



ŻYWNOŚĆ

Nauka Technologia Jakość

FOOD

Science Technology Quality

Nr 3 (94)

Kraków 2014

Rok 21

ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość

Organ naukowy PTTŻ – dwumiesięcznik

Nr 3 (94)

Kraków 2014

Rok 21

SPIS TREŚCI

| | |
|--|------------|
| Od Redakcji..... | 3 |
| KRZYSZTOF DWIECKI, MAŁGORZATA NOGAŁA-KAŁUCKA, KRZYSZTOF POLEWSKI: Zastosowanie kropek kwantowych do oznaczania składników i zanieczyszczeń żywności | 5 |
| JOANNA SADOWSKA, MAGDA RYGIELSKA: Technologiczne i zdrowotne aspekty stosowania syropu wysokofruktozowego do produkcji żywności | 14 |
| ANNA DUDZIŃSKA, JACEK DOMAGAŁA, MONIKA WSZOŁEK: Wpływ wysokiego ciśnienia hydrostatycznego na mikroorganizmy występujące w mleku i na właściwości mleka | 27 |
| JUSTYNA KOZIOŁ, WALDEMAR GUSTAW, ADAM WAŚKO, KATARZYNA SKRZYPCZAK, ANETA SŁAWIŃSKA, BARTOSZ SOŁOWIEJ: Wpływ wybranych preparatów białek mleka na wzrost i przeżywalność <i>Lactobacillus acidophilus</i> oraz właściwości reologiczne mlecznych napojów fermentowanych | 41 |
| ADRIANA NOWAK: Wzrost i przeżywalność bakterii probiotycznych w obecności heterocyklicznych amin aromatycznych..... | 56 |
| BARTOSZ SOŁOWIEJ, MACIEJ NASTAJ, WALDEMAR GUSTAW: Ocena właściwości fizykochemicznych analogów serów topionych z dodatkiem mączki chleba świętojańskiego | 65 |
| EWA IWAŃSKA, BOŻENA GRZEŚ, EDWARD POSPIECH, BEATA MIKOŁAJCZAK, ANITA SPYCHAJ: Zmiany udziału białek w wycieku wirówkowym z mięsa buhajków różnych ras i w różnym wieku, w czasie dojrzewania wołowiny..... | 78 |
| ANNA OKOŃ, ZBIGNIEW J. DOLATOWSKI: Wpływ bakterii probiotycznych na profil wolnych aminokwasów i cechy sensoryczne polędwicy wieprzowej surowo dojrzewających podczas przechowywania | 92 |
| MONIKA SKWAREK, ZBIGNIEW J. DOLATOWSKI, DANUTA KOŁOŻYŃ-KRAJEWSKA: Wpływ naparu zielonej herbaty i sproszkowanej papryki na barwę probiotycznych szynki surowo dojrzewających | 108 |
| ANETA CEGIEŁKA, NATALIA KUCZYŃSKA, DOROTA PIETRZAK: Zastąpienie surowca wieprzowo-wołowego w kielbasach homogenizowanych przez mięso drobiowe oddzielone mechanicznie, uzyskane po separacji wysoko- i niskociśnieniowej | 123 |
| URSZULA KRUPA-KOZAK, NATALIA BĄCZEK, JUSTYNA ADAMOWICZ: Wpływ kazeinianu i cytrynianu wapnia na jakość i właściwości technologiczne chleba bezglutenowego | 136 |
| DANUTA BOROS, DAMIAN GOŁĘBIEWSKI, KINGA MYŚKA: Wstępne badania ziarna wybranych rodów hodowlanych pszenicy jako surowca do słodowania | 151 |
| IWONA DROŻDŻ, MAGDALENA SŁOWIK, PAWEŁ SROKA, MAŁGORZATA MAKAREWICZ: Wpływ <i>Oenococcus oeni</i> na parametry enologiczne polskich win gronowych | 165 |
| ALEKSANDRA JEDLIŃSKA, BARTOSZ KRUSZEWSKI, MICHAŁ ANT CZAK, EDYTA LIPIŃSKA, DOROTA WITROWA-RAJCHERT: Nowa metoda otrzymywania proszków miodowych i ich właściwości fizyczne | 179 |
| EUGENIA CZERNYSZEWICZ, MAŁGORZATA WIŚNIEWSKA: Uwarunkowania wdrażania systemów zapewnienia jakości owoców w Polsce | 190 |
| HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA: Interakcje składników żywności | 206 |
| GRAŻYNA MORKIS: Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym | 209 |
| MAGDALENA NIEWCZAS: Nowe książki..... | 212 |
| Twórcy polskiej nauki o żywności..... | 214 |
| Prof. dr hab. Włodzimierz Grajek doktorem <i>honoris causa</i> Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu | 217 |
| Technolog Żywności..... | 222 |

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 3 (94)

Kraków 2014

Vol. 21

CONTENTS

| | |
|---|------------|
| From the Editor..... | 3 |
| KRZYSZTOF DWIECKI, MAŁGORZATA NOGAŁA-KAŁUCKA, KRZYSZTOF POLEWSKI: Applying quantum dots to determine food components and contaminants | 5 |
| JOANNA SADOWSKA, MAGDA RYGIELSKA: Technological and health aspects of using high fructose syrup in food production..... | 14 |
| ANNA DUDZIŃSKA, JACEK DOMAGAŁA, MONIKA WSZOŁEK: Effect of high hydrostatic pressure on microorganisms present in milk and on milk properties..... | 27 |
| JUSTYNA KOZIOŁ, WALDEMAR GUSTAW, ADAM WAŚKO, KATARZYNA SKRZYPCZAK, ANETA SŁAWIŃSKA, BARTOSZ SOŁOWIEJ: Effect of selected milk protein preparations on growth and survival of <i>Lactobacillus acidophilus</i> as well as on rheological properties of fermented milk beverages..... | 41 |
| ADRIANA NOWAK: Growth and survival of probiotic lactic acid bacteria in the presence of heterocyclic aromatic amines | 56 |
| BARTOSZ SOŁOWIEJ, MACIEJ NASTAJ, WALDEMAR GUSTAW: Evaluation of physicochemical properties of processed cheese analogues with locust bean gum added..... | 65 |
| EWA IWAŃSKA, BOŻENA GRZEŚ, EDWARD POSPIECH, BEATA MIKOŁAJCZAK, ANITA SPYCHAJ: Changes in content of proteins in centrifugal drip from meat of young bulls of different breeds at different ages..... | 78 |
| ANNA OKOŃ, ZBIGNIEW J. DOLATOWSKI: Effect of probiotic bacteria on free amino acid profile and sensory traits of raw-ripening pork sirloin during storage | 92 |
| MONIKA SKWAREK, ZBIGNIEW J. DOLATOWSKI, DANUTA KOŁOŻYN-KRAJEWSKA: Effect of green tea infusion and pulverized pepper on colour of raw ripening probiotic hams..... | 108 |
| ANETA CEGIEŁKA, NATALIA KUCZYŃSKA, DOROTA PIETRZAK: Replacing pork-beef raw material in homogenized sausages with mechanically sectioned poultry meat after high pressure and low pressure separation..... | 123 |
| URSZULA KRUPA-KOZAK, NATALIA BĄCZEK, JUSTYNA ADAMOWICZ: Effect of calcium caseinate and calcium citrate on quality and technological parameters of gluten-free bread | 136 |
| DANUTA BOROS, DAMIAN GOŁĘBIEWSKI, KINGA MYSZKA: Preliminary study on quality of some wheat lines selected as raw material for malting..... | 151 |
| IWONA DROŹDŹ, MAGDALENA SŁOWIK, PAWEŁ SROKA, MAŁGORZATA MAKAREWICZ: Effect of <i>Oenococcus oeni</i> on parameters of oenological Polish wines..... | 165 |
| ALEKSANDRA JEDLIŃSKA, BARTOSZ KRUSZEWSKI, MICHAŁ ANTCZAK, EDYTA LIPIŃSKA, DOROTA WITROWA-RAJCHERT: Novel method to produce honey powders and their physical properties .. | 179 |
| EUGENIA CZERNYSZEWICZ, MAŁGORZATA WIŚNIEWSKA: Determinants of fruit quality system implementation in poland | 190 |
| HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA: Interactions among food components..... | 206 |
| GRAŻYNA MORKIS: Food problems in Polish and EU legislation | 209 |
| MAGDALENA NIEWCZAS: Book reviews | 212 |
| Creators of the Polish food science..... | 214 |
| Włodzimierz Grajek Professor, Ph.D. has been awarded a Doctor Honoris Causa (Dr. h.c) degree by the Wrocław University of Environmental and Life Sciences | 217 |
| The Food Technologist..... | 222 |

Only reviewed papers are published

Covered by: Chemical Abstracts Service, IFIS, Scopus,

Journal Citation Reports / Science Edition; Citation Index Expanded, AGRO, BazEkon, Index Copernicus

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

Sekretarz redakcji (kontakt z autorami): 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

Native speaker: Stanley Holt (Bolton, UK)

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 Baryko-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 Libudysz, prof. dr hab. Małgorzata Nogala-Kałucka, prof. dr hab. Jan Oszmiański, prof. dr Jan Pokorny (Czechy), prof. dr Roman Przybylski (Kanada), prof. dr hab. Piotr Przybyłowski, prof. dr hab. Bogusław Staniewski, dr Alina Surmacka-Szcześniak (USA), prof. dr hab. Krzysztof Surówka, prof. dr hab. Zdzisław E. Sikorski, dr Andrzej Sońnicki (USA), prof. dr hab. Zdzisław Targoński, prof. dr hab. Tadeusz Trziszka, prof. dr hab. Stanisław Tyszkiewicz, prof. dr hab. Erwin Wąsowicz, prof. dr hab. Dorota Witrowa-Rajchert, dr John Wojciak (Kanada), prof. dr hab. Maria Wojtatowicz

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

WYDAWCA: POLSKIE TOWARZYSTWO TECHNOLOGÓW ŻYWNOSCI, WYDAWNICTWO NAUKOWE PTTŻ

W latach 1994 - 1999 wydawcą kwartalnika był Oddział Małopolski PTTŻ

© Copyright by Polskie Towarzystwo Technologów Żywności, Kraków 2014
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

Projekt okładki: Jolanta Czarnecka
Zdjęcie na okładce: © mikelaptev-Fotolia.com

Nakład: 550 egz.

SKŁAD I DRUK:



Wydawnictwo Naukowe „Akapit”, Kraków
tel./fax (012) 280-71-51; kom. 608 024 572
e-mail: wn@akapit.krakow.pl; www.akapit.krakow.pl

OD REDAKCJI

Szanowni Czytelnicy,

przekazujemy Państwu numer **3 (94)** dwumiesięcznika **Żywność. Nauka. Technologia. Jakość**, 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.

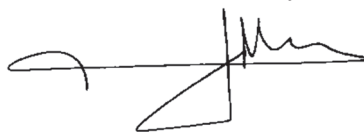
W ramach ułatwiania dostępu do publikacji, na stronie internetowej czasopisma zamieściliśmy wyszukiwarkę, która umożliwi odszukanie interesujących Państwa artykułów, opublikowanych w **Żywności** od 2004 r.

Informujemy również, że podjęliśmy kolejne działania nad zwiększeniem zasięgu naszego czasopisma. Od bieżącego roku wprowadziliśmy **Żywność** do bazy Publisher International Linking Association/CrossRef (USA), dzięki czemu artykuły będą miały nadawany identyfikator dokumentu elektronicznego tzw. DOI.

Powtarzamy apel, w dobrze pojętym naszym wspólnym interesie: **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.

Kraków, czerwiec 2014 r.

Redaktor Naczelny



Tadeusz Sikora



POLSKIE TOWARZYSTWO
TECHNOLOGÓW ŻYWNOSCI
ODDZIAŁ MAŁOPOLSKI

**POLSKIE TOWARZYSTWO TECHNOLOGÓW ŻYWNOSCI
ODDZIAŁ MAŁOPOLSKI**



**WYDZIAŁ TECHNOLOGII ŻYWNOSCI
UNIWERSYTETU ROLNICZEGO IM. HUGONA KOLŁATAJA
W KRAKOWIE**



KOMITET NAUK O ŻYWNOSCI PAN

zapraszają na XI Konferencję Naukową

z cyklu

„Żywność XXI wieku”

ŻYWNOSĆ A BEZPIECZEŃSTWO ZDROWOTNE

18-19 WRZEŚNIA 2014, Kraków

Adres Komitetu Organizacyjnego

Konferencja Naukowa „Żywność a bezpieczeństwo zdrowotne”

Wydział Technologii Żywności UR

30-149 Kraków, ul. Balicka 122, p. 1.5

Tel: (12) 662 47 92

Dr hab. inż. Lesław Juszczyk

email: rrjuszcz@cyf-kr.edu.pl

Dr Aleksandra Duda-Chodak

email: aduda-chodak@ar.krakow.pl

KRZYSZTOF DWIECKI, MAŁGORZATA NOGAŁA-KAŁUCKA,
KRZYSZTOF POLEWSKI

ZASTOSOWANIE KROPEK KWANTOWYCH DO OZNACZANIA SKŁADNIKÓW I ZANIECZYSZCZEŃ ŻYWNOŚCI

Streszczenie

Kropki kwantowe (QD) są półprzewodnikowymi nanostrukturami o średnicy $1 \div 100$ nm, zdolnymi do fotoluminescencji. W roztworach oddziaływania pomiędzy atomami na powierzchni kropki kwantowej i otaczającymi je cząsteczkami mogą w istotny sposób wpływać na fotoluminescencję QD. Właściwość ta jest podstawą wykorzystania kropek kwantowych w analityce. Często stosuje się modyfikacje kropek kwantowych poprzez powlekanie ich powierzchni związkami zdolnymi do oddziaływania z analitem. Zastosowanie kropek kwantowych umożliwia opracowania nowych, czułych, selektywnych i szybkich metod analitycznych. W pracy przedstawiono metody oznaczania sacharydów, peptydów i białek, kwasu askorbinowego, związków fenolowych oraz zanieczyszczeń żywności i substancji niepożądanych. Opisa-
no także szereg mechanizmów oddziaływania kropek kwantowych z oznaczanymi substancjami.

Słowa kluczowe: kropki kwantowe, analityka żywności, składniki żywności, zanieczyszczenia żywności

Wprowadzenie

Kropki kwantowe (ang. *quantum dots* – QD) to półprzewodnikowe nanostruktury o średnicy $1 \div 100$ nm, w skład których wchodzi głównie pierwiastki z grup II - IV, II - V oraz IV - VI układu okresowego. Do najczęściej syntetyzowanych kropek kwantowych należą struktury zbudowane z CdSe oraz CdTe [14]. Wskutek niewielkich rozmiarów kropki kwantowe mają dyskretne poziomy energetyczne, podobne do występujących w atomach. Fotoluminescencja (FL) tych układów jest zależna od rozmiaru, dlatego stosunkowo łatwo można uzyskać kropki emitujące promieniowane elektromagnetyczne o różnych długościach fali. W porównaniu z organicznymi związkami fluo-

Dr K. Dwiecki, prof. dr hab. M. Nogala-Kałucka, Katedra Biochemii i Analizy Żywności, ul. Mazowiecka 48, 61-623 Poznań, prof. dr hab. K. Polewski, Katedra Fizyki, ul. Wojska Polskiego 38/42, 60-637 Poznań, Wydz. Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wojska Polskiego 31, 61-624 Poznań. Kontakt: dwiecki@up.poznan.pl

ryzującymi kropki kwantowe charakteryzują się stosunkowo wąskimi pasmami emisji fotoluminescencji, wysoką wydajnością kwantową, długim czasem życia fluorescencji oraz stabilnością i odpornością na fotowysybianie [5].

Ze względu na niewielkie rozmiary cząstek stosunek powierzchni do objętości kropek kwantowych jest relatywnie wysoki. Wraz ze zmniejszaniem się rozmiarów kropek, coraz większa liczba atomów znajduje się na ich powierzchni. Oddziaływania pomiędzy atomami na powierzchni kropki kwantowej i otaczającymi je cząsteczkami w roztworach mogą w istotny sposób wpływać na fotoluminescencję. Właściwość ta jest podstawą wykorzystania kropek kwantowych w analityce [20]. W metodach analitycznych związanych z fotoluminescencją kropek kwantowych oddziaływania pomiędzy analitem i powierzchnią QD prowadzą do mierzalnej zmiany natężenia FL. Defekty na powierzchni kropek kwantowych zmniejszają natężenie ich fotoluminescencji, natomiast przyłączenie analitu do powierzchni kropki może powodować pasywację powierzchni, co prowadzi do wzrostu natężenia emitowanego światła [20]. Niektóre substancje po przyłączeniu do powierzchni kropki kwantowej powodują wzrost liczby defektów, co prowadzi z kolei do spadku natężenia FL (depasywacji). Istnieją również metody wykorzystujące kombinacje efektu pasywacji i depasywacji [20]. Innymi zjawiskami wykorzystywanymi w analityce jest forsterowski transfer energii (ang. *fluorescence* (Forster) *resonance energy transfer* – FRET) oraz fotoindukowane przeniesienie elektronu (ang. *photoinduced electron transfer* – PET). W mechanizmie FRET kropki kwantowe pełnią rolę donora, który przekazuje energię wzbudzenia do akceptora (analitu), co prowadzi do zmniejszenia natężenia fotoluminescencji donora i jednoczesnego wzrostu natężenia FL analitu. W przypadku mechanizmu PET wzbudzone kropki kwantowe są donorem elektronów, przekazywanych cząsteczkom akceptora. Transfer ten prowadzi do wygaszania fotoluminescencji QD i do wzrostu natężenia FL akceptora (analitu) [20]. Metody polegające na mechanizmach pasywacji/depasywacji kropek kwantowych nie zawsze zapewniają odpowiednią selektywność opracowanych metod, dlatego często stosuje się modyfikacje kropek kwantowych, poprzez powlekanie ich powierzchni związkami zdolnymi do oddziaływania z analitem. Wykorzystuje się różne typy oddziaływań (receptor – ligand, antygen – przeciwciało, DNA – białko, cukier – pektyny, oddziaływania typu gospodarz – gość) [20]. Celem modyfikacji powierzchni (powlekania, funkcjonalizacji) może być nie tylko zwiększenie selektywności i specyficzności metody, ale również nadanie nanostrukturom zdolności do rozpraszania w roztworach wodnych, co jest niezbędne do przeprowadzenia oznaczeń substancji hydrofilowych. Drugą strategią pozwalającą na otrzymanie kropek kwantowych rozpuszczalnych w wodzie jest ich bezpośrednia synteza w roztworach wodnych.

Celem niniejszej pracy jest zapoznanie Czytelnika z wybranymi metodami analitycznymi, w których wykorzystano kropki kwantowe do oznaczania zarówno makro-

składników żywności, jak i substancji występujących w niej w ilościach śladowych, w tym szkodliwych zanieczyszczeń.

Oznaczanie sacharydów

Do składników żywności oznaczanych metodami wykorzystującymi QDs należy glukoza, której ilościowa analiza ma duże znaczenie zarówno w przemyśle spożywczym, jaki i w procesach biotechnologicznych, a także w badaniu płynów ustrojowych. Dotychczas opracowane metody oznaczania glukozy z zastosowaniem nanostruktur polegają na wykorzystaniu enzymów. Duong i Rhee [2] wykorzystali do ilościowego oznaczania glukozy wygaszanie fluorescencji kropek kwantowych CdSe/ZnS powleczonych kwasem merkaptopropionowym. Proces wygaszania polegał na transferze elektronów z QDs do enzymów (oksydazy glukozowej i peroksydazy chrzanowej), które katalizowały procesy utleniania/redukcji glukozy i produktów reakcji enzymatycznej. Oksydaza glukozowa katalizowała w tym procesie utlenianie glukozy do kwasu glukonowego i nadtlenu wodoru, natomiast nadtlenek wodoru był rozkładany do wody i tlenu cząsteczkowego w obecności peroksydazy chrzanowej. Kropki kwantowe były skoniugowane z enzymem poprzez grupę karboksylową kwasu merkaptopropionowego powlekającego nanostrukturę i grupę aminową enzymu. Ilościowe oznaczenie cukru następowało bezpośrednio po wprowadzeniu do roztworu glukozy kropek kwantowych skoniugowanych z enzymami. Według autorów metoda ta może służyć do wykrywania glukozy w zakresie stężenia $0 \div 5,0 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$ [2]. Metoda polegająca na wykorzystaniu oksydazy glukozowej i peroksydazy chrzanowej została również zaproponowana przez Yuan i wsp. [19]. W obecności oksydazy i peroksydazy glukoza była utleniana z wytworzeniem nadtlenu wodoru, który z kolei utleniał hydrochinon do benzochinonu. Powstały benzochinon powodował wygaszanie fotoluminescencji kropek kwantowych CdTe powleczonych kwasem merkaptobursztynowym. Przy ilościowym oznaczaniu glukozy w zakresie stężenia 10^{-6} M do 10^{-3} M osiągnięto limit detekcji równy 10^{-8} M . Nieco inne podejście przedstawili Huang i wsp. [10]. Oksydaza glukozowa została użyta jako katalizator reakcji utleniania glukozy z wytworzeniem nadtlenu wodoru i glukonolaktonu, który z kolei był hydrolizowany do kwasu D-glukonowego, powodującego obniżenie pH środowiska. Natężenie fotoluminescencji kropek kwantowych CdSe/ZnS powleczonych kwasem merkaptobursztynowym zmniejsza się wraz ze wzrostem kwasowości środowiska, stąd nanostruktury zastosowano jako indykator zmian pH zaistniałych w wyniku wzrostu stężenia produktów utleniania glukozy o charakterze kwaśnym. Metoda zachowywała liniową zależność sygnału od stężenia analitu w zakresie stężenia glukozy $0,2 \div 10 \text{ mM}$ lub $2 \div 30 \text{ mM}$. Na tej podstawie opracowano szybki test do półilościowego oznaczania tego monosacharydu. Fluorescencja kropek kwantowych wzbudzanych promieniowaniem o długości fali 365 nm zmieniała się od jasnopomarańczowej do żółtozielonej w zakresie stę-

żenia glukozy 0 ÷ 14 mM [10]. Kropki kwantowe powlekane białkami zostały również wykorzystane do detekcji maltozy [15].

Oznaczanie peptydów i białek

Nanocząstki powlekane grupami tiolowymi mogą być wykorzystane do oznaczania niektórych peptydów. W wyniku oddziaływania peptydu z powierzchnią kropki następuje wygaszenie emisji fluorescencji. Istnieje również możliwość analitycznego wykorzystania mechanizmów polegających na elektrostatycznym oddziaływaniu pomiędzy grupami karboksylowymi liganda i grupami aminowymi peptydu, a także pasywacji powierzchni kropek lub zahamowaniu przemian nieradiacyjnych. W wyniku tych procesów następuje wzrost natężenia emisji fluorescencji. Lizozym był oznaczany w obecności kropek powleczonych kwasem merkaptodekanowym z limitem detekcji równym $0,115 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$. W tym przypadku obserwowano wygaszenie fluorescencji na skutek elektrostatycznego oddziaływania obdarzonych ujemnym ładunkiem powierzchniowym kropek kwantowych CdSe z białkiem [5].

Oznaczanie kwasu askorbinowego

Kropki kwantowe zastosowano również z powodzeniem do oznaczania kwasu askorbinowego. Zaobserwowano wygaszenie fluorescencji kropek kadmowo-tellurowych powleczonych kwasem merkaptopropionowym (MPA-CdTe-QDs) w obecności witaminy C. Zaproponowany mechanizm wygaszania polega na wpływie tlenu na fluorescencję MPA-CdTe-QDs. W roztworach wodnych tlen może powodować zwiększenie natężenia fluorescencji nanokryształów poprzez pasywację defektów powierzchni. Kwas askorbinowy jest dobrym antyoksydantem, dlatego reaguje z tlenem zaadsorbowanym na powierzchni kropek, powodując tym samym wygaszenie fluorescencji [14]. Opracowana metoda wykazywała liniowość w zakresie stężenia $12 \div 250 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$, granica wykrywalności wynosiła $4 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$, a granica oznaczalności – $12 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$. Przy oznaczaniu kwasu askorbinowego zastosowano system przepływowy, uzyskując wydajność 68 oznaczeń na godzinę. Metodę zastosowano do oznaczania witaminy C w suplementach diety – kapsułkach goji, sokach owocowych oraz preparatach farmaceutycznych [14].

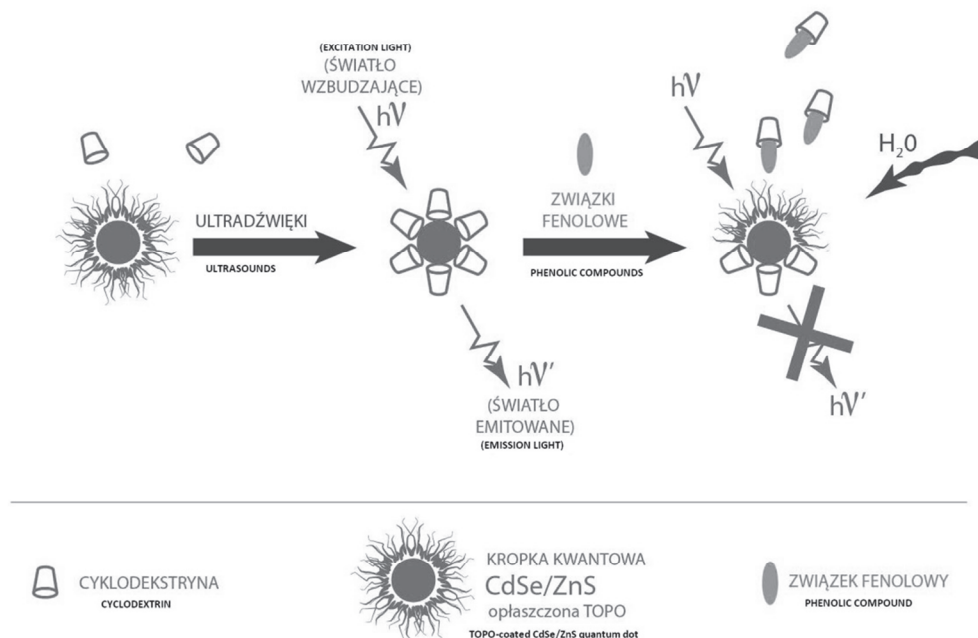
Oznaczanie związków fenolowych

Zaobserwowano, że akceptory elektronów i/lub dziur w półprzewodnikach zaadsorbowane na powierzchni kropek kwantowych powodują efektywne wygaszenie fluorescencji [16]. To zjawisko zostało wykorzystane do oznaczania prostych związków fenolowych (fenol, dopamina, hydrochinon) i benzochinonu. Związki fenolowe były utleniane do odpowiednich chinonów w obecności peroksydazy chrzanowej i H_2O_2 .

Chinony są akceptorami elektronów zdolnymi do wygaszania fotoluminescencji kadmowo-tellurowych kropek kwantowych. Przy użyciu tej metody osiągnięto stosunkowo niski limit detekcji związków fenolowych (10^{-7} mol·dm⁻³) [19]. Biosensor do oznaczania fenoli został zaproponowany przez Janga i wsp. [11]. W czasie indukowanego światłem sieciowania tyrozynaza i kropki kwantowe były pułapkowane w matrycy żelu glikolu polietylenowego. Pułapkowana tyrozynaza katalizowała utlenianie fenoli do chinonów (akceptorów elektronów), które z kolei wygaszały fluorescencję zamkniętych w matrycy kropek kwantowych [11]. Tian i wsp. [17] zaproponowali czułą i specyficzną metodę oznaczania naturalnego roślinnego polifenolu – apigeniny. Zastosowano wygaszanie fluorescencji kropek CdSe/CdS w obecności flawonoidu. Apigenina była oznaczana w próbach modelowych z limitem detekcji równym $0,13 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$ [17]. Związki fenolowe były też oznaczane przy wykorzystaniu elektrochemiluminescencji kropek kwantowych. Obecny w oleju bawełnianym i śrucie poekstrakcyjnej polifenol roślinny – gossypol jest zdolny do wygaszania elektrochemiluminescencji kropek kadmowo-tellurowych. Gossypol był oznaczany tą metodą z granicą oznaczalności równą $5\cdot 10^{-9}$ M [9].

Wykorzystanie kompleksów inkluzyjnych typu gospodarz – gość

Do oznaczania prostych związków fenolowych w wodzie zastosowano zjawisko powstawania kompleksów inkluzyjnych typu gospodarz – gość. Przykładem tego typu struktur są kompleksy β -cyklodekstryny ze związkami występującymi w żywności (galusan propylu, kwas chlorogenowy, kwas kawowy, kwas linolowy) [6, 7, 8]. W omawianej metodzie wykorzystano kropki kwantowe CdSe/ZnS powleczone β -cyklodekstryną oddziałującą z przyłączonymi do powierzchni nanostruktury hydrofobowymi łańcuchami tlenu trioktylfosfiny (TOPO). Po dodaniu do roztworu kropek próby zawierającej oznaczane związki fenolowe (p-nitrofenol, 1-naftol) powstają kompleksy fenoli z cyklodekstrynami (kompleks inkluzyjny typu gospodarz – gość), co powoduje jednocześnie destabilizację kompleksów cyklodekstryny z TOPO. Kropki kwantowe pozbawione w ten sposób otaczającej je warstwy cyklodekstryn są narażone na bezpośrednie działanie wody, co prowadzi do wygaszania ich fluorescencji (rys. 1). Na podstawie zmiany natężenia fluorescencji oznaczono w ten sposób p-nitrofenol i naftol w ściekach zawierających te związki [13]. Wykorzystanie kompleksów inkluzyjnych pozwala zwiększyć selektywność metody. Podobna strategia została zastosowana w oznaczaniu aminokwasów. Dzięki chiralnej naturze β -cyklodekstryn skonstruowano sensor nanostrukturalny, umożliwiający odróżnienie izomerów optycznych D- i L-feniloalaniny i tyrozyny [4].



Rys. 1. Mechanizm oznaczania związków fenolowych przy zastosowaniu kropek kwantowych CdSe/ZnS powleczonych β -cyklodekstryną. Kropki kwantowe CdSe/ZnS są powlekanie cyklodekstrynami pod wpływem ultradźwięków, w wyniku czego są zdolne do emisji fluorescencji ($h\nu'$) w środowisku wodnym. Związki fenolowe obecne w próbie tworzą kompleksy z cyklodekstrynami otulającymi kropki, co powoduje usunięcie części cyklodekstryn z powierzchni nanostruktury i wygaszanie fluorescencji pod wpływem wody.

Fig. 1. Mechanism of determining phenolic compounds using CdSe/ZnS quantum dots coated with β -cyclodextrin. The CdSe/ZnS quantum dots are coated with cyclodextrins using ultrasounds; thus, they are capable of emitting fluorescence ($h\nu'$) in aqueous medium. Phenolic compounds present in the sample form complexes with cyclodextrins wrapped around the quantum dots. As a result, cyclodextrins are partially removed from the surface of nanostructure and fluorescence is quenched by water.

Źródło: / Source: opracowanie własne na podstawie: [13] / the authors' own study based on [13].

Oznaczanie zanieczyszczeń żywności i substancji niepożądanych

Oprócz oznaczania prostych związków fenolowych w wodzie kropki kwantowe mogą być wykorzystywane do oznaczania innych zanieczyszczeń i substancji niepożądanych w żywności. Kropki CdSe/ZnS zostały zastosowane do fluorymetrycznego oznaczania pozostałości herbicydu dikwat w ziarniakach zbóż. W metodzie tej kropki kwantowe używane są jako czynnik redukujący (donor elektronów). Pierwszym etapem oznaczenia jest wspomagana ultradźwiękami ekstrakcja pozostałości herbicydu

z ziarniaków za pomocą acetonitrylu, następnie herbicyd obecny w próbce jest redukowany w reakcji z kropkami kwantowymi. Powstały zredukowany produkt wykazuje natywną fluorescencję przy długości fali emisji $\lambda = 666$ nm, która jest liniowo zależna od stężenia herbicydu w zakresie $0,01 \div 0,5$ mg·dm⁻³. Dzięki unieruchomieniu kropek na filtrze strzykawkowym uzyskano możliwość szybkiej redukcji herbicydu i wielokrotnego użycia tego samego złoża o właściwościach redukujących. Granica oznaczalności herbicydu dikwat w ziarnie owsa z wykorzystaniem wyżej opisanej metody wynosiła 0,01 mg·kg⁻¹. Maksymalna pozostałość pestycydów w ziarniakach owsa według regulacji Unii Europejskiej wynosi 2 mg·kg⁻¹ (EC nr 149/2008) [1].

Kropki kwantowe kadmowo-tellurowe oraz nanocząstki złota zostały użyte do oznaczania melaminy w mleku. Ze względu na wysoką zawartość azotu melamina jest substancją nielegalnie dodawaną do mleka w celu zawyżenia zawartości białka oznaczanego metodą Kjeldahla. W opisywanej metodzie zastosowano znane w spektroskopii zjawisko filtra wewnętrznego. Fluorescencja kropek kwantowych CdTe w obecności nanocząstek złota (AuNPs) jest bardzo słaba, ze względu na silną absorpcję światła przez AuNPs. Melamina obecna w próbce wiąże się z powierzchnią nanocząstek złota przez grupy aminowe, co powoduje szybką agregację AuNPs. Agregacja przyczynia się z kolei do obniżenia absorpcji światła przez złoto, dzięki czemu efekt filtra wewnętrznego nie występuje i obserwowana jest silna fluorescencja CdTe przy długości fali $\lambda = 553$ nm. Dzięki zastosowaniu opisanej metody oznaczono melaminę w próbkach mleka z limitem detekcji równym 0,02 mg·dm⁻³, co jest wartością znacznie niższą od uznawanego za bezpieczne dla zdrowia stężenia melaminy w mleku (2,5 mg·dm⁻³ w USA i Wielkiej Brytanii oraz 1 mg·dm⁻³ w odżywkach dla dzieci w Chinach) [21]. Kropki kwantowe CdSe/ZnS powlekanie amfifilowym polimerem zbudowanym na bezwodniku maleinowym znakowane przeciwciałami zostały wykorzystane do oznaczania aflatoksyny B1 [3]. Nanostruktury powlekanie przeciwciałami są z powodzeniem stosowane w immunochemicznych metodach oznaczania pozostałości leków weterynaryjnych w surowcach pochodzenia zwierzęcego. Przy zastosowaniu tej techniki oznaczono między innymi pozostałości sulfmetazyliny w mleku, thiamphenicolu w jajach i cephalexinu w wołowinie i mleku [12].

Podsumowanie

Zastosowanie kropek kwantowych w analityce żywności pozwala na opracowanie nowych, czułych, selektywnych i szybkich metod analitycznych. Możliwość rejestracji luminescencji kropek za pomocą fluorymetrów oraz postęp w ich syntezie sprawiają, że metody wykorzystujące nanostruktury stają się proste, tanie i ogólnodostępne. Techniki te nie wymagają też zastosowania skomplikowanej aparatury, istnieje natomiast możliwość opracowywania szybkich rutynowych testów wykorzystywanych poza laboratorium. Zastosowanie różnych ligandów do powlekania kropek kwanto-

wych pozwala na osiągnięcie wysokiej selektywności, charakterystycznej dla metod chromatograficznych. Mimo dużego postępu w dziedzinie analitycznego zastosowania kropek kwantowych, przed badaczami jest jednak wiele trudnych problemów do rozwiązania, takich jak: możliwość syntezy nietoksycznych kropek kwantowych o wysokiej wydajności kwantowej fluorescencji, zjawisko migotania czy niespecyficzna reakcja na analit.

Praca naukowa współfinansowana ze środków Narodowego Centrum Nauki w ramach grantu NCN 2011/01/B/NZ9/02976.

Literatura

- [1] Carrillo-Carrión C., Simonet B.M., Valcárcel M.: Rapid fluorescence determination of diquat herbicide in food grains using quantum dots as new reducing agent. *Anal. Chim. Acta.*, 2011, **692** (1-2), 103-108.
- [2] Duong H.D., Rhee J.I.: Use of CdSe/ZnS core-shell quantum dots as energy transfer donors in sensing glucose. *Talanta*, 2007, **73** (5), 899-905.
- [3] Fernández-Argüelles M.T., Costa-Fernández J.M., Pereiro R., Sanz-Medel A.: Simple bioconjugation of polymer-coated quantum dots with antibodies for fluorescence-based immunoassays. *Analyst*, 2008, **133**, 444-447.
- [4] Freeman R., FINDER T., Bahshi L., Willner I.: β -cyclodextrin-modified CdSe/ZnS quantum dots for sensing and chiroselective analysis. *Nano Lett.*, 2009, **9** (5), 2073-2076.
- [5] Galian R.E., de la Guardia M.: The use of quantum dots in organic chemistry. *Trends Anal. Chem.*, 2009, **28** (3), 279-291.
- [6] Górnaś P., Dwiecki K., Nogala-Kałucka M., Polewski K.: Propyl gallate-beta-cyclodextrin complexes. spectroscopic and thermodynamic studies. *Acta Agroph.*, 2006, **7** (1), 73- 80.
- [7] Górnaś P., Neunert G., Baczyński K., Polewski K.: Beta-cyclodextrin complexes with chlorogenic and caffeic acids from coffee brew: Spectroscopic, thermodynamic and molecular modelling study. *Food Chem.*, 2009, **114**, 190-196.
- [8] Górska A., Ostrowska-Ligęza E., Wirkowska M., Bryś J.: Stabilność termiczna kompleksów inkluzyjnych kwasu linolowego z β -cyklodekstryną. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, **2** (75), 115-123.
- [9] Hua L., Zhou J., Han H.: Direct electrochemiluminescence of CdTe quantum dots based on room temperature ionic liquid film and high sensitivity sensing of gossypol. *Electrochim. Acta*, 2010, **55** (3), 1265-1271.
- [10] Huang C.P., Liu S.W., Chen T.M., Li Y.K.: A new approach for quantitative determination of glucose by using CdSe/ZnS quantum dots. *Sensor. Actuat. B-Chem.*, 2008, **130** (1), 338-342.
- [11] Jang E., Son K.J., Kim B., Koh W.G.: Phenol biosensor based on hydrogel micro-arrays entrapping tyrosinase and quantum dots. *Analyst*, 2010, **135**, 2871-2878.
- [12] Kuang H., Zhao Y., Ma W., Xu L., Wang L., Xu C.: Recent developments in analytical applications of quantum dots. *Trends Anal. Chem.*, 2011, **30** (10), 1620-1636.
- [13] Li H., Han C.: Sonochemical synthesis of cyclodextrin-coated quantum dots for optical detection of pollutant phenols in water. *Chem. Mater.*, 2008, **20** (19), 6053-6059.
- [14] Llorent-Martínez E.J., Molina-García L., Kwiatkowski R., Ruiz-Medina A.: Application of quantum dots in clinical and alimentary fields using multicommutated flow injection analysis. *Talanta*, 2013, **109**, 203-208.

- [15] Medintz I.L., Clapp A.R., Mattoussi H., Goldman E.R., Fisher B., Mauro J.M.: Self-assembled nanoscale biosensors based on quantum dot FRET donors. *Nat. Mater.*, 2003, **2**, 630-638.
- [16] Suchetti C.A., Lema R.H., Hamity M.: Effect of benzene derivatives bearing electron-releasing and/or electron-withdrawing groups on the fluorescence of CdS-Q clusters. *J. Photochem. Photobiol. A*, 2005, **169** (1), 1-8.
- [17] Tian J.N., Wei S.Z., Zhao Y.C., Zhao S.L.: Studies on fluorescence quenching method for determination of apigenin with CdSe/CdS quantum dots. *Chin. J. Anal. Lab.*, 2008, **10**, 19-22.
- [18] Yuan J., Guo W., Wang E.: Quantum dots-bi-enzyme hybrid system for the sensitive determination of glucose. *Biosens. Bioelectron.*, 2008, **23** (10), 1567-1571.
- [19] Yuan J., Guo W., Wang, E.: Utilizing a CdTe quantum dots-enzyme hybrid system for the determination of both phenolic compounds and hydrogen peroxide. *Anal. Chem.*, 2008, **80**(4), 1141-1145.
- [20] Zhang F., Ali Z., Amin F., Riedinger A., Parak W.J.: *In vitro* and intracellular sensing by using the photoluminescence of quantum dots. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2010, **397** (3), 935-942.
- [21] Zhang M., Cao X., Li H., Guan F., Guo J., Shen F., Luo Y., Sun C., Zhang L.: Sensitive fluorescent detection of melamine in raw milk based on the inner filter effect of Au nanoparticles on the fluorescence of CdTe quantum dots. *Food Chem.*, 2012, **135** (3), 1894-1900.

APPLYING QUANTUM DOTS TO DETERMINE FOOD COMPONENTS AND CONTAMINANTS

S u m m a r y

Quantum dots (QD) are semiconductor nanostructures of a diameter between 1 and 100 nm, capable of photoluminescence. In solutions, interactions occurring between the atoms on the surface of a quantum dot and the neighbouring molecules can significantly affect the photoluminescence of QD. Owing to this characteristic, quantum dots are utilized in analytical methods. Modified quantum dots are often used; their modification consists in coating their surface using molecules capable of interacting with an analyte. The use of quantum dots makes it possible to develop novel, sensitive, selective, and quick analytical methods. In the paper, some methods are described, which are used to determine saccharides, peptides, proteins, ascorbic acid, phenolic compounds, food contaminants, and undesirable substances. Furthermore, some mechanisms are depicted of the interaction between quantum dots and an analyte.

Key words: quantum dots, food analysis, food components, food contaminants ☒

JOANNA SADOWSKA, MAGDA RYGIELSKA

TECHNOLOGICZNE I ZDROWOTNE ASPEKTY STOSOWANIA SYROPU WYSOKOFUKTOZOWEGO DO PRODUKCJI ŻYWNOŚCI

Streszczenie

W wielu produktach spożywczych sacharoza jest zastępowana syropami wysokofruktozowymi. Stosowanie syropów wysokofruktozowych zamiast sacharozy jest tańsze, łatwiejsze, bardziej wydajne, a niektóre produkty spożywcze z dodatkiem syropów są bardziej atrakcyjne sensorycznie. Wpływ syropu wysokofruktozowego na organizm człowieka jest aktualnie przedmiotem wielu badań. Przypisuje mu się istotną rolę w rozwoju otyłości, która zaliczana jest do przewlekłych chorób niezakaźnych, zwiększających ryzyko rozwoju cukrzycy typu 2, nadciśnienia tętniczego, zaburzeń gospodarki lipidowej, chorób układu sercowo-naczyniowego, dny moczanowej, kamicy nerkowej oraz niektórych nowotworów. Syropy te dodawane są nie tylko do napojów i słodczy, ale także do wielu produktów, które powszechnie utożsamiane są z prawidłowym sposobem żywienia (np. mleczne napoje fermentowane, serki twarogowe czy desery mleczne). Istotne są zatem: czytelne znakowanie produktów spożywczych oraz wiedza konsumentów na temat wpływu składników żywności na zdrowie, pozwalające na świadomy wybór produktów spożywczych.

Słowa kluczowe: syrop wysokofruktozowy (HFCS), zastosowanie, fruktoza, metabolizm lipidów

Wprowadzenie

Smak słodki nadają żywności najczęściej cukry, wśród których największe znaczenie ma sacharoza – disacharyd, w którym cząsteczki glukozy i fruktozy połączone są wiązaniem α -1,4-glikozydowym. W Polsce otrzymywana jest metodą ekstrakcji, przede wszystkim z buraków cukrowych [27, 32].

Cukier (sacharoza) uważany był za wartościowy odżywczo produkt spożywczy, niezalecany tylko osobom chorym na cukrzycę. Odgrywał także istotną rolę przy tworzeniu pożądanej konsystencji produktów [31]. W latach 60. i 70. XX w. stwierdzono

Dr hab. inż. J. Sadowska, mgr inż. M. Rygielska, Zakład Fizjologii Żywienia Człowieka, Wydział Nauk o Żywności i Rybactwa, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, ul. Papieża Pawła VI 3, 71-459 Szczecin. Kontakt: Joanna.Sadowska@zut.edu.pl

jednak, że spożywanie nadmiernych jego ilości predysponuje do rozwoju m.in. otyłości, cukrzycy i próchnicy. Poszukiwano więc zamienników. Początkowo wiele uwagi poświęcono fruktozie, ponieważ nie zwiększa ona stężenia insuliny stymulującej lipogenezę [46], w związku z czym nie powinna sprzyjać odkładaniu tkanki tłuszczowej. Uznano ją za „bezpieczną” i „nietuczącą”, a jej spożycie znacznie wzrosło. Wykazano jednak niekorzystny wpływ czystej fruktozy na zdrowie [49]. Obecnie w wielu produktach spożywczych sacharoza jest zastępowana syropami glukozowo-fruktozowymi, zwanymi także wysokofruktozowymi.

Od sacharozy różnią się one tym, że zamiast dwucukru zawierają wolną glukozę i wolną fruktozę w różnych proporcjach.

Celem niniejszej pracy było przedstawienie najnowszych danych literaturowych dotyczących technologicznych i zdrowotnych aspektów zastosowania syropu wysokofruktozowego do produkcji żywności.

Otrzymywanie syropów wysokofruktozowych

Syropy wysokofruktozowe otrzymuje się w wyniku hydrolizy enzymatycznej lub kwasowej skrobi. Początkowo wytwarzano je ze skrobi ziemniaczanej lub pszenicznej, obecnie wytwarza się je przede wszystkim ze skrobi kukurydzianej. Dzięki rządowym subwencjom do upraw kukurydzy oraz cłom nakładanym na importowany cukier buraczany i trzcinowy, wysokofruktozowy syrop kukurydziany w Ameryce Północnej jest znacznie tańszy niż sacharoza, dlatego też jest chętnie i powszechnie stosowany. Także w Unii Europejskiej koszt produkcji syropu wysokofruktozowego jest niższy niż sacharozy [54].

Syropy wysokofruktozowe otrzymuje się z syropów wysokoglukozowych (96 ÷ 98 % glukozy) uzyskanych z hydrolizy skrobi z kukurydzy, która w porównaniu z innymi roślinami zawierającymi skrobię jest najbardziej wydajna [16, 53]. Przekształcenie glukozy do fruktozy jest katalizowane przez izomerazę ksylozową używaną przeważnie w postaci immobilizowanej. Proces konwersji przeprowadzany jest w środowisku alkalicznym przy udziale jonów magnezowych, w temp. ok. 60 °C przez 4 h. Uzyskany roztwór fruktozy jest następnie poddawany procesowi oczyszczania przy użyciu węgla aktywnego i wymiennicy jonowych, a następnie zagęszczany przez odparowanie wody. Syrop glukozowo-fruktozowy otrzymany przez izomeryzację występuje pod nazwą handlową „izoglucoza”, syrop wysokofruktozowy (HFS z ang. *high fructose syrup*) lub wysokofruktozowy syrop kukurydziany (HFCS z ang. *high fructose corn syrup*) [35, 40]. Przemysłową produkcję HFCS-42 (42 % fruktozy) rozpoczęto w Stanach Zjednoczonych w 1967 r. W latach 70. XX w. na rynku występował HFCS-55 (55 % fruktozy), a obecnie – HFCS-90 (90 % fruktozy). Jednak najbardziej popularny jest HFCS-55, który w USA i Kanadzie stanowi dominującą substancję słodzącą [49].

Tabela 1. Skład węglowodanowy syropów wysokofruktozowych.

Table 1. Carbohydrate composition of high fructose syrups.

| Węglowodany Carbohydrates | 42 % HFCS | 55 % HFCS | 90 % HFCS |
|--|-----------|-----------|-----------|
| Fruktoza [g/100 g s.m.] Fructose [g/100 g d.m.] | 42 | 55 | 90 |
| Głukoza [g/100 g s.m.] Glucose [g/100 g d.m.] | 52 | 40 | 7 |
| Inne cukry [g/100 g s.m.] Others sugar [g/100 g d.m.] | 6 | 5 | 3 |
| Sucha masa [g] Dry matter [g] | 71 | 77 | 80 |

Źródło / Source [47].

HFCS może zawierać różną ilość wolnej glukozy i fruktozy, a stosunek tych cukrów w produkcie determinuje nazwę syropu (glukozowo-fruktozowy lub fruktozowo-glukozowy) (tab. 1). Aktualnie w Polsce brak jest jednak konsekwencji w stosowaniu nazw syropów. Zgodnie z rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 10 lipca 2007 r. w sprawie znakowania środków spożywczych i dozwolonych substancji dodatkowych [44] rozgraniczenie jest wyraźne i powinno być konsekwentnie stosowane zgodnie z brzmieniem: „W oznakowaniu syropu glukozowego oraz syropu glukozowego w proszku, zawierającego fruktozę w ilości większej niż 5 % suchej masy, nazwę środka spożywczego podaje się odpowiednio przy użyciu określenia "syrop glukozowo-fruktozowy" albo "syrop fruktozowo-glukozowy" oraz "syrop glukozowo-fruktozowy w proszku" albo "syrop fruktozowo-glukozowy w proszku", zależnie od przewagi glukozy albo fruktozy w syropie” (ust. 18, pkt 8).

Technologiczne aspekty stosowania syropu wysokofruktozowego

HFCS-42 stosowany jest przede wszystkim jako środek słodzący wykorzystywany w różnych gałęziach przemysłu spożywczego, m.in. w produkcji dżemów, wsadów owocowych, owoców kandyzowanych, zup, ketchupów, zalew do ogórków i śledzi, likierów, piwa i wyrobów piekarniczych. Jest także często stosowany w przemyśle mleczarskim – do produkcji mlecznych napojów fermentowanych, serków twarogowych, deserów mlecznych i lodów. HFCS-55 stosowany jest głównie do słodzenia soków oraz napojów gazowanych i niegazowanych [12, 16, 19].

Pod względem technologicznym i ekonomicznym stosowanie HFCS zamiast sacharozy ma wiele zalet. Syropy te odznaczają się dużą rozpuszczalnością, małą lepkością roztworu oraz wysoką stabilnością mikrobiologiczną z uwagi na wysokie ciśnienie

osmotyczne [23]. Płynna konsystencja zapewnia znacznie łatwiejsze stosowanie zarówno podczas produkcji żywności, jak i w transporcie. Niezaprzeczalnym atutem jest też ich niska cena [40]. Dodanie HFCS do owocowych napojów bezalkoholowych sprawia, że smak i zapach jest bardziej wyraźny, orzeźwiający i nie zanika przy przechowywaniu [53]. Syropy wysokofruktozowe mają właściwości wiążące, wypełniające, a także sklejące. Należą do stabilizatorów smaku i zapachu. Uwydatniają naturalne właściwości kolorystyczne produktu oraz podkreślają ich aromat [40]. Zastosowanie syropów wysokofruktozowych zamiast sacharozy jest więc tańsze, łatwiejsze, bardziej wydajne, a niektóre produkty spożywcze z dodatkiem syropów są atrakcyjniejsze sensorycznie.

Na etykietach produktów spożywczych producenci nie podają dodanych ilości syropu wysokofruktozowego. Także „Tabele składu i wartości odżywczej żywności” [29] nie zawierają informacji, który produkt i w jakich ilościach zawiera syrop wysokofruktozowy. Być może z tego względu nie oszacowano dotychczas jego spożycia przez populację polskich konsumentów.

Z licznych badań wynika jednak, że w diecie większości obywateli państw UE, w tym także Polski, zbyt duży udział energii w całodiennej racji pokarmowej pochodzi z węglowodanów rafinowanych i cukrów prostych. Znacząco wzrasta spożycie sacharozy i fruktozy, co związane jest przede wszystkim z dynamicznym wzrostem spożycia napojów bezalkoholowych (ze 103,6 l/osobę w latach 2000 ÷ 2005 do 152,7 l/osobę w roku 2013 – wzrost o 47 %) oraz słodczy, mających w swoim składzie syrop wysokofruktozowy, który jest także dodawany do wielu innych produktów spożywczych, nie zawsze mających smak słodki, np. keczupów [22, 30].

Powszechność stosowania syropu wysokofruktozowego w przemyśle spożywczym spowodowała dynamiczny wzrost jego spożycia [49]. W USA HFCS stał się dominującą substancją słodzącą napoje gazowane i inne produkty spożywcze. Spożycie HFCS wzrosło o 1000 % (1970 r. vs 1990 r.) [6], co przyczyniło się do wzrostu spożycia fruktozy z 250 g w 1970 r. do 28 kg w 2003 r. na osobę [3].

Wpływ syropu wysokofruktozowego na organizm człowieka jest obecnie przedmiotem wielu badań. Przypisuje mu się istotną rolę w rozwoju otyłości, która zaliczana jest do przewlekłych chorób niezakaźnych, zwiększających ryzyko rozwoju cukrzycy typu 2, nadciśnienia tętniczego, zaburzeń gospodarki lipidowej, chorób układu sercowo-naczyniowego, dny moczanowej, kamicy nerkowej oraz niektórych nowotworów [6, 34, 39].

Metabolizm glukozy i fruktozy

Glukoza i fruktoza mają identyczny sumaryczny wzór chemiczny ($C_6H_{12}O_6$), różnią się jednak sposobem wchłaniania i metabolizmem [17]. Wchłanianie monosacharydów zachodzi dość szybko, już w dwunastnicy i w górnym odcinku jelita czczego.

Glukoza wchłaniana jest czynnie przy udziale transporterów SGLT₁ i SGLT₂. Proces wchłaniania glukozy wymaga obecności jonów Na⁺, które zwiększają jej powinowactwo do transportera. Po wchłonięciu do enterocyty glukoza opuszcza go przy udziale transportera GLUT₁ zgodnie z gradientem stężeń, przemieszczając się do płynu zewnątrzkomórkowego i następnie do krwi żyły wrotnej, z którą transportowana jest do wątroby. Proces wchłaniania glukozy może zachodzić nawet przeciwnie do gradientu stężeń (czyli ze stężenia mniejszego do stężenia większego) i trwać aż do pełnego wchłonięcia jej z treści jelitowej [28, 52].

Fruktoza absorbowana jest przez enterocyty jelita cienkiego zgodnie z gradientem stężeń, na drodze transportu ułatwionego za pośrednictwem transportera GLUT₅, a następnie przemieszcza się do przestrzeni zewnątrzkomórkowej przede wszystkim przy udziale transportera GLUT₂, w mniejszym stopniu przy udziale transportera GLUT₅ [14, 28]. Szybkość wchłaniania fruktozy jest największa przy równoczesnym wchłanianiu tej samej ilości glukozy i jest hamowana w obecności sacharozy lub inhibitora sacharozy w świetle jelita, a adaptacyjnie wzrasta przy większym spożyciu fruktozy, dzięki szybkiej transkrypcji mRNA GLUT₅. Brak glukozy w treści jelitowej powoduje, że absorpcja fruktozy nie jest całkowita, przechodzi ona do jelita grubego, gdzie stanowi pożywkę do rozwoju bakterii [28, 45].

Wzrost stężenia glukozy we krwi pobudza wysepki β-Langerhansa trzustki do wydzielania insuliny wpływającej na regulację głodu i sytości oraz aktywującej dokomórkowe transportery dla glukozy i enzymy biorące udział w jej przemianach. Natomiast fruktoza nie wpływa na wydzielanie insuliny [49].

Podstawową drogę metabolizmu glukozy stanowi szlak glikolityczny służący przede wszystkim wytworzeniu energii (ATP) oraz dostarczeniu elementów budulcowych do syntezy składników komórki (rys. 1). Może być on także procesem dostarczającym trójwęglowe substraty do syntezy kwasów tłuszczowych magazynowanych w zapasowej tkance tłuszczowej.

Reakcja fosforylacji fruktozo-6-fosforanu do fruktozo-1,6-bisfosforanu katalizowana przez fosfofruktokinazę jest najważniejszym punktem kontrolnym procesu glikolizy, hamowanym przez wysokie stężenia ATP i cytrynianu. Enzym ten ulega aktywacji przez adenylozynomonofosforan (AMP) oraz fruktozo-2,6-bisfosforan, którego obecność w wątrobie wskazuje na wysokie stężenie glukozy. Fosfofruktokinaza jest więc aktywna, gdy występuje zapotrzebowanie organizmu na energię lub składniki budulcowe.

wanie słodzonych napojów zawierających fruktozę było pozytywnie skorelowane ze stężeniem kwasu moczowego w surowicy krwi badanych. Uzyskane wyniki wskazują na konieczność ograniczenia konsumpcji produktów zawierających fruktozę u osób z hiperurykemią i dną moczanową. W wielu badaniach udowodniono, że dieta bogata we fruktozę sprzyja wzmożonej produkcji kwasu moczowego, co zwiększa ryzyko powstawania kamieni nerkowych i rozwoju dny moczanowej [42]. Kwas moczowy odgrywa także istotną rolę w rozwoju schorzeń, takich jak: nadciśnienie tętnicze, choroby układu sercowo-naczyniowego, przewlekła choroba nerek oraz zespół insulinooporności [24]. Obecnie większość chorych na dnę moczanową ma cechy kliniczne zespołu metabolicznego [43].

Istnieją doniesienia, że w wyniku regularnej konsumpcji produktów zawierających syrop wysokofruktozowy dochodzi do wzrostu apetytu, rozwoju insulinooporności, czyli zmniejszenia wrażliwości tkanek obwodowych na insulinę i cukrzycy typu 2 [15]. Fruktoza może także przyczyniać się do zaburzeń gospodarki lipidowej, wpływając na zmiany stężeń składników lipidowych krwi w kierunku lipidogramu aterogennego (wysokie stężenie triacylogliceroli i LDL-cholesterolu, niskie stężenie HDL-cholesterolu).

Obecność większych ilości fruktozy w diecie może prowadzić do zaburzenia odczuwania głodu i sytości, ponieważ fruktoza nie pobudza wydzielania insuliny i leptyny – hormonów, które wpływają na ośrodek sytości, hamując pobieranie pokarmu [15]. Bezpośrednie działanie fruktozy w tym zakresie wynika z braku stymulacji sekrecji insuliny, a udowodniono, że insulina pobudza ekspresję genu leptyny i nasila jej działanie [8]. Dlatego długotrwałe stosowanie diety dostarczającej większych ilości fruktozy może przyczyniać się do zmniejszenia odpowiedzi insulinowej oraz do mniejszej produkcji leptyny, co w efekcie prowadzi do wzmożonego pobierania pokarmu i implikuje zaburzenia regulacji homeostazy energetycznej, prowadząc do przyrostu tkanki tłuszczowej [50].

Bocarsly i wsp. [4] stwierdzili większy przyrost masy ciała samców szczurów pojonnych przez 8 tygodni 8-procentowym roztworem HFCS-55 przez 12 h w porównaniu ze zwierzętami otrzymującymi w tym samym czasie 10-procentowy roztwór sacharozowy. Należy zaznaczyć, że większą masą ciała charakteryzowały się samce szczurów otrzymujących do picia HFCS-55 jedynie przez 12 h, a nie pojone HFCS-55 przez 24 h.

W drugim etapie eksperymentu Bocarsly i wsp. [4], podczas 6-miesięcznej obserwacji samców szczura mających dostęp przez 12 lub 24 h do syropu wysokofruktozowego w płynie, zaobserwowali u nich większą masę ciała i przyrost wisceralnej tkanki tłuszczowej w porównaniu ze zwierzętami pojonymi wodą. Ponadto, zaobserwowano wzrost stężenia triacylogliceroli we krwi zwierząt pojonych HFCS-55.

W odniesieniu do ludzi zaobserwowane zmiany mogą prowadzić do rozwoju dietozależnych schorzeń metabolicznych, chorób układu sercowo-naczyniowego oraz nerek.

Izolowana fruktoza nie zwiększa przyrostów masy ciała (zwłaszcza szczurów, u których nie ulega ona przemianie w enterocytach do glukozy), ponieważ nie wpływa na wydzielanie lipotwórczej insuliny. W codziennej diecie nie obserwuje się jednak spożywania samej fruktozy. Towarzyszy jej zazwyczaj glukoza, a takie połączenie zwiększa syntezę tłuszczu (w większym stopniu niż przy obecności samej glukozy), poprzez stymulację wzrostu stężenia insuliny przez glukozę i łatwość wchodzenia fruktozy w szlaki metaboliczne lipogenezy. Dlatego też, biorąc pod uwagę skalę otyłości, zaproponowano koncepcję tzw. indeksu fruktozowego (IF), definiowanego jako procent energii w pożywieniu pochodzący z fruktozy. Głównym jego zadaniem byłoby informowanie, w jakim stopniu produkt zwiększa ryzyko rozwoju otyłości i chorób sercowo-naczyniowych ze względu na zawartość fruktozy [46]. Szczególnie niekorzystne może być wprowadzenie do diety syropu wysokofruktozowego w napojach, ponieważ badania O'Connor i wsp. [38] wykazały, że nadmiar energii pochodzącej z napojów nie jest kompensowany zmniejszeniem jej pobierania z innych źródeł.

W eksperymencie przeprowadzonym przez Ferdera i wsp. [17] w organizmie szczurów pojonnych przez 3 miesiące powszechnie dostępnym napojem słodzonym HFCS-55 zaobserwowano wystąpienie zaburzeń lipidowych oraz wzrost skurczowego ciśnienia tętniczego krwi w porównaniu ze szczurami pojonymi wodą. Mechanizm wzrostu ciśnienia tętniczego krwi spowodowany spożywaniem diety bogatofruktozowej nie jest dokładnie poznany. Prawdopodobnie istotny wpływ wywiera zwiększona synteza kwasu moczowego, który jest inhibitorem tlenku azotu, wpływającego relaksująco na naczynia krwionośne, hiperinsulinemia, jak również zwiększona ekspresja receptora typu 1 angiotensyny II przy jednocześnie stabilnej syntezie reniny w nerkach oraz angiotensynogenu w wątrobie [20].

Thorburn i wsp. [51] stwierdzili wystąpienie insulinooporności u szczurów po 4-tygodniowej obserwacji, podczas której zwierzęta były karmione dietą zawierającą 35 % fruktozy. Fruktoza, pomimo braku wpływu na sekrecję insuliny, może sprzyjać rozwojowi insulinooporności poprzez wzrost stężenia wolnych kwasów tłuszczowych we krwi, zmniejszających wrażliwość receptorów insulinowych [33]. Niezestryfikowane kwasy tłuszczowe transportowane z adipocytów do wątroby zwiększają wątrobową syntezę triacylogliceroli. Fruktoza sprzyja także spowolnieniu ich eliminacji z krwiobiegu, co wykazały badania Chong i wsp. [11], którzy stwierdzili zmniejszenie aktywności lipazy lipoproteinowej po spożyciu posiłku zawierającego fruktozę, a to skutkowało wzrostem lipemii. W licznych badaniach wykazano już, że hipertriglicydemia prowadzi do insulinooporności [5, 26]. Dodatkowo wzrost ilości wolnych kwasów tłuszczowych obecnych w układzie żyły wrotnej stymuluje wątrobową syntezę glukozy, prowadzi do wzrostu stężenia glukozy we krwi, nasila wydzielanie insuliny,

a w dłuższym okresie sprzyja uszkodzeniu komórek β wysp trzustkowych, wytwarzających insulinę [13].

Przypuszcza się, że spożycie produktów zawierających syrop wysokofruktozowy, poprzez nasilenie syntezy tłuszczu w wątrobie, sprzyja również niealkoholowemu stłuszczeniu wątroby (ang. NAFLD – *Nonalcoholic fatty liver disease*) [1, 18]. NAFLD obejmuje jednostki chorobowe, takie jak: proste stłuszczenie wątroby (ang. *simple steatosis*), niealkoholowe stłuszczeniowe zapalenie wątroby (ang. NASH – *nonalcoholic steatohepatitis*) oraz włóknienie wątroby (ang. *fibrosis*), które u 20 % osób prowadzi do jej marskości (ang. *cirrhosis*), rzadziej do rozwoju niewydolności wątroby i raka wątrobowokomórkowego [41, 48].

Spożywanie syropu wysokofruktozowego może także nasilać stres oksydacyjny. Girard i wsp. [21] stwierdzili indukcję stresu oksydacyjnego wynikającego ze wzrastającej insulinooporności, hipertriglicydemii i otyłości u szczurów karmionych paszą wzbogaconą we fruktozę w porównaniu ze zwierzętami karmionymi paszą bogatą w skrobię. Prawdopodobnie obniżony poziom witaminy E w osoczu zwierząt będących na diecie fruktozowej może wpływać na zmniejszoną obronę organizmu przed wolnymi rodnikami. Także Busserolles i wsp. [7] wykazali, że u szczurów karmionych pożywieniem bogatofruktozowym stężenie wolnych rodników było trzy razy wyższe niż w grupie kontrolnej, na diecie bezfruktozowej.

Należy jednak zaznaczyć, że okazjonalne spożywanie produktów zawierających syrop wysokofruktozowy nie jest niebezpieczne dla zdrowia. Niekorzystne efekty metaboliczne obserwowano przy większych zawartościach fruktozy w diecie (35 ÷ 65 % składu diety). Tym niemniej, warto zwrócić uwagę, że spożycie jednej porcji (250 ÷ 300 g) produktu słodzonego syropem wysokofruktozowym często stanowi już całodobową dopuszczalną ilość cukrów prostych w diecie [12]. Aktualnie zaleca się, aby ilość energii pochodząca z cukrów prostych w całodziennej racji pokarmowej nie przekraczała 10 % wartości energetycznej diety [25].

Badania prowadzone na zwierzętach laboratoryjnych będących w okresie wzrostu wykazały także, że dieta bogata w syrop wysokofruktozowy zmniejsza wytwarzanie kolagenu ze względu na zaburzoną absorpcję miedzi [6].

Problemem może być też zanieczyszczenie HFCS rtęcią, do którego dochodzi podczas jego produkcji, ponieważ przy oddzielaniu glukozy od masy kukurydzianej wykorzystuje się sodę kaustyczną, często otrzymywaną metodą rtęciową. W 2009 r. amerykański Instytut ds. Rolnictwa i Polityki Handlowej w Minneapolis (Minnesota) wykrył obecność rtęci (pochodzącej z zanieczyszczonej sody kaustycznej) w co trzecim produkcie zawierającym HFCS-55. Natomiast nie stwierdzono jej obecności w napojach słodzonych HFCS, co jest niezwykle ważne dla konsumentów, ponieważ to właśnie napoje są głównym źródłem HFCS w diecie [37].

Syrop wysokofruktozowy dodawany jest nie tylko do słodkich napojów i słodyczy, ale także do wielu produktów, które powszechnie utożsamiane są z prawidłowym sposobem żywienia (np. do mlecznych napojów fermentowanych, serków twarogowych czy deserów mlecznych). Dla konsumenta istotne jest więc czytelne znakowanie składu produktów spożywczych. Niestety, informacje o obecności syropu wysokofruktozowego umieszczane na etykietach artykułów spożywczych często nie są dość czytelne. Dotyczy to zwłaszcza napojów bezalkoholowych, na opakowaniu których trudno znaleźć jednoznaczną informację, czy dany napój zawiera sacharozę i/lub syrop wysokofruktozowy.

Podsumowanie

W pracy przedstawiono aktualny stan wiedzy o technologicznych i zdrowotnych aspektach stosowania syropu wysokofruktozowego w produkcji żywności. Z punktu widzenia technologii stosowanie syropów wysokofruktozowych zamiast sacharozy jest tańsze, łatwiejsze, bardziej wydajne, a czasami korzystne sensorycznie. Jednak wyniki badań dotyczących wpływu syropu wysokofruktozowego na metabolizm ustroju wskazują, że przyczynia się on do powstawania niekorzystnych zmian w metabolizmie lipidów oraz prowadzi do rozwoju otyłości, która zaliczana jest do przewlekłych chorób niezakaźnych, zwiększających ryzyko rozwoju cukrzycy typu 2, nadciśnienia tętniczego, zaburzeń gospodarki lipidowej, chorób układu sercowo-naczyniowego, dny moczanowej, kamicy nerkowej oraz niektórych nowotworów. Niekorzystne efekty metaboliczne obserwowano najczęściej przy większym udziale syropu wysokofruktozowego w diecie (35 ÷ 65 % składu diety).

Literatura

- [1] Basaranoglu M., Kayacetin S., Yilmaz N., Kayacetin E., Tarcin O., Sonsuz A.: Understanding mechanisms of the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *World J. Gastroent.*, 2010, **16** (18), 2223-2226.
- [2] Berg J.M., Tymoczko J.L., Stryer L.: *Biochemia*. Wyd.V. Wyd. Nauk. PWN SA, Warszawa 2005.
- [3] Beyer P.L., Caviar E.M., McCallum R.W.: Fructose intake at current levels in the United States may cause gastrointestinal distress in normal adults. *J. Am. Diet. Assoc.*, 2005, **105** (10), 1559-1566.
- [4] Bocarsly M.E., Powell E.S., Avena N.M., Hoebel B.G.: High-fructose corn syrup causes characteristics of obesity in rats: Increased body weight, body fat and triglyceride levels. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 2010, **97** (1), 101-106.
- [5] Bovet P, Faeh D, Gabriel A, Tappy L.: The prediction of insulin resistance with serum triglyceride and high-density lipoprotein cholesterol levels in an East African population. *Arch Intern Med.*, 2006, 166 (11), 1236-1237.
- [6] Bray G.A., Nielsen S.J., Popkin B.M.: Consumption of high-fructose corn syrup in beverages may play a role in the epidemic of obesity. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2004, **79** (4), 537-543.
- [7] Busserolles J., Gueux E., Rock E., Mazur A., Rayssiguier Y.: Substituting honey for refined carbohydrates protects rats from hypertriglyceridemic and prooxidative effects of fructose. *J. Nutr.*, 2002, **132** (11), 3379-3382.

- [8] Cammisotto P.G., Bukowiecki L.J.: Mechanisms of leptin secretion from white adipocytes. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.*, 2002, **283** (1), C244-250.
- [9] Choi H.K., Curhan G.: Soft drinks, fructose consumption, and the risk of gout in men: prospective cohort study. *BMJ*, 2008, **336**, 309-312.
- [10] Choi J.W.J., Ford E.S., Gao X., Choi H.K.: Sugar-sweetened soft drinks, diet soft drinks, and serum uric acid level: The third national health and nutrition examination survey. *Arthritis & Rheumatism (Arthritis Care & Research)*, 2008, **59** (1), 109-116.
- [11] Chong M.F., Fielding B.A., Frayn K.N.: Mechanisms for the acute effect of fructose on postprandial lipemia. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2007, **85** (6), 1511-1520.
- [12] Cichosz G., Ambroziak A., Kowalska M., Aljewicz A.: Syrop glukozowo-fruktozowy – zagrożenia zdrowotne. *Przegl. Mlecz.*, 2011, (10), 20-24.
- [13] Ciok J., Talikowski T., Wyrobek I.: Fruktaza jako czynnik ryzyka przewlekłych chorób metabolicznych. *Żyw. Człow. Metab.*, 2004, **XXXI** (1), 88-95.
- [14] Douand V., Ferrari R.P.: The role of fructose transporters in diseases linked to excessive fructose intake. *J. Physiol.*, 2011, 2157321 (1), 1-39. doi 10.1113/jphysiol.2011.215731.
- [15] Elliott S.S., Keim N.L., Stern J.S., Teff K., Havel P.J.: Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2002, (76), 9119-22.
- [16] Enzymatyczna modyfikacja składników odżywczych. Red. E. Kołakowski, W. Bednarki, S. Bielecki. Wyd. Akademii Rolniczej w Szczecinie, Szczecin 2005.
- [17] Ferder L., Ferder M.D., Inserra F.: The role of high-fructose corn syrup in metabolic syndrome and hypertension. *Curr. Hypertens. Rep.*, 2010, **12** (2), 105-112.
- [18] Figlewicz D.P., Ioannou G., Bennett Jay J., Kittleson S., Savard C., Roth C.L.: Effect of moderate intake of sweeteners on metabolic health in the rat. *Physiol. Behav.*, 2009, **98** (5), 618-624.
- [19] Gawęcki M.: Syropy skrobiowe o wysokiej zawartości fruktozy – zastosowanie w produkcji napojów i soków. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2001, (3), 3.
- [20] Giacchetti G., Sechi L.A., Griffin C.A., Don B.R., Mantero F., Schambelan M.: The tissue renin-angiotensin system in rats with fructose-induced hypertension: overexpression of type 1 angiotensin II receptor in adipose tissue. *J. Hypertens.*, 2000, **18** (6), 695-702.
- [21] Girard A., Madani S., Boukourt F., Cherkaoui-Malki M., Belleville J., Prost J.: Fructose-enriched diet modifies antioxidant status and lipid metabolism in spontaneously hypertensive rats. *Nutrition*, 2006, **22** (7-8), 758-766.
- [22] Grzybowski R.A.: Kierunki rozwoju przemysłu rolno-spożywczego i biotechnologii żywności. I Kongres Nauk Rolniczych Nauka – Praktyce, Puławy 2009, 14-15 maj, ss. 23-35.
- [23] Hanover L.M., White J.S.: Manufacturing, composition, and application of fructose, *Am. J. Nutr.*, 1993, **58** (5 Suppl), 724S-732S.
- [24] Heinig M., Johnson R.J.: Role of uric acid in hypertension, renal disease, and metabolic syndrome. *Clev. Clin. J. Med.*, 2006, **73** (12), 1059-1064.
- [25] Jarosz M., Bułhak-Jachymczyk B. Normy żywienia człowieka. Podstawy prewencji otyłości i chorób niezakaźnych. IŻŻ, Wyd. Lek. PZWL, Warszawa 2008.
- [26] Katsuki A., Sumida Y., Urakawa H., Gabazza E.C., Murashima S., Maruyama N., Morioka K., Nakatani K., Yano Y., Adachi Y.: Increased visceral fat and serum levels of triglyceride are associated with insulin resistance in Japanese metabolically obese, normal weight subjects with normal glucose tolerance. *Diabetes Care*, 2003, **26** (8), 2341-2342.
- [27] Kołożyn-Krajewska D., Sikora T.: Towaroznawstwo żywności. Wyd. VII. WSiP, Warszawa 2007.
- [28] Konturek S.: Układ trawienny. W: Fizjologia człowieka z elementami fizjologii stosowanej i klinicznej. Red. W.Z. Traczyk i A. Trzebski. Wyd. Lek. Warszawa 2007, ss. 717-800.
- [29] Kunachowicz H., Nadolna I., Przygoda B., Iwanow K.: Tabele składu i wartości odżywczej żywności. Wyd. Lek. PZWL, Warszawa 2005.

- [30] Lebedzińska A.: Węglowodany w diecie człowieka. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2008, **XLI (3)**, 215-218.
- [31] Leszczyński W.: Zamienniki sacharozы. *Przegl. Piek. Cuk.*, 2001, **49 (06)**, 36-39.
- [32] Lindemann B.: Receptors and transduction in taste. *Nature*, 2001, **413 (6852)**, 219-225.
- [33] Litherland G.J., Hajdуч E., Gould G.W., Hundal H.S.: Fructose transport and metabolism in adipose tissue of Zucker rats: diminished GLUT5 activity during obesity and insulin resistance. *Mol. Cell. Biochem.*, 2004, **261 (1-2)**, 23-33.
- [34] Madsen S.A., Gronbaek H., Olsen H.: Psychological aspects of obesity. *Ugeskr. Laeger.*, 2006, **168 (2)**, 194-196.
- [35] Majewska E., Białecka-Florjańczyk E.: Zielona chemia w przemyśle spożywczym. *Chemia, Dydaktyka, Ekologia, Metrologia*, 2010, **15 (1)**, 21-27.
- [36] Mayes P.A.: Szlak pentozofosforanowy oraz inne szlaki przemiany heksoz. W: *Biochemia Harpera*. Red. R.K. Murray, D.K. Granner, P.A. Mayes, V.W. Rodwell. Wyd. Lek. III. PZWL, XXXXX 1995, ss. 239-250.
- [37] Not so sweet: Missing Mercury and High Fructose Corn Syrup. [online]. Institute for Agriculture and Trade Policy Dostęp w Internecie: [4.01.2013.], <http://iowa.sierraclub.org/Mercury/HgandFructose.pdf>
- [38] O'Connor T.M., Yang S.J., Nicklas T.A.: Beverage intake among preschool children and its effect on weight status. *Pediatrics*, 2006, **118 (4)**, e1010-1018.
- [39] Page K.A., Chan O., Arora J., Belfort-Deaguiar R., Dzuira J., Roehmholdt B., Cline G.W., Naik S., Sinha R., Constable R.T., Sherwin R.S.: Effects of fructose vs glucose on regional cerebral blood flow in brain regions involved with appetite and reward pathways. *JAMA*, 2013, 309 (1), 63-70.
- [40] Parker K., Salas M., Nwosu V.C.: High fructose corn syrup: Production, uses and public health concerns. *Biotechnol. Mol. Biol. Rev.*, 2010, **5(5)**, 71-78.
- [41] Raszeja-Wyszomirska J., Ławniczak M., Marlicz W., Mierzyńska-Kurtycz J., Milkiewicz P.: Niealkoholowa choroba stłuszczeniowa wątroby – nowe spojrzenie. *Pol. Merk. Lek.*, 2008, **XXIV (144)**, 568-571.
- [42] Rho Y.H., Zhu Y., Choi H.K.: The epidemiology of uric acid and fructose. *Semin. Nephrol.*, 2011, **31 (5)**, 410-419.
- [43] Richette P., Perez-Ruiz F.: Serum uric acid and metabolic risk. *Curr. Med. Res. Opin.*, (3 Suppl), 9-15.
- [44] Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 10 lipca 2007 r. w sprawie znakowania środków spożywczych i dozwolonych substancji dodatkowych. *Dz. U.* 2007 r. Nr 137 poz. 966. z późn. zm.
- [45] Rumessen J.J., Gudmand-Hoyer E.: Absorption capacity of fructose in healthy adults. Comparison with sucrose and its constituent monosaccharides. *Gut*, 1986, **27**, 1161-1168.
- [46] Segal M.S., Gollub E., Johnson R.J.: Is the fructose index more relevant with regards to cardiovascular disease than glycemic index? *Eur. J. Nutr.*, 2007, **46 (7)**, 406-417.
- [47] Słomińska L.: Środki słodzące na bazie skrobi. *Przegl. Piek. Cuk.*, 1998, **46 (5)**, 28-33.
- [48] Stankowiak-Kulpa H., Swora E., Grzymisławski M.: NAFLD – aktualne zasady postępowania. *Nowiny Lek.*, 2009, **78 (5-6)**, 330-334.
- [49] Tappy L., Le K.A.: Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity. *Physiol. Rev.* 2010, **90**, 23-46.
- [50] Teff K.L., Elliott S.S., Tachop M., Kieffer T.J., Rader D., Heiman M., Townsend R.R., Keim N.L., D'alessio D., Havel P.J.: Dietary fructose reduces circulating insulin and leptin, attenuates postprandial suppression of ghrelin, and increases triglycerides in women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2004, **89 (6)**, 2963-2972.

- [51] Thorburn A.W., Storlien L.H., Jenkins A.B., Khouri S., Kraegen E.W.: Fructose-induces in vivo insulin resistance and elevated plasma triglyceride levels in rats. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1989, **49** (6), 1155-1163.
- [52] Thorens B.: Facilitated glucose transporters in epithelial cells. *Ann. Rev. Physiol.*, 1993, 55, 591-608.
- [53] Wolski T., Najda A.: Substancje słodzące pochodzenia naturalnego. *Postępy Fitoterapii*, 2005, (1-2), 15-28.
- [54] Wystrychowski G., Żukowska-Szczechowska E., Obuchowicz E., Grzeszczak W., Wystrychowski A.: Węglowodanowe substancje słodzące a otyłość. *Przegl. Lek.*, 2012, **69** (4), 157-162.

TECHNOLOGICAL AND HEALTH ASPECTS OF USING HIGH FRUCTOSE SYRUP IN FOOD PRODUCTION

S u m m a r y

In many food products, saccharose is replaced with high fructose syrups. The use of high fructose syrups instead of saccharose is less expensive, easier, more efficient, and some products with those syrups added are sensorily more attractive. Presently, the effect of high fructose syrup on human body is a subject of many studies. It is supposed to play a significant role in the development of obesity, which is classified into a group of chronic non-infectious diseases, which increase the risk of developing type 2 diabetes, hypertension, lipid disorders, cardiovascular diseases, gout, nephrolithiasis, and some types of tumours. Those syrups are not only added to beverages and sweets, but, also, to many products that are customarily equated with healthy eating (e.g. fermented milk drinks, cheese curds, and dairy desserts). Therefore, in order to enable consumers to choose foods mindfully, it is important that food products are clearly labelled and that consumers have adequate knowledge of the effect of food components on health.

Key words: high fructose syrup, HFCS, application, fructose, lipid metabolism ☒

ANNA DUDZIŃSKA, JACEK DOMAGAŁA, MONIKA WSZOŁEK

WPLYW WYSOKIEGO CIŚNIENIA HYDROSTATYCZNEGO NA MIKROORGANIZMY WYSTĘPUJĄCE W MLEKU I NA WŁAŚCIWOŚCI MLEKA

Streszczenie

Technika wysokich ciśnień hydrostatycznych (UHP), będąca nowoczesną technologią utrwalania i kształtowania cech sensorycznych żywności, może być alternatywą obróbki termicznej wielu produktów spożywczych, w tym mleka.

W pracy przedstawiono aktualny stan wiedzy na temat wpływu wysokiego ciśnienia hydrostatycznego na mikroorganizmy zawarte w mleku oraz na główne właściwości mleka. Wegetatywne formy drożdży i pleśni oraz ich spory niszczone są przez ciśnienie 200 ÷ 400 MPa, a wegetatywne formy bakterii (również chorobotwórcze) – 300 ÷ 600 MPa, natomiast przetrwalniki > 1000 MPa. Wirusy wykazują bardzo różną odporność na ciśnienie. Obróbka wysokociśnieniowa, wywołując zmiany w składnikach mineralnych mleka, powoduje wzrost jego pH. Micele kazeinowe ulegają rozpadowi na drobne podjednostki, co w efekcie zmniejsza mętność i jasność mleka, a zwiększa jego lepkość. Odpowiednio dobrane parametry presuryzacji korzystnie oddziałują na właściwości technologiczne mleka. Ciśnienie 100 ÷ 300 MPa wpływa na: poprawę właściwości koagulacyjnych mleka traktowanego podpuszczką, skrócenie czasu koagulacji oraz skrócenie czasu żelowania. Ciśnienie 200 ÷ 400 MPa umożliwia otrzymanie twardszego skrzepu. Przy kwasowej koagulacji działanie wysokim ciśnieniem zwiększa szybkość zakwaszania, dzięki czemu uzyskuje się skrzep o większej sztywności, wytrzymałości i odporności na synerezę.

Słowa kluczowe: mikroorganizmy, barwa, lepkość, koagulacja podpuszczkowa, koagulacja kwasowa, presuryzacja

Wprowadzenie

Spośród stosowanych obecnie metod utrwalania mleka najczęstszą jest obróbka termiczna (pasteryzacja, sterylizacja). Skutecznie redukuje ona poziom mikroorganizmów, jednak wpływa niekorzystnie na smak i barwę produktu, a także wywołuje de-

Mgr inż. A. Dudzińska, prof. dr hab. inż. J. Domagała, dr hab. inż. M. Wszolek, Katedra Przetwórstwa Produktów Zwierzęcych, Wydz. Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków. Kontakt: rtdomaga@cyf-kr.edu.pl

gradację cennych składników, jak witaminy. W mleku powoduje ponadto zmiany jego właściwości technologicznych, takie jak zmniejszenie zdolności krzepnięcia pod wpływem podpuszczki czy zdolności podstojowej. Celem producentów jest zatem stosowanie takiej technologii przetwarzania, która oprócz bezpieczeństwa mikrobiologicznego pozwoliłaby zachować naturalne lub stworzyć nowe, korzystne cechy sensoryczne produktu, przy jednoczesnym zminimalizowaniu niepożądanych zmian wywołanych obróbką [19, 29].

Jedną ze stosowanych technik jest oddziaływanie wysokim ciśnieniem, zwane presuryzacją, paskalizacją, obróbką wysokociśnieniową czy ciśnieniowaniem. Pozwala ono nie tylko na utrwalanie żywności poprzez niszczenie szkodliwych mikroorganizmów, ale również wpływa na kształtowanie tekstury, właściwości funkcjonalne oraz cechy sensoryczne produktu bez wywierania negatywnych skutków na jego składniki odżywcze. Główne zalety tej metody to [31, 43, 56]:

- eliminacja lub znaczne ograniczenie ogrzewania, dzięki czemu unika się termicznej degradacji składników żywności,
- wysoki poziom zachowania aromatu, barwy i wartości odżywczej,
- jednolita i natychmiastowa obróbka produktu,
- zmniejszone zapotrzebowanie na dodatki chemiczne,
- duży potencjał w zakresie projektowania nowych produktów ze względu na możliwość tworzenia nowej tekstury, smaku i właściwości funkcjonalnych.

Typowy system do obróbki wysokociśnieniowej składa się z czterech głównych części: zbiornika ciśnieniowego wraz z jego zamknięciem (np. w postaci tłoka) oraz płaszczem grzejnym, umożliwiającym uzyskanie odpowiedniej temperatury, systemu generującego ciśnienie, urządzenia kontrolującego i monitorującego ciśnienie i temperaturę oraz systemu przeładowującego produkt do i ze zbiornika. Zbiornik ciśnieniowy jest zazwyczaj cylindrycznym naczyniem wykonanym z niskostopowej stali o wysokiej wytrzymałości na rozciąganie. Grubość ścian zależy od maksymalnego ciśnienia roboczego, średnicy zbiornika i liczby cykli, na jaką komora została zaprojektowana [16, 36].

Stosowane zbiorniki mają zarówno pionową, jak i poziomą konfigurację oraz objętość wewnętrzną od 30 do powyżej 600 litrów. Ceny systemów wysokociśnieniowych wynoszą od 500 tys. do 2,5 mln USD, w zależności od pojemności urządzenia i stopnia automatyzacji, natomiast koszty przetwarzania – od 9 do 22 centów/kg, włączając koszty operacyjne i amortyzacji [47].

Stosowane w przemyśle urządzenia do obróbki wysokociśnieniowej pracują w systemie okresowym lub półciągłym. Wybór sprzętu zależy od rodzaju przetwarzanych produktów spożywczych. Produkty żywnościowe, składające się z dużych części stałych, poddawane są obróbce okresowej. Ciecze i produkty płynne mają dodatkową możliwość przetwarzania półciągłego. Systemy półciągłe stosowane do

przetwarzania płynnych artykułów żywnościowych zawierają kilka zbiorników, każdy wyposażony w swobodnie unoszący się tłok pozwalający dzielić zbiornik na dwie komory. Pierwsza komora wykorzystywana jest na płynną żywność, druga – na medium. Komora przeznaczona na żywność napelniana jest za pomocą niskociśnieniowej pompy, przez którą przepływa produkt. Po jej napelnieniu zawór zostaje zamknięty, a medium wpompowywane jest pod wysokim ciśnieniem do drugiej komory zbiornika, co powoduje kompresję płynu w pierwszej komorze. Po odpowiednim czasie przetrzymywania ciśnienie uwalniane jest z drugiej komory. Zawór komory „żywnościowej” zostaje otwarty, a kolejne porcje medium wprowadzane przez niskociśnieniową pompę do drugiej komory przesuwają tłok, który naciskając na płynny produkt powoduje jego usuwanie. Utrwalony produkt kierowany jest do sterylne go tanku, z którego dalej może być aseptycznie przekazywany do sterylnych opakowań [2].

Wpływ wysokich ciśnień na mikroorganizmy zawarte w mleku

Każda z technik utrwalania żywności ma na celu zwalczanie mikroorganizmów chorobotwórczych, co zapewnia bezpieczeństwo produktu, a w drugiej kolejności – niszczenie drobnoustrojów powodujących psucie się żywności, co przedłuża jej okres przechowywania [37].

Odporność mikroorganizmów na ciśnienie jest uzależniona od parametrów obróbki, składników żywności oraz właściwości i stanu fizjologicznego drobnoustrojów. Na ogół komórki odporne na ogrzewanie są również bardziej odporne na ciśnienie, jednak istnieją liczne wyjątki. Ponadto, mikroorganizmy będące w logarytmicznej fazie wzrostu są zawsze bardziej wrażliwe na działanie wysokiego ciśnienia niż pozostające w fazie stacjonarnej, a spory są bardziej odporne niż formy dojrzałe [35, 41]. Wegetatywne formy drożdży i pleśni niszczone są przez ciśnienie w zakresie 200 ÷ 300 MPa [54], natomiast ich spory tracą aktywność przy 400 MPa [6]. Większość wegetatywnych form bakterii, łącznie z chorobotwórczymi patogenami, inaktywowana jest przy ciśnieniu 300 ÷ 600 MPa. Z kolei ich formy przetrwalnikujące są niszczone tylko przy bardzo intensywnej obróbce (> 1000 MPa), chociaż ciśnienie 50 ÷ 300 MPa pobudza je do kiełkowania, a dalsza umiarkowana obróbka cieplna bądź ciśnieniowa zabija je. Drobnoustroje Gram-dodatnie są bardziej odporne na presuryzację niż mikroorganizmy Gram-ujemne. Wykazano jednak znaczne różnice w odporności na ciśnienie w obrębie szczepów tego samego gatunku. Do osiągnięcia inaktywacji bakterie Gram-dodatnie wymagają stosowania ciśnienia 500 ÷ 600 MPa w temp. 25 °C przez 10 min, podczas gdy komórki Gram-ujemne są inaktywowane przy obróbce 300 ÷ 400 MPa w tej samej temperaturze, w ciągu 10 min. Wirusy stanowią niejednorodną grupę mikroorganizmów i wykazują bardzo różną odporność na działanie ciśnienia [41, 51].

Przeprowadzono wiele badań mających na celu inaktywację mikroorganizmów chorobotwórczych i gnilnych mleka przy użyciu obróbki wysokociśnieniowej. Na ich podstawie udowodniono, że możliwe jest uzyskanie „surowego” mleka poddanego działaniu ciśnienia w zakresie 400 ÷ 600 MPa, którego jakość mikrobiologiczna jest porównywalna z jakością mleka pasteryzowanego w temp. 72 °C przez 15 s [3, 5, 42], lecz niesterylizowanego, ze względu na obecność odpornych na działanie ciśnienia zarodników. Aby osiągnąć dziesięciodniową trwałość mleka podczas przechowywania w temp. 10 °C, konieczne jest zastosowanie ciśnienia 400 MPa przez 15 min lub 600 MPa przez 3 min w temp. 20 °C [45].

W celu określenia wrażliwości drobnoustrojów chorobotwórczych i powodujących psucie się żywności zbadano w mleku owczym poddanym działaniu wysokiego ciśnienia pięć mikroorganizmów: *Escherichia coli* CECT 405 (wskaźnik zanieczyszczenia pochodzenia fekalnego), *Pseudomonas fluorescens* CECT 378 (reprezentant *Pseudomonas* spp., składnik mikroflory gnilnej w schłodzonym mleku), *Listeria innocua* CECT 910 (wskaźnik ludzkiego patogenu *L. monocytogenes*), *Staphylococcus aureus* CECT 534 (składnik mikroflory gnilnej mastitisowego mleka) i *Lactobacillus helveticus* CECT 414 (mikroorganizm niechorobotwórczy, reprezentant mlekowej flory bakteryjnej) [12, 14, 15]. Zaobserwowano, że inaktywacja spowodowana wysokim ciśnieniem malała zgodnie z kolejnością: *P. fluorescens* > *E. coli* > *L. innocua* > *L. helveticus* > *S. aureus*. Inny efekt wykazywały mikroorganizmy na działanie wysokiego ciśnienia w połączeniu z temperaturą. *P. fluorescens*, *L. innocua* i *L. helveticus* charakteryzowały się większą odpornością na presuryzację w temp. 25 °C niż w temp. 4 °C, podczas gdy *E. coli* i *S. aureus* były bardziej wrażliwe na działanie wysokiego ciśnienia w temperaturze pokojowej niż w 4 °C.

Czystość mikrobiologiczna mleka poddanego obróbce wysokociśnieniowej może być oceniana poprzez badanie aktywności rodzimych enzymów mleka, których odporność na działanie wysokiego ciśnienia jest większa niż odporność drobnoustrojów patogennych. Enzymy te mogą być wykorzystywane jako wskaźniki intensywności działania wysokiego ciśnienia, analogicznie do fosfatazy alkalicznej czy laktoperoksydazy używanych do oceny skuteczności pasteryzacji mleka.

Fosfataza alkaliczna jest znacznie bardziej wytrzymała na działanie wysokiego ciśnienia w porównaniu z odpornością mikroorganizmów obecnych w mleku. Jej inaktywacja świadczy zatem o braku patogenów w mleku poddanym presuryzacji. Z drugiej strony użycie fosfatazy alkalicznej jako wskaźnika ciśnieniowej pasteryzacji prowadzi do nadmiernego przetwarzania mleka. Z tego powodu wymagany jest wskaźnik bardziej wrażliwy na działanie wysokiego ciśnienia [44].

Ze względu na wysoką odporność na działanie wysokiego ciśnienia, laktoperoksydaza nie może być wskaźnikiem ciśnieniowej inaktywacji mikroorganizmów w mle-

ku [44]. Bardziej wrażliwymi na obróbkę wysokociśnieniową enzymami są γ -glutamylotransferaza i izomeraza fosfoheksozowa [44].

Wpływ wysokiego ciśnienia na główne właściwości mleka

pH

Zmiany, jakie wywołuje wysokie ciśnienie w składnikach mineralnych mleka mogą skutkować zmianą jego pH. Chociaż Johnston i wsp. [25] nie stwierdzili znaczącego wpływu ciśnienia do 600 MPa na pH odtłuszczonego mleka krowiego, w kilku kolejnych badaniach, którym poddano mleko kozie [8] oraz krowie surowe [4], pasteryzowane [48, 49] i UHT [4, 48] zaobserwowano wzrost pH. Zmiany wartości pH były szczególnie duże w przypadku mleka UHT w porównaniu z mlekiem surowym i pasteryzowanym. Przypuszcza się, że efekt ten związany jest z przemianami koloidalnego fosforanu wapnia, który wytrąca się w wysokiej temperaturze oraz rozpada w warunkach wysokiego ciśnienia. Wywołane obróbką wysokociśnieniową większe pH w mleku pasteryzowanym po 4 h przechowywania w warunkach otoczenia powróciło do stanu sprzed obróbki. W przypadku mleka UHT wzrost pH o 0,05 jednostki utrzymał się, co było prawdopodobnie spowodowane faktem, że podczas działania wysokiego ciśnienia wytrącony uprzednio pod wpływem obróbki UHT koloidalny fosforan wapnia oddysocjował nieodwracalnie z miceli kazeinowych [48]. Odwracalnością zmian wartości pH wywołanych wysokim ciśnieniem można tłumaczyć różnice w wynikach wielu badań.

Barwa

Rozpad miceli kazeinowych spowodowany wysokim ciśnieniem wpływa również na wygląd mleka. Zmniejszenie wartości L^* (jasność) oraz wzrost udziału barwy zielonej ($- a^*$) i żółtej ($+ b^*$) zaobserwowano przy obróbce wysokociśnieniowej mleka owczego [13]. Przyczyną zmiany jasności barwy był prawdopodobnie rozpad miceli kazeinowych na małe fragmenty, które zwiększają przezroczystość mleka [25]. Zmiany te były jednak wizualnie niedostrzegalne, co może pozytywnie wpływać na akceptację produktu przez potencjalnych klientów. Podobne wyniki uzyskali również inni badacze w przypadku mleka krowiego, wykazując niską czułość barwy mleka na wysokie ciśnienie. Obróbka w 200 MPa i 20 °C miała niewielki wpływ na wartość L^* , natomiast w 250 ÷ 450 MPa zmniejszyła jasność pasteryzowanego oraz regenerowanego mleka odtłuszczonego. Ciśnienie powyżej 450 MPa spowodowało niewiele większe zmiany. Jednak w mleku odtłuszczonym poddanym obróbce w 600 MPa przez 15 min zaobserwowano znaczące różnice w wartościach L^* , a^* i b^* , które były dostrzegalne wizualnie [1, 9, 25, 42]. Ogrzewanie ciśnieniowanego mleka od 4 do 43 °C pozwoliło ponownie uzyskać barwę zbliżoną do mleka niepoddanego obróbce [25].

Lepkość

Wpływ wysokiego ciśnienia na lepkość mleka nie jest jednoznacznie opisany w literaturze. Wielu badaczy uzyskało sprzeczne wyniki. Według Kim i wsp. [28] obróbka wysokociśnieniowa nie wpływa istotnie na omawiany parametr. W przeprowadzonych badaniach wykazali oni, że lepkość mleka przetwarzanego w 200 MPa przez 10 i 20 min jest taka sama jak mleka surowego, natomiast wydłużenie czasu obróbki do 30 min nieznacznie ją zwiększa. Z kolei według Harte'a i wsp. [18] oraz Huppertza i wsp. [20] przemiany zachodzące w strukturze micelarnej pod wpływem wysokiego ciśnienia powodują istotny wzrost lepkości odtłuszczonego mleka. Jest on tym większy, im wyższe jest ciśnienie i dłuższy czas obróbki. Zjawisko to tłumaczy się znacznym zwiększeniem hydratacji cząstek kazeinowych mleka poddanego presuryzacji. Rozpad miceli na mniejsze podjednostki o nieregularnym kształcie sprzyja przyłączaniu do nich cząsteczek wody [1, 39]. Ponadto, na skutek asocjacji zdenaturowanej β -laktoglobuliny (β -lg) z micelami następuje zwiększenie ujemnego ładunku elektrycznego miceli, powodując również wzrost ich solwatacji [1, 24].

Koagulacja podpuszczkowa

Koagulacja podpuszczkowa mleka uważana jest za dwuetapowy proces, składający się z fazy enzymatycznej i koagulacyjnej. W fazie enzymatycznej następuje specyficzna hydroliza κ -kazeiny, która zostaje rozerwana na para- κ -kazeinę, biorącą udział w tworzeniu skrzepu, i kazeinomakropeptyd (ang. *Casein Macro Peptide* – CMP), uwalniany do serwatki. W fazie koagulacyjnej ma miejsce agregacja zmodyfikowanych enzymatycznie miceli kazeinowych [31].

Wielu naukowców badało wpływ wysokiego ciśnienia hydrostatycznego na różne parametry związane z koagulacją mleka pod wpływem podpuszczki, takie jak czas krzepnięcia podpuszczki (ang. *Rennet Coagulation Time* – RCT), czas, w którym skrzep jest dostatecznie związany do krojenia (czas żelowania) oraz więźność żelu podczas krojenia [24].

Stwierdzono, że obróbka surowego mleka pod ciśnieniem 100 ÷ 300 MPa wpływa na poprawę jego właściwości koagulacyjnych. Zastosowanie ciśnienia 200 ÷ 250 MPa przez 30 min skróciło czas koagulacji, podczas gdy ciśnienie 400 i 600 MPa (30 min) ponownie ten czas wydłużyły – uzyskano wartość RCT odpowiednio podobną i 15 % wyższą niż w przypadku mleka nieprzetworzonego. Przy ciśnieniu 200 MPa czas obróbki w zakresie 10 ÷ 60 min pozwolił na uzyskanie zbliżonego wyniku. Z kolei przy 400 MPa ten sam przedział czasowy spowodował odmienne wyniki – dziesięciominutowe działanie ciśnieniem spowodowało skrócenie czasu krzepnięcia, a dłuższe oddziaływanie stopniowo zwiększało wartość RCT i ostatecznie po 60 min uzyskano wartość znacznie wyższą niż w przypadku mleka surowego [27, 33, 39, 55].

Lopez-Fandino i wsp. [33] stwierdzili, że wpływ wysokiego ciśnienia na czas żelowania jest podobny do wpływu, jaki wywołuje ono na RCT. Obróbka mleka surowego w 200 MPa przez 30 min skróciła czas potrzebny do uzyskania dostatecznie związłego skrzepu, natomiast ciśnienie do 400 MPa spowodowało, że czas żelowania osiągnął wartość zbliżoną do uzyskanej podczas żelowania mleka niepoddanego obróbce. Podobnie jak w przypadku RCT, czas żelowania zależał od czasu oddziaływania ciśnienia.

Zgodnie z wynikami, jakie otrzymali Lopez-Fandino i wsp. [33] zwiążłość żelu pozostała niezmieniona po działaniu ciśnienia 100, 200 oraz 400 MPa przez 30 min. Natomiast obróbka w 300 MPa spowodowała wzrost wartości tego parametru. Podobny efekt obserwowano również w przypadku mleka poddanego presuryzacji w 200 MPa przez 10 min. Wydłużenie czasu do 60 min nie spowodowało dalszych zmian. Obróbka w 400 MPa przez 10 min także zwiększyła zwiążłość żelu, jednak w tym przypadku dłuższy czas obróbki spowodował, że po 60 min uzyskano znacznie mniejszą zwiążłość niż w mleku niepoddanym działaniu ciśnienia.

Właściwości koagulacyjne mleka i związane z nimi: czas krzepnięcia pod wpływem podpuszczki, czas żelowania oraz zwiążłość żelu zależą od wielu czynników. Wśród nich kluczowe znaczenie ma poziom jonów wapnia. Należy zauważyć, że prawdopodobnie ze względu na odwracalność zmian wywołanych wysokim ciśnieniem, rozpadowi kazeiny nie towarzyszy wzrost aktywności uwolnionego Ca^{2+} [25, 32]. Jak podają Zobrist i wsp. [55], w wyniku działania wysokiego ciśnienia na mleko stężenie Ca^{2+} wzrosło o 12 %, po czym na skutek ogrzewania próbki w 30 °C szybko zmalało do wartości początkowej.

Wywołane wysokim ciśnieniem zmiany micelarne powodują uwolnienie fragmentu κ -kazeiny do fazy rozpuszczalnej, wspomagając tym samym utratę ujemnego ładunku miceli oraz stabilizujących ją sił elektrostatycznych [9, 32, 39]. Wzrost udziału cząstek micelarnych, pozbawionych hydrofilowych końców polipeptydowych łańcuchów κ -kazeiny, promuje oddziaływania hydrofobowe, stymulując proces krzepnięcia [10, 27]. Jak stwierdzili również inni badacze, mleko zawierające micelle kazeinowe o zmniejszonej średnicy wykazuje większe właściwości koagulacyjne. Z mniejszych miceli uzyskuje się w efekcie bardziej zwiążły skrzep [33, 52].

Denaturacja β -lg przy ciśnieniu wyższym niż 200 MPa może zrównoważyć efekt, jaki powstaje na skutek przemian miceli kazeinowych, gdyż sprawia ona, że spada podatność κ -kazeiny na hydrolizę pod wpływem podpuszczki. Prowadzi to do spowolnienia lub zahamowania enzymatycznej fazy koagulacji [33]. Ponadto, sieciowanie β -lg z κ -kazeiną może niekorzystnie wpływać również na kolejny etap agregacji kazeiny, prawdopodobnie ze względu na zwiększenie odpychania elektrostatycznego. Needs i wsp. [39] nie stwierdzili żadnego wpływu ciśnieniowania mleka na szybkość hydrolizy κ -kazeiny. Wykazali oni natomiast, że ciśnienie promuje drugi etap koagulacji, wy-

korzystując do doświadczenia mleko inkubowane uprzednio ze środkiem blokującym grupy tiolowe. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzili, że denaturacja β -lg stopniowo zmniejszała podpuszczkową agregację miceli przy ciśnieniu 250 MPa. Podobnie, w przypadku mleka pozbawionego białek serum nie nastąpiło wydłużenie czasu krzepnięcia po obróbce w 400 i 600 MPa oraz w sytuacji, gdy asocjacja β -lg z micelami kazeinowymi była ograniczona przez dodanie jodanu(V) potasu (KIO_3) [55]. Można zatem stwierdzić, że wpływ wysokiego ciśnienia na właściwości koagulacyjne mleka zależy od sumarycznego efektu dwóch przeciwstawnych mechanizmów: rozpadu miceli kazeinowych oraz denaturacji β -lg.

Temperatura ciśnieniowania również odgrywa istotną rolę. Obróbka prowadzona w niskiej temperaturze (np. 3 zamiast 21 °C) zwiększyła szybkość krzepnięcia mleka [40]. Zastosowanie temp. 50 i 60 °C znacznie utrudniło jego koagulację, powodując denaturację białek serwatkowych oraz powstanie dużych miceli kazeinowych. Stwierdzono, że działanie ciśnieniem w wysokiej temperaturze opóźnia krzepnięcie oraz zmniejsza wytrzymałość żelu [22, 33]. W przypadku mleka poddanego uprzednio obróbce cieplnej w temp. 65 °C przez 30 min, presuryzacja w 400 MPa, 22 °C przez 15 min znacznie skróciła czas żelowania i zwiększyła zwięzłość skrzepu [38]. Huppertz i wsp. [23] stwierdzili, że pomimo wydłużenia czasu krzepnięcia surowego mleka, obróbka prowadzona w 400 i 600 MPa, stosowana do mleka uprzednio ogrzewanego (90 °C, 10 min), znacznie ten czas skróciła. Jest zatem prawdopodobne, że gdy znaczna część białek serwatkowych jest już zdenaturowana, to wpływ wysokiego ciśnienia na micelle kazeinowe staje się głównym mechanizmem, który powoduje ostatecznie skrócenie czasu koagulacji [23].

Mleko pochodzące od różnych gatunków zwierząt inaczej reaguje na działanie wysokiego ciśnienia. Obróbka wysokociśnieniowa mleka owczego i koziego nie wpływa na poprawę ich właściwości koagulacyjnych [33, 52]. Ogrzewanie również ma mniejszy wpływ na czas krzepnięcia mleka oraz zwięzłość żelu niż w przypadku mleka krowiego [7, 46]. Odmienny wpływ wysokiego ciśnienia na mleko owcze i kozie w porównaniu z krowim mógł być spowodowany różnicami w składzie poszczególnych frakcji kazeiny, inną wielkością miceli, różną mineralizacją i hydratacją. Ponadto, w mleku owczym i kozim większa niż w mleku krowim część β -lg denaturowała w 200 i 300 MPa. To również mogło wpływać na względne wydłużenie czasu krzepnięcia mleka. Podobnie, w przypadku mleka bawolego, nastąpiły jedynie niewielkie zmiany micelarne oraz znaczna denaturacja β -lg, a więc działanie wysokiego ciśnienia wydłużyło czas koagulacji oraz zmniejszyło wytrzymałość żelu [24].

Koagulacja kwasowa

W świeżym mleku, którego pH wynosi 6,6 ÷ 6,8 poszczególne frakcje miceli kazeinowych połączone są mostkami wapniowymi, a ujemny ładunek elektryczny miceli

sprzyja powstawaniu stabilizujących je warstw hydratacyjnych. Warstwy te zapewniają wzajemne odpychanie się cząstek kazeinowych. Mechanizm koagulacji kwasowej polega na obniżeniu pH mleka do punktu izoelektrycznego kazeiny równego 4,6. Wówczas liczba zdysocjowanych grup kwasowych i zasadowych miceli jest taka sama, a jej zewnętrzny ładunek wynosi 0. Mostki wapniowe rozpadają się, a jony wapnia oddysocjują do serwatki. Ponadto micelle tracą warstwy hydratacyjne, co ułatwia ich wzajemny kontakt i tworzenie międzymicelarnych wiązań. W efekcie tworzy się żel [34].

W badaniach wpływu wysokiego ciśnienia na kwasowe krzepnięcie mleka analizowano zarówno mleko, jak i gotowy produkt, którym najczęściej był jogurt. Stwierdzono, że obróbka wysokociśnieniowa sprzyja kwasowej koagulacji. Z uwagi na zmiany, jakie wysokie ciśnienie wywołuje w pojemności buforowej mleka, żelifikacja ukwaszonego mleka rozpoczyna się przy wyższych wartościach pH niż w mleku niepoddanym działaniu wysokiego ciśnienia [9, 50]. Ponadto Huppertz i wsp. [21] zaobserwowali, że szybkość ukwaszania mleka ciśnieniowanego, zaszczepionego bakteriami kwasu mlekowego, jest znacznie większa. Naukowcy uznali, że przyczyną był wywołany wysokim ciśnieniem rozpad kazeiny, powodujący zwiększenie podaży azotu dostępnego dla bakterii.

Odnotowano również znaczną poprawę właściwości mechanicznych skrzepu utworzonego z mleka poddanego działaniu wysokiego ciśnienia. Charakteryzował się on większą sztywnością, wytrzymałością i odpornością na synerezę, co było spowodowane zwiększoną hydratacją białka oraz jego gęstszym usieciowaniem [53]. Według Johnstona i wsp. [26] poprawa właściwości mechanicznych żelu związana jest z tworzącymi micelle łańcuchami, które budują wypełnioną płynem strukturę o drobnych porach ograniczających ruch cieczy. Agregacja małych cząstek micelarnych powoduje tworzenie zwartych kompleksów, na powierzchni których znajduje się częściowo zdenaturowana β -lg, przyczyniająca się do zwiększenia wytrzymałości żelu i jego odporności na synerezę [17, 26]. Obróbka wysokociśnieniowa mleka sprawia, że w skrzepie micelle kazeinowe występują jako cząsteczki o gładkiej powierzchni, tworzące gęsto ułożone pasma. Pomimo międzymicelarnych oddziaływań micelle wydają się nie łączyć ze sobą, lecz przeplatają się w matrycy gęstej substancji amorficznej. W przypadku termicznej obróbki mleka micelle tworzące skrzep są rozdzielone przez gęsto występujące, nitkowate elementy na ich powierzchni [30].

Ferragut i wsp. [11] opracowali technologię wytwarzania z surowego mleka jogurtu, stosując różne kombinacje temperatury (10, 25, 55 °C) i ciśnienia (200, 350, 500 MPa). Każdorazowo obróbka trwała 15 min. Uzyskane jogurty porównano z jogurtem z mleka pasteryzowanego (70 °C, 10 min). Zaobserwowano, że w jogurcie wyprodukowanym z mleka poddanego obróbce w 350 lub 500 MPa i temp. 25 lub 55 °C koagulacja rozpoczęła się przy wyższych wartościach pH. Uzyskano twardszy

skrzep niż miało to miejsce w przypadku jogurtu otrzymanego z mleka pasteryzowanego. Twardość skrzepu była tym większa, im wyższe zastosowano ciśnienie i temperaturę obróbki. Nie stwierdzono natomiast różnic w synerezie badanych jogurtów. Po 20 dniach przechowywania w temp. 4 °C wszystkie jogurty zachowały odpowiednią twardość, natomiast prawidłowe utrzymanie serwatki wewnątrz skrzepu wykazały tylko te jogurty, które otrzymano z mleka poddanego obróbce wysokociśnieniowej. Inni badacze stwierdzili z kolei poprawę lepkości jogurtu mieszanego, wyprodukowanego metodą zbiornikową z odtłuszczonego mleka poddanego działaniu wysokiego ciśnienia od 100 do 600 MPa w ciągu do 1 h w porównaniu z jogurtem z mleka niepoddanego obróbce. Najlepsze efekty uzyskano przy obróbce w 400 MPa przez 15 min oraz 600 MPa przez 5 min. Dalsze działanie ciśnienia do 60 min powodowało już niewielki wzrost lepkości jogurtu [53].

Podsumowanie

Poszczególne rodzaje mikroorganizmów wykazują bardzo różną oporność na działanie wysokiego ciśnienia. Wegetatywne formy drożdży i pleśni niszczone są przy ciśnieniu 200 ÷ 300 MPa, natomiast ich spory tracą aktywność w około 400 MPa. Większość wegetatywnych form bakterii, łącznie z chorobotwórczymi patogenami, inaktywowana jest przez obróbkę między 300 a 600 MPa. Z kolei ich formy przetrwalnikujące niszczone są tylko powyżej 1000 MPa, chociaż ciśnienie 50 ÷ 300 MPa pobudza je do kiełkowania, a dalsza umiarkowana obróbka cieplna bądź ciśnieniowa zabija je. Drobnoustroje Gramdodatnie do osiągnięcia inaktywacji wymagają stosowania ciśnienia 500 ÷ 600 MPa w temp. 25 °C przez 10 min, podczas gdy komórki Gramujemne są inaktywowane przy ciśnieniu 300 ÷ 400 MPa w analogicznych warunkach czasowych i temperaturowych. Wirusy stanowią niejednorodną grupę mikroorganizmów o różnej odporności na wysokie ciśnienie. Obróbka wysokociśnieniowa wywołuje wzrost pH mleka, co jest związane z przemianami koloidalnego fosforanu wapnia. Rozpad miceli kazeinowych sprawia, że oceniana instrumentalnie barwa mleka ulega zmianie – zmniejsza się jego jasność, wzrasta udział barwy zielonej i żółtej. Drobne cząsteczki kazeinowe, połączone ze zdenaturowaną β -lg, mają ponadto większą zdolność hydratacji, co zwiększa lepkość mleka. Odpowiednio dobrane parametry wysokociśnieniowego oddziaływania wpływają korzystnie na właściwości technologiczne mleka. Ciśnienie 100 ÷ 300 MPa poprawia właściwości koagulacyjne mleka pod wpływem podpuszczki, skraca czas koagulacji oraz czas żelowania. Ciśnienie 200 ÷ 400 MPa pozwala otrzymać twardszy skrzep. Przy kwasowej koagulacji działanie wysokiego ciśnienia zwiększa szybkość ukwaszania, dzięki czemu uzyskuje się skrzep o większej sztywności, wytrzymałości i odporności na synerezę.

Literatura

- [1] Altuner E.M., Alpas H., Erdem Y.K., Bozoglu F.: Effect of high hydrostatic pressure on physico-chemical and biochemical properties of milk. *Eur. Food Res. Technol.*, 2006, **222**, 392-396.
- [2] Balasubramaniam V.M., Farkas D., Turek E.J.: Preserving foods through High-Pressure Processing. *Food Technol.*, 2008, **62 (11)**, 32-38.
- [3] Black E.P., Kelly A.L., Fitzgerald G.F.: The combined effect of high pressure and nisin on inactivation of micro-organisms in milk. *Innov. Food Sci. Emerg.*, 2005, **6**, 286-292.
- [4] Buchheim W., Schrader K., Morr C.V., Frede E., Schutt, M.: Effects of high pressure on the protein, lipid and mineral phase of milk. In: Heat treatments and alternative methods. Special Issue No. 9602. International Dairy Federation, Brussels, Belgium, 1996, pp. 202-213.
- [5] Buffa M., Guamis B., Royo C., Trujillo A.J.: Microbial changes throughout ripening of goat cheese made from raw, pasteurised and high-pressure-treated milk. *Food Microbiol.*, 2001, **18 (1)**, 45-51.
- [6] Butz P., Funtenberger S., Haberditzl T., Tauscher B.: High pressure inactivation of *Byssoschlamys nivea* ascospores and other heat resistant moulds. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 1996, **29**, 404-410.
- [7] Calvo M.M., Leaver J.: Influence of heating on caseinomacropeptide formation in cow's, ewe's and goat's milk. *Milchwissenschaft*, 2000, **55**, 553-555.
- [8] De la Fuente M.A., Olano A., Casal V., Juarez M.: Effects of high pressure and heat treatment on the mineral balance of goats' milk. *J. Dairy Res.*, 1999, **66**, 65-72.
- [9] Desobry-Banon S., Richard F., Hardy J.: Study of acid and rennet coagulation of high pressurized milk. *J. Dairy Sci.*, 1994, **77**, 3267-3274.
- [10] Devi A.F., Liu L.H., Yacine Hemar Y., Buckow R., Kasapis S.: Effect of high pressure processing on rheological and structural properties of milk – gelatin mixtures. *Food Chem.*, 2013, **141**, 1328-1334.
- [11] Ferragut V., Martinez V.M., Trujillo A.J., Guamis B.: Properties of yoghurts made from whole ewe's milk treated by high hydrostatic pressure. *Milchwissenschaft*, 2000, **55**, 267-269.
- [12] Gervilla R., Capellas M., Ferragut V., Guamis B.: Effect of high hydrostatic pressure on *Listeria innocua* 910 CECT inoculated into ewe's milk. *J. Food Protect.*, 1997, **60 (1)**, 33-37.
- [13] Gervilla R., Ferragut V., Guamis B.: High hydrostatic pressure effects on colour and milk-fat globule of ewe's milk. *J. Food Sci.*, 2001, **66 (6)**, 880-885.
- [14] Gervilla R., Mor-Mur M., Ferragut V., Guamis B.: Kinetics of destruction of *Escherichia coli* and *Pseudomonas fluorescens* inoculated into ewe's milk by high hydrostatic pressure. *Food Microbiol.*, 1999, **16 (2)**, 173-184.
- [15] Gervilla R., Sendra E., Ferragut V., Guamis B.: Sensitivity of *Staphylococcus aureus* and *Lactobacillus helveticus* inoculated into ewe's milk to high hydrostatic pressure. *J. Dairy Sci.*, 1999, **82 (6)**, 1099-1107.
- [16] Hać-Szymańczuk E., Mroczek J.: Perspektywy techniki wysokich ciśnień w przemyśle spożywczym. *Przem. Spoż.*, 2006, **4**, 24-27.
- [17] Harte F., Amonte M., Luedecke L., Swanson B.G., Barbosa-Canovas G.V.: Yield-stress and micro-structure of set yogurt made from high hydrostatic pressure-treated full fat milk. *J. Food Sci.*, 2002, **67**, 2245-2250.
- [18] Harte F., Luedecke L., Swanson B., Barbosa-Canovas G.V.: Low-fat set yogurt made from milk subjected to combinations of high hydrostatic pressure and thermal processing. *J. Dairy Sci.*, 2003, **86**, 1074-1082.
- [19] Hogan E., Kelly A.L., Sun D.-W.: High pressure processing of foods: An overview. In: Emerging Technologies for Food Processing. D.-W. Sun. Ed. Elsevier, London, UK, 2005, pp. 3-32.
- [20] Huppertz T., Fox P.F., Kelly A.L.: High pressure-induced changes in the creaming properties of bovine milk. *Innov. Food Sci. Emerg.*, 2003, **4**, 349-359.

- [21] Huppertz T., Fox P.F., Kelly A.L.: Influence of high pressure treatment on the acidification of bovine milk by lactic acid bacteria. *Milchwissenschaft*, 2004, **59**, 246-249.
- [22] Huppertz T., Fox P.F., Kelly A.L.: Properties of casein micelles in high pressure-treated bovine milk. *Food Chem.*, 2004, **87**, 103-110.
- [23] Huppertz T., Hinz K., Zobrist M.R., Uniacke T., Kelly A.L., Fox P.F.: Effects of high pressure treatment on the rennet coagulation and cheese-making properties of heated milk. *Innov. Food Sci. Emerg.*, 2005, **6**, 279-285.
- [24] Huppertz T., Kelly A.L., Fox P.F.: Effects of high pressure on constituents and properties of milk. *Int. Dairy J.*, 2002, **12**, 561-572.
- [25] Johnston D.E.: High pressure effects on milk and meat. In: *High Pressure Processing of Foods*. D.A. Ledward, D.E. Johnston, R.G. Earnshaw, A.P. M. Hasting. University Press, Loughborough, UK, 1995, pp. 99-121.
- [26] Johnston D.E., Murphy R.J., Rutherford J.A., McCreedy R.W.: Acidification of high pressure treated milk: The role of whey protein denaturation. *Milchwissenschaft*, 2002, **57**, 605-608.
- [27] Johnston D.E., Rutherford J.A., McCreedy R.W.: Ethanol stability and chymosin-induced coagulation behaviour of high pressure treated milk. *Milchwissenschaft*, 2002, **57**, 363-366.
- [28] Kim H.Y., Kim S.H., Choi M.J., Min S.G., Kwak H.S.: The effect of high pressure-low temperature treatment on physicochemical properties in milk. *J. Dairy Sci.*, 2008, **91**, 4176-4182.
- [29] Krasnowska G., Salejda A.: Czynniki wpływające na wybór mlecznych napojów fermentowanych przez studentów Wrocławia. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **3 (58)**, 33-46.
- [30] Lanciotti R., Vannini L., Pittia P., Guerzoni M.E.: Suitability of high-dynamic-pressure-treated milk for the production of yoghurt. *Food Microbiol.*, 2004, **21**, 753-760.
- [31] Lopez-Fandino R.: High pressure-induced changes in milk proteins and possible applications in dairy technology. *Int. Dairy J.*, 2006, **16**, 1116-1131.
- [32] Lopez-Fandino R., De la Fuente M.A., Ramos M., Olano A.: Distribution of minerals and proteins between the soluble and colloidal phases of pressurized milks from different species. *J. Dairy Res.*, 1998, **65**, 69-78.
- [33] Lopez-Fandino R., Olano A.: Cheese-making properties of ovine and caprine milks submitted to high pressures. *Le Lait*, 1998, **78**, 341-350.
- [34] Lucey J.A.: Acid and Acid/Heat Coagulated Cheese. In: *Encyclopedia of dairy science*. H. Roginski, J.W. Fuquay, P.F. Fox. Academic Press, London, UK, 2002, pp. 350-356.
- [35] Mackey B.M., Forestiere K., Isaacs N.: Factors Affecting the Resistance of *Listeria monocytogenes* to High Hydrostatic Pressure. *Food Biotechnol.*, 1995, **9**, 1-11.
- [36] Marszałek K., Mitek M., Skąpska S.: Zastosowanie wysokich ciśnień hydrostatycznych (UHP) do utrwalania soków i nektarów truskawkowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, **1 (74)**, 112-123.
- [37] McClements J.M.J., Patterson M.F., Linton M.: The effect of growth stage and growth temperature on high hydrostatic pressure inactivation of some psychrotrophic bacteria in milk. *J. Food Protect.*, 2001, **64 (4)**, 514-522.
- [38] Molina E., Alvarez M.D., Ramos M., Olano A., Lopez-Fandino R.: Use of high-pressure treated milk for the production of reduced-fat cheese. *Int. Dairy J.*, 2000, **10**, 467-475.
- [39] Needs E.C., Stenning R.A., Gill A.L., Ferragut V., Rich G.T.: High-pressure treatment of milk: Effects on casein micelle structure and on enzymic coagulation. *J. Dairy Res.*, 2000, **67**, 31-42.
- [40] Pandey P.K., Ramaswamy H.S., St-Gelais D.: Effect of high pressure processing on rennet coagulation properties of milk. *Innov. Food Sci. Emerg.*, 2003, **4**, 245-256.
- [41] Patterson M.F.: Microbiology of pressure-treated foods. *J. Appl. Microbiol.*, 2005, **98**, 1400-1409.

- [42] Pereda J., Ferragut V., Quevedo J.M., Guamis B., Trujillo A.J.: Effects of ultra-high pressure homogenization on microbial and physicochemical shelf life of milk. *Am. Dairy Sci. Assoc.*, 2007, **3**, 1081-1093.
- [43] Pietrzak D., Trejda E., Ziarno M.: Wpływ wysokiego ciśnienia na wybrane właściwości oraz trwałość kotlecików z mięsa drobiowego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, **1 (74)**, 68-78.
- [44] Rademacher B., Hinrichs J.: Effects of high pressure treatment on indigenous enzymes in bovine milk: Reaction kinetics, inactivation and potential application. *Int. Dairy J.*, 2006, **16**, 655-661.
- [45] Rademacher B., Kessler H.G.: High pressure inactivation of microorganisms and enzymes in milk and milk products. In: *High Pressure Bio-Science and Biotechnology*. K. Heremans. Leuven University Press, Leuven, Belgium, 1997, pp. 291-293.
- [46] Raynal K., Remeuf F.: The effect of heating on physicochemical and renneting properties of milk: A comparison between caprine, ovine and bovine milk. *Int. Dairy J.*, 1998, **8**, 695-706.
- [47] Sáiz A.H., Mingo S.T., Balda F.P., Samson C.T.: Advances in design for successful commercial high pressure food processing. *Food Aust.*, 2008, **60 (4)**, 154-156.
- [48] Schrader K., Buchheim W.: High pressure effects on the colloidal calcium phosphate and the structural integrity of micellar casein in milk. II. Kinetics of the casein micelle disintegration and protein interactions in milk. *Kieler Milch. Forsch.*, 1998, **50**, 79-88.
- [49] Schrader K., Buchheim W., Morr C.V.: High pressure effects on the colloidal calcium phosphate and the structural integrity of micellar casein in milk. Part 1. High pressure dissolution of colloidal calcium phosphate in heated milk systems. *Nahrung*, 1997, **41**, 133-138.
- [50] Serra M., Trujillo A.J., Jaramillo P.D., Guamis B., Ferragut V.: Ultra-high pressure homogenization-induced changes in skim milk: Impact on acid coagulation properties. *J. Dairy Res.*, 2008, **75**, 69-75.
- [51] Skąpska S., Sokołowska B., Fonberg-Broczek M., Niezgodna J., Chotkiewicz M., Dekowska A.: Zastosowanie pasteryzacji wysokociśnieniowej do inaktywacji przetrwalników *Alicyclobacillus acidoterrestris* w soku jabłkowym. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **3 (82)**, 187-196.
- [52] Trujillo A.J., Capellas M., Saldo J., Gervilla R., Guamis B.: Applications of high-hydrostatic pressure on milk and dairy products: a review. *Innov. Food Sci. Emerg.*, 2002, **3**, 295-307.
- [53] Udabage P., Augustin M.A., Versteeg C., Puvanenthiran A., Yoo J.A., Allen N., McKinnon I, Smiddy M., Kelly A.L.: Properties of low-fat stirred yoghurts made from high-pressure-processed skim milk. *Innov. Food Sci. Emerg.*, 2010, **11**, 32-38.
- [54] Yaldagard M., Seyed Ali Mortazavi S.A., Tabatabaie F.: The principles of ultra high pressure technology and its application in food processing/preservation: A review of microbiological and quality aspects. *Afr. J. Biotechnol.*, 2008, **7 (16)**, 2739-2767.
- [55] Zobrist M.R., Huppertz T., Uniacke T., Fox P.F., Kelly A.L.: High-pressure-induced changes in the rennet coagulation properties of bovine milk. *Int. Dairy J.*, 2005, **15**, 655-662.
- [56] Żyngiel W., Kolenda H.: Wpływ wysokiego ciśnienia na zawartość sacharydów w sokach z marchwi utrwalonych technologią HPP. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, **4 (63)**, 149-162.

EFFECT OF HIGH HYDROSTATIC PRESSURE ON MICROORGANISMS PRESENT IN MILK AND ON MILK PROPERTIES

Summary

The technique of high hydrostatic pressures (UHP), an up-to-date technology of preserving and forming sensory characteristics of food, may be an alternative to heat treatment of many food products, including milk.

The paper presents the current state of knowledge as regards the effect of high hydrostatic pressure on micro-organisms contained in milk and on the major properties of milk. Vegetative forms of yeasts and moulds, and their spores are destroyed by a 200 to 400 MPa pressure, vegetative forms of bacteria (including pathogenic) by a 300 to 600 MPa pressure, while spores by a pressure higher than 1000 MPa. Viruses have very different resistance levels to pressure. High-pressure treatment that causes changes in mineral components of milk increases its pH. Casein micelles break down into small particles; this, in turn, reduces turbidity and clarity of milk, and increases its viscosity. Appropriately selected pressurization parameters affect technological properties of milk. The effect of pressure between 100 and 300 MPa is: enhancement of the rennet coagulation properties of milk and reduction in the coagulation and gelation time. When applying a pressure between 200 and 400 MPa, it is possible to obtain a harder coagulum. During acid coagulation, the application of high pressure increases the rate of acidification, which results in obtaining a coagulum of a higher firmness, strength, and resistance to syneresis.

Key words: micro-organisms, colour, viscosity, rennet coagulation, acid coagulation, pressurization ☒

JUSTYNA KOZIÓŁ, WALDEMAR GUSTAW, ADAM WAŚKO,
KATARZYNA SKRZYPCZAK, ANETA SŁAWIŃSKA, BARTOSZ SOŁOWIEJ

WPŁYW WYBRANYCH PREPARATÓW BIAŁEK MLEKA NA WZROST I PRZEŻYwalNOŚĆ *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS* ORAZ WŁAŚCIWOŚCI REOLOGICZNE MLECZNYCH NAPOJÓW FERMENTOWANYCH

Streszczenie

Białka serwatkowe są źródłem bioaktywnych peptydów i zawierają aminokwasy niezbędne do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Preparaty białek mleka zastosowane do produkcji mlecznych napojów fermentowanych wpływały stymulująco na wzrost szczepu *Lactobacillus acidophilus* LA-5. Dodatek α -laktalbuminy do mleka pełnego wpłynął na skrócenie czasu powstawania skrzepu kwasowego przy wykorzystaniu szczepu *Lb. acidophilus* LA-5. Po dwutygodniowym przechowywaniu w warunkach chłodniczych mlecznych napojów fermentowanych, uzyskanych z pełnego mleka w proszku, najwyższą liczbę komórek ($4,1 \times 10^7$ jtk/ml) bakterii szczepu *Lb. acidophilus* LA-5 stwierdzono w produktach wzbogaconych WPC 65 – w ilości 1 %. Największą twardością (1,51 N) i wartością modułu zachowawczego G' (5567 Pa) charakteryzowały się napoje otrzymane z 2-procentowym dodatkiem WPI. Wraz ze wzrostem stężenia α -la i WPI wzrastała twardość żeli kwasowych otrzymanych przy użyciu szczepu *Lb. acidophilus* LA-5. Mleczne napoje fermentowane otrzymywane z mleka odtłuszczonego charakteryzowały się wyższymi wartościami takich parametrów, jak twardość oraz moduł zachowawczy. Napoje z mleka odtłuszczonego wykazywały jednak większą synerезę w porównaniu z napojami z mleka pełnego. Wzrost dodatku preparatów białek mleka w napojach powodował stopniowe zmniejszanie ilości wydzielonej serwatki. Najniższą wartością synerезy (1,97 %) cechowały się napoje mleczne z 2-procentowym dodatkiem WPI. Oprócz poprawy właściwości fizykochemicznych mlecznych napojów fermentowanych, wzbogacenie preparatami białek mleka wpłynęło na zwiększenie walorów prozdrowotnych oraz nadało produktom cechy żywności funkcjonalnej.

Słowa kluczowe: preparaty białek mleka, bakterie probiotyczne, *Lactobacillus acidophilus*, synerезa, tekstura

Dr J. Kozioł, dr A. Waśko, dr inż. B. Solowiej, Katedra Biotechnologii, Żywnienia Człowieka i Towaroznawstwa Żywności, prof. dr hab. W. Gustaw, mgr inż. K. Skrzypczak, dr A. Sławińska, Katedra Technologii Owoców, Warzyw i Grzybów, Wydz. Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Skromna 8, 20-704 Lublin. Kontakt: justynakozio183@wp.pl

Wprowadzenie

Lactobacillus acidophilus to Gram dodatnie pałeczki termofilne, których obecność została stwierdzona w mlecznych produktach fermentowanych, a także w wielu produktach zbożowych oraz mięsnych. Występują naturalnie m.in. w jamie ustnej oraz w przewodzie pokarmowym ludzi i zwierząt [3]. Bakterie te są odporne na niskie pH środowiska, wysokie stężenie kwasu żołądkowego oraz na działanie żółci, ponadto wykazują zdolność do szybkiej kolonizacji jelit. Do najczęściej wykorzystywanych probiotycznych szczepów tego gatunku należą: *Lb. acidophilus* NCFM, *Lb. acidophilus* LA-5, jak również *Lb. acidophilus* NCFB 1748 [19, 31]. Wytwarzają one witaminy z grupy B (kwas foliowy, witaminę B₆, niacynę), nadtlenek wodoru i/lub bakteriocyny (np. acidofilinę, acidolinę) oraz kwasy organiczne, przez co zapobiegają rozwojowi wielu patogenów i hamują rozwój niepożądaną mikroflory [2, 18]. Zarówno badania *in vivo*, jak i *in vitro* potwierdzają znaczny wpływ *Lb. acidophilus* na hamowanie rozwoju i obniżanie przeżywalności *Helicobacter pylori* [5, 9]. *Lb. acidophilus* wykazuje właściwości prozdrowotne, m.in. zmniejsza nietolerancję laktozy i stymuluje układ immunologiczny. Udowodniono, że gatunek ten wykazuje aktywność przeciwnowotworową w stosunku do raka okrężnicy [19, 30, 31].

Mleczne napoje fermentowane, w tym głównie jogurty, produkowane są na skalę przemysłową metodą zbiornikową. Jednym z etapów przemysłowej produkcji jest zwiększenie suchej masy mleka przerobowego. W celu uzyskania odpowiedniej tekstury najczęściej stosowany jest dodatek hydrokoloidów polisacharydowych lub preparatów białkowych, przede wszystkim białek serwatkowych [10, 28]. Wzrost zainteresowania białkami serwatkowymi wynika z ich właściwości funkcjonalnych, jak i żywieniowych [29]. Białka serwatkowe zawierają aminokwasy niezbędne do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Hydrolizaty białek serwatki, pochodzące z proteolitycznego rozkładu kazeiny, wzmacniają funkcjonowanie układu odpornościowego poprzez zwiększenie proliferacji limfocytów oraz przeciwciał, jak również syntezę cytokin [8]. Z tego powodu dodatek preparatów białek mleka wpływa na zwiększenie walorów prozdrowotnych mlecznych napojów fermentowanych.

Bioaktywne peptydy, uwalniane z białek mleka w reakcjach proteolizy bakteryjnej, wykazują działanie immunomodulujące, cytostymulujące, antyhypertensyjne, przeciwutleniające, przeciwzakrzepowe, hipocholesterolemiczne, przeciwdrobnoustrojowe. Mają także zdolność do wiązania związków mineralnych oraz wykazują aktywność agonistyczną lub/i antagonistyczną wobec receptorów opioidowych [21].

Obecnie obserwuje się coraz większe zainteresowanie produktami spożywczymi otrzymywanymi przy udziale mikroflory probiotycznej, pozytywnie wpływającej na zdrowie konsumentów.

Celem niniejszej pracy było określenie wpływu wyselekcjonowanych preparatów białek mleka na właściwości fizykochemiczne i reologiczne mlecznych napojów fer-

mentowanych otrzymanych metodą termostatową przy użyciu bakterii *Lb. acidophilus*. Działanie prozdrowotne mlecznych napojów fermentowanych z dodatkiem kultur probiotycznych jest uzależnione od odpowiedniej liczby żywych komórek, dlatego też określono wpływ dodatku preparatów białek mleka na wzrost *Lb. acidophilus* w mlecznych napojach fermentowanych oraz przeżywalność szczepu podczas chłodniczego przechowywania produktu.

Material i metody badań

Material biologiczny wykorzystany do badań stanowiły szczepy *Lactobacillus acidophilus* LA-5 (Chr. Hansen, Polska) oraz *Lb. acidophilus* L10 (LAFTI-DSM, Polska).

W badaniach zastosowano także: podłoże podstawowe MRS (BTL, Łódź), sole żółci (Sigma-Aldrich, Poznań), pełne mleko w proszku (OSM Krasnystaw), odtłuszczone mleko w proszku (Biomlek Chełm), koncentrat białek serwatkowych WPC65 (Milei GmbH, Allgau, Niemcy), izolat białek serwatkowych (WPI) (Milei GmbH, Allgau, Niemcy), serwatkę w proszku demineralizowaną (SPD) (Euroserum, Port-Sur-Saone, Francja), kazeinoglikomakropeptyd (CGMP) (Arla Food, Dania) oraz α -laktoalbuminę (Arla Food, Dania).

W celu określenia wpływu wybranych preparatów białek mleka na wzrost badanych szczepów bakterii mierzono gęstość optyczną hodowli bakteryjnych (OD) przy wykorzystaniu automatycznego czytnika wzrostu drobnoustrojów – *Bioscreen C* (OY Growth Curves, Finlandia). Hodowle bakteryjne prowadzono na mikropłytkach w podłożu płynnym MRS o zmodyfikowanym składzie, w którym źródło azotu organicznego wchodzącego w skład pożywki (pepton K) zastąpiono poszczególnymi preparatami białek mleka w stężeniu 0,25 %. Każdy wariant podłoża o objętości 350 μ l (w dziesięciokrotnym powtórzeniu) zaszczepiano 50 μ l inokulum szczepu. Układ kontrolny stanowiły hodowle komórek bakterii szczepów *Lb. acidophilus* prowadzone w bulionie MRS o pełnym składzie. Inkubację prowadzono w temp. 37 °C przez 48 h. Pomiar zmian gęstości optycznej hodowli bakteryjnych następował co 2 h przy długości fali $\lambda = 600$ nm.

Odtłuszczone mleko w proszku w ilości 100 g stopniowo rozpuszczano w 1000 ml wody destylowanej przez ciągłe mieszanie mieszadłem magnetycznym. Mleko sterylizowano, a następnie schładzano do temp. 40 ÷ 45 °C i zaszczepiono 100 μ l zawiesiny komórek *Lb. acidophilus* LA-5. Próbkę inkubowano w łaźni wodnej w temp. 37 °C do czasu uzyskania $10^7 \div 10^8$ jtk/ml [6, 14, 26]. Przygotowane w ten sposób inokulum posłużyło do szczepienia podłoża w hodowli stacjonarnej.

Mleczne napoje fermentowane z użyciem monokultury bakterii *Lb. acidophilus* LA-5 otrzymywano metodą termostatową. Do 500 g regenerowanego odtłuszczonego mleka w proszku lub pełnego mleka w proszku o stężeniu 13 % (m/m) dodawano po-

szczególne preparaty białek mleka w takiej ilości, aby uzyskać 0,5-, 1- i 2-procentowe stężenie w gotowym produkcie. Mleko rozlewano następnie po 30 ml do opakowań jednostkowych i pasteryzowano w łaźni wodnej, w temp. 80 °C przez 30 min. Próbkę kontrolną stanowiły układy bez dodatku preparatów białek mleka. Każdą analizowaną próbkę przygotowano w pięciu powtórzeniach. Po ochłodzeniu do temp. 20 ± 2 °C próbki zaszczipiano inokulum w ilości 2 % i inkubowano w 37 °C do momentu obniżenia wartości pH do 4,6. Otrzymane w ten sposób mleczne napoje fermentowane schładzano do temp. 4 °C i przechowywano przez 12 h.

Wielkość synerezy oznaczano po 12 h od zakończenia procesu fermentacji [1]. Próbkę ważono, a następnie ustawiano pod kątem 45 stopni. Wydzieloną serwatkę zlewano, po czym ponownie ważono próbki. Po obliczeniu różnicy mas wielkość wycieku serwatki przedstawiano procentowo.

Liczbę komórek *Lb. acidophilus* LA-5 w mlecznych napojach fermentowanych oznaczano metodą płytkową na podłożu MRS-agar z 0,2-procentowym dodatkiem soli żółci zgodnie z PN-EN ISO 4833:2004 [24]. Posiewy wykonywano po 12 h od zakończenia fermentacji oraz po 1, 7, 14 oraz 21 dniach chłodniczego przechowywania na podłożu. Każdy posiew wykonano w dwóch powtórzeniach.

Twardość mlecznych napojów fermentowanych oznaczano za pomocą analizatora tekstury TA-XT2i (Stable Micro Systems, Godalming, UK) po 12-godzinnym przechowywaniu w temp. 4 °C. Próbkę badano, stosując zmodyfikowany test TPA [4]. Średnica trzpienia wynosiła 15 mm, głębokość penetracji 20 mm, natomiast prędkość przesuwu głowicy analizatora była równa 1 mm/s. Pomiar wykonano w dwóch seriach po pięć powtórzeń.

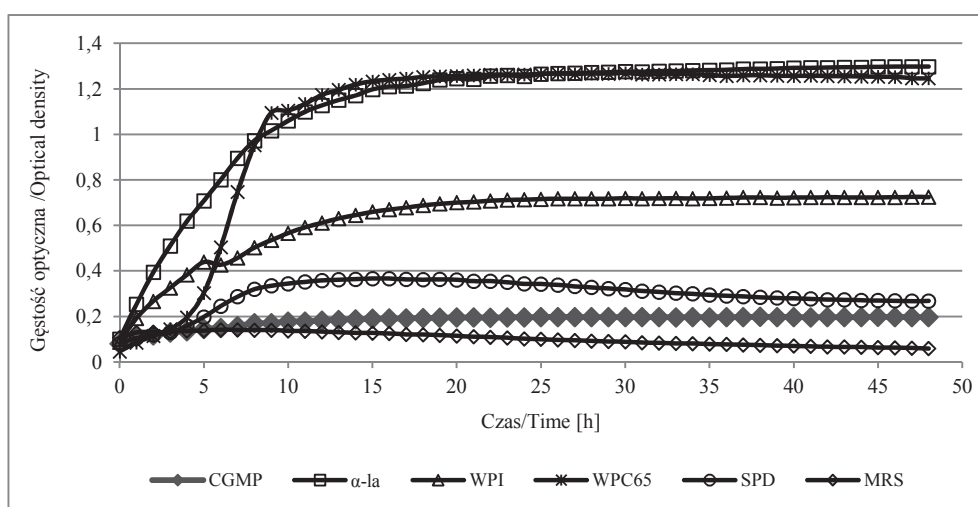
Proces fermentacji mlecznych napojów fermentowanych monitorowano przy użyciu reometru dynamicznego RS300 wyposażonego w układ cylindrów współosiowych (Z31) (Haake, Karlsruhe, Niemcy). Rejestrowano zmiany modułu zachowawczego (G') przy $f = 0,1$ Hz i odkształceniu równym 0,01. Pomiar prowadzono w ciągu 20 h inkubacji w temp. 37 °C. Po upływie tego czasu badany układ schładzano i przechowywano przez 5 h w temp. 4 °C.

Na podstawie wyników badań dokonano analizy statystycznej, uwzględniając: synerezę, twardość, moduł zachowawczy oraz moduł stratności. Analizę statystyczną wykonano w programie Statistica 8.0 (StatSoft, Polska). Zastosowano analizę wariancji (ANOVA) na poziomie istotności $p \leq 0,05$. Do oceny różnic pomiędzy wartościami średnimi zastosowano test Tukeya.

Wyniki i dyskusja

W pierwszym etapie badań sprawdzono wpływ wybranych preparatów białek mleka na wzrost szczepów *Lb. acidophilus* na zmodyfikowanym podłożu MRS. Przebieg krzywych na wykresie (rys. 1) obrazuje zmiany gęstości optycznej (OD) zacho-

dzące podczas hodowli szczepu LA-5 na płynnych pożywkach MRS z dodatkiem wybranych preparatów białek mleka. Na podłożach z zastosowaniem dodatku WPC 65 i α -la wartości mierzonego parametru wzrastały systematycznie od pierwszych godzin hodowli, a najwyższe wartości uzyskano odpowiednio po 22 i 23 h inkubacji. Zdecydowanie mniejszy wpływ na wzrost szczepu LA-5 miał dodatek SPD oraz CGMP. Każdy wariant podłoża wzbogacany preparatami białek mleka stymulował namnażanie komórek bakterii. Badany szczep najslabiej namnażał się na podłożu kontrolnym (MRS o podstawowym składzie). Podobne wyniki uzyskano badając wzrost bakterii kwasu mlekowego na regenerowanej serwatce w proszku [7].



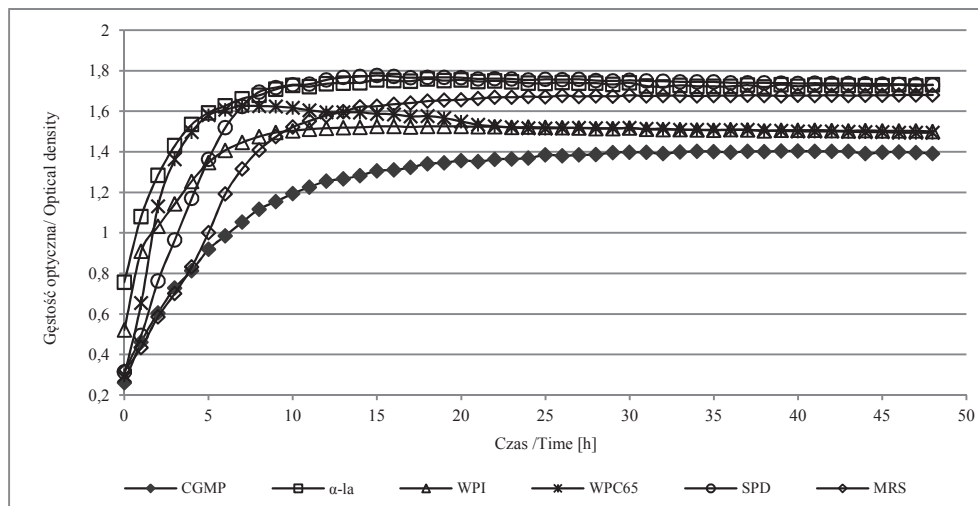
Objaśnienia: / Explanatory notes:

CGMP – kazeinoglikomakropeptyd / caseinoglicomacropptide; α -la – α -laktoalbumina / α -lactalbumin; WPI – izolat białek serwatkowych / whey protein isolate; WPC 65 – koncentrat białek serwatkowych / whey protein concentrate; SPD – serwatka w proszku demineralizowana / demineralised whey powder; MRS – podłoże kontrolne / control medium.

Rys. 1. Wpływ dodatku preparatów białek mleka na wzrost *Lb. acidophilus* LA-5.

Fig 1. Effect of milk protein preparations added on growth of *Lb. acidophilus* LA-5.

W celu porównania wpływu preparatów białek mleka na wzrost bakterii *Lb. acidophilus* przebadano również szczep L-10 (rys. 2). Wpływ dodatku preparatu białek mleka na rozwój komórek L-10 był niewielki. Komórki badanego szczepu najlepiej namnażały się na podłożach z dodatkiem α -la oraz WPC 65. Najslabszy wzrost zaobserwowano w hodowli bakteryjnej na podłożu z dodatkiem CGMP.



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

Rys. 2. Wpływ dodatku preparatów białek mleka na wzrost *L. acidophilus* L-10.

Fig. 2. Effect of milk protein preparations added on growth of *L. acidophilus* L10.

W następnym etapie badań otrzymano mleczne napoje fermentowane z dodatkiem wybranych preparatów białek mleka. Wzbogacenie regenerowanego odtłuszczonego mleka w proszku (OMP) lub pełnego mleka w proszku (PMP) preparatami białek mleka miało wpływ na liczbę komórek bakterii w uzyskanych produktach. Największą liczbą komórek bakterii *Lb. acidophilus* LA-5 charakteryzowały się produkty otrzymane zarówno z PMP, jak i OMP (tab. 1), w których zastosowano 2-procentowy dodatek CGMP. Analizowany szczep słabiej namnażał się w napojach otrzymanych z OMP zarówno w próbach kontrolnych, jak również wzbogaconych 0,5-procentowym dodatkiem WPC 65 oraz 0,5-procentowym dodatkiem WPI ($1,9 \times 10^8$ jtk/ml).

Wszystkie zastosowane w produkcji mlecznych napojów fermentowanych preparaty białek mleka stymulowały wzrost szczepu LA-5. Zdecydowanie niższą liczbą komórek charakteryzowały się próby kontrolne, czyli napoje otrzymane bez udziału preparatów białek mleka (tab. 1). Podobne wyniki uzyskali McComas i Gilliland [20]. Po dodaniu do mleka odtłuszczonego 1 % hydrolizatu białek serwatkowych wykazali korzystny wpływ tego preparatu na wzrost szczepów *Lb. acidophilus* O16 oraz L-1. Nie zaobserwowali natomiast porównywalnego efektu w stosunku do szczepu *Lb. acidophilus* NCFM [20]. Stymulację wzrostu bakterii kwasu mlekowego na regenerowanej serwatce w proszku zaobserwowano w przypadku szczepów *Lb. acidophilus* CRL 636, *Lb. acidophilus* LA-5 oraz *L. casei* LC-01. Liczba komórek utrzymywała się przeciętnie na poziomie 10^9 jtk/ml [23].

Tabela 1. Liczba komórek szczepu LA-5 (*L. acidophilus*) w mlecznych napojach fermentowanych otrzymanych z dodatkiem wybranych preparatów białek mleka.Table 1. Number of bacterial cells of LA-5 (*L. acidophilus*) strain in fermented milk beverages produced with milk protein preparations added.

| Dodatek preparatu białek mleka Milk protein preparation added [%] | LA-5 [jtk/ml / cfu/ml] | | | | |
|---|------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | CGMP | α -la | WPC 65 | WPI | SPD |
| OMP: | | | | | |
| 0 | 1,9×10 ⁸ | | | | |
| 0,5 | 2,3×10 ⁸ | 2,2×10 ⁸ | 1,9×10 ⁸ | 1,9×10 ⁸ | 2,1×10 ⁸ |
| 1 | 2,4×10 ⁸ | 2,3×10 ⁸ | 2,3×10 ⁸ | 2,1×10 ⁸ | 2,3×10 ⁸ |
| 2 | 2,5×10 ⁸ | 2,4×10 ⁸ | 2,1×10 ⁸ | 2,2×10 ⁸ | 2,4×10 ⁸ |
| PMP: | | | | | |
| 0 | 2,0×10 ⁸ | | | | |
| 0,5 | 2,4×10 ⁸ | 2,5×10 ⁸ | 2,1×10 ⁸ | 2,0×10 ⁸ | 2,4×10 ⁸ |
| 1 | 2,5×10 ⁸ | 2,7×10 ⁸ | 2,3×10 ⁸ | 2,2×10 ⁸ | 2,6×10 ⁸ |
| 2 | 2,7×10 ⁸ | 2,6×10 ⁸ | 2,5×10 ⁸ | 2,4×10 ⁸ | 2,5×10 ⁸ |

Objaśnienia: / Explanatory notes:

OMP – odtłuszczone mleko w proszku / skimmed milk powder; PMP – pełne mleko w proszku / whole milk powder. Pozostałe objaśnienia jak pod rys. 1. / Other explanatory notes as in Fig. 1.

Dodatek preparatów białek mleka do mlecznych napojów fermentowanych miał wyraźny wpływ na ich właściwości reologiczne. Żele kwasowe otrzymane z OMP przy udziale monokultury probiotycznej *Lb. acidophilus* LA-5 charakteryzowały się wyższą twardością w porównaniu z żelami kwasowymi uzyskanymi z PMP (tab. 2). Preparaty takie jak α -la, i WPI zwiększały twardość otrzymanych żeli wraz ze wzrostem ich stężenia, natomiast pozostałe preparaty białek mleka pogarszały właściwości reologiczne żeli (obserwowane zmniejszenie twardości lub wzrost stężenia preparatu nie miał wpływu na twardość żeli). W przypadku wszystkich produktów otrzymanych z dodatkiem WPC 65 stwierdzono zmniejszenie twardości wraz ze wzrostem stężenia tego preparatu. Podobny efekt zaobserwowano we wcześniejszych badaniach [10].

Największą twardością (1,83 N) odznaczały się mleczne napoje fermentowane na bazie OMP z 1-procentowym dodatkiem CGMP, a wśród produktów uzyskanych z PMP – próby z 2-procentowym dodatkiem WPI (1,08 N).

Żele kwasowe otrzymane z OMP lub PMP z dodatkiem preparatów białek mleka, fermentowane przez LA-5, charakteryzowały się wyższymi wartościami G' i G'' w porównaniu z próbą kontrolną (tab. 3). Napoje z OMP, wzbogacone preparatami białek mleka, były bardziej sprężyste niż próby powstałe z PMP. Wyniki pomiarów właściwości lepkosprężystych są zbieżne z wynikami pomiaru twardości napojów

mlecznych fermentowanych. Najwyższe wartości G' i G'' miały produkty powstałe zarówno z OMP, jak i PMP z 1-procentowym dodatkiem GCMP i znacznie przekraczały wartości modułów zachowawczych i stratności pozostałych produktów.

Tabela 2. Twardość mlecznych napojów fermentowanych przez LA-5 (*L. acidophilus*).

Table 2. Hardness of fermented milk beverages affected by LA-5 (*L. acidophilus*) strain.

| Dodatek preparatu białek mleka Milk protein preparation added [%] | Twardość / Hardness [N] | | | | |
|--|-------------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|
| | CGMP | α -la | WPC 65 | SPD | WPI |
| OMP: | | | | | |
| 0 | $0,35^a \pm 0,03$ | | | | |
| 0,5 | $0,31^a \pm 0,1$ | $0,50^a \pm 0,18$ | $0,75^{ab} \pm 0,15$ | $0,58^{ab} \pm 0,02$ | $0,77^{abc} \pm 0,12$ |
| 1 | $1,83^{de} \pm 0,61$ | $0,69^{ab} \pm 0,03$ | $0,44^a \pm 0,04$ | $0,74^{abc} \pm 0,15$ | $0,72^{ab} \pm 0,06$ |
| 2 | $0,58^{ab} \pm 0,08$ | $0,78^{abc} \pm 0,08$ | $0,32^a \pm 0,02$ | $0,42^a \pm 0,05$ | $1,51^{cd} \pm 0,16$ |
| PMP: | | | | | |
| 0 | $0,29^a \pm 0,04$ | | | | |
| 0,5 | $0,26^a \pm 0,03$ | $0,27^a \pm 0,01$ | $0,22^a \pm 0,02$ | $0,25^a \pm 0,02$ | $0,37^{ab} \pm 0,04$ |
| 1 | $0,36^{ab} \pm 0,05$ | $0,43^{ab} \pm 0,05$ | $0,23^a \pm 0,10$ | $0,38^{ab} \pm 0,04$ | $0,53^{abc} \pm 0,07$ |
| 2 | $0,20^a \pm 0,09$ | $0,56^{abc} \pm 0,03$ | $0,24^a \pm 0,01$ | $0,26^a \pm 0,03$ | $1,08^c \pm 0,12$ |

Objaśnienia: / Explanatory notes:

w tabeli przedstawiono wartości średnie \pm odchylenia standardowe / Table shows mean values \pm standard deviations; n = 5; różnice pomiędzy wartościami średnimi prób otrzymanych z jednego rodzaju mleka, oznaczone różnymi literami są statystycznie istotne ($p < 0,05$) / differences amid means obtained from one type of milk, denoted by different letters are statistically significant ($p < 0.05$).

Wraz ze wzrostem zawartości WPC 65, wartości G' oraz G'' zmniejszały się. Wszystkie próby miały żelową konsystencję, co potwierdzają wyższe wartości G' w porównaniu z G'' w całym zakresie zastosowanych częstotliwości. Koncentraty białek serwatkowych, dzięki zdolnościom teksturotwórczym, wpływają na zmiany właściwości fizykochemicznych jogurtów, jednak duże znaczenie ma także równowaga pomiędzy związkami mineralnymi występującymi w tych produktach [13, 28].

Proces żelowania napojów mlecznych, otrzymanych z PMP z 1-procentowym dodatkiem α -la, w wyniku fermentacji szczepem LA-5 przedstawiono na rys. 3.

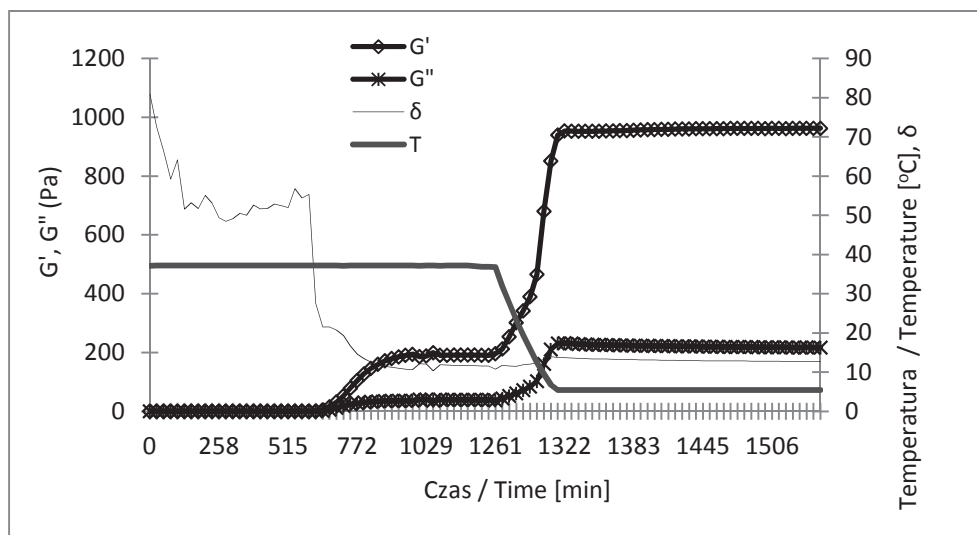
Tabela 3. Wartości modułu zachowawczego (G') i modułu stratności (G'') mlecznych napojów, fermentowanych przez LA-5 (*L. acidophilus*), otrzymanych z OMP i PMP z dodatkiem preparatów białek mleka, oznaczone przy częstotliwości drgań 1 Hz.

Table 3. Values of storage modulus (G') and loss modulus (G'') of milk beverages fermented by LA-5 (*L. acidophilus*) strain and produced from OMP and PMP with milk protein preparations added as determined at 1 Hz oscillation frequency.

| Dodatek preparatu białek mleka Milk protein preparation added [%] | Moduły Modulus | G', G'' [Pa] | | | | |
|--|----------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | | CGMP | α -la | WPC 65 | SPD | WPI |
| OMP: | | | | | | |
| 0 | G' | 317 ^a ± 28 | | | | |
| | G'' | 103 ^{abc} ± 17 | | | | |
| 0,5 | G' | 1482 ^c ± 27 | 2547 ^{gh} ± 24 | 4085 ^m ± 48 | 1504 ^c ± 16 | 3557 ^l ± 54 |
| | G'' | 158 ^{bc} ± 23 | 172 ^{bc} ± 25 | 1190 ^j ± 36 | 167 ^{bc} ± 18 | 950 ^f ± 27 |
| 1 | G' | 7204 ^u ± 68 | 4942 ^o ± 45 | 2458 ^g ± 32 | 5211 ^p ± 50 | 3819 ⁱ ± 39 |
| | G'' | 2069 ⁿ ± 26 | 1494 ^l ± 23 | 717 ^e ± 16 | 1506 ^l ± 22 | 1088 ^{hi} ± 40 |
| 2 | G' | 5447 ^r ± 50 | 5972 ^s ± 45 | 1907 ^d ± 21 | 2948 ⁱ ± 29 | 5567 ^r ± 49 |
| | G'' | 1689 ^l ± 22 | 1863 ^m ± 39 | 575 ^d ± 30 | 887 ^t ± 24 | 1479 [±] 24 |
| PMP: | | | | | | |
| 0 | G' | 523 ^a ± 34 | | | | |
| | G'' | 186 ^a ± 22 | | | | |
| 0,5 | G' | 2059 ^k ± 29 | 2669 ^l ± 31 | 1558 ^{ef} ± 27 | 2533 ^l ± 29 | 2842 ^m ± 34 |
| | G'' | 561 ^l ± 18 | 749 ^{jl} ± 21 | 434 ^{igh} ± 14 | 674 ^k ± 22 | 778 ^l ± 25 |
| 1 | G' | 1830 ^{jl} ± 27 | 2534 ^l ± 32 | 1156 ^c ± 26 | 1716 ^{gh} ± 30 | 2853 ^m ± 24 |
| | G'' | 505 ^{jl} ± 14 | 709 ^{kl} ± 18 | 325 ^{cd} ± 16 | 460 ^{ghi} ± 10 | 758 ^l ± 15 |
| 2 | G' | 1289 ^d ± 33 | 4225 ^p ± 43 | 824 ^b ± 16 | 1525 ^{ef} ± 24 | 4241 ^p ± 37 |
| | G'' | 391 ^{ef} ± 12 | 1284 ^p ± 21 | 234 ^{ab} ± 14 | 436 ^{igh} ± 22 | 1095 ^o ± 38 |

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

Dodatek preparatu białkowego (α -la) do PMP wpłynął na skrócenie czasu tworzenia się skrzepu. Żele kwasowe z 1-procentowym dodatkiem α -la zaczynały powstawać o około 30 min wcześniej niż próby bez dodatku preparatu białkowego. Zaobserwowane zjawisko można tłumaczyć tym, że wraz z upływem czasu ogrzewania roztworu białek serwatkowych zwiększa się ilość powstałych agregatów białkowych. Twardość jogurtów wzrasta wraz z wydłużaniem okresu agregacji roztworów białek serwatkowych, zastosowanych do produkcji mlecznych produktów [11]. Wraz z rozpoczęciem procesu żelowania wzrastały wartości G' i G'' . Po upływie 25 h badane parametry osiągnęły odpowiednio: 963 oraz 217 Pa. Dodatek 1 % α -la do mleka pełnego ukwaszonego szczepem LA-5 wpłynął na znaczne wzmocnienie struktury żeli mlecznych napojów fermentowanych.



T – temperatura / temperature

Rys. 3. Wpływ szczepu LA-5 (*L. acidophilus*) na zmiany modułu zachowawczego (G'), modułu stratności (G'') i kąta fazowego (δ) podczas fermentacji i przechowywania napojów mlecznych otrzymanych z PMP z 1-procentowym dodatkiem α -la.

Fig. 3. Effect of LA-5 (*L. acidophilus*) strain on changes in storage modulus (G'), loss modulus (G''), and phase angle (δ) during fermentation and storage of milk beverages produced from PMP with 1% of α -la added.

Żele kwasowe otrzymane podczas fermentacji OMP i PMP przez szczep LA-5 charakteryzowały się stosunkowo dużym wyciekaniem serwatki (tab. 4). Produkty otrzymane z OMP wykazywały wyższy poziom synerезy w porównaniu z mlecznymi napojami otrzymanymi z PMP. Dodatek 0,5 % preparatów białek mleka w większości przypadków (za wyjątkiem WPI) powodował wyraźny wzrost synerезy zarówno w produktach otrzymanych z OMP, jak i PMP. Zwiększenie udziału poszczególnych preparatów białkowych w produktach powodowało stopniowy spadek ilości wydzielanej serwatki. Zmniejszenie poziomu synerезy w mlecznych napojach fermentowanych na skutek dodatku białek serwatkowych opisano dotychczas w kilku pracach naukowych [15, 22, 25].

Zjawisko synerезy zachodziło najintensywniej w produktach na bazie OMP z 0,5-procentowym udziałem SPD (25,48 %) oraz z 0,5-procentowym dodatkiem WPI. Najmniejsza ilość serwatki wydzielala się w próbach z 2-procentowym dodatkiem WPI i w napojach z OMP i PMP wynosiła odpowiednio: 1,97 i 3,25 %. Wraz ze wzrostem stężenia WPC 65 zarówno w produktach uzyskanych z mleka pełnego, jak i odtłuszczonego obserwowano zmniejszanie ilości wydzielanej serwatki. Podobną prawidłowość zaobserwowali Sodini i wsp. [28]. Większa zdolność wiązania wody w produktach

wzbogaconych dodatkiem koncentratu białek serwatkowych może być tłumaczona wyższym poziomem usieciowania tych skrzepów w porównaniu z jogurtami kontrolnymi [25, 27].

Tabela 4. Wielkość synerезy mlecznych napojów fermentowanych z dodatkiem preparatów białek mleka, otrzymanych w wyniku fermentacji przez szczep LA-5 (*L. acidophilus*).

Table 4. Syneresis volume of fermented milk beverages with milk protein preparations added, produced through the fermentation by LA-5 (*L. acidophilus*) strain.

| Dodatek preparatu białek mleka Milk protein preparation added [%] | Synereza / Syneresis [%] | | | | |
|--|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|----------------------------|
| | CGMP | α -la | WPC 65 | SPD | WPI |
| OMP: | | | | | |
| 0 | 12,07 ^{de} ± 0,69 | | | | |
| 0,5 | 24,38 ^{kl} ± 1,12 | 21,14 ^{hijkl} ± 0,80 | 25,12 ^l ± 2,63 | 25,48 ^l ± 1,78 | 6,68 ^{bc} ± 0,71 |
| 1 | 16,73 ^{fgh} ± 0,63 | 13,58 ^{def} ± 0,78 | 13,67 ^{def} ± 1,00 | 21,42 ^{ijkl} ± 2,06 | 4,85 ^{ab} ± 0,63 |
| 2 | 16,63 ^{efgh} ± 1,09 | 9,85 ^{cd} ± 1,00 | 9,33 ^{bcd} ± 0,99 | 13,08 ^{def} ± 0,59 | 1,97 ^a ± 0,69 |
| PMP: | | | | | |
| 0 | 10,57 ^{cdefg} ± 1,68 | | | | |
| 0,5 | 14,89 ^{ijkl} ± 1,17 | 10,75 ^{cdefg} ± 0,07 | 12,67 ^{fghij} ± 1,19 | 15,52 ^{jk} ± 0,59 | 8,80 ^{bcd} ± 1,00 |
| 1 | 11,62 ^{efghi} ± 0,60 | 10,43 ^{cdefg} ± 2,07 | 10,84 ^{cdefg} ± 1,03 | 13,28 ^{ghijkl} ± 0,89 | 7,75 ^{bcd} ± 0,90 |
| 2 | 10,90 ^{defgh} ± 0,60 | 6,68 ^b ± 0,77 | 9,31 ^{bcd} ± 0,27 | 11,44 ^{efgh} ± 0,71 | 3,25 ^a ± 0,37 |

Objaśnienia jak w tab. 2. / Explanatory notes as in Tab. 2.

Otrzymane mleczne napoje fermentowane przechowywano przez 21 dni w warunkach chłodniczych. Jednym z podstawowych problemów w produkcji probiotycznych mlecznych napojów fermentowanych jest zmniejszenie liczby bakterii probiotycznych podczas przechowywania [12]. Zmiany liczby komórek bakterii *L. acidophilus* LA-5 podczas chłodniczego przechowywania mlecznych napojów fermentowanych otrzymanych z PMP z 1-procentowym dodatkiem wybranych preparatów białkowych przedstawiono w tab. 5. Wraz z upływem czasu chłodniczego przechowywania napojów liczba komórek bakterii stopniowo malała we wszystkich produktach. Niezależnie od składu białkowego skrzepu, po pierwszym dniu przechowywania prób

w warunkach chłodniczych liczba komórek szczepu LA-5 utrzymywała się na poziomie 10^8 . W kolejnych dniach chłodniczego przechowywania prób zaobserwowano zmniejszenie liczby komórek szczepu LA-5 o jeden rząd wielkości. Po upływie 21 dni najmniejszą liczbę komórek bakteryjnych zawierały fermentowane napoje mleczne uzyskane z pełnego mleka w proszku z 1-procentowym dodatkiem CGMP ($1,14 \times 10^7$ jtk/ml). Najwyższą liczbę komórek bakteryjnych $3,51 \times 10^7$ jtk/ml w ostatnim dniu chłodniczego przechowywania zaobserwowano w próbach kontrolnych.

Tabela 5. Przeżywalność szczepu LA-5 (*L. acidophilus*) w mlecznych napojach fermentowanych z dodatkiem wybranych preparatów białek mleka, podczas chłodniczego przechowywania.

Table 5. Survival of LA-5 (*L. acidophilus*) strain in fermented milk beverages with some selected milk protein preparations added, during cold storage.

| Czas przechowywania Time of storage [dni/days] | LA-5 [jtk/ml / cfu/ml] | | |
|--|------------------------|--------------------|--------------------|
| | PMP | PMP + 1 % CGMP | PMP + 1 % WPC 65 |
| 1 | $2,45 \times 10^8$ | $2,5 \times 10^8$ | $2,1 \times 10^8$ |
| 7 | $5,47 \times 10^7$ | $6,20 \times 10^7$ | $6,63 \times 10^7$ |
| 14 | $3,54 \times 10^7$ | $1,54 \times 10^7$ | $4,10 \times 10^7$ |
| 21 | $3,51 \times 10^7$ | $1,14 \times 10^7$ | $2,81 \times 10^7$ |

W napojach fermentowanych otrzymanych z pełnego mleka w proszku najwyższą liczbę komórek bakterii uzyskano w próbach z 1-procentowym dodatkiem WPC 65. Po 7 dniach chłodniczego przechowywania prób liczba bakterii kształtowała się na poziomie $6,63 \times 10^7$ jtk/ml, a po upływie 14 dni zmalała do $4,10 \times 10^7$ jtk/ml. Zwiększoną liczbę komórek *L. acidophilus* w porównaniu z próbą kontrolną podczas chłodniczego przechowywania jogurtów z dodatkiem WPC zaobserwowali również Kailasapathy i Supriadi [16].

Po upływie kolejnych 7 dni nastąpiło znaczące obniżenie liczby komórek bakterii badanego szczepu w mlecznych napojach fermentowanych z dodatkiem WPC 65 w porównaniu z próbą kontrolną.

Wnioski

1. Preparaty białek mleka zastosowane do produkcji mlecznych napojów fermentowanych stymulowały wzrost probiotycznego szczepu bakterii *Lb. acidophilus* LA-5.
2. Dodatek preparatów białek serwatkowych miał wpływ na właściwości reologiczne mlecznych napojów fermentowanych, uzyskanych przy udziale szczepu LA-5.

- Produkty mleczne otrzymywane z mleka odtłuszczonego charakteryzowały się wyższymi wartościami takich parametrów, jak twardość oraz moduł zachowawczy.
3. Wraz ze wzrostem stężenia α -la i WPI wzrastała twardość żeli kwasowych otrzymanych przy użyciu szczepu *Lb. acidophilus* LA-5.
 4. Dodatek α -la w ilości 1 % wpłynął na skrócenie czasu powstania kwasowego skrzepu z mleka pełnego fermentowanego przez *Lb. acidophilus* LA-5.
 5. Napoje otrzymane z odtłuszczonego mleka charakteryzowały się wyższym poziomem synerезy w porównaniu z mlecznymi napojami z mleka pełnego.
 6. Wzrost dodatku preparatów białek mleka w napojach powodował stopniowe zmniejszanie ilości wydzielonej serwatki.
 7. Po dwutygodniowym okresie przechowywania w warunkach chłodniczych napojów uzyskanych z pełnego mleka w proszku, najwyższą liczbę bakterii szczepu *Lb. acidophilus* LA-5 oznaczono w próbach z 1-procentowym dodatkiem WPC.

Literatura

- [1] Amatayakul T., Sherkat F., Shah N.P.: Physical characteristics of set yoghurt made with altered casein to whey protein ratios and EPS-producing starter cultures at 9 and 14% total solids. *Food Hydrocoll.*, 2006, **20**, 314-32.
- [2] Avonts L., van Uytven E., de Vuyst L.: Cell growth and bacteriocin production of probiotic. *Int. Dairy J.*, 2004, **14**, 947-955.
- [3] Bemardeau M., Vernoux J.P., Dubemet S.H., Gueguen M.: Safety assessment of dairy microorganisms: the *Lactobacillus* genus. *Int. J. Food Microbiol.*, 2008, **126**, 278-285.
- [4] Bonczar G., Wszolek M., Siuta A.: The effect of certain factors on the properties of yoghurt made from ewe's milk. *Food Chem.* 2002, **79**, 85-91.
- [5] Coconier M.H., Lievin V., Hemery E., Servin A.L.: Antagonistic activity against *Helicobacter* infection *in vivo* and *in vitro* by the human *Lactobacillus acidophilus* strain L.B. *Appl. Environ. Microb.*, 1998, **64** (11), 4573-4580.
- [6] Donkor O.N., Nilmini S., Stolic P., Vasiljevic T., Shah N.: Survival and activity of selected probiotic lactic acid bacteria and probiotic organisms in set-type yoghurt during cold storage. *Int. Dairy J.*, 2007, **17**, 657-665.
- [7] Drgalic I., Tratnik L., Bozanic R.: Growth and survival of probiotic bacteria in reconstituted whey. *Lait*, 2005, **85**, 1-9.
- [8] Gill H.S., Doull F., Rutherford K.J., Cross, M.L.: Immunoregulatory peptides in bovine milk. *Br. J. Nutr.*, 2000, **84** (1), 111-117.
- [9] Goderska K., Andrzejewska E., Szkaradkiewicz A., Czarnecki Z.: Antagonistyczny wpływ *Lactobacillus acidophilus* DSM 20079 i DSM 20242 na bakterie patogenne izolowane od ludzi. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **3** (82), 114 -131.
- [10] Gustaw W., Kordowska-Wiater M., Koziół J.: The influence of selected prebiotics on the growth of lactic acid bacteria for bio-yoghurt production. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.*, 2011, **10** (4), 455-66.
- [11] Gustaw W., Sz wajgier D., Mleko S: The rheological properties of yoghurt with the addition of lyophilized polymerized whey protein. *Milchwissenschaft*, 2009, **1** (64), 60-64.
- [12] Gustaw W.: Effect of addition of whey protein aggregates obtained by single and double heating method on the rheological properties of set yoghurts. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2007, **3** (52), 33-36.

- [13] Guzman Gonzalez M., Morais F., Ramos M., Amigo L.: Influence of skimmed milk concentrate replacement by dry dairy products in a low fat set-type yoghurt model system. I: Use of whey protein concentrates, milk protein concentrates and skimmed milk powder. *J. Sci. Food Agric.*, 1999, **79**, 1117-1122.
- [14] Haq I., Mukhtar H.: Biosynthesis of protease from *Lactobacillus paracasei*: Kinetic analysis of fermentation parameters. *Indian J. Biochem. Bioph.*, 2006, **43**, 377-381.
- [15] Isleten M., Karagul-Yuceer Y.: Effects of dried dairy ingredients on physical and sensory properties of nonfat yogurt. *J. Dairy Sci.*, 2006, **89** (8), 2865-2872.
- [16] Kailaspathy K., Supriadi D.: Effect of whey protein concentrate on the survival of *Lactobacillus acidophilus* in lactose hydrolyzed yogurt during refrigerated storage. *Milchwissenschaft*, 1996, **51** (10), 566-569.
- [17] Kisielewska E., Kordowska-Wiater M.: Ćwiczenia z mikrobiologii ogólnej i mikrobiologii żywności. Wyd. UP w Lublinie, Lublin 2004.
- [18] Klewicka E., Libudzisz Z., Czajka D., Kuc K.: Antagonistyczna aktywność bakterii fermentacji mlekowej *Lactobacillus acidophilus*. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 1999, **4** (21) Supl., 168-175.
- [19] Libudzisz Z.: Probiotyki i prebiotyki w fermentowanych napojach mlecznych. *Pediatrics Współczesna. Gastroenterologia, Hepatologia i Żywnienie Dziecka*, 2002, **4** (1), 19-25.
- [20] Mccomas Jr. K.A., Gilliland S.E.: Growth of probiotic and traditional yogurt cultures in milk supplemented with whey protein hydrolysate. *J. Food Sci.*, 2003, **68** (6), 2090-2095.
- [21] Meisel H., Fitzgerald R.J.: Biofunctional peptides from milk proteins: Mineral binding and cytomodulatory effects. *Curr. Pharm. Des.*, 2003, **9**, 1289-1295.
- [22] Patocka G., Cervenková R., Narine S., Jelen P.: Rheological behaviour of dairy products as affected by soluble whey protein isolate. *Int. Dairy J.*, 2006, **16** (5), 399-405.
- [23] Pescuma M., Hébert E.M., Mozzi F., Font de Valdez G.: Whey fermentation by thermophilic lactic acid bacteria: evolution of carbohydrates and protein content. *Food Microbiol.*, 2008, **25** (3), 442-451.
- [24] PN-EN ISO 4833:2004. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów. Metoda płytkowa w temperaturze 30 °C.
- [25] Puvanenthiran A., Williams R.P.W., Augustin M.A.: Structure and visco-elastic properties of set yoghurt with altered casein to whey proteins ratios. *Int. Dairy J.*, 2002, **12**, 383-391.
- [26] Ramchandran L., Shah N.P.: Effect of addition of Versagel on microbial, chemical, and physical properties of low-fat yogurt. *J. Food Sci.*, 2008, **73** (7), 360-367.
- [27] Remeuf F., Mohammed S., Sodini I., Tissier J.P.: Preliminary observations on the effects of milk fortification and heating on microstructure and physical properties of stirred yogurt. *Int. Dairy J.*, 2003, **13**, 773-782.
- [28] Sodini I., Montella J., Tong P.: Physical properties of yogurt fortified with various commercial whey proteins concentrates. *J. Sci. Food Agric.*, 2005, **85**, 853-859.
- [29] Solowiej B., Mleko S., Gustaw W., Udeh K.O.: Effect of whey protein concentrates on texture, meltability and microstructure of acid casein processed cheese analogs. *Milchwissenschaft*, 2010, **2** (65), 169-173.
- [30] Zaręba D.: Przeżywalność probiotycznego szczepu *Lactobacillus acidophilus* w mleku niefermentowanym i fermentowanym. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **5** (60), 189-196.
- [31] Ziarno M.: Prozdrowotne właściwości bakterii mlekowych. *Przegl. Mlecz.*, 2004, **54** (11), 4-10.

EFFECT OF SELECTED MILK PROTEIN PREPARATIONS ON GROWTH AND SURVIVAL OF *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS* AS WELL AS ON RHEOLOGICAL PROPERTIES OF FERMENTED MILK BEVERAGES

S u m m a r y

Whey proteins are a source of bioactive peptides and contain amino acids that are essential to the human body to properly function. Milk protein preparations used in the production of fermented milk beverages stimulated the growth of *Lb. acidophilus* LA-5 strain. A supplement of α -lactalbumin added to the whole milk caused the time of curd formation with the use of *Lb. acidophilus* LA-5 strain to be reduced. After a two week period of cold storage of the fermented milk beverages produced from the whole milk powder, the highest cell count (4.1×10^7 cfu/ml) of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 strain was reported in the products enriched with WPC 65 added in an amount of 1 %. The beverages produced with a 2 % of WPI added were characterized by the highest values of hardness (1.51 N) and storage modulus G' (5567 Pa). Along with the increasing concentration of α -la and WPI, the hardness increased of the acid gels produced with the application of *Lb. acidophilus* LA-5 strains. The fermented milk beverages made from skimmed milk were characterized by higher values of the parameters such as hardness and storage modulus. However, the milk beverages from skimmed milk had higher levels of syneresis compared to beverages from the whole milk. The increase in the amount of milk protein preparations added to the beverages caused the amount of separated whey to gradually decrease. The milk beverages with 2 % of WPI added were characterized by the lowest value of syneresis (1.97 %). The enriching of fermented milk beverages with milk protein preparations improves physical and chemical properties of those beverages, influences the increase in their pro-health values, and gives those products the characteristics of functional beverages.

Key words: milk protein preparations, probiotic bacteria, *Lactobacillus acidophilus*, syneresis, texture 

ADRIANA NOWAK

GROWTH AND SURVIVAL OF PROBIOTIC LACTIC ACID BACTERIA IN THE PRESENCE OF HETEROCYCLIC AROMATIC AMINES

Summary

Heterocyclic aromatic amines (HCAs) ingested with heat-processed meat can contribute to colon cancer development. Those compounds interact with human intestinal microbiota. Under the research study, the effect was analyzed of IQ, MeIQx, or PhIP amines (each of them at 5 and 25 µg/ml concentration rates) on the growth (24 h cultivation in MRS broth) and survival (incubation for max. 120 h in a phosphate buffer) of four probiotic strains of *Lactobacillus*. It was found that no concentration level of the HCAs analyzed impacted the growth of bacteria. A higher concentration level of IQ (25 µg/ml) decreased the survival of *Lb. casei* 0900 after a 24 h period of incubation. MeIQx and PhIP also decreased the survival of *Lb. paracasei* 0919 after a 24 h period of incubation. Totally, the count of living cells decreased from 10⁹ cfu/ml to 10⁸ cfu/ml. Three strains were absolutely resistant to PhIP during a 120 h period of incubation. The results obtained prove that the probiotic bacteria studied maintain their high viability in the presence of the amines tested and, probably, they can bind together with them in human colon and, then, the aggregated particles are removed from the human body.

Key words: probiotics, *Lactobacillus*, heterocyclic aromatic amines

Introduction

2-Amino-3-methyl-3*H*-imidazo[4,5-*f*]quinoline (IQ), 2-amino-3,8-dimethyl-3*H*-imidazo[4,5-*f*]quinoxaline (MeIQx) and 2-amino-1-methyl-6-phenyl-1*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine (PhIP) are heterocyclic aromatic amines (HCAs) formed in a heated muscle tissue, e.g. in the roasted and grilled meat and fish as a result of interactions between amino acids, sugars, and creatinine [20, 24]. Those compounds can contribute to the genotoxic or carcinogenic load within colon. Together with other factors (e.g. toxic metabolites of protein fermentation, increased colonic fat), they may account for an

increased risk of colorectal cancer (CRC) associated with the processed meat [22]. Additionally, the colonic microbiota can transiently respond to dietary intake. Meat rich diets affect the microbial composition towards a profile with more effective metabolizers of heterocyclic aromatic amines, which, in turn, may increase the risk of CRC development [3]. Probiotics are capable of transient modulation of the gut microbiota and their beneficial effects include the prevention of CRC by scavenging toxic compounds, *e.g.* HCA, and the prevention of their generation *in situ* [2].

A large number of reports exist to describe the adsorption or the binding by lactic acid bacteria (LAB) of a variety of food-borne HCAs *in vitro*; in some of those studies, a concomitant decrease in mutagenicity was reported [4, 8, 11, 16, 17, 19, 25]. Nevertheless, nothing is known about direct toxic effects of HCAs on certain species of probiotic lactic acid bacteria. In the previous research, the toxicity was assessed of major products of the bacterial aromatic amino acids metabolism in the colon (phenolic and indolic compounds) [15].

The objective of the study was to evaluate the ability of probiotic lactobacilli of human origin to grow and survive in the presence of three heterocyclic aromatic amines that occur most commonly, *i.e.*: IQ, MeIQx, and PhIP, and to determine whether or not there are differences in reactions between the LAB strains and those compounds.

Materials and Methods

Strains and carcinogens

The following probiotic *Lactobacillus* strains were analyzed: *Lb. casei* ŁOCK 0900, *Lb. casei* ŁOCK 0908, and *Lb. paracasei* ŁOCK 0919. They were acquired from a collection owned by the Institute of Fermentation Technology and Microbiology (ŁOCK 105), Lodz University of Technology, Poland. The strains are licensed (Nos. P-382760, P-382761, P-382762), their complete probiotic documentation is available, and they are kept by the Institute of Immunology and Experimental Therapy, Polish Academy of Sciences in Wrocław, Poland (Nos. B/00019, B/00020, B/00021). *Lb. plantarum* ŁOCK 0945 originated from the same Institute; its complete probiotic documentation exists (the strain is under the licensing process), and it is kept by the Department of Molecular Microbiology of the National Medicines Institute in Warsaw, Poland.

To maintain the activity of the strains, 24-hour cultures in MRS broth (Merck) were frozen at -20 °C with the addition of 20 % glycerol. Prior to application, the bacteria were activated twice in a liquid MRS broth (3 % inoculum) and incubated for 24 h at 37 °C in 5 % CO₂ (in a New Brunswick CO₂ incubator). The stock cultures used in

the experiments were stored at 4 - 5 °C. The 24-hour cultures of bacteria in MRS broth were used as an inoculum (3 %); the cell density was 10^9 cfu/ml.

The following HCAs were used: IQ (2-amino-3-methyl-3*H*-imidazo[4,5-*f*]quinoline); MeIQx (2-amino-3,8-dimethyl-3*H*-imidazo[4,5-*f*]quinoxaline) and PhIP (2-amino-1-methyl-6-phenyl-1*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine); they were purchased from a Toronto Research Chemicals Company (Canada). To obtain stock solutions, IQ and PhIP were diluted in DMSO to receive a final concentration level of 0.1 % (for IQ) and 0.05 % (for PhIP); MeIQx was diluted in water to receive a final concentration level of 0.1 %. The stock solutions were stored at 4 - 5 °C. The concentrations levels of HCA tested were 5 and 25 µg/ml for each HCA.

Cultivation of bacteria in MRS broth

To determine the impact of IQ, MeIQx or PhIP on the growth of lactobacilli during a 24 h period, the cells (3 % inoculum) were incubated in a liquid MRS broth at 37 °C in 5 % CO₂ with IQ, MeIQx, and PhIP added at 5 and 25 µg/ml concentration rates of each amine separately. The control samples were bacterial cultures without HCA. To study the impact of carcinogens on the growth of bacteria, the quantity of living cells was counted using a Koch's plate method. One ml of each culture was diluted in a sterile saline (0.85 % NaCl) and the serial dilutions of the culture were transferred onto plates along with MRS broth (with 1.5 % agar). The cell number was determined at '0' time and after a 24 h period of incubation; it was expressed as cfu/ml (colony forming units/ml). Every sample of a given concentration level was 4 times plated and a standard deviation (\pm SD) was calculated for each one. The differences among the means were compared using a one-way analysis of variance (ANOVA, $p < 0.01$).

Incubation of bacteria in phosphate buffer

In order to assess the survival of non-growing lactobacilli in the presence of IQ, MeIQx, or PhIP, the 24-hour cultures in MRS broth were centrifuged ($10700 \times g$ for 10 min), washed using 20 ml of a sterile 0.2 M phosphate buffer (pH = 6.2 - 6.3), and once more centrifuged. Next, the cells were re-suspended in the buffer of a cell density being 10^9 - 10^{10} cfu/ml using 5 and 25 µg/ml of each amine separately, and incubated for 120 h (5 days) at 37 °C in 5 % CO₂. Control samples were cell suspensions of each strain with no amine added.

In order to estimate the number of living cells, a pour plate method was applied every 24 or 48 hours, i.e.: bacteria were plated using MRS broth (with addition of 1.5 % agar) and incubated for 24 h at 37 °C in 5 % CO₂. The colonies were counted after every period of 48 h incubation, and, as a result, survival curves for each strain

and mutagen concentration were obtained. The differences among the means were compared using a one-way analysis of variance ($p < 0.01$).

Results

Impact of HCAs on growth of probiotic bacteria

No difference was found in the number of living bacterial cells (after a period of 24h incubation with carcinogens in MRS medium) compared to the control sample (Tab. 1). Thus, all the *Lactobacillus* strains were able to grow in the presence of 5 and 25 $\mu\text{g/ml}$ of IQ, MeIQx, or PhIP. Only as regards *Lb. casei* 0900, a slight decrease in the number of living cells was reported in the presence of 25 $\mu\text{g/ml}$ of PhIP ($p < 0.01$).

Table 1. Impact of IQ, MeIQx, and PhIP on growth (log CFU/ml) of probiotic *Lactobacillus* strains after a period of 24 h incubation in MRS medium.

Tabela 1. Wpływ IQ, MeIQx i PhIP na wzrost (log jtk/ml) szczepów probiotycznych z rodzaju *Lactobacillus* po 24 h inkubacji w pożywce MRS.

| Strain Szczep | HCA concentration [$\mu\text{g/ml}$] Stężenie HCA [$\mu\text{g/ml}$] | | | | | | | | |
|------------------|---|--------------------|--------------------|---------------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------------------------|--------------------|---------------------|
| | IQ ($\bar{x} \pm \text{SD} / s$) | | | MeIQx ($\bar{x} \pm \text{SD} / s$) | | | PhIP ($\bar{x} \pm \text{SD} / s$) | | |
| | K | 5 | 25 | K | 5 | 25 | K | 5 | 25 |
| 0900 | 9.60 \pm 0.09 | 9.59 \pm 0.12 | 9.63 \pm 0.11 | 9.85 \pm 0.08 | 9.79 \pm 0.09 | 9.71 \pm 0.01 | 9.86 \pm 0.01 | 9.83 \pm 0.02 | 9.73* \pm 0.01 |
| 0908 | 9.72 \pm 0.08 | 9.74 \pm 0.11 | 9.72 \pm 0.08 | 9.79 \pm 0.12 | 9.89 \pm 0.01 | 9.76 \pm 0.10 | 9.99 \pm 0.05 | 9.97 \pm 0.07 | 9.94 \pm 0.10 |
| 0919 | 9.54 \pm 0.12 | 9.54 \pm 0.14 | 9.42 \pm 0.08 | 9.76 \pm 0.07 | 9.76 \pm 0.09 | 9.79 \pm 0.09 | 9.99 \pm 0.20 | 9.98 \pm 0.02 | 9.95 \pm 0.01 |
| 0945 | 9.45 \pm 0.08 | 9.40 \pm 0.04 | 9.42 \pm 0.03 | 9.70 \pm 0.10 | 9.77 \pm 0.19 | 9.67 \pm 0.19 | 9.92 \pm 0.05 | 9.82 \pm 0.12 | 9.89 \pm 0.19 |

Explanatory notes: / objaśnienia:

IQ – 2-amino-3-methyl-3*H*-imidazo[4,5-*f*]quinoline / 2-amino-3-metyloimidazo[4, 5-*f*]chinolina; MeIQx – 2-amino-3,8-dimethyl-3*H*-imidazo[4,5-*f*]quinoxaline / 2-amino-3,8-dimetyloimidazo[4,5-*f*]chinoksalina; PhIP – 2-amino-1-methyl-6-phenyl-1*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine / 2-amino-1-metylo-6-fenyloimidazo[4,5-*b*]pirydyna; K – próba kontrolna / control sample; 5, 25 – concentration of amines / stężenia amin; $\bar{x} \pm \text{SD} / s$ – mean value \pm standard deviation / wartość średnia \pm odchylenie standardowe;

* – the differences between average values of the samples and the control are statistically significant ($p < 0.01$) / różnice pomiędzy wartościami średnimi badanych prób i próby kontrolnej statystycznie istotne na poziomie $p < 0.01$.

Impact of HCAs on survival of probiotic bacteria

Compared to the control sample, 5 $\mu\text{g/ml}$ of every amine had no impact on the survival of bacteria in the phosphate buffer. As shown in Figure 1, a 5-times higher concentration of IQ, MeIQx, and PhIP (25 $\mu\text{g/ml}$) had a clear impact on the survival of non-growing lactobacilli during 120h incubation, and it was strain dependent.

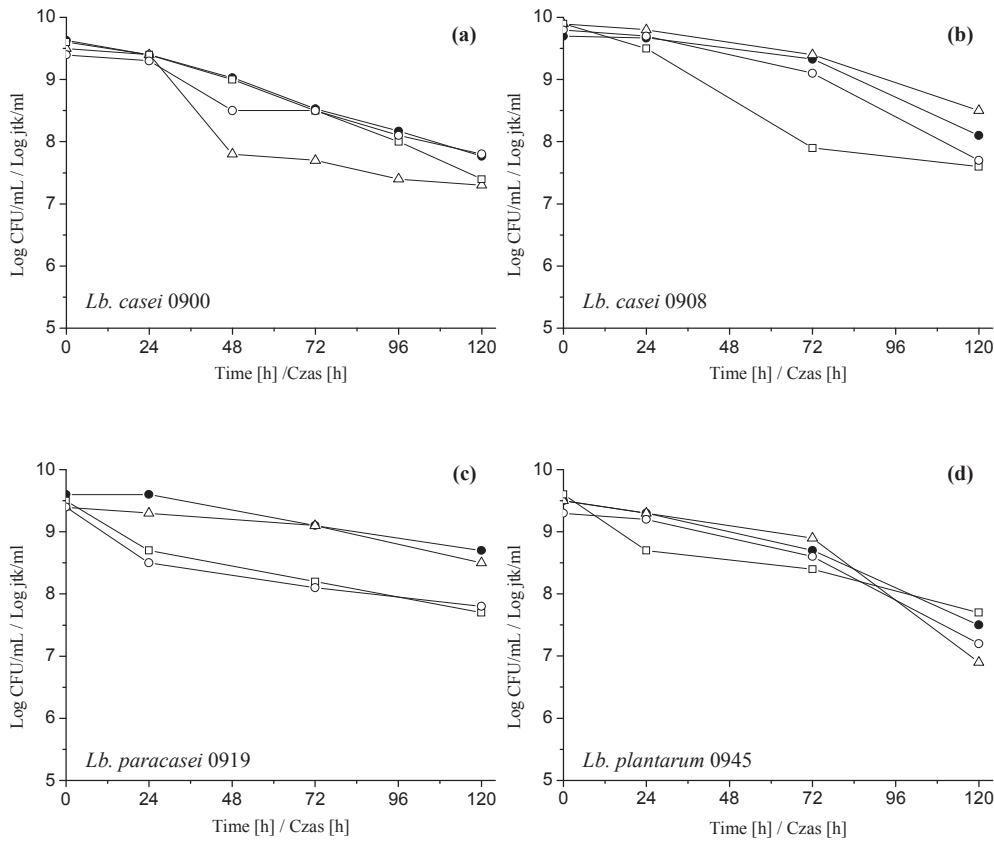


Fig. 1. Impact of IQ, MeIQx or PhIP on survival of *Lactobacillus* strains; ● control sample, Δ 25 μg/ml of IQ, □ 25 μg/ml of MeIQx, ○ 25 μg/ml of PhIP.

Rys. 1. Wpływ IQ, MeIQx i PhIP na przeżywalność szczepów probiotycznych z rodzaju *Lactobacillus*; ● kontrola, Δ 25 μg/ml IQ, □ 25 μg/ml MeIQx, ○ 25 μg/ml PhIP.

In the presence of IQ, the number of viable cells of *Lb. casei* 0900 decreased after the 24h period of incubation; the decrease continued until the incubation period was 120h, and it was significantly different from the control sample ($p < 0.01$) (Fig. 1a). As for *Lb. casei* 0908 (Fig. 1b), a significant decrease in the number of living cells was reported after the 24h incubation period in the presence of MeIQx, and the ability of bacteria to survive decreased along with the increasing time of incubation. *Lb. paracasei* 0919 was significantly affected by MeIQx and PhIP from the beginning of incubation (Fig. 1c) ($p < 0.01$).

So, *Lb. casei* 0908 and *Lb. paracasei* 0919 appeared to be the most sensitive to MeIQx, and the higher concentration of the compound in the environment, the less

viable cells. PhIP and IQ did not affect 3 strains at all; until the period of 120 h, the change in the number of viable cells thereof was the same as that in the control sample ($p < 0.01$). *Lb. plantarum* 0945 was resistant to all the amines at the concentrations analyzed (Fig. 1d) ($p < 0.01$).

Discussion

Colorectal cancer is the third most prevalent cancer in humans. One of the recognised risk factors includes a diet rich in heat-processed meats [10]. The consumption of HCAs is very low; however, several compounds are consumed at the same time. The estimations performed show that human exposure to HCA ranges between a few ng/day and $\mu\text{g/day}$ depending on the dietary and cooking habits. The daily intake level of IQ is 1 ng, of MeIQx between 9.8 and 135 ng, and of PhIP between 39 and 458 ng per one adult person [1, 5, 9, 12, 18]. It is important to remember that HCAs occur in wine, beer, cigarette smoke, exhaust fumes, as well as in many other products; thus, the genuine human exposition to the carcinogens is unknown.

Under the research study, IQ, MeIQx, and PhIP were analyzed at high concentration levels; in the case of IQ, the concentration level was as high as 25 $\mu\text{g/ml}$; although such levels are unrealistic for consumers, they are not toxic for bacteria during a 120h period of incubation. In many reports, much lower and much higher concentrations (1, 10, 100 and 1000 mg/l) of HCA were investigated [23]. The objective of the study was to study the phenomenon *in vitro*. Our probiotic strains are resistant to even high concentrations of IQ, MeIQx, and PhIP. As for human gastrointestinal tracts, most substances spend, on average, 24 to 72 hours therein; 18 - 64 h of this period, they are in the large bowel; that is why the transit time is mainly a colonic event [6]. When considering the colonic transit time, the incubation of bacteria in the phosphate buffer continued for 120h. Colon transit time varies greatly from person to person and it depends on such factors as diet, stress, hormones, colonic anatomy, microbiota, age (old persons), sex (females more often), physical activity, and colon disturbances (*e.g.* irritable bowel syndrome). All the named factors can lead to constipations and a slow transit time; all this is associated with the prevalence of large bowel disorders, particularly with colon cancer [6, 21].

Probiotic lactobacilli can reduce the colonic transit time when carcinogens within the colon are in contact with the intestinal mucous, thereby they can suppress carcinogenesis. It was reported that *Bifidobacterium animalis* DN 173010 reduce the colonic transit time in healthy women [13]. Probiotics bind with HCAs and, in this way, remove carcinogens from the human body; it is a very important characteristic of probiotics. As soon as the bacterial cells absorb carcinogens, they are excreted in faeces and the colon epithelial cells are no longer exposed to the impact of those compounds.

In the research study, all the lactobacilli appeared to be mostly resistant to high concentration levels (25 µg/m) of PhIP, i.e. to the amine most commonly occurring in diets; its daily intake by humans is the highest among all HCAs [7]. Of all HCAs, this amine appears to be the most mutagenic and genotoxic for colonic epithelial cells [14]. Lactobacilli revealed their definite sensitivity to IQ, MeIQx, and PhIP. *Lb. casei* 0900 was the most sensitive to IQ, *Lb. casei* 0908, *Lb. paracasei* 0919 to MeIQx and PhIP, and *Lb. plantarum* 0945 was resistant to all the amines analyzed. Generally, the number of living cells of bacteria decreased from the initial 10^9 to 10^7 CFU/ml during 120h; this decrease was reported even in the case of the control sample. IQ, MeIQx, and PhIP slightly affected the viability of the probiotic lactic acid bacteria tested ($p < 0.01$). The impact of those compounds depended on the dosage and the compound itself.

Conclusion

The conclusion is that none of the IQ, MeIQx, and PhIP amines (5 and 25 µg/ml) impacted the growth of probiotic lactobacilli in MRS broth. Additionally, the probiotic strains had a high viability level in their presence during a period up to 120 h (normal colon transit time). Thus, probably, the probiotic bacteria can efficiently interact with HCAs in the human body (so that they bind with them and, then, are removed in faeces).

References

- [1] Augustsson K., Skog K., Jagerstad M., Steineck G.: Assessment of the human exposure to heterocyclic amines. *Carcinogenesis*, 1997, **18**, 1931-1935.
- [2] Azcárate-Peril M.A., Sikes M., Bruno-Bárcena J.M.: The intestinal microbiota, gastrointestinal environment and colorectal cancer: a putative role for probiotics in prevention of colorectal cancer? *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 2011, **301** (3), G401-424.
- [3] Boleij A., Tjalsma H.: Gut bacteria in health and disease: a survey on the interface between intestinal microbiology and colorectal cancer. *Biol. Rev.*, 2012, **87** (3), 701-730.
- [4] Bolognani F., Rumney C.J., Rowland I.R.: Influence of carcinogen binding by lactic acid producing bacteria on tissue distribution and *in vivo* mutagenicity of dietary carcinogens. *Food Chem. Toxicol.*, 1997, **35**, 535-545.
- [5] Byrne C., Sinha R., Platz E.A., Giovannucci E., Colditz G.A., Hunter D.J., Speizer F.E., Willett W.C.: Predictors of dietary heterocyclic aromatic amine intake in three prospective cohorts. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 1998, **7**, 523-529.
- [6] Cummings J.H., Antoine J.M., Azpiroz F., Bourdet-Sicard R., Brandtzaeg P., Calder P.C., Gibson G., Guarner F., Isolauri E., Pannemans D., Shortt C., Tuijtelaars S., Watzl B.: PASSCLAIM – Gut health and immunity. *Eur. J. Nutr.*, 2004, **43** (2S), 118-173.
- [7] Diezel N.C., Buckley T.J., Sinha R., Abubaker S., Platz E.A., Strickland P.T.: Comparability and repeatability of methods for estimating the dietary intake of heterocyclic aromatic amine contaminant 2-amino-1-methyl-6-phenyl-1*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine (PhIP). *Food Addit. Contam.*, 2012, **29**, 1202-1211.

- [8] Faridnia F., Hussin A.S.M., Saari N., Mustafa S., Yee L.Y., Manap M.Y.A.: In vitro binding of heterocyclic aromatic amines by *Bifidobacterium pseudocatenulatum* G4. *Beneficial Microbes*, 2010, **1**, 149-154.
- [9] Jägerstad M., Skog K.: Genotoxicity of heat-processed foods. *Mutat. Res.*, 2010, **574**, 156-172.
- [10] Jemal A., Bray F., Center M., Ferlay J., Ward E., Forman D.: Global cancer statistics. *CA Cancer J. Clin.*, 2011, **61**, 69-90.
- [11] Knasmüller S., Steinkellner H., Hirchl A.M., Rabot S., Nobis E.C., Kassie F.: Impact of bacteria in dairy products and of intestinal microflora on the genotoxic and carcinogenic effects of heterocyclic aromatic amines. *Mutat. Res.*, 2001, **480-481**, 129-138.
- [12] Kobayashi M., Hanoka T., Nishioka S., Kataoka H., Tsugane S.: Estimation of dietary HCA intakes in a large-scale population based prospective study in Japan. *Mutat. Res.*, 2002, **506/507**, 233-241.
- [13] Marteau P., Cuillerier E., Meance S., Gerhardt M.F., Myara A., Bouviers M., Bouley C., Tondeu F., Bommelaer G., Grimauds J.C.: *Bifidobacterium animalis* strain DN 173010 shortens the colonic transit time in healthy women: a double-blind, randomised, controlled study. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 2002, **16**, 587-593.
- [14] Nauwelaers G., Bessette E.E., Gu D., Tang Y., Rageul J., Fessard V., Yuan J.M., Yu M.C., Langouet S., Turesky R.J.: DNA adduct formation of 4-aminobiphenyl and heterocyclic aromatic amines in human hepatocytes. *Chem. Res. Toxicol.*, 2011, **24**, 913-925.
- [15] Nowak A., Libudzisz Z.: Influence of phenol, p-cresol and indole on growth and survival of intestinal lactic acid bacteria. *Anaerobe*, 2006, **12 (2)**, 80-84.
- [16] Nowak A., Libudzisz L.: Ability of probiotic *Lactobacillus casei* DN 114001 to bind or/and metabolise heterocyclic aromatic amines (HCA) *in vitro*. *Eur. J. Nutr.*, 2009, **48 (7)**, 419-427.
- [17] Nowak A., Śliżewska K., Klewicka E.: Effect of probiotic lactobacilli on faecal enzyme and genotoxic activity in human faecal water in the presence of the carcinogen PhIP *in vitro*. *Int. J. Dairy Technol.*, 2012, **65 (2)**, 300-307.
- [18] Nowell S., Coles B., Sinha R., Macleod S., Luke Ratnasinghe D., Stotts C., Kadlubar F., Ambrosone C., Lang N.: Analysis of total meat intake and exposure to individual heterocyclic amines in a case-control study of colorectal cancer: contribution of metabolic variation to risk. *Mutat. Res.*, 2002, **506/507C**, 175-185.
- [19] Orrhage K., Sillerstrom E., Gustafsson J.A., Nord C.E., Rafter J.: Binding of heterocyclic amines by intestinal and lactic acid bacteria. *Mutat. Res.*, 1994, **1**, 239-248.
- [20] Puangsombat K., Gadgil P., Houser T.A., Hunt M.C., Smith J.S.: Occurrence of heterocyclic aromatic amines in cooked meat products. *Meat Sci.*, 2012, **90**, 739-746.
- [21] Song B.K., Cho O.K., Jp Y., Oh W.J., Kim Y.S.: Colon transit time according to physical activity level in adults. *J. Neurogastroenterol. Motil.*, 2012, **18**, 64-69.
- [22] Tuohy K.M., Hinton D.J.S., Davies S.J., Crabbe J.C., Gibson G.R., Ames J.M.: Metabolism of Maillard reaction products by the human gut microbiota – implications for health. *Mol. Nutr. Food Res.*, 2006, **50**, 847-857.
- [23] Vanhaecke L., Verstraete W., Van de Wiele T.: Metabolism of the food associated carcinogen 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine by human intestinal microbiota. *Reprod. Nutr. Dev.*, 2006, **46 (1S)**, 1-138.
- [24] Viegas O., Novo P., Pinto E., Pinho O., Ferreira I.M.P.L.V.O.: Effect of charcoal types and grilling conditions on formation of heterocyclic aromatic amines (HAs) and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in grilled muscle foods. *Food Chem. Toxicol.*, 2012, **50**, 2128-2134.
- [25] Zhang X.B., Ohta Y.: Antimutagenicity of cell fractions of microorganisms on potent mutagenic pyrolysates. *Mutat. Res.*, 1993, **298**, 247-253.

WZROST I PRZEŻYWALNOŚĆ BAKTERII PROBIOTYCZNYCH W OBECNOŚCI HETEROCYKLIKOWYCH AMIN AROMATYCZNYCH

Streszczenie

Heterocykliczne aminy aromatyczne (HCA) spożywane wraz z termicznie przetworzonym mięsem mogą przyczyniać się do rozwoju raka jelita grubego. W pracy badano wpływ amin IQ, MeIQx oraz PhIP (każda w stężeniu 5 i 25 µg/ml) na wzrost (24-godzinna hodowla w pożywce MRS) i przeżywalność (do 120 h inkubacji w buforze fosforanowym) czterech szczepów probiotycznych z rodzaju *Lactobacillus*. Zaobserwowano, że żadne z badanych stężeń HCA nie wpływało na wzrost bakterii. Wyższe stężenie IQ (25 µg/ml) obniżało żywotność szczepu *Lb. casei* 0900 od 24 h inkubacji. Aminy MeIQx i PhIP obniżały żywotność *Lb. paracasei* 0919 również od 24 h inkubacji. Generalnie liczba żywych komórek obniżyła się z 10^9 jtk/ml do 10^8 jtk/ml. Trzy szczepy były całkowicie odporne na obecność PhIP podczas 120 h inkubacji. Uzyskane rezultaty wskazują, że badane szczepy probiotyczne zachowują wysoką żywotność w obecności testowanych amin i prawdopodobnie mogą wiązać się z nimi w jelicie grubym, po czym te zagregowane cząstki usuwane są z organizmu.

Słowa kluczowe: probiotyki, *Lactobacillus*, heterocykliczne aminy aromatyczne ☒

BARTOSZ SOŁOWIEJ, MACIEJ NASTAJ, WALDEMAR GUSTAW

OCENA WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNYCH ANALOGÓW SERÓW TOPIONYCH Z DODATKIEM MĄCZKI CHLEBA ŚWIĘTOJAŃSKIEGO

Streszczenie

Celem niniejszej pracy było otrzymanie w skali laboratoryjnej analogów serów topionych z kazeiny kwasowej z dodatkiem mączki chleba świętojańskiego oraz analiza ich tekstury i topliwości. Twardość otrzymanych analogów serów topionych badano przy użyciu analizatora tekstury TA-XT2i próbnikiem cylindrycznym o średnicy 10 mm. W teście przebijania (*puncture test*) określano siłę potrzebną do zagłębienia się próbki na 20 mm w próbkę analogu sera. Teksturę otrzymanych analogów serów topionych badano przy użyciu analizatora tekstury TA-XT2i próbnikiem cylindrycznym o średnicy 15 mm. W profilowej analizie tekstury (TPA) określano: przyległość, spójność i sprężystość analogów serowych. Za pomocą reometru rotacyjnego Brookfield DV II+ przy użyciu przystawki Helipath (F) dokonywano badań lepkości analogów serów topionych. Pomiarów topliwości dokonywano zmodyfikowanym testem Schreiberna. Zastosowanie mączki chleba świętojańskiego miało zróżnicowany wpływ na właściwości fizykochemiczne analogów serów topionych otrzymanych na bazie kazeiny kwasowej i tłuszczu mlecznego. Wraz ze zwiększaniem zawartości kazeiny w analogach serów topionych zwiększała się ich twardość, przyległość i lepkość, natomiast zmniejszeniu ulegała ich spójność oraz topliwość. Dodatek 0,05 % mączki chleba świętojańskiego wpłynął na zmniejszenie twardości, a zarazem zwiększenie spójności analogów serów topionych otrzymanych z 11-procentowej kazeiny kwasowej. Natomiast przyległość wszystkich badanych analogów zmniejszała się wraz ze zwiększaniem zawartości hydrokoloidu w produkcie. Sprężystość analogów serowych nie zależała od zawartości kazeiny kwasowej oraz mączki chleba świętojańskiego i była cechą niezależną od innych właściwości tekstury. Z kolei lepkość nie zależała jedynie od zawartości hydrokoloidu w produkcie (z wyjątkiem analogu 12 % KK + 0,05 % MČS). Dodatek mączki chleba świętojańskiego w ilości 0,05 % wpłynął na istotne zmniejszenie topliwości wszystkich analogów w porównaniu z próbkami kontrolnymi, jednak wszystkie badane analogi serowe cechowały się dobrą topliwością.

Słowa kluczowe: analog sera topionego, kazeina kwasowa, mączka chleba świętojańskiego, tekstura, topliwość

Dr inż. B. Sołowiej, dr inż. M. Nastaj, Katedra Biotechnologii, Żywności Człowieka i Towaroznawstwa Żywności, prof. dr hab. inż. W. Gustaw, Katedra Technologii Owoców, Warzyw i Grzybów, Wydz. Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Skromna 8, 20-704 Lublin. Kontakt: bartosz.solowiej@up.lublin.pl

Wprowadzenie

Rozwój asortymentu serów topionych następuje w kilku kierunkach. Obejmują one proces technologiczny i nowe receptury, a także modyfikację opakowań pod względem ich funkcjonalności (wyższej klasy materiały opakowaniowe, opcje zamykania i otwierania), jak i atrakcyjności (szata graficzna, rozwój marek) [15]. Sery topione plasują się na trzecim miejscu pod względem wielkości sprzedaży (po serach podpuszczkowych i twarogowych) na rynku serów w Polsce [8]. Mimo zalet serów topionych obserwuje się rozwój rynku analogów serowych [1], w których głównymi źródłami białka są: kazeiniany, kazeina (podpuszczkowa lub kwasowa) oraz preparaty białek serwatkowych [10, 17, 25, 26]. Parametry produktu końcowego muszą się charakteryzować akceptowalną jakością sensoryczną, która zależy od użytych składników i ich proporcji oraz technologii produkcyjnej. Niezwykle istotny jest dodatek stabilizatorów zapobiegających rozdzieleniu się emulsji na fazy [1].

Hydrokoloidy, tj. mączka chleba świętojańskiego, guma guar, pektyna czy guma ksantanowa są często dodawane do produktów mleczarskich w celu stabilizacji ich struktury oraz poprawy tekstury [23], jak również ograniczenia zjawiska synerezy, np. w jogurtach (mączka chleba świętojańskiego) [19]. W przypadku jogurtów dodawanie stabilizatorów ma również uzasadnienie zdrowotne: zmniejszenie kaloryczności jogurtu dzięki wyeliminowaniu części tłuszczu, a także ekonomiczne, gdyż pozwala zmniejszyć zużycie odtłuszczonego proszku mlecznego [11]. Stosowanie tych dodatków poprawia jakość i trwałość produktów, zmniejsza koszty produkcji, ułatwia przygotowanie potraw oraz urozmaica dietę. Dodatek hydrokoloidów w układach wodnych powoduje zwiększenie lepkości roztworu, a przy większej koncentracji zretencjonowanie wody i utworzenie żelu [28]. W celu udoskonalenia struktury i smarowności serów topionych wykorzystuje się różne hydrokoloidy stabilizujące strukturę i konsystencję [31]. Mączka chleba świętojańskiego nazywana również gumą karobową należy do galaktomannanów. Jest ekstraktem z nasion drzewa świętojańskiego (*Ceratonia siliqua*), pochodzącego głównie z regionu śródziemnomorskiego [4]. Guma ta jest stosowana w przemyśle spożywczym jako zagęstnik, jak również do kształtowania lepkości, regulowania zawartości wody i konsystencji [9]. Mączka chleba świętojańskiego ma także właściwości bioadhezyjne i poprawia rozpuszczalność [7, 20].

Celem niniejszej pracy było otrzymanie w skali laboratoryjnej analogów serów topionych z kazeiny kwasowej z dodatkiem mączki chleba świętojańskiego oraz analiza ich tekstury i topliwości.

Material i metody badań

Do badań użyto kazeiny kwasowej (KK) (85,68 %) (Polsero Sp. z o.o., Sokółów Podlaski), bezwodnego tłuszczu mlecznego (BTM) (SM Mlekovita, Wysokie Mazo-

wieckie), mączki chleba świętojańskiego (MCŚ) (SIGMA Chemical, St. Louis, USA), bezwodnego kwaśnego fosforanu dwusodowego (topnik), kwasu cytrynowego i wodorotlenku sodu (P.P.H. POCH, Gliwice).

Zawartość białka w preparacie kazeiny kwasowej oznaczano metodą Kjeldahla [2].

Mączkę chleba świętojańskiego w ilości: 0,05, 0,1, 0,2 lub 0,3 % mieszano z wodą destylowaną przy użyciu mieszadła magnetycznego (MR 3002S Heidolph, Niemcy). Następnie dodawano roztopiony w temp. 45 °C bezwodny tłuszcz mleczny w ilości 30 % i kazeinę kwasową w ilości odpowiadającej 11, 12 lub 13 %. Całą mieszaninę umieszczano w pojemniku homogenizatora (H 500, Pol-Eko Aparatura, Wodzisław Śląski). Mieszano przez 2 min przy 10000 obr./min. Następnie dodawano roztwór bezwodnego kwaśnego fosforanu dwusodowego jako topnika w ilości 2 %, ustalano pH na poziomie 6,2 za pomocą kwasu cytrynowego lub wodorotlenku sodu przy użyciu pH-metru (CP-315, Elmetron, Zabrze) i zanurzano w łaźni wodnej o temp. 80 °C. Całość homogenizowano przez 10 min przy 10000 obr./min. Gotowe analogi sera topionego wylewano do zlewek o pojemności 50 ml w ilości 40 ml oraz na płytki Petriego na wysokość 4,8 mm. Produkt przechowywano w temperaturze 20 ± 2 °C przez 30 min celem ostygnięcia, a następnie magazynowano przez 24 h w temp. 5 °C. Po tym czasie próbki wyjmowano z chłodziarki na 1 h przed pomiarem, celem doprowadzenia analogu sera topionego do temp. 20 °C. Z uwagi na konsystencję próbek pomiarów tekstury dokonywano w zlewkach.

W analogiczny sposób otrzymywano próbki wzorcowe z samej kazeiny kwasowej o stężeniu 11, 12 i 13 %.

Pomiarów przebijania (*puncture test*) dokonywano za pomocą teksturometru TA-XT2i (Stable Micro Systems, Surrey, Wielka Brytania). Otrzymane próbki (kształt cylindryczny, wymiary 40 × 40 mm) badano za pomocą próbnika cylindrycznego o \varnothing 10 mm, przy prędkości przesuwu głowicy 1 mm/s (okres przerw pomiędzy ruchami próbnika: 5 s), w temp. 20 °C. Uzyskane wyniki (z 3 pomiarów dla każdego z 3 powtórzeń) rejestrowano komputerowo z wykorzystaniem programu Texture Expert version 1.22. W punktowym badaniu tekstury określano siłę potrzebną do zagłębienia się próbnika na 20 mm w próbkę analogu sera.

Profilową analizę tekstury (TPA) wykonywano za pomocą teksturometru TA-XT2i (Stable Micro Systems, Surrey, Wielka Brytania). Otrzymane próbki (kształt cylindryczny, wymiary 40 × 40 mm) badano za pomocą próbnika cylindrycznego o \varnothing 15 mm, przy prędkości przesuwu głowicy 1 mm/s (stopień zanurzenia próbnika; 20 mm, okres przerw pomiędzy ruchami próbnika: 5 s), w temp. 20 °C. Uzyskane wyniki (z 6 pomiarów dla każdego z 3 powtórzeń) rejestrowano komputerowo w programie Texture Expert version 1.22. W profilowej analizie tekstury (TPA) określano przylegalność, spójność i sprężystość analogów serów topionych.

Lepkość analogów serów topionych mierzono za pomocą reometru rotacyjnego Brookfield DV II+ (Stoughton, MA, USA) przy użyciu przystawki Helipath (F). Podczas pomiaru wrzeczono było zanurzane w badanej próbce. Próbkę analogu sera badano w stałej temp. 20 °C, przy stałej prędkości wrzeciona $V = 0,5$ obr./min. Wyniki (z 3 pomiarów dla każdego z 3 powtórzeń) rejestrowano komputerowo w programie Win Gather V 1,0.

Topliwość analizowano zmodyfikowanym testem Schreibera. Metoda polega na roztopieniu próbki analogu sera topionego w postaci krążka o średnicy 41 mm i wysokości 4,8 mm na płytce Petriego, w kuchence mikrofalowej o mocy 300 W, w ciągu 30 s. Roztopioną próbkę przykładano do wzorca, zliczano punkty w 6 miejscach (A-F) oznaczonych na teście Schreibera, sumowano je i po podzieleniu przez 6 otrzymywano średnią topliwość [17]. Wykonywano 3 pomiary dla każdego z 3 powtórzeń. Zakres skali testu Schreibera wynosi od 0 do 10 jednostek, przy czym powyżej 4 to dobra topliwość, natomiast poniżej 4 to topliwość nieodpowiednia.

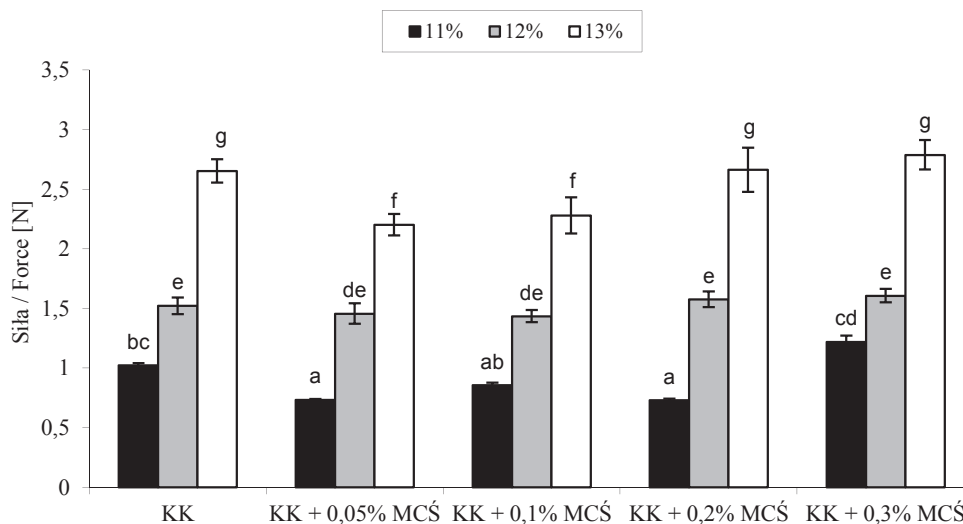
Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej przy użyciu programu Statistica 7.0 (StatSoft Polska Sp z o. o., Kraków). W celu określenia wpływu stężenia mączki chleba świętojańskiego oraz kazeiny kwasowej na właściwości tekstury i topliwość analogów serów topionych zastosowano dwuczynnikową analizę wariancji (ANOVA), wykorzystując test post-hoc Tukeya na poziomie istotności $p < 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Pierwszy etap badań miał na celu określenie właściwości tekstury analogów serów topionych za pomocą testu przebijania (*puncture test*), w którym określano twardość badanych próbek oraz analizy profilowej tekstury (TPA), za pomocą której określano przylegalność, spójność i sprężystość analogów serów topionych.

Na rys. 1. przedstawiono wpływ stężenia kazeiny kwasowej (KK) i mączki chleba świętojańskiego (MCS) na twardość analogów serów topionych. W przypadku badanych analogów wraz ze zwiększającą się zawartością kazeiny zwiększała się ich twardość. Dodatek mączki chleba świętojańskiego do analogów serowych w ilości 0,05 i 0,1 % oraz 0,2 % powodował zmniejszenie twardości badanych próbek na bazie 13- i 11-procentowej kazeiny kwasowej w porównaniu z próbkami kontrolnymi o tym samym stężeniu, natomiast większe stężenie MCS w produkcie spowodowało zwiększenie twardości analogów do wartości początkowych. W przypadku zastosowania 12-procentowej kazeiny kwasowej dodatek mączki chleba świętojańskiego nie wpłynął istotnie na twardość badanych próbek. Największą twardością charakteryzowały się analogi serów topionych otrzymane z 13 % KK + 0,3 % MCS (2,79 N), 13 % KK + 0,2 % MCS (2,66 N) oraz 13 % KK (2,65 N), natomiast najmniejszą – analogi otrzymane z 11 % KK + 0,05 % MCS, 11 % KK + 0,2 % MCS oraz 11 % KK + 0,1 %

MCŚ. Oznacza to, że do ich przebicia potrzebna była siła [N] odpowiednio: 0,73, 0,74 i 0,86.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

a ÷ g – różnice pomiędzy wartościami średnimi oznaczonymi różnymi literami są statystycznie istotne ($p < 0,05$) / differences among mean values denoted by different letters are statistically significant ($p < 0.05$).

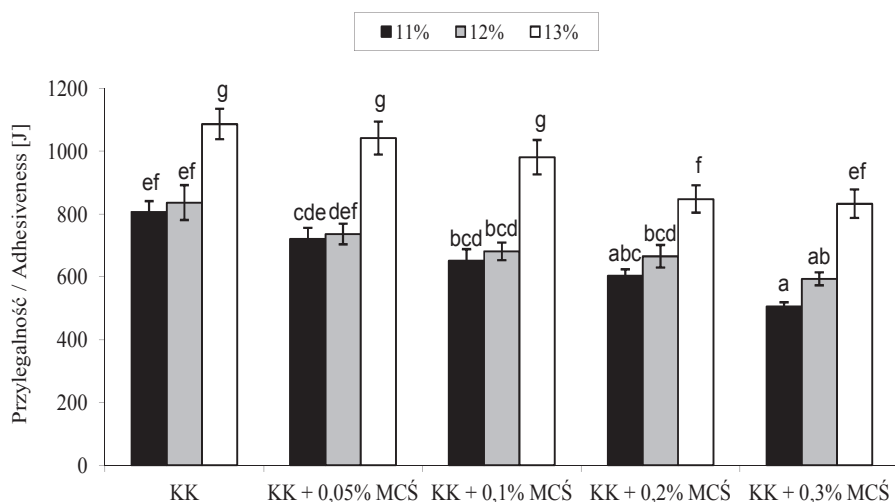
Rys. 1. Wpływ stężenia kazeiny i mączki chleba świętojańskiego na twardość analogów serów topionych.

Fig. 1. Effect of concentration of casein and locust bean gum on hardness of processed cheese analogues.

W pracy własnej [24] dotyczącej wpływu κ -karagenu na właściwości fizykochemiczne analogów serów topionych stwierdzono, że dodatek κ -karagenu w ilości 0,2 i 0,3 % powodował zwiększenie twardości badanych próbek na bazie 12- i 13-procentowej kazeiny kwasowej w porównaniu z próbkami kontrolnymi o tym samym stężeniu. Hanakova i wsp. [12], po zbadaniu wpływu wybranych hydrokoloidów na właściwości reologiczne analogów serów topionych otrzymanych na bazie kazeiny podpuszczkowej i różnych tłuszczów roślinnych (kokosowego i palmowego), obserwowali, że 1-procentowy dodatek mączki chleba świętojańskiego spowodował zwiększenie twardości badanych próbek w stosunku do próbek kontrolnych sporządzonych bez dodatku tego hydrokoloidu. Jednak badane analogi z dodatkiem mączki chleba świętojańskiego charakteryzowały się, podobnie do próbek z gumą arabską, najmniejszą twardością spośród badanych analogów. Z kolei Lu i wsp. [16] analizowa-

li właściwości fizykochemiczne komercyjnych serów topionych i stwierdzili, że większą twardością charakteryzowały się próbki otrzymane z pełnego mleka i śmietanki bez dodatku hydrokoloidów niż próbki otrzymane z odtłuszczonego mleka i serwatki z dodatkiem mieszanki hydrokoloidów, tj. gumy ksantanowej, mączki chleba świętojańskiego i gumy guar.

Przylegalność (adhezyjność) jest cechą, która umożliwia plasterkowanie serów topionych. Im jest większa, tym ser bardziej przykleja się do noża [3]. Ponadto, w przypadku serów pakowanych, zwłaszcza topionych, przylegalność jest jednym z parametrów ograniczających ich spożycie, ponieważ konsumenci nie preferują produktów, od których trudno oddzieli się opakowanie [27].



Objaśnienia: / Explanatory notes:

a - g – różnice pomiędzy wartościami średnimi oznaczonymi różnymi literami są statystycznie istotne ($p < 0,05$) / differences among mean values denoted by different letters are statistically significant ($p < 0,05$).

Rys. 2. Wpływ stężenia kazeiny i mączki chleba świętojańskiego na przylegalność analogów serów topionych.

Fig. 2. Effect of concentration of casein and locust bean gum on adhesiveness of processed cheese analogues.

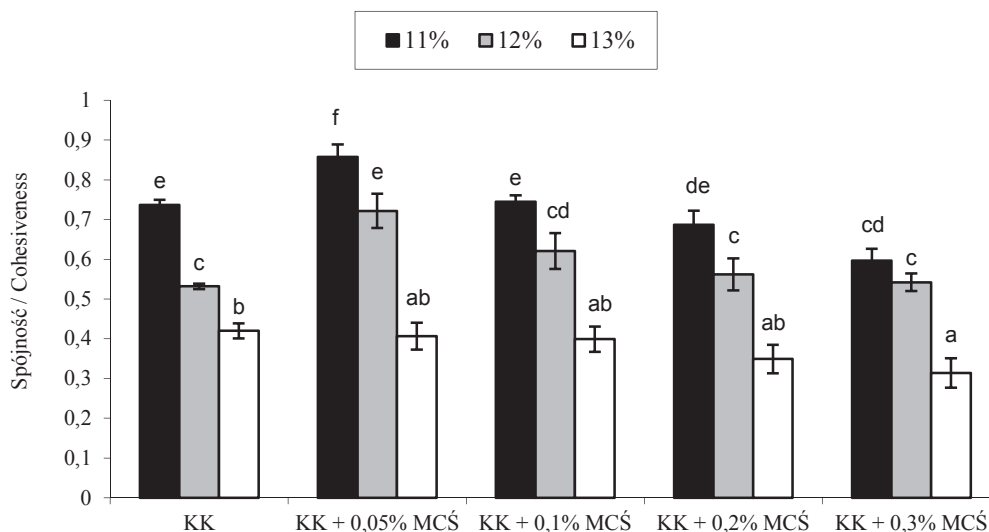
Wpływ stężenia kazeiny kwasowej (KK) i mączki chleba świętojańskiego (MCŚ) na przylegalność analogów serów topionych przedstawiono na rys. 2. W przypadku badanych analogów wraz ze zwiększaniem zawartości kazeiny zwiększała się ich przylegalność. Dodatek mączki chleba świętojańskiego spowodował jednak zmniejszenie

przylegalności analogów w porównaniu z próbkami kontrolnymi. Największą przylegalnością cechowały się analogi serów topionych otrzymane z 13-procentowej KK (1086,2 J), następnie – 13 % KK + 0,05 % MCS (1041,5 J), 13 % KK + 0,1 % MCS (980,5 J), natomiast najmniejszą – analogi 11 % KK + 0,3 % MCS (505,7 J).

Interakcje białko – hydrokolid mają charakter głównie elektrostatyczny. Występują pomiędzy grupami anionowymi hydrokoloidu i dodatnio naładowanymi grupami białka, które są zależne od stężenia i rodzaju użytego hydrokoloidu [30]. W badaniach własnych [24] stwierdzono również, że dodatek κ -karagenu spowodował zmniejszenie przylegalności analogów serów topionych w porównaniu z próbkami kontrolnymi otrzymanymi z samej kazeiny kwasowej. Natomiast Montero i wsp. [18] badali żele białkowe z dodatkiem różnych hydrokoloidów i stwierdzili, że 1-procentowy dodatek mączki chleba świętojańskiego nie wpłynął w istotny sposób na ich przylegalność.

Na rys. 3. przedstawiono wpływ stężenia kazeiny kwasowej (KK) i mączki chleba świętojańskiego (MCS) na spójność analogów serów topionych. Dodatek mączki chleba świętojańskiego w ilości 0,05 % spowodował zwiększenie spójności badanych próbek w porównaniu z próbkami kontrolnymi jedynie w przypadku analogów serów topionych na bazie 11- i 12-procentowej kazeiny kwasowej. Większe stężenie mączki chleba świętojańskiego (0,1 i 0,2 %) pozwoliło otrzymać analogi o spójności bardzo podobnej do spójności próbek kontrolnych, natomiast 0,3-procentowe stężenie MCS spowodowało zmniejszenie spójności próbek otrzymanych na bazie 11- i 13-procentowej kazeiny kwasowej w stosunku do analogów wzorcowych. Największą spójnością charakteryzowały się analogi serów topionych otrzymane z 11 % KK + 0,05 % MCS (0,86), natomiast najmniejszą – analogi otrzymane z 13 % KK + 0,3 % MCS (0,31).

Kiziloz i wsp. [14], w badaniach dotyczących wpływu skrobi kukurydzianej oraz κ -karagenu (0,5 ÷ 3 %) na strukturę niskobiałkowych analogów serowych na bazie kazeiny podpuszczkowej stwierdzili, że dodatek κ -karagenu wpłynął na zwiększenie spójności produktu końcowego. Sanchez i wsp. [22] stwierdzili, że dodatki mączki chleba świętojańskiego oraz gumy ksantanowej do jogurtu spowodowały zmiany w strukturze sieci żelu kazeinowego. Struktura ta była bardziej zwarta, a wielkość porów uległa redukcji. Większa spójność produktu końcowego chroni jego strukturę przed zbyt łatwym rozpadnięciem się. Jest to związane z wytrzymałością wiązań wewnętrznych w strukturze sera [14]. Twarde analogi serowe są zazwyczaj bardziej przylegalne oraz mniej spójne, co potwierdzają niniejsze badania.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

a - f – różnice pomiędzy wartościami średnimi oznaczonymi różnymi literami są statystycznie istotne ($p < 0,05$) / differences among mean values denoted by different letters are statistically significant ($p < 0.05$).

Rys. 3. Wpływ stężenia kazeiny i mączki chleba świętojańskiego na spójność analogów serów topionych.

Fig. 3. Effect of concentration of casein and locust bean gum on cohesiveness of processed cheese analogues.

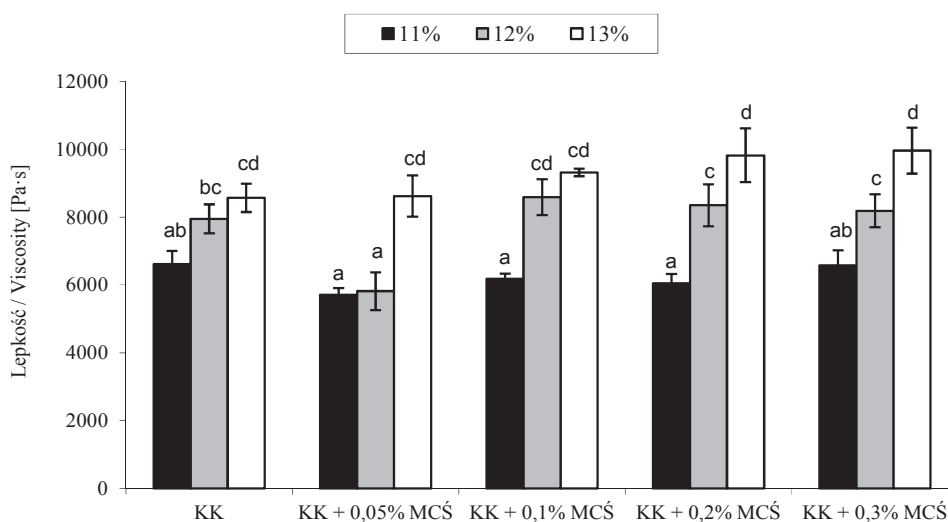
W przypadku sprężystości wszystkie badane analogi osiągnęły bardzo podobne wartości ($0,94 \div 0,99$), co świadczyło o bardzo wysokiej sprężystości próbek (dane niezamieszczone). Podobne wnioski uzyskano w pracy własnej [24], gdzie stwierdzono, że sprężystość nie zależała od stężenia kazeiny kwasowej oraz κ -karagenu i była cechą niezależną od innych właściwości tekstury.

Drugi etap badań miał na celu określenie lepkości i topliwości analogów serów topionych za pomocą reometrii rotacyjnej oraz zmodyfikowanego testu Schreibera.

Lepkość jest jednym z czynników, który wpływa na właściwości funkcjonalne serów topionych i ich analogów. Ponadto, analiza lepkości również pozwala scharakteryzować topliwość produktu końcowego [7]. Na rys. 4. przedstawiono wpływ stężenia kazeiny kwasowej (KK) i mączki chleba świętojańskiego (MČŚ) na lepkość analogów serów topionych. W przypadku badanych analogów wraz ze zwiększającą się zawartością kazeiny zwiększała się ich lepkość. Dodatek mączki chleba świętojańskiego nie wpłynął istotnie na lepkość badanych próbek. Jedynie w przypadku analogów

z 12-procentowej kazeiny kwasowej, 0,05-procentowy dodatek MCS spowodował zmniejszenie ich lepkości w porównaniu z próbkami kontrolnymi (5813,33 Pa·s).

We wcześniejszych badaniach [24] stwierdzono, że dodatek κ -karagenu powodował zwiększenie lepkości analogów serów topionych na bazie 11- i 12-procentowej kazeiny kwasowej, natomiast zmniejszenie lepkości w przypadku 13-procentowej kazeiny kwasowej, w porównaniu z próbkami wzorcowymi (KK) [24]. Pluta i wsp. [21], w badaniach dotyczących wpływu hydrokoloidów na otrzymywanie serów topionych dowiedli, że zastosowanie większego dodatku mączki chleba świętojańskiego (0,5 ÷ 0,8 %) spowodowało znaczne zwiększenie lepkości w porównaniu z próbkami kontrolnymi sporządzonymi bez dodatku tego hydrokoloidu. Z kolei Kailasapathy [13] stwierdził, że mniejsza zawartość białka wpływa na zmniejszenie lepkości produktu końcowego, co znajduje potwierdzenie w niniejszej pracy. Damodaran i Paraf [5] tłumaczą tę zależność zmniejszeniem liczby interakcji pomiędzy peptydami.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

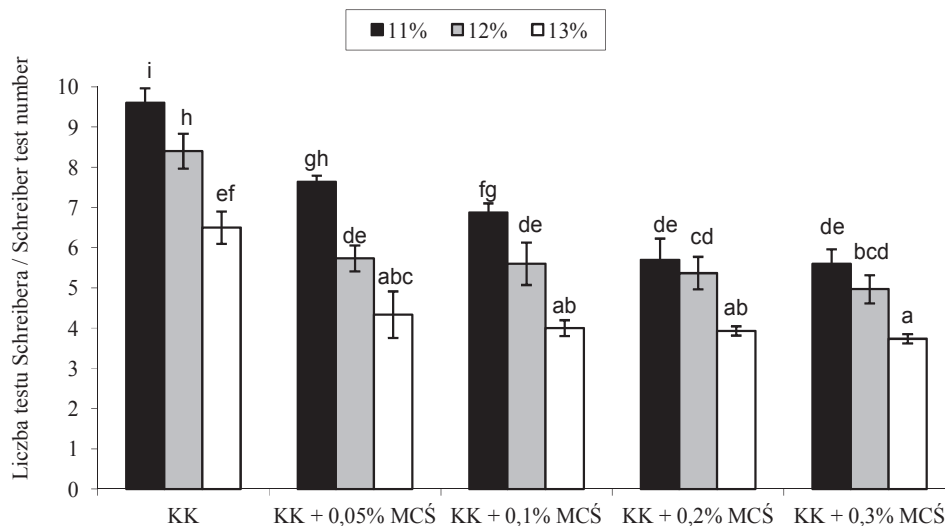
a – d – różnice pomiędzy wartościami średnimi oznaczonymi różnymi literami są statystycznie istotne ($p < 0,05$) / differences among mean values denoted by different letters are statistically significant ($p < 0,05$).

Rys. 4. Wpływ stężenia kazeiny i mączki chleba świętojańskiego na lepkość analogów serów topionych.

Fig. 4. Effect of concentration of casein and locust bean gum on viscosity of processed cheese analogues.

Wpływ stężenia kazeiny kwasowej (KK) i mączki chleba świętojańskiego (MCS) na topliwość analogów serów topionych przedstawiono na rys. 5. W przypadku bada-

nych analogów wraz ze zwiększaniem się zawartości kazeiny zmniejszała się ich topliwość. Dodatek mączki chleba świętojańskiego w ilości 0,05 % (również 0,2 % MCŚ w przypadku 11 % KK) spowodował zmniejszenie topliwości wszystkich analogów w porównaniu z próbkami kontrolnymi, jednak zwiększenie jej stężenia w gotowym produkcie nie powodowało dalszego zmniejszenia ich topliwości. Pomimo tej tendencji wszystkie badane próbki cechowały się akceptowaną topliwością (liczba testu Schreibera > 4). Największą topliwością charakteryzowały się analogi serów topionych otrzymane z 11-procentowej KK (9,6), natomiast najmniejszą – analogi otrzymane z 13 % KK + 0,05-0,3 % MCŚ.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

a - i – różnice pomiędzy wartościami średnimi oznaczonymi różnymi literami są statystycznie istotne ($p < 0,05$) / differences among mean values denoted by different letters are statistically significant ($p < 0,05$).

Rys. 5. Wpływ stężenia kazeiny i mączki chleba świętojańskiego na topliwość analogów serów topionych.

Fig. 5. Effect of concentration of casein and locust bean gum on meltability of processed cheese analogues.

Podobne wyniki otrzymano w pracy własnej [24] dotyczącej wpływu κ -karagenu na właściwości fizykochemiczne analogów serów topionych, jednak tę tendencję stwierdzono przy większej zawartości karagenu w końcowym produkcie. Kiziloz i wsp. [14], badając wpływ skrobi kukurydzianej oraz κ -karagenu na strukturę nisko-białkowych analogów serowych na bazie kazeiny podpuszczkowej stwierdzili, że do-

datek karagenu w ilości 0,5 ÷ 3 % spowodował znaczne zmniejszenie się ich topliwości. Wymienieni autorzy zauważyli, że większe stężenie hydrokoloidu prawdopodobnie wpłynęło na wzmocnienie wiązań w sieci utworzonej przez kazeinę podpuszczkową i skrobię, a w konsekwencji zmniejszyło topliwość analogów serowych. Potwierdzają to również badania Swensona i wsp. [29], którzy badali wpływ różnych hydrokoloidów, w tym mączki chleba świętojańskiego, na właściwości funkcjonalne beztłuszczowych serów topionych. Badacze stwierdzili, że 2-procentowy dodatek wymienionego hydrokoloidu znacznie zmniejszył topliwość końcowego produktu.

Wnioski

1. Zastosowanie mączki chleba świętojańskiego miało zróżnicowany wpływ na właściwości fizykochemiczne analogów serów topionych otrzymanych na bazie kazeiny kwasowej i tłuszczu mlecznego.
2. Wraz ze zwiększaniem zawartości kazeiny w analogach serów topionych zwiększała się ich twardość, przylegalność i lepkość, natomiast zmniejszeniu uległa ich spójność oraz topliwość.
3. Zastosowanie mączki chleba świętojańskiego w ilości 0,05 % wpłynęło na zmniejszenie twardości, a zarazem zwiększenie spójności analogów serów topionych otrzymanych z 11-procentowej kazeiny kwasowej. Natomiast przylegalność wszystkich badanych analogów zmniejszała się wraz ze zwiększaniem zawartości hydrokoloidu w produkcie.
4. Sprężystość analogów serowych nie zależała od zawartości kazeiny kwasowej oraz mączki chleba świętojańskiego i była cechą niezależną od innych właściwości tekstury. Z kolei lepkość nie zależała jedynie od zawartości hydrokoloidu w produkcie (z wyjątkiem analogu 12 % KK + 0,05 % MCS).
5. Dodatek mączki chleba świętojańskiego w ilości 0,05 % spowodował istotne ($p < 0,05$) zmniejszenie topliwości wszystkich analogów w porównaniu z próbkami kontrolnymi, jednak wszystkie badane analogi serowe cechowały się dobrą topliwością.

Literatura

- [1] Aljewicz M., Kowalska M., Cichosz G.: Wartość odżywcza i biologiczna wyrobów seropodobnych oraz analogów sera. *Przegl. Mlecz.*, 2010, **12**, 4-10.
- [2] Association of Official Analytical Chemists (AOAC). *Official Methods of Analysis* (16th Ed.). Gaithersburg, Maryland, 1997.
- [3] Awad S., Hassan A., Mistry V.: Impact of exopolysaccharide-containing base Cheddar cheese on reduced fat process cheese. *Milchwissenschaft*, 2010, **65** (2), 173-176.
- [4] Cheng H.: Xanthan gum and locust bean gum in confectionery use. United States Patent 4,219,582.
- [5] Damodaran S.: Food proteins: an overview. In: *Food proteins and their applications*. Eds. S. Damodaran i A. Paraf. Marcel Dekker Inc., New York 1997, pp. 1-24.


- [6] Deshmukh V.N., Jadhav J.K., Sakarkar D.M.: Formulation and *in vitro* evaluation of theophylline anhydrous bioadhesive tablets. *Asian J. Pharm.*, 2009, **3** (1), 54-58.
- [7] Dimitreli G., Thomareis A.S.: Effect of temperature and chemical composition on processed cheese apparent viscosity. *J. Food Eng.*, 2004, **64**, 265-271.
- [8] Garczewska-Murzyn A., Lorkiewicz B.: Sery topione w Polsce. *Przeł. Mlecz.*, 2011, **55** (7), 22-24.
- [9] Glibowski P., Bochyńska R.: Wpływ inuliny na właściwości reologiczne roztworów białek serwatkowych. *Acta Agroph.*, 2006, **8** (2), 337-345.
- [10] Gustaw W., Sołowiej B., Jabłońska-Ryś E., Zalewska-Korona M.: Wybrane właściwości reologiczne wodnych dyspersji kazeinowo-polisacharydowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, **2** (87), 92-105.
- [11] Gustaw W., Nastaj M., Sołowiej B.: Wpływ wybranych hydrokoloidów na właściwości reologiczne jogurtu stałego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **5** (54), 274-282.
- [12] Hanakova Z., Bunka F., Pavlinek V., Hudeckova L., Janis R.: The effect of selected hydrocolloids on the rheological properties of processed cheese analogues made with vegetable fats during the cooling phase. *Int. J. Dairy Technol.*, 2013, **66** (4), 484-489.
- [13] Kailasapathy K.: Chemical composition, physical and functional properties of milk and milk ingredients. In: *Dairy processing & quality assurance*. Eds. R.C. Chandan. John Wiley & Sons Inc., Ames 2008, pp. 75-103.
- [14] Kiziloz M.B., Cumhur O., Kilic M.: Development of the structure of an imitation cheese with low protein content. *Food Hydrocoll.*, 2009, **23**, 1596-1601.
- [15] Lesińska A.: Na każdą półkę cenową. *Forum Mleczarskie Handel*, 2008, **3**, 40.
- [16] Lu Y., Shirashoji N., Lucey J.A.: Rheological, textural and melting properties of commercial samples of the different types of pasteurized processed cheese. *Int. J. Dairy Technol.*, 2007, **60** (2), 74-80.
- [17] Mleko S., Foegeding E.A.: Incorporation of polymerized whey proteins into processed cheese analogs. *Milchwissenschaft*, 2001, **56**, 612-615.
- [18] Montero M., Hurtado P., Peres-Mateos M.: Microstructural behaviour and gelling characteristics of myosin protein gels interacting with hydrocolloids. *Food Hydrocoll.*, 2000, **14**, 455-461.
- [19] Nastaj M., Gustaw W.: Wpływ wybranych prebiotyków na właściwości reologiczne jogurtu stałego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **5** (60), 217-225.
- [20] Patel M., Tekade A., Gattani S., Surana S.: Solubility enhancement of lovastatin by modified locust bean gum using solid dispersion techniques. *AAPS Pharm. Sci. Technol.*, 2008, **9** (4), 1262-1269.
- [21] Pluta A., Ziarno M., Smolińska A.: Możliwości zastosowania hydrokoloidów w produkcji serów topionych. *Przem. Spoż.*, 2000, **5**, 42-44.
- [22] Sanchez C., Zuniga-Lopez R., Schmitt C., Despond S., Hardy J.: Microstructure of acid-induced skim milk-locust bean gum-xanthan gels. *Int. Dairy J.*, 2000, **10**, 199-212.
- [23] Simeone M., Alfani A., Guido S.: Phase diagram, rheology and interfacial tension of aqueous mixtures of Na-caseinate and Na-alginate. *Food Hydrocoll.*, 2004, **18**, 463-470.
- [24] Sołowiej B.: Wpływ κ -karagenu na właściwości fizykochemiczne analogów serów topionych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **2** (81), 107-118.
- [25] Sołowiej B.: Ocena właściwości reologicznych analogów serów topionych o zmniejszonej zawartości tłuszczu. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **1** (80), 60-71.
- [26] Sołowiej B.: Wpływ procesu homogenizacji na właściwości tekstury i topliwość analogów serów topionych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, **6** (67), 16-26.
- [27] Sołowiej B., Gustaw W., Nastaj M.: Wpływ dodatku koncentratów białek serwatkowych na właściwości reologiczne analogów serów topionych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **5** (60), 226-234.

- [28] Sołowiej B., Gustaw W., Mleko S., Andruszczak S.: Właściwości reologiczne gumy ksantanowej i różnych rodzajów skrobi. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **3 (40)** Supl., 184-195.
- [29] Swenson B.J., Wendorff W.L., Lindsay R.C.: Effects of ingredients on the functionality of fat-free process cheese spreads. *J. Food Sci.*, 2000, **65**, 822-825.
- [30] Tolstoguzov V.B.: Functional properties of protein-polysaccharide mixtures. In: *Functional properties of food macromolecules*. Eds. J.R. Mitchell, D.A. Ledward. Elsevier Applied Science, London 1986, pp. 385-415.
- [31] Ziarno M., Zaręba D.: Substancje dodatkowe stosowane w serowarstwie. *Przem. Spoż.*, 2007, **61 (10)**, 34-38.

EVALUATION OF PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF PROCESSED CHEESE ANALOGUES WITH LOCUST BEAN GUM ADDED

Summary

The objective of the research study was to produce, on a laboratory scale, processed cheese analogues from acid casein with a locust bean gum added and to analyse their texture and meltability. The hardness of processed cheese analogues produced was measured using a TA-XT2i Texture Analyser and a 10 mm diameter cylindrical sampler. A puncture test was used to determine the force necessary for the sampler to be drilled into a cheese sample to a depth of 20 mm. The texture of the processed cheese analogues was analyzed using a TA-XT2i Texture Analyser and a 15 mm diameter cylindrical sampler. A texture profile analysis (TPA) was applied to determine the following: adhesiveness, cohesiveness, and springiness of cheese analogues. The viscosity of processed cheese analogues was measured using a Brookfield DV II+ rotational viscometer with a Helipath Stand (F). The meltability of processed cheese analogues was analyzed using a modified Schreiber test. The addition of locust bean gum had varying effects on the physicochemical properties of processed cheese analogues produced on the basis of acid casein and milk fat. Along with the increase in the casein content in processed cheese analogues, their hardness, adhesiveness, and viscosity increased; however, their cohesiveness and meltability decreased. The application of 0.05 % locust bean gum caused the hardness to decrease, and, at the same time, the cohesiveness of processed cheese analogues produced from 11 % acid casein to increase. On the other hand, the adhesiveness of all the analogues tested decreased with the increasing content of hydrocolloid in the product. The springiness of cheese analogues did not depend on the content of acid casein and locust bean gum and was a characteristic independent of other textural properties. Then, the viscosity did not depend solely on the content of hydrocolloid in the product (except for 12 % KK + 0.05 % MCS analogue). The locust bean gum added in an amount of 0.05 % resulted in a significant reduction in meltability of all the analogues compared to the control samples; however, all the tested cheese analogues were characterized by good meltability.

Key words: processed cheese analogue, acid casein, locust bean gum, texture, meltability 

EWA IWAŃSKA, BOŻENA GRZEŚ, EDWARD POSPIECH,
BEATA MIKOŁAJCZAK, ANITA SPYCHAJ

ZMIANY UDZIAŁU BIAŁEK W WYCIEKU WIRÓWKOWYM Z MIĘSA BUHAJKÓW RÓŻNYCH RAS I W RÓŻNYM WIEKU, W CZASIE DOJRZEWANIA WOŁOWINY

Streszczenie

Celem pracy było określenie zmian udziału białek w wycieku wirówkowym pozyskanym z mięsa buhajków czterech ras: polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej (PHF) odmiany czarno-białej, polskiej czerwonej (PC), Limousine (L) i Hereford (H) ubijanych w wieku 6, 9 i 12 miesięcy, w ciągu 10-dniowego chłodniczego dojrzewania mięsa. Elektroforetyczną analizę białek wycieku wirówkowego pozyskanego z tkanki mięśniowej 45 min, 48, 96 i 240 h *post mortem* wykonywano techniką SDS-PAGE. Obecność titiny, desminy i troponiny T w wycieku wirówkowym potwierdzono metodą Western blotting z zastosowaniem monoklonalnych przeciwciał specyficznym rozpoznających określone białka. Stwierdzono, że czas dojrzewania był najważniejszym czynnikiem wpływającym na proteolizę białek mięsa. Największe zmiany w udziale białek o dużej masie cząsteczkowej (2400 ÷ 3700 kDa i >160 kDa) zaobserwowano po 10 dniach dojrzewania mięsa. W przypadku białek o mniejszej masie cząsteczkowej (160 kDa i 90 ÷ 95 kDa) zmiany te wystąpiły już w pierwszych dwóch dniach *post mortem*. Wszystkie analizowane czynniki zmienności, tj. rasa bydła, wiek buhajków i czas dojrzewania mięsa wpłynęły istotnie ($p \leq 0,05$) tylko na udział białek o masie cząsteczkowej 90 ÷ 95 kDa. Najbardziej zaawansowany proces proteolizy białek wielkocząsteczkowych obserwowano w wycieku wirówkowym z mięsa buhajków rasy PHF.

Słowa kluczowe: buhajki, rasa bydła, czas dojrzewania, białka, wyciek wirówkowy, proteoliza

Wprowadzenie

Kruchość jest jednym z podstawowych wyznaczników jakości kulinarnej wołowiny. Najważniejszą funkcję w procesie tenderyzacji, czyli poprawy kruchości mięsa pełni białka miofibrylarne tkanki mięśniowej [7, 9, 10, 23]. Stopień ich przemian zależy od rasy, genotypu i płci bydła [3, 16, 26], umięśnienia [21], wieku [9, 10],

Dr inż. E. Iwańska, dr inż. B. Grześ, prof. dr hab. E. Pospiech, dr inż. B. Mikołajczak, dr inż. A. Spychaj, Instytut Technologii Mięsa, Wydz. Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 Poznań. Kontakt: eiwanska@up.poznan.pl

a także czasu chłodniczego przechowywania mięsa [3, 9, 10, 22, 30]. Poprawa kruchości mięsa w czasie dojrzewania związana jest z degradacją białek mięśniowych, które są odpowiedzialne za integrację jego mikrostruktury [2, 7, 11, 15]. Proteoliza wielko-cząsteczkowych białek miofibrylarnych jest zapoczątkowana głównie przez enzymy tkankowe, z których za najważniejsze uznaje się μ -kalpainy [7, 12, 13, 15, 19]. W wyniku ich aktywności otrzymuje się surowiec o pożądanej kruchości. W procesie dojrzewania mięsa istotna jest degradacja takich białek cytoszkieletowych, jak titina, nebulina, czy desmina [7, 10, 15, 23, 25]. W analizie białek mięsa coraz więcej uwagi poświęca się białkom występującym w wycieku wirówkowym z mięsa [6, 10, 14]. Obecność w nim białek strukturalnych, tj. białek miofibryli i cytoszkieletu, może być traktowana jako marker zaawansowania procesu kruszenia (tenderyzacji) mięsa.

Celem podjętych badań było określenie zmian udziału białek w wycieku wirówkowym, pozyskanym z mięsa buhajków czterech ras: polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej (PHF) odmiany czarno-białej, polskiej czerwonej (PC), Limousine (L) i Hereford (H) ubijanych w wieku 6, 9 i 12 miesięcy, w ciągu 10-dniowego dojrzewania mięsa w warunkach chłodniczych.

Material i metody badań

Materiał doświadczalny stanowiła część piersiowa i lędźwiowa mięśnia *longissimus dorsi* (LD) pobranego łącznie z 60 prawych półtuszy buhajków czterech ras: polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej (PHF) odmiany czarno-białej, polskiej czerwonej (PC), Limousine (L) oraz Hereford (H). Żywienie zwierząt było dostosowane pod względem składników paszy i jej wartości energetycznej do wieku zwierząt, zapewniając ich prawidłowy rozwój. Buhajki poddawano ubojowi w trzech kategoriach wiekowych: 6 miesięcy – o masie $184,34 \pm 21,74$ kg, 9 miesięcy – o masie $267,50 \pm 40,22$ kg i 12 miesięcy – o masie $357,79 \pm 45,12$ kg (po 5 zwierząt w grupie). Uboju zwierząt dokonywano w standardowych warunkach w Zakładzie Doświadczalnym Instytutu Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN w Jastrzębcu. Do badań pobierano mięso normalnej jakości (RFN), które identyfikowano na podstawie pomiaru wartości pH 45 min i 24 h *post mortem* (pm). Średnia wartość pH tkanki mięśniowej wynosiła odpowiednio: 6,85 i 5,79.

Wyciek do analizy białek pozyskiwano w wyniku odwirowania ($25000 \times g$, 20 min, temp. $2^\circ C$) 6 g naważki mięśnia LD pobranego z tuszy 45 min pm, a następnie z kawałków mięsa (o masie 700 g) poddanych dojrzewaniu w warunkach chłodniczych (w temp. $3 \pm 1^\circ C$) przez 48, 96 i 240 h pm. Wycinek tkanki mięśniowej pozyskany z tuszy 45 min po uboju poddano rozdrobnieniu, a następnie odważone (w 2 powtórzeniach) naważki mięsa przechowywano w ciekłym azocie do czasu ich dostarczenia do laboratorium. Wyciek z mięsa 45 min po uboju uzyskiwano w wyniku odwirowania próbek częściowo rozmrożonych w temp. pokojowej (6 g) natychmiast po ich przeka-

zaniu do laboratorium. Otrzymany w ten sposób wyciek wirówkowy z mięsa (45 min *pm*) pod względem zawartych w nim białek stanowił próbę odniesienia dla wycieków pozyskanych z mięśni LD po różnym okresie ich chłodniczego dojrzewania (48, 96 i 240 h *pm*). Do dalszych badań przeznaczono mięśnie (LD) wycięte w całości z wychłodzonych prawych półtuszy wołowych (24 h *pm*) między siódmym kręgiem piersiowym a ostatnim lędźwiowym. Następnie dzielono je na trzy równe części, pakowano próżniowo w polietylenowe worki i przechowywano w chłodni w temperaturze $3 \pm 1^\circ\text{C}$. Wyciek do analizy białek w terminach: 48, 96 i 240 h po uboju otrzymano w wyniku odwirowania 6 g naważki tkanki mięśniowej (w 2 powtórzeniach), z zachowaniem takich samych parametrów wirowania ($25000 \times \text{g}$, 20 min, temp. 2°C), jakie zastosowano wobec prób mięsa pozyskanego 45 min *post mortem*.

Rozdział elektroforetyczny białek wycieku wirówkowego prowadzono w 15-procentowym żelu poliakrylamidowym w obecności sodowego siarczanu dodecylu (SDS-PAGE) i 8 M mocznika [24], z zastosowaniem aparatu typu SE 250, firmy Hoefer Scientific Instruments. Obraz elektroforetycznego rozdziału białek w żelu poliakrylamidowym skanowano za pomocą kamery video, która wchodziła w skład zestawu Image Master[®] VDS, firmy Pharmacia. Analizę ilościową rozdzielonych w żelu białek wycieku wirówkowego z mięsa prowadzono przy użyciu programu Image Master[™] 1D Elite version 4.00. Do obliczeń przyjęto założenie, że powierzchnia pojedynczego pasma białek stanowi procentowy udział w stosunku do powierzchni wszystkich rozdzielonych białek danej próby w żelu, która wynosi 100 %. Obecność titiny, desminy i troponiny T w wycieku wirówkowym z mięsa potwierdzano metodą Western blotting, zgodnie z metodą opisaną przez Fritza i Greasera [4]. Do reakcji pierwszorzędowej zastosowano monoklonalne przeciwciała anty-titiny (9D10), anty-troponiny T (9D) i anty-desminy (De-U-10). Dwa pierwsze pochodziły z Laboratorium Nauk o Mięsie i Biologii Mięśnia (ang. The Meat Science and Muscle Biology Laboratory) Uniwersytetu Wisconsin-Madison w Stanach Zjednoczonych, natomiast przeciwciało desminy zakupiono w firmie Sigma.

Uzyskane wyniki opracowano statystycznie, wykorzystując program Statistica 9.0 PL [27]. Zastosowano jedno- i trzyczynnikową analizę wariancji (ANOVA) z interakcjami, podając wartości średnie oraz odchylenia standardowe. Istotność różnic pomiędzy wartościami średnimi weryfikowano za pomocą testu Tukeya na poziomie istotności $p \leq 0,05$.

Wyniki i dyskusja

W wycieku wirówkowym z mięsa szczególną uwagę zwrócono na białka o następujących masach cząsteczkowych (m. cz.): $2400 \div 3700 \text{ kDa}$, $> 160 \text{ kDa}$, 160 kDa , $90 \div 95 \text{ kDa}$, $\leq 42 \text{ kDa}$, $36 \div 38 \text{ kDa}$. Analiza wariancji wykazała istotny (na poziomie $p \leq 0,001$) wpływ czasu dojrzewania mięsa na udział białek o m. cz. $2400 \div 3700 \text{ kDa}$,

> 160 kDa, 160 kDa, 90 ÷ 95 kDa i ≤ 42 kDa, jak również rasy bydła na udział białka o masie 90 ÷ 95 kDa (tab. 1). Ponadto, rasa badanych zwierząt istotnie wpłynęła na udział białek o m.cz. 2400 ÷ 3700 kDa ($p \leq 0,05$), > 160 kDa ($p \leq 0,05$) i 160 kDa ($p \leq 0,01$). Natomiast wiek buhajków istotnie oddziaływał na udział białek o masie 90 ÷ 95 kDa ($p \leq 0,05$) i 36 ÷ 38 kDa ($p \leq 0,01$). Interakcja zachodząca między wiekiem i rasą badanego bydła istotnie ($p \leq 0,01$) wpłynęła na udział białek o m.cz. 2400 ÷ 3700 kDa, natomiast między rasą bydła i czasem dojrzewania mięsa – na udział białek o m.cz. 90 ÷ 95 kDa (tab. 1).

Tabela 1. Średnie kwadraty odchyłeń z analizy wariancji dla procentowego udziału białek w wycieku wirówkowym z mięsa buhajków uwzględniające oddziaływania rasy, wieku i czasu dojrzewania oraz ich interakcji.

Table 1. Mean squares of deviations from the analysis of variance for the percentage content of proteins in centrifugal drip from meat of young bulls including impact of breed, age and ageing time, as well as interactions among them.

| Czynnik zmienności Factor of variance | Stopnie swobody Degrees of freedom | 2400÷3700 kDa | >160 kDa | 160 kDa | 90÷95 kDa | ≤42 kDa | 36÷38 kDa |
|--|---------------------------------------|------------------|-------------|------------|--------------|------------|--------------|
| Wiek / Age – A | 2 | 3,67 | 11,42 | 0,52 | 8,49* | 5,7 | 62,57** |
| Rasa / Breed – B | 3 | 7,13* | 44,51* | 16,00** | 27,64*** | 106,8 | 2,77 |
| Czas dojrzewania Time of ageing – C | 3 | 193,81*** | 355,99*** | 174,64*** | 239,10*** | 1433,9*** | 2,78 |
| Interakcje / Interactions | | | | | | | |
| A x B | 6 | 24,18** | 64,79* | 4,85 | 11,47* | 187,2 | 9,45 |
| A x C | 6 | 1,08 | 41,08 | 1,52 | 7,97 | 222,4 | 12,25 |
| B x C | 9 | 4,54 | 66,82 | 3,46 | 16,37** | 165,9 | 28,63 |

Objaśnienia/ Explanatory notes:

różnice między wartościami średnimi statystycznie istotne na poziomach: *** $p \leq 0,001$, ** $p \leq 0,01$, * $p \leq 0,05$ / statistically significant differences among mean values at *** $p \leq 0.001$, ** $p \leq 0.01$, * $p \leq 0.05$.

Pasmo o m. cz. 2400 ÷ 3700 kDa obejmowało titinę T1 (3700 kDa) i produkt jej degradacji T2 (2400 kDa). Zwrócono na nie szczególną uwagę, gdyż degradacja titiny wiąże się ze wzrostem kruchości mięsa [2, 4, 5, 8]. Analiza elektroforetyczna wykazała stopniowe zwiększanie się udziału tego białka w wycieku wirówkowym z mięsa podczas jego 10-dniowego chłodniczego przechowywania (tab. 2).

Udział titiny w wycieku wirówkowym pozyskanym z mięsa 45 min i 48 h *post mortem* był istotnie mniejszy ($p \leq 0,05$) w porównaniu z jego udziałem w wycieku w pozostałych terminach (tab. 2). Powyższe obserwacje wskazują na ściśle powiązanie degradacji i uwalniania titiny z cytoszkieletu miofibrili z czasem dojrzewania mięsa

[10]. Czas przechowywania mięsa w chłodni spełniał najważniejszą rolę w procesie proteolizy tego białka spośród wszystkich analizowanych czynników determinujących poubojowe przemiany titiny (tab. 1).

Tabela 2. Udział białek w wycieku wirówkowym z mięsa buhajków w zależności od czasu jego chłodniczego dojrzewania [%].

Table 2. Content of proteins in centrifugal drip from meat of young bulls depending on duration of meat aging [%].

| Czas dojrzewania Time of aging | Masa cząsteczkowa białek w wycieku wirówkowym z mięsa Molecular weight of proteins from muscle centrifugal drip | | | | | |
|---|--|--------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|
| | 2400÷3700 kDa | >160 kDa | 160 kDa | 90 ÷ 95 kDa | ≤ 42 kDa | 36 ÷ 38 kDa |
| Czas dojrzewania w chłodni / Duration of cold storage | | | | | | |
| 45' | 0,68 ^a ± 0,64 | 1,12 ^a ± 0,90 | 1,65 ^a ± 0,79 | 3,19 ^a ± 1,07 | 60,98 ^c ± 5,81 | 6,26 ^a ± 1,93 |
| 48 h | 1,09 ^a ± 0,82 | 1,27 ^a ± 0,88 | 3,18 ^b ± 0,79 | 5,47 ^b ± 0,89 | 57,97 ^b ± 4,63 | 6,31 ^a ± 2,39 |
| 96 h | 1,69 ^b ± 0,99 | 2,01 ^a ± 1,36 | 3,53 ^b ± 0,79 | 5,47 ^b ± 0,90 | 57,34 ^b ± 3,77 | 6,05 ^a ± 1,66 |
| 240 h | 3,07 ^c ± 1,33 | 4,08 ^b ± 3,87 | 3,91 ^c ± 0,77 | 5,62 ^b ± 1,13 | 54,04 ^a ± 4,80 | 6,08 ^a ± 1,51 |

Objaśnienia/ Explanatory notes:

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

a, b, c – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie na poziomie $p \leq 0,05$ / mean values denoted by different letters differ statistically significant at $p \leq 0.05$.

Wzrost udziału titiny w wycieku wirówkowym z mięsa wraz z czasem jego przechowywania nastąpił we wszystkich badanych próbkach, niezależnie od rasy bydła (tab. 3).

Istotną ($p \leq 0,05$) tendencję wzrostową w odniesieniu do zawartości tego białka w wycieku wirówkowym z mięsa buhajków rasy PHF obserwowano już po 48 h w porównaniu do 45 min *post mortem*. Po 10 dniach dojrzewania mięsa (240 h *pm*) udział titiny w wycieku wirówkowym zwiększył się od 3 do 7 razy, w zależności od rasy badanych zwierząt. W tym terminie najwięcej titiny było w wycieku wirówkowym z mięsa buhajków rasy PHF, natomiast największy, prawie 7-krotny przyrost zawartości tego białka zaobserwowano w wycieku z mięsa bydła rasy PC. Po 10 dniach *pm* najmniejszy, aczkolwiek statystycznie nieistotny udział titiny stwierdzono w wycieku z mięsa buhajków rasy L w stosunku do pozostałych ras (tab. 3). Powyższa obserwacja wskazuje na nieznacznie większą proteolizę titiny w mięsie buhajków rasy PHF w porównaniu z innymi badanymi rasami (PC, L i H).

Tabela 3. Udział białek w wycieku wirówkowym z mięsa buhajków o zróżnicowanym genotypie [%].
 Table 3. Content of proteins in centrifugal drip from meat of young bulls showing different genotypes [%].

| Rasa bydła Cattle breed | Masa cząsteczkowa białek w wycieku wirówkowym z mięsa Molecular weight of proteins from muscle centrifugal drip | | | | | |
|----------------------------|--|----------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| | 2400÷3700 kDa | >160 kDa | 160 kDa | 90 ÷ 95 kDa | ≤ 42 kDa | 36 ÷ 38 kDa |
| 45' | | | | | | |
| PHF | 0,95 ^{aA} ± 0,50 | 1,28 ^{aA} ± 0,71 | 2,06 ^{bA} ± 0,78 | 3,59 ^{aA} ± 1,25 | 60,44 ^{aB} ± 3,97 | 5,90 ^{aA} ± 1,61 |
| H | 0,77 ^{aA} ± 0,54 | 1,34 ^{aA} ± 1,05 | 1,71 ^{abA} ± 0,76 | 3,09 ^{aA} ± 0,94 | 61,47 ^{aB} ± 3,30 | 6,16 ^{aA} ± 1,79 |
| L | 0,58 ^{aA} ± 0,74 | 0,92 ^{aA} ± 0,91 | 1,63 ^{abA} ± 0,84 | 3,45 ^{aA} ± 0,82 | 62,10 ^{aC} ± 3,08 | 6,44 ^{aA} ± 2,55 |
| PC | 0,45 ^{aA} ± 0,70 | 0,93 ^{aA} ± 0,90 | 1,22 ^{aA} ± 0,63 | 2,66 ^{aA} ± 1,09 | 59,87 ^{aA} ± 10,08 | 6,52 ^{aA} ± 1,76 |
| 48 h | | | | | | |
| PHF | 1,45 ^{aB} ± 0,80 | 1,66 ^{aA} ± 0,90 | 3,52 ^{aB} ± 0,81 | 5,59 ^{abB} ± 0,71 | 56,73 ^{aA} ± 2,80 | 6,13 ^{aA} ± 2,47 |
| H | 1,13 ^{aA} ± 0,84 | 1,31 ^{aA} ± 0,85 | 3,21 ^{aB} ± 0,75 | 5,97 ^{bbB} ± 0,79 | 58,67 ^{aA} ± 7,95 | 6,12 ^{aA} ± 1,89 |
| L | 0,93 ^{aAB} ± 0,70 | 1,28 ^{aA} ± 0,94 | 3,11 ^{aB} ± 0,82 | 5,17 ^{abB} ± 0,77 | 58,40 ^{aB} ± 3,01 | 6,55 ^{aA} ± 3,18 |
| PC | 0,87 ^{aAB} ± 0,85 | 0,8 ^{aA} ± 0,72 | 2,92 ^{aB} ± 0,74 | 5,15 ^{aB} ± 1,05 | 57,99 ^{aA} ± 2,66 | 6,44 ^{aA} ± 2,04 |
| 96 h | | | | | | |
| PHF | 1,72 ^{aB} ± 0,99 | 2,1 ^{aA} ± 1,39 | 4,02 ^{bbB} ± 0,93 | 5,66 ^{bcB} ± 0,76 | 57,89 ^{aA} ± 6,30 | 6,46 ^{aA} ± 2,11 |
| H | 1,59 ^{aA} ± 0,81 | 1,89 ^{aA} ± 0,75 | 3,58 ^{abB} ± 0,51 | 6,23 ^{cbB} ± 0,58 | 57,34 ^{aA} ± 3,36 | 5,95 ^{aA} ± 1,52 |
| L | 1,80 ^{aBC} ± 1,13 | 2,14 ^{aAB} ± 1,88 | 3,26 ^{aB} ± 0,93 | 4,69 ^{abB} ± 0,83 | 56,51 ^{aA} ± 2,40 | 6,00 ^{aA} ± 1,48 |
| PC | 1,64 ^{aB} ± 1,10 | 1,82 ^{aA} ± 1,29 | 3,29 ^{abB} ± 0,52 | 5,31 ^{abB} ± 0,70 | 57,66 ^{aA} ± 1,91 | 5,80 ^{aA} ± 1,58 |
| 240 h | | | | | | |
| PHF | 3,61 ^{aC} ± 1,54 | 6,20 ^{bbB} ± 3,34 | 4,18 ^{abB} ± 0,72 | 5,79 ^{abB} ± 1,16 | 51,02 ^{aA} ± 5,10 | 6,84 ^{aA} ± 1,57 |
| H | 3,02 ^{aB} ± 1,35 | 3,59 ^{abB} ± 1,44 | 3,84 ^{abB} ± 0,61 | 6,25 ^{bbB} ± 0,74 | 55,92 ^{baA} ± 6,73 | 6,45 ^{abA} ± 1,27 |
| L | 2,67 ^{aB} ± 1,10 | 3,14 ^{aB} ± 1,23 | 4,20 ^{bcB} ± 0,91 | 5,21 ^{aB} ± 1,35 | 54,23 ^{abA} ± 2,67 | 5,25 ^{aA} ± 1,35 |
| PC | 3,03 ^{aB} ± 1,28 | 3,54 ^{abB} ± 1,59 | 3,45 ^{aB} ± 0,64 | 5,24 ^{abB} ± 0,93 | 54,79 ^{abA} ± 2,32 | 5,83 ^{abA} ± 1,49 |

Objaśnienia: / Explanatory notes:

a, b, c – różne małe litery oznaczają statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) różnice wartości średnich między rasami w danym terminie dojrzewania / various small letters denote statistically significant ($p \leq 0.05$) differences among breeds during given period of aging;

A, B, C – różne duże litery oznaczają statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) różnice wartości średnich między różnymi terminami chłodniczego przechowywania mięsa danej rasy / various capital letters denote statistically significant ($p \leq 0.05$) differences among different periods of cold storing of meat derived from given breed.

PHF – rasa polska holsztyńsko-fryzyjska / Polish Holstein-Friesian breed; PC – rasa polska czerwona / Polish Red breed; L – rasa Limousine / Limousine breed; H – rasa Hereford / Hereford breed.

Badania przeprowadzone przez Iwanowską i wsp. [8] na tym samym materiale doświadczalnym ujawniły malejący udział wielkocząsteczkowych białek miofibrylarnych po 10 dniach dojrzewania mięsa w chłodni. Powyższe potwierdza, że produkty degradacji białek miofibryli są uwalniane ze struktur mięśniowych i przechodzą do sarkoplazmy. Wraz z postępującą degradacją białek miofibrylarnych, w tym titiny natywnej (T1) w tkance mięśniowej, cytowani wyżej autorzy [8] obserwowali wzrost kruchości mięsa wołowego, jednak różnice między wartościami siły cięcia mięsa buhajków analizowanych ras były statystycznie nieistotne

W niniejszych badaniach nie wykazano istotnego ($p \leq 0,05$) wpływu wieku badanych zwierząt na udział białek o m. cz. 2400 ÷ 3700 kDa w wycieku wirówkowym z mięsa (tab. 4). Najwolniejszy wzrost udziału titiny zaobserwowano w wycieku wirówkowym z mięsa 12-miesięcznych buhajków. Udział titiny w wycieku wirówkowym z mięsa pobranego 48 i 96 h *post mortem* był większy w przypadku 6- i 9-miesięcznych buhajków w porównaniu z 12-miesięcznymi zwierzętami (tab. 4).

Po 10 dniach dojrzewania najmniejszy, choć statystycznie nieistotny, udział titiny stwierdzono w wycieku wirówkowym z mięsa 12-miesięcznych buhajków (tab. 4). Podobne zależności w udziale wielkocząsteczkowych białek, w tym titiny, w wycieku wirówkowym z mięsa stwierdzili Kołczak i wsp. [10] w trakcie 12 dni dojrzewania w chłodni mięśni *psoas major* i *semitendinosus*, pochodzących z cieląt, jałówek i krów ubijanych w wieku 3 i 18 miesięcy oraz 8 lat. Cytowani autorzy [10] nie zaobserwowali istotnych różnic między analizowanymi grupami mięśni, ale stwierdzili szybszą proteolizę wielkocząsteczkowych białek w mięsie młodszego bydła. Taki sam wpływ czasu na dojrzewanie mięsa zaobserwowali Monsón i wsp. [16] w odniesieniu do bydła ras: holsztyńsko-fryzyskiej, Brown Swiss, Limousine i Blonde d'Aquitaine, a Steen i wsp. [28] – Belgian Blue White.

Wraz z postępującym procesem dojrzewania mięsa obserwowano rozdzielenie pasma titiny na dwa pojedyncze cieńsze pasma oznaczone jako T1 i T2 (rys. 1). Powyższe wskazywało na degradację natywnej formy tego białka, którą odnotowali w swoich badaniach także inni autorzy [5, 8, 29].

Obecność titiny natywnej (T1) i jednego z produktów jej degradacji (T2) w wycieku wirówkowym pozyskanym z mięsa potwierdzono metodą immunoblottingu z wykorzystaniem monoklonalnego przeciwciała anty-titiny (9D10) (rys. 2.I). Oba pasma titiny (T1 i T2) najwyraźniej uwidoczniły się 240 h *post mortem* (rys. 1).

Na elektroforegramie (rys. 1) zwrócono również uwagę na białko o mniejszej m. cz., tj. 160 kDa (tab. 2). Pasma to może reprezentować białko M, które charakteryzuje się podobną m. cz., tzn. 165 kDa [1]. Pełni ono wraz z białkiem C (m. cz. ok. 140 kDa) funkcję stabilizatora filamentów miozyny w linii M [18]. Na udział tego białka

Tabela 4. Udział białek w wycieku wirówkowym z mięsa buhajków poddanych ubojowi w różnym wieku [%].

Table 4. Proportion of the centrifugal drip proteins from meat of young bulls slaughtered at the various age [%].

| Wiek zwierząt [miesiące] Age [months] | Masa cząsteczkowa białek w wycieku wirówkowym z mięsa Molecular weight of proteins from muscle centrifugal drip | | | | | |
|---|--|----------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| | 2400÷3700 kDa | >160 kDa | 160 kDa | 90÷95 kDa | ≤42 kDa | 36÷38 kDa |
| 45' | | | | | | |
| 6 | 0,50 ^{aA} ± 0,31 | 0,88 ^{aA} ± 0,43 | 1,68 ^{aA} ± 0,71 | 3,33 ^{aA} ± 1,10 | 59,53 ^{aAB} ± 8,62 | 6,31 ^{abA} ± 1,96 |
| 9 | 0,92 ^{aA} ± 0,83 | 1,53 ^{aB} ± 1,19 | 1,68 ^{aA} ± 0,65 | 3,03 ^{aA} ± 0,83 | 60,76 ^{aB} ± 3,80 | 5,34 ^{aA} ± 1,58 |
| 12 | 0,63 ^{aA} ± 0,63 | 0,94 ^{aA} ± 0,78 | 1,59 ^{aA} ± 1,01 | 3,22 ^{aA} ± 1,27 | 62,57 ^{aC} ± 3,67 | 7,13 ^{bA} ± 1,89 |
| 48 h | | | | | | |
| 6 | 1,17 ^{aAB} ± 0,50 | 1,33 ^{aA} ± 0,60 | 3,27 ^{aB} ± 0,89 | 5,23 ^{aB} ± 0,70 | 59,44 ^{aB} ± 6,95 | 6,57 ^{aA} ± 1,94 |
| 9 | 1,17 ^{aAB} ± 0,96 | 1,26 ^{aA} ± 0,88 | 3,16 ^{aB} ± 0,75 | 5,31 ^{aB} ± 1,07 | 58,12 ^{aAB} ± 3,00 | 5,46 ^{aA} ± 1,87 |
| 12 | 0,93 ^{aA} ± 0,92 | 1,23 ^{aA} ± 1,11 | 3,13 ^{aB} ± 0,77 | 5,86 ^{aB} ± 0,75 | 56,41 ^{aB} ± 2,45 | 6,92 ^{aA} ± 3,04 |
| 96 h | | | | | | |
| 6 | 1,61 ^{aB} ± 0,60 | 1,88 ^{aA} ± 0,68 | 3,63 ^{aB} ± 0,64 | 5,28 ^{aB} ± 0,86 | 56,98 ^{aAB} ± 3,31 | 6,48 ^{aA} ± 1,64 |
| 9 | 1,91 ^{aB} ± 1,13 | 2,51 ^{aBC} ± 1,75 | 3,58 ^{aB} ± 0,95 | 5,48 ^{aB} ± 1,11 | 57,22 ^{aA} ± 3,51 | 5,32 ^{aA} ± 1,68 |
| 12 | 1,55 ^{aA} ± 1,15 | 1,63 ^{aA} ± 1,31 | 3,38 ^{aB} ± 0,77 | 5,65 ^{aB} ± 0,69 | 57,81 ^{aB} ± 4,50 | 6,36 ^{aA} ± 1,47 |
| 240 h | | | | | | |
| 6 | 2,97 ^{aC} ± 1,27 | 5,07 ^{aAB} ± 6,37 | 3,88 ^{aB} ± 0,75 | 5,04 ^{aB} ± 0,99 | 54,38 ^{aA} ± 2,97 | 6,28 ^{aA} ± 1,75 |
| 9 | 3,25 ^{aC} ± 1,28 | 3,62 ^{aC} ± 1,57 | 3,79 ^{aB} ± 0,89 | 5,73 ^{abB} ± 1,15 | 54,96 ^{aA} ± 6,43 | 5,77 ^{aA} ± 1,35 |
| 12 | 2,99 ^{aB} ± 1,49 | 3,61 ^{aB} ± 1,86 | 4,06 ^{aC} ± 0,68 | 6,06 ^{bB} ± 1,04 | 52,80 ^{aA} ± 4,24 | 6,20 ^{aA} ± 1,45 |

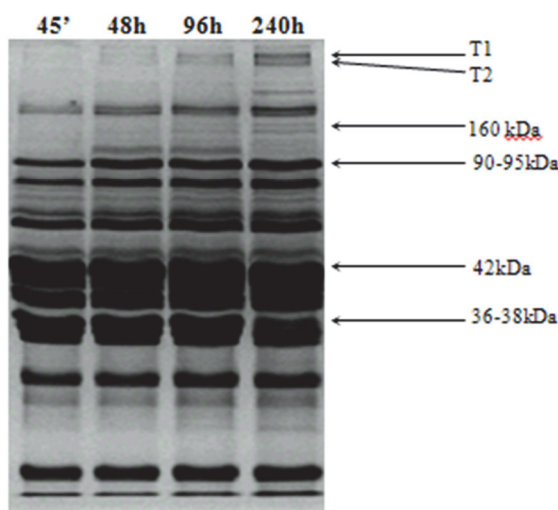
Objaśnienia/ Explanatory notes:

a, b, c – różne małe litery oznaczają statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) różnice wartości średnich między buhajkami o różnym wieku w danym terminie analizy / different small letters denote statistically significant ($p \leq 0,05$) differences among young bulls of various age during given period of analysis storage;

A,B,C – różne duże litery oznaczają statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) różnice wartości średnich między różnymi terminami analizy dla danego wieku buhajków / different capital letters denote statistically significant ($p \leq 0,05$) differences among different periods of analysis for given age of young bulls.

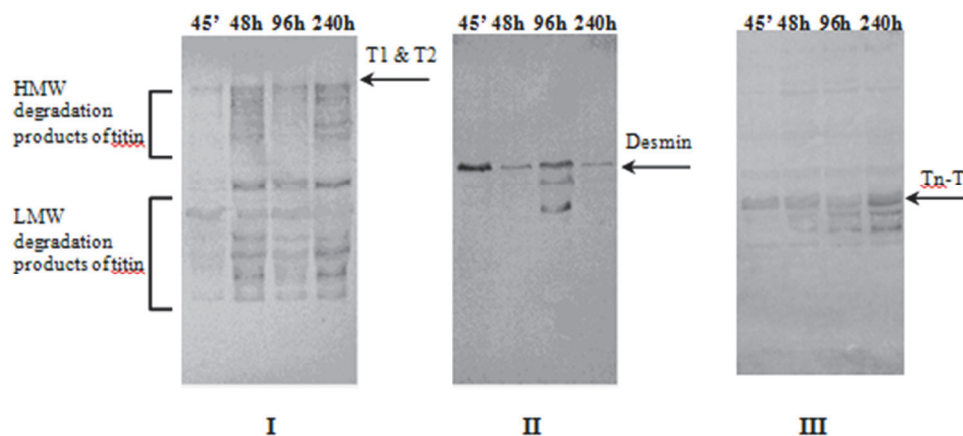
w wycieku wirówkowym znacząco wpłynął czas dojrzewania mięsa oraz w mniejszym stopniu rasa buhajków (tab. 1 i 2). W wycieku wirówkowym pochodzącym z mięsa zwierząt wszystkich badanych ras następował stopniowy wzrost udziału białka o m. cz. 160 kDa (tab. 3). Większy udział omawianego białka obserwowano w wycieku wirów-

kowym (45 min, 48 h, 96 h) pozyskanym z mięsa buhajków rasy PHF w porównaniu z pozostałymi rasami (tab. 3). Po 10 dniach dojrzewania stwierdzono mniejszy udział białka o m. cz. 160 kDa w wycieku wirówkowym z mięsa buhajków rasy PC w porównaniu z pozostałymi rasami (tab. 3). Istotnie ($p \leq 0,05$) największy wzrost zawartości białka o m. cz. 160 kDa w ciągu 10 dni chłodniczego dojrzewania mięsa obserwowano w przypadku buhajków rasy L. Ponadto stwierdzono, że w ostatnim terminie badań (240 h *pm*) udział białka o m. cz. 160 kDa w wycieku wirówkowym z mięsa buhajków rasy PHF i L był zbliżony (odpowiednio: 4,18 i 4,20 %). Szybkie zmiany w początkowej fazie dojrzewania mięsa obserwowane w tym paśmie mogą być z jednej strony wynikiem uwolnienia białka M z miofibryli, a z drugiej – degradacji titiny. W konsekwencji te wielkocząsteczkowe białka mogą przemieszczać się z miofibryli do sarkoplazmy, a zatem można je obserwować w wycieku wirówkowym. Obecność titiny w tym paśmie została potwierdzona za pomocą immunoblottingu z wykorzystaniem monoklonalnego przeciwciała 9D10 (rys. 2.I).



Rys. 1. Rozdział elektroforetyczny białek wycieku wirówkowego z tkanki mięśniowej buhajków rasy PHF w różnym czasie *post mortem* (w 15-procentowym żelu poliakrylamidowym z dodatkiem mocznika).

Fig. 1. Electrophoretic separation of proteins in centrifugal drip from muscle tissue of young PHF bulls during various *post mortem* periods of time (in 15% polyacrylamide gel with urea added).



Objaśnienia: / Explanatory notes:

I – monoklonalne przeciwciało anti-titiny (klon 9D10) / anti-titin antibody (clone 9D10); II – monoklonalne przeciwciało anti-desminy (klon DE-U-10) / anti-desmin antibody (clone DE-U-10); III – monoklonalne przeciwciało anti-troponiny T (klon 9D) / anti-troponin T antibody (clone 9D).

Rys. 2. Western blotting wybranych białek w wycieku wirówkowym z tkanki mięśniowej buhajków Limousine, poddanych ubojowi w wieku 6 miesięcy.

Fig 2. Western blotting of selected proteins in centrifugal drip from muscle tissue of young Limousine bulls slaughtered at the age of 6 months.

Przeprowadzona analiza wariancji wykazała istotny wpływ wszystkich analizowanych czynników, tj. rasy i wieku buhajków oraz czasu dojrzewania mięsa, a także ich wzajemnych interakcji (wieku i rasy oraz rasy i czasu dojrzewania) na udział białek o m. cz. 90 ÷ 95 kDa (tab. 1). To pasmo może odpowiadać fosforylaze glikogenowej, ale może zawierać także produkty degradacji białek miofibrylarnych [20]. Okayama i wsp. [20] obserwowali degradację fosforylazy glikogenowej podczas dojrzewania mięsa pochodzącego z bydła rasy Japanese Black. W niniejszych badaniach udział białek o m. cz. 90 ÷ 95 kDa wzrastał przez cały okres dojrzewania mięsa, ale istotne ($p \leq 0,05$) zmiany zaobserwowano tylko po dwóch dniach jego przechowywania (tab. 2). Największy wzrost udziału białek podczas przechowywania obserwowano w wycieku pozyskanym z mięsa buhajków rasy H. Jego udział 240 h *post mortem* był istotnie ($p \leq 0,05$) największy i wynosił powyżej 6 % (tab. 3). Udział białek o m. cz. 90 ÷ 95 kDa w wycieku wirówkowym zwiększał się wraz z wiekiem zwierząt. Duży ich udział obserwowano w wycieku wirówkowym pochodzącym z mięsa buhajków ubijanych w wieku 12 miesięcy. Po 10 dniach dojrzewania mięsa najczęściej ($p \leq 0,05$) tych białek było właśnie w wycieku z mięsa zwierząt w omawianym wieku.

Na podstawie analizy elektroforegramów (rys. 1) trudno szczegółowo omówić zmiany ilościowe białek o niskiej m. cz., tj. ≤ 42 kDa, ponieważ zarówno pasma białek

sarkoplazmatycznych, jak również białek miofibrylarnych oraz produktów ich degradacji nakładają się na siebie. Dokładną identyfikację białek umożliwi dopiero przeprowadzony immunoblotting z zastosowaniem swoistych przeciwciał. W niniejszych badaniach, dzięki reakcji z monoklonalnym przeciwciałem anty-desminy (9D) zaobserwowano powolną degradację natywnej formy tego białka (o m. cz. 50 ÷ 55 kDa) przez cały okres dojrzewania mięsa. Największy udział produktów degradacji desminy, w tym produktu o m.cz. ok. 40 kDa stwierdzono 96 h *post mortem* (rys. 2.II). Białko o podobnej m.cz. (ok. 38 kDa) często ujawnia się w mięsie wołowym podczas jego dojrzewania i jest uważane za główny produkt degradacji desminy [7]. Jednak obecność produktów degradacji titiny w tym paśmie (rys. 2.I) może przyczynić się do zwiększania udziału białek o m. cz. ≤ 42 kDa w wycieku wirówkowym.

Immunoblotting przeprowadzony z zastosowaniem monoklonalnego przeciwciała anty-troponiny T (9D) wykazał zwiększenie się udziału białek o m. cz. 36 ÷ 38 kDa i niższej wraz z czasem dojrzewania mięsa (rys. 2.III), co potwierdza ich uwalnianie z miofibryli do wycieku.

Pojawiające się na elektroforegramach produkty degradacji troponiny T (Tn-T) są traktowane jako wskaźnik postępu procesów proteolitycznych [7, 8, 13, 17, 28, 29]. Iwanowska i wsp. [8] obserwowali zmniejszenie udziału tych białek w tkance mięśniowej buhajków podczas przechowywania mięsa w chłodni. Ich obecność w wycieku świadczy, że produkty degradacji białek miofibryli są uwalniane ze struktur mięśniowych i przechodzą do sarkoplazmy. Po 10 dniach chłodniczego przechowywania mięsa stwierdzono istotne ($p \leq 0,05$) zwiększenie się udziału białek o m. cz. 36 ÷ 38 kDa w wycieku wirówkowym z mięsa buhajków rasy PHF. Okumura i wsp. [22] stwierdzili w tym przedziale masy cząsteczkowej obecność enzymu GAPDH (m. cz. około 36 ÷ 38 kDa), którego udział zmniejszał się podczas dojrzewania mięsa. Wyniki zamieszczone w tab. 2. wskazują, że zmiany udziału białek o m. cz. 36 ÷ 38 kDa w czasie dojrzewania mięsa w chłodni były niewielkie, co może potwierdzać dość powszechne twierdzenie, że procesy proteolityczne w mięsie wołowym są wolniejsze niż w wieprzynie [25].

Wnioski

1. Czynnikiem, który w największym stopniu wpłynął na zmiany udziału białek w wycieku wirówkowym z mięsa buhajków ras: polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej (PHF) odmiany czarno-białej, polskiej czerwonej (PC), Limousine (L) i Hereford (H), był czas chłodniczego dojrzewania mięsa.
2. Tylko udział białek o masie cząsteczkowej 90 ÷ 95 kDa był istotnie ($p \leq 0,05$) uzależniony od oddziaływania przyjętych czynników zmienności, tj. rasy i wieku bydła oraz czasu dojrzewania mięsa.

3. Wysoki udział titiny obserwowano w wycieku wirówkowym pochodzącym z mięsa buhajków rasy PHF, odmiany czarno-białej. Szybszą degradację tego białka obserwowano w wycieku wirówkowym z mięsa bydła ubijanego w wieku 6 i 9 miesięcy w porównaniu do zwierząt 12-miesięcznych.
4. Istotnie najwięcej ($p \leq 0,05$) białek o masie $90 \div 95$ kDa zawierał wyciek z mięsa buhajków rasy Hereford.
5. Prawidłowa identyfikacja białek zawartych w wycieku wymaga przeprowadzenia immunoblottingu z zastosowaniem przeciwciał specyficznie rozpoznających określone białka, gdyż pasma białek typowych dla tej frakcji pokrywają się z białkami miofibrili lub produktami ich degradacji.

Literatura

- [1] Ashgar A., Samejina K., Yasui T.: Functionality of muscle protein in gelation mechanism of structured meat products. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 1985, **22** (1), 27-84.
- [2] Boyer-Beri C., Greaser M.L.: Effect of postmortem storage on the Z-line region of titin in bovine muscle. *J. Anim. Sci.*, 1998, **76** (4), 1034-1044.
- [3] Campo M.M., Santolaria P., Sañudo C., Lepetit J., Otella J.L., Penea B., Alberti P.: Assessment of breed type and ageing time on beef meat quality using two different texture devices. *Meat Sci.*, 2000, **55** (4), 371-378.
- [4] Fritz J.D., Greaser M.L.: Changes in titin and nebulin in postmortem bovine muscle revealed by gel electrophoresis, western blotting and immunofluorescence microscopy. *J. Food Sci.*, 1991, **56**, 607-615.
- [5] Greaser M.L., Boyer-Berri C., Kumazawa Y., Szalata M., Pospiech E.: Titin and tenderness. *Proc. 46th ICoMST, Buenos Aires, Argentina, 2000, 27 August – 1 September, 4.I-L1*, pp. 420-423.
- [6] Grześ B., Pospiech E., Greaser M. L., Mozdziak P.E.: Evaluation of structural changes in cured meat through the determination of myosin in the centrifugal drip. *Rocz. Inst. Przem. Mięs. Tuszcz.* 1997, **XXXIV**, 171-177.
- [7] Huff Lonergan E., Zhang W., Lonergan S.M.: Biochemistry of post-mortem muscle – Lesson on mechanisms of meat tenderization. *Meat Sci.*, 2010, **86** (1), 184-195.
- [8] Iwanowska A., Iwańska E., Grześ B., Mikołajczak B., Pospiech E., Rosochacki S., Łyczyński A.: Protein changes and tenderness meat from young bulls of different breed and age. *Anim. Sci. Pap. Rep.*, 2010, **28** (1), 13-25.
- [9] Kołczak T., Pospiech E., Palka K., Łącki J.: Changes in structure of *psaos major and minor* and *semitendinosus* muscles of calves, heifers and cows during *post-mortem* ageing. *Meat Sci.*, 2003, **64** (1), 77-83.
- [10] Kołczak T., Pospiech E., Palka K., Łącki J.: Changes of myofibrillar and centrifugal drip proteins and shear force of *psaos major and minor* and *semitendinosus* muscle from calves, heifers and cows during post-mortem ageing. *Meat Sci.*, 2003, **64** (1), 69-75.
- [11] Kołczak T.: Jakość wołowiny. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **1** (56), 5-22.
- [12] Koohmaraie M., Geesink G.H.: Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. *Meat Sci.*, 2006, **74** (1), 34-43.
- [13] Lametsch R., Roepstorff P., Moller H.S., Bendixen E.: Identification of myofibrillar substrates for μ -calpain. *Meat Sci.*, 2004, **68** (4), 515-521.
- [14] Luca Di A., Mullen A.M., Elia G., Davey G., Hamill R.M.: Centrifugal drip is an accessible source for protein indicators of pork ageing and water-holding capacity. *Meat Sci.*, 2011, **88** (2), 261-270.

- [15] Melody J.L., Lonergan S.M., Rowe L.J., Hiatt T.W., Mayers M.S., Huff-Lonergan E.: Early post-mortem biochemical factors influence tenderness and water-holding capacity of three porcine muscles. *J. Anim. Sci.*, 2004, **82**, 1195-1205.
- [16] Monsón F., Sañudo C., Sierra I.: Influence of cattle breed and ageing time on textural meat quality. *Meat Sci.*, 2004, **68 (4)**, 595-602.
- [17] Mullen M.A., Murray B., Troy D.: Predicting the eating quality of meat. The National Food Centre, Ireland Research Report, 2000, p. 28.
- [18] Noguchi J., Yanagisawa M., Imamura M., Kasuya Y., Sakurai T., Tanaka T., Masaki T.: Complete primary structure and tissue expression of Chicken pectoralis M-protein. *J. Biol. Chem.*, 1992, **267 (28)**, 20302-20310.
- [19] Nowak M.: Rola kalpain w procesie kruszenia mięsa. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **1 (42)**, 5-17.
- [20] Okayama T., Fukumoto H., Nakagawa S., Yamanoue M., Nishikawa I.: Changes in protein content in subcellular sarcoplasmic fractions of muscles during conditioning of Japanese black cattle. *Anim. Sci. Technol. (Japan)*, 1992, **63**, 855-860.
- [21] Oliván M., Martínez A., Osoro C., Sañudo C., Panea B., Otella J.L., Campo M.M., Oliver A.M., Serra X., Gil M., Piedrafita J.: Effect of muscular hypertrophy on physico-chemical, biochemical and texture traits of meat from yearling bulls. *Meat Sci.*, 2004, **68 (4)**, 567-575.
- [22] Okumura T., Yamada R., Nishimura T.: Survey of conditioning indicators for pork loins: changes in myofibrils, proteins and peptides during *post mortem* conditioning of vacuum-packed pork loins for 30 days. *Meat Sci.*, 2003, **64 (4)**, 467-473.
- [23] Pospiech E., Grześ B., Łyczyński A., Borzuta K., Szalata M., Mikołajczak B.: Muscle proteins and their changes in the process of meat tenderization. *Anim. Sci. Pap. Rep.*, 2003, Suppl. 1, 133-151.
- [24] Pospiech E., Peltre G., Wąsowicz E., Jeleń H., Greaser M.L., Mikołajczak B., Brewińska A., Gorączka A.: Metody separacji i ocena rozdzielów: elektroforeza, wysokosprawna kolumnowa chromatografia cieczowa, chromatografia gazowa, spektroskopia masowa. W: *Metody pomiarów i kontroli jakości w przemyśle spożywczym i biotechnologii*. Red. M. Jankiewicz i Z. Kędzior. Wyd. AR Poznań 2003, ss. 171-275.
- [25] Pospiech E., Grześ B., Elminowska-Wenda G.: Przemiany białek. W: *Mięso – Podstawy nauki i technologii*. Red. A. Pisula i E. Pospiech. Wyd. SGGW Warszawa 2011, ss. 200-225.
- [26] Sañudo C., Macie E.S., Olleta J.L., Villarroel M., Panea B., Alberti P.: The effect of slaughter weight, breed type and ageing time on beef meat quality using two different texture devices. *Meat Sci.*, 2004, **66 (4)**, 925-932.
- [27] Stanisław A. *Przystępny kurs statystyki z zastosowaniem Statistica PL na przykładach z medycyny*. StatSoft Polska Sp. z o.o., Kraków 2007.
- [28] Steen D., Claeys E., Utterhaegen L., Desmet D., Demayer D.: Early post-mortem conditions and the calpain/calpastatin system in relation to tenderness of double-muscled beef. *Meat Sci.*, 1997, **45 (3)**, 307-319.
- [29] Szalata M., Pospiech E., Greaser M.L., Łyczyński A., Grześ B., Mikołajczak B.: Changes of titin and troponin T in relation to tenderness of meat from pigs of various meatiness. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2005, **14/55 (2)**, 139-144.
- [30] Zając M., Midura A., Palka K., Węsierska E., Krzysztoforski K.: Skład chemiczny, rozpuszczalność kolagenu śródmięśniowego i tekstura wybranych mięśni wołowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, **4 (77)**, 103-116.

CHANGES IN CONTENT OF PROTEINS IN CENTRIFUGAL DRIP FROM MEAT OF YOUNG BULLS OF DIFFERENT BREEDS AT DIFFERENT AGES

Summary

The objective of the research study was to determine the changes in the content of proteins in centrifugal drip obtained from meat of young bulls of four breeds: Polish Holstein-Friesian (PHF) of Black and White variety, Polish Red (PC), Limousine (L), and Hereford (H), all of them slaughtered at the age of 6, 9, and 12 months during a 10-day period of chilled beef aging. A SDS-PAGE technique was applied to perform an electrophoretic analysis of proteins derived from centrifugal drip of muscle tissue 45 min, 48, 96, and 240 h after slaughter. The occurrence of titin, desmin and troponin T in the centrifugal drip was confirmed by a western blotting method using monoclonal antibodies to specifically identify definite proteins. The aging time was found to be the most important factor that impacted the proteolysis of proteins in meat. The greatest changes in the content of high-molecular proteins (2400 ÷ 3700 kDa and >160 kDa) were reported on the 10th day of meat ageing. In the case of proteins with a lower molecular weight (160 kDa and 90 ÷ 95 kDa), such changes occurred already during the first two days *post mortem*. All the variability factors analyzed (i.e. breed and age of cattle, and aging time of beef meat) significantly affected ($p < 0.05$) only the content of proteins with a molecular weight of 90 ÷ 95 kDa. The most advanced process of proteolysis of high molecular weight proteins was reported in the centrifugal drip from meat of bulls of PHF breed.

Key words: young bulls, cattle breed, ageing time, proteins, centrifugal drip, proteolysis ☒

ANNA OKOŃ, ZBIGNIEW J. DOLATOWSKI

WPLYW BAKTERII PROBIOTYCZNYCH NA PROFIL WOLNYCH AMINOKWASÓW I CECHY SENSORYCZNE POŁĘDWIC WIEPRZOWYCH SUROWO DOJRZEWAJĄCYCH PODCZAS PRZECHOWYWANIA

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu probiotycznych szczepów bakterii na profil wolnych aminokwasów i wyróżniki sensoryczne polędwic surowo dojrzewających.

Materiał doświadczalny stanowiły polędwice wieprzowe surowo dojrzewające z udziałem szczepów probiotycznych (*Lactobacillus casei* LOCK 0900, *Lb. acidophilus* Bauer, *Bifidobacterium bifidum*), oceniane bezpośrednio po dojrzewaniu oraz po 2 i 4 miesiącach chłodniczego przechowywania. Przygotowano cztery warianty doświadczalne: próbę kontrolną bez probiotyku, próbę ze szczepem *Lb. casei* LOCK 0900, próbę ze szczepem *Lb. acidophilus* Bauer oraz próbę ze szczepem *Bifidobacterium bifidum*. W badaniach określono poziom peptydów, profil wolnych aminokwasów oraz dokonano oceny sensorycznej.

Stwierdzono, że dodatek bakterii probiotycznych wpłynął na wyróżniki jakości sensorycznej produktu. Próba kontrolna charakteryzowała się niższą jakością sensoryczną w czasie całego okresu przechowywania w porównaniu z próbami z probiotykami. Bezpośrednio po dojrzewaniu najwyżej oceniono polędwicę ze szczepem *Bifidobacterium bifidum* (9 j.u.), natomiast po 2 i 4 miesiącach przechowywania – polędwicę z dodatkiem *Lb. acidophilus* Bauer (odpowiednio: 9,2 j.u.; 8,94 j.u.). W czasie chłodniczego przechowywania najwyżej oceniono wyróżnik: „smak mięsa suszonego” w próbie ze szczepem *Lb. acidophilus* Bauer (po dojrzewaniu – 3,97 j.u., po 2 miesiącach – 4,11 j.u. oraz po 4 miesiącach – 4,61 j.u.), która charakteryzowała się również dużą zawartością kwasu glutaminowego (odpowiednio: 0,49 1,15 i 1,39 mg/g). Stwierdzono statystycznie istotny wzrost zawartości wolnych aminokwasów w próbie kontrolnej po 4 miesiącach chłodniczego przechowywania – z 19,24 do 28,74 mg/g. Próba ze szczepem *Lb. acidophilus* Bauer zawierała więcej peptydów: po dojrzewaniu – 3,99 mg/g, po 2 miesiącach – 3,95 mg/g i po 4 miesiącach – 3,43 mg/g, w porównaniu z próbą kontrolną (odpowiednio: 3,53 mg/g, 3,9 mg/g oraz 3,36 mg/g).

Słowa kluczowe: polędwice dojrzewające, probiotyki, aminokwasy, ocena sensoryczna

Wprowadzenie

Cechy sensoryczne dojrzewających produktów mięsnych są wynikiem szeregu reakcji zachodzących w czasie dojrzewania: proteolizy, lipolizy i innych przemian [17, 27]. Jakość sensoryczna produktów dojrzewających zależy w dużej mierze od parametrów procesu technologicznego, właściwości surowca mięsnego oraz oksydacji podczas dojrzewania i przechowywania [28]. Na smak mięsa wpływają uwarunkowania genetyczne (gatunek, rasa i płeć) i czynniki środowiskowe (wiek, sposób odżywiania i stres) [6, 24]. Candogan i wsp. [5] ustalili, że większy wpływ na zmiany proteolityczne i związany z nimi profil sensoryczny w dojrzewających wołowych kielbasach ma etap procesu dojrzewania oraz jego parametry niż zastosowane drobnoustroje. Zmiany proteolityczne wpływają na tworzenie smaku, aromatu i tekstury produktu oraz na jego trwałość przechowalniczą. Wolne aminokwasy uczestniczą w tworzeniu aromatu produktu oraz są prekursorami innych cech sensorycznych. W czasie dojrzewania obserwuje się wzrost zawartości wolnych aminokwasów powstałych w wyniku degradacji krótkołańcuchowych peptydów, a ich maksymalny poziom jest związany przede wszystkim z okresem i parametrami technologicznymi fermentacji [2, 7]. W tym etapie obserwuje się największy wzrost liczby drobnoustrojów, co może sugerować, że mikroflora ma wpływ na powstawanie niskocząsteczkowych związków białkowych [26]. Ilość wolnych aminokwasów służy jako wskaźnik jakości produktu. Ma również wpływ na obecność związków odpowiedzialnych za bezpieczeństwo zdrowotne i cechy sensoryczne [25].

Producenci kultur starterowych do wyrobów surowo dojrzewających skupili się obecnie na drobnoustrojach, które syntetyzują duże ilości związków zapachowych i smakowych w celu nadania określonych właściwości sensorycznych i przyspieszenia procesu dojrzewania [9, 12]. Mało poznany jest udział bakterii kwasu mlekowego w tworzeniu aromatu i proteolizy białek mięśniowych. Obserwowany wzrost niskocząsteczkowych peptydów i wolnych aminokwasów jest przede wszystkim skutkiem działania enzymów tkankowych [8, 15, 29]. Wpływ probiotycznych kultur bakterii na przemiany proteolityczne i właściwości sensoryczne fermentowanych produktów mięsnych jest w fazie badań.

Celem pracy było określenie wpływu probiotycznych szczepów bakterii (*Lactobacillus casei* LOCK 0900, *Lb. acidophilus* Bauer, *Bifidobacterium bifidum*) w połączeniach surowo dojrzewających na poziom peptydów, profil wolnych aminokwasów i wyróżniki jakości sensorycznej produktu.

Materialy i metody badań

W warunkach półtechnicznych Katedry Technologii Mięsa i Zarządzania Jakością Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie wykonano produkcję polędwicy surowo doj-

rzewającej z wykorzystaniem bakterii probiotycznych. W badaniach zastosowano szczepy: *Lactobacillus casei* ŁOCK 0900, *Lactobacillus acidophilus* Bauer i *Bifidobacterium bifidum*. Bakterie probiotyczne pochodziły z kolekcji Katedry Technologii Gastronomicznej i Higieny Żywności Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. Z tusz wieprzowych, po 24 h od uboju, wykrawano polędwice i dzielono na części, a następnie peklowano metodą „na sucho” mieszką peklującą (20 g soli morskiej; 9,7 g peklosoli i 0,3 g azotanu(V) sodu) w ilości 2,8 % w stosunku do masy mięsa. Następnie dodawano glukozę w ilości 6 g/kg mięsa oraz odpowiedni szczep bakterii probiotycznych w liczbie 10^6 jtk/g produktu (tab. 1). Przygotowane próby poddawano trzytygodniowemu dojrzewaniu w temp. $16 \div 18$ °C i wilgotności $70 \div 80$ %. Podczas dojrzewania polędwice wędzono zimnym dymem (30 °C/30 min). Wyrобы badano bezpośrednio po dojrzewaniu oraz po 2 i 4 miesiącach chłodniczego przechowywania (4 °C). Zrobiono dwie serie produktów, każdy wyróżnik oceniono trzykrotnie.

Tabela 1. Warianty doświadczenia.
Table 1. Variants of the experiment.

| Próba Sample | Mieszanka peklująca [%] Curing salt[%] | Glukoza [g/kg] Glucose [g/kg] | <i>Lb. casei</i> ŁOCK 0900 | <i>Lb. acidophi-</i> <i>lus</i> Bauer | <i>Bifidobacterium</i> <i>bifidum</i> |
|-----------------|--|----------------------------------|-------------------------------|--|--|
| K | 2,8 | 6 | - | - | - |
| P1 | 2,8 | 6 | + | - | - |
| P2 | 2,8 | 6 | - | + | - |
| P3 | 2,8 | 6 | - | - | + |

W próbach oznaczano: potencjał oksydacyjno-redukcyjny (ORP) – pomiar ORP prowadzono według metody podanej przez Nam i Ahn [14], kwasowość ogólną – zgodnie z PN [20] – pomiaru dokonywano przy użyciu pH-metru cyfrowego CPC-501 (Elmetron) i elektrody zespolonej ERH-111 w wyciągu wodnym produktu. Zawartość wolnych aminokwasów oznaczano metodą ninhydrynową [3, 13], pomiar absorbancji – za pomocą spektrofotometru Nicole Evolution 300 (Thermo Elektron Corporation) przy $\lambda = 570$ nm. Analizę jakościową i ilościową wolