. 88/51
- Sołowiej B. 86/137, 87/80, 87/92
- Sójka M. 90/154
- Stadnik J. 88/5
- Staszowska A. 91/60
- Stecka K.M. 86/166
- Stuper-Szablewska K. 90/42
- Sujka K. 89/184
- Swarcewicz M. 87/116
- Szablewski T. 90/42



- Szkudzińska-Rzeszowiak E. 86/166  
Szymański T. 90/64  
Szołtysik M. 86/105, 89/49  
Szpendowski J. 86/151  
Szerk A. 90/90  
Szulc K. 88/164  
Szymański P. 88/61  
Szymczak R. 90/90  
Ślaska-Grzywna B. 89/195  
Śledź M. 90/5  
Śliżewska K. 86/5  
Śmiecińska K. 89/77  
Śmigielska H. 87/137  
Tarczyńska A.S. 88/187, 89/37  
Targoński Z. 89/21  
Telesiński A. 90/168  
Tkacz K. 87/39  
Tokarczyk G. 86/70  
Trafiałek J. 86/217  
Tril U. 87/61  
Trzaskowska M. 89/5  
Trziszka T. 86/105, 90/195  
Tyszkiewicz S. 86/32  
Uzar A. 86/166  
Waśko A. 88/83  
Wielgosz-Groth Z. 88/51  
Więckowska M. 90/52  
Więk A. 87/39  
Wiktor A. 90/5  
Wilga K. 89/77  
Winarski R. 88/51  
Wirkowska M. 88/164, 89/184  
Witrowa-Rajchert D. 88/174, 90/5, 91/5  
Wojtatowicz M. 89/49  
Wolanciuk A. 91/69  
Wroniak M. 86/92, 89/133, 90/90  
Wysocka G. 90/168  
Zagula G. 87/162  
Zalewska-Korona M. 87/92  
Zambrowicz A. 86/105, 89/49  
Zawada K. 89/118  
Zgórska K. 89/161  
Ziarno M. 88/99  
Zybert A. 87/51  
Żakowska-Biemans S. 90/177  
Żbikowska A. 88/151, 91/79  
Żylińska J. 86/151  
Żywica R. 87/39

## WYKAZ NAZWISK RECENZENTÓW W 2013 ROKU

Redakcja czasopisma „Żywność” przekazuje wyrazy wdzięczności P.T. Recenzentom za opiniotwórczą i społeczną pracę na rzecz naszego czasopisma. Dziękujemy Państwu za wspieranie naszych wysiłków nad doskonaleniem poziomu naukowego publikowanych prac.

*Prof. dr hab. Ryszard Amarowicz*  
*Prof. dr hab. Ewa Babicz-Zielińska*  
*Dr inż. Joanna Banach*  
*Prof. dr hab. Barbara Baraniak*  
*Prof. dr hab. Joanna Barłowska*  
*Prof. dr hab. Nina Barylko-Pikielna*  
*Prof. dr hab. Henryk Bem*  
*Prof. dr hab. Jan Bieniek*  
*Prof. dr hab. Józef Błażewicz*  
*Dr Sylwia Bonin*  
*Prof. dr hab. Eulalia J. Borowska*  
*Prof. dr hab. Bożena Borycka*  
*Prof. dr hab. Karol Borzuta*  
*Prof. dr hab. Piotr Bykowski*  
*Prof. dr hab. Czesław Bywalec*  
*Prof. dr hab. Alicja Ceglińska*  
*Prof. dr hab. Józefa Chrzanowska*  
*Dr hab. inż. Artur Ciemiak*  
*Prof. dr hab. Katarzyna Czaczek*  
*Prof. dr hab. Janusz Czapski*  
*Prof. dr hab. Zbigniew Czarnecki*  
*Prof. dr hab. inż. Eugenia Czernyszewicz*  
*Dr hab. Anna Czubaszek*  
*Prof. dr hab. Małgorzata Darewicz*  
*Dr inż. Krzysztof Dasiewicz*  
*Prof. dr hab. Tomasz Daszkiewicz*  
*Prof. dr hab. Waldemar Dąbrowski*  
*Dr inż. Anna Diowks*  
*Dr hab. inż. Elżbieta Dłużewska*  
*Prof. dr hab. Zbigniew Dobrzański*  
*Prof. dr hab. Zbigniew J. Dolatowski*  
*Prof. dr hab. Jacek Domagała*  
*Prof. dr hab. Ewa Domian*  
*Dr hab. inż. Mariusz Florek*

*Prof. dr hab. Zenon Foltynowicz*  
*Prof. dr hab. Teresa Fortuna*  
*Prof. dr hab. Mariola Friedrich*  
*Prof. dr hab. Halina Gambuś*  
*Prof. dr hab. Jan Gawęcki*  
*Prof. dr hab. Piotr Gębczyński*  
*Prof. dr hab. Danuta Górecka*  
*Prof. dr hab. Jan Grajewski*  
*Dr hab. inż. Anna Gramza-Michałowska*  
*Dr hab. Waldemar Gustaw*  
*Prof. dr hab. Krystyna Gutkowska*  
*Prof. dr hab. Stanisław Gwiazda*  
*Dr Anna Horszwald*  
*Prof. dr hab. Tomasz Jankowski*  
*Prof. dr hab. Małgorzata Jasińska*  
*Dr inż. Danuta Jaworska*  
*Prof. dr hab. Grażyna Jaworska*  
*Prof. dr hab. Henryk Jeleń*  
*Dr hab. inż. Lesław Juszczyk*  
*Prof. dr hab. Janusz Kalbarczyk*  
*Dr inż. Stanisław Kalisz*  
*Dr hab. inż. Joanna Kawa-Rygielska*  
*Prof. dr hab. Alicja Kawka*  
*Prof. dr hab. Zenon Kędzior*  
*Prof. dr hab. Agnieszka Kita*  
*Prof. dr hab. Danuta Kołożyn-Krajewska*  
*Prof. dr hab. Jacek Kondratowicz*  
*Prof. dr hab. Iwona Konopka*  
*Prof. dr hab. Wiesław Kopeć*  
*Prof. dr hab. Józef Korczak*  
*Prof. dr hab. Henryk Kostyra*  
*Dr inż. Dariusz Kowalczyk*  
*Prof. dr hab. Lucjan Krala*  
*Prof. dr hab. Grażyna Krasnowska*

- Prof. dr hab. Bogusław Król*  
*Dr hab. inż. Joanna Król*  
*Prof. dr hab. Krzysztof Krygier*  
*Prof. dr hab. Wanda Kudelka*  
*Prof. dr hab. Kazimierz Lachowicz*  
*Prof. dr hab. Eleonora Lampart-Szczapa*  
*Prof. dr hab. Andrzej Lenart*  
*Prof. dr hab. Tomasz Lesiów*  
*Dr hab. inż. Grzegorz Leśniewski*  
*Prof. dr hab. Teresa Leszczyńska*  
*Prof. dr hab. Grażyna Lewandowicz*  
*Prof. dr hab. Zdzisława Libudziś*  
*Prof. dr hab. Zofia Lisiewska*  
*Prof. dr hab. Anna Litwińczuk*  
*Prof. dr hab. Zygmunt Litwińczuk*  
*Prof. dr hab. Łucja Łaniewska-Trokenheim*  
*Prof. dr hab. Deta Łuczycza*  
*Dr hab. inż. Ryszard Macura*  
*Prof. dr hab. Katarzyna Majewska*  
*Prof. dr hab. Adam Malicki*  
*Prof. dr hab. Maria Małecka*  
*Dr inż. Katarzyna Marciniak-Lukasiak*  
*Dr hab. Agata Marzec*  
*Prof. dr hab. Jan Miciński*  
*Prof. dr hab. inż. Karol Mińkowski*  
*Prof. dr hab. Jan Michniewicz*  
*Prof. dr hab. Władysław Migdał*  
*Prof. dr hab. Marta Mitek*  
*Prof. dr hab. Stanisław Mleko*  
*Prof. dr hab. Jan Mroczek*  
*Dr hab. inż. Agnieszka Nawirska-Olszańska*  
*Prof. dr hab. Ewa Nebesny*  
*Dr hab. inż. Roman Niedziółka*  
*Prof. dr hab. Małgorzata Nogala-Kałucka*  
*Prof. dr hab. Anna Nowotna*  
*Prof. dr hab. Wiktor Obuchowski*  
*Prof. dr hab. Jan Oszmiański*  
*Prof. dr hab. Zbigniew Pałacha*  
*Prof. dr hab. Irena Perucka*  
*Prof. dr hab. Barbara Pietruszka*  
*Prof. dr hab. Andrzej Pisula*  
*Prof. dr hab. Witold Płocharski*
- Prof. dr hab. Stanisław Popek*  
*Prof. dr hab. Edward Pospiech*  
*Prof. dr hab. Wiesław Przybylski*  
*Prof. dr hab. Piotr Przybyłowski*  
*Prof. dr hab. Arnold Reps*  
*Prof. dr hab. Daniela Rotkiewicz*  
*Dr hab. inż. Magdalena Rudzińska*  
*Prof. dr hab. Zbigniew Rzedzicki*  
*Dr hab. inż. Aleksandra Wilczyńska*  
*Dr hab. inż. Jarosława Rutkowska*  
*Prof. dr hab. Małgorzata Schlegel-Zawadzka*  
*Prof. dr hab. Elżbieta Sikora*  
*Prof. dr hab. Marek Sikora*  
*Prof. dr hab. Tadeusz Sikora*  
*Prof. dr hab. Zdzisław E. Sikorski*  
*Dr hab. inż. Anna Sip*  
*Prof. dr hab. Mirosław Słowiński*  
*Prof. dr hab. Stefan Smoczyński*  
*Dr hab. inż. Małgorzata Sobczak*  
*Dr inż. Bartosz Sołowiej*  
*Prof. dr hab. Maria Soral-Śmietana*  
*Dr inż. Joanna Stadnik*  
*Dr hab. Jerzy Stangierski*  
*Prof. dr hab. Bogusław Staniewski*  
*Prof. dr hab. Krystyna Stecka*  
*Prof. dr hab. Izabela Steinka*  
*Prof. dr hab. Krzysztof Surówka*  
*Dr inż. Tomasz Szablewski*  
*Prof. dr hab. Jacek Szczawiński*  
*Prof. dr hab. Krzysztof Szkucik*  
*Prof. dr hab. Tadeusz Szymańko*  
*Prof. dr hab. Jerzy Szpendowski*  
*Prof. dr hab. Barbara Szteke*  
*Prof. dr hab. Maria Śmiechowska*  
*Prof. dr hab. Zdzisław Targoński*  
*Dr hab. inż. Arkadiusz Telesiński*  
*Prof. dr hab. Tadeusz Trziszka*  
*Dr hab. inż. Andrzej Tyburcy*  
*Prof. dr hab. Stanisław Tyszkiewicz*  
*Prof. dr hab. Zygmunt Usydus*  
*Dr inż. D. Walkowiak-Tomczak*  
*Prof. dr hab. Bożena Waszkiewicz-Robak*

---

*Prof. dr hab. Lidia M. Wądołowska*  
*Prof. dr hab. Erwin Wąsowicz*  
*Dr inż. Ewelina Węsierska*  
*Dr hab. Marek Wianecki*  
*Prof. dr hab. Dorota Witrowa-Rajchert*  
*Dr hab. inż. Aneta Wojdyło*  
*Prof. dr hab. Janina Wołoszyn*  
*Dr inż. Małgorzata Wroniak*  
*Prof. dr hab. Ryszard Zadernowski*  
*Prof. dr hab. Lidia Zander*  
*Prof. dr hab. Piotr Zapletal*  
*Prof. dr hab. Renata Zawirska-Wojtasiak*  
*Prof. dr hab. Kazimiera Zgórska*  
*Prof. dr hab. Stefan Ziajka*  
*Prof. dr hab. inż. Małgorzata Ziarno*  
*Prof. dr hab. Henryk Zieliński*  
*Prof. dr hab. Agata Znamiorska*

**Adresy Zarządu Głównego, Oddziałów i Sekcji  
Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności**

<b>PREZES / ODDZIAŁ</b>	<b>ADRES</b>
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.leszczynska@p.lodz.pl
Dr hab. inż. Lesław Juszcak Oddział Małopolski	UR, ul. Balicka 122, 30-149 KRAKÓW Tel. 12 662 47 78; e-mail: rrjuszcz@cyf-kr.edu.pl
Dr inż. Janusz Pomianowski Oddział Olsztyński	UWM, Pl. Cieszyński 1, 10-957 OLSZTYN Tel.: 89 523 36 17; e-mail: Pomian@uwm.edu.pl
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. Arkadiusz Żych Oddział Szczeciński	ZUT, ul. Kazimierza Królewicza 3, 71-550 SZCZECIN Tel.: 91 449 66 00 wew. 6583; e-mail: arkadiusz.zych@zut.edu.pl
Dr inż. Dorota Nowak Oddział Warszawski	SGGW, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 WARSZAWA Tel.: 22 593 75 62; e-mail: dorota_nowak@sggw.pl
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
<b>SEKCJE</b>	
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 Technologii Mięsa	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 Owoców i Warzyw	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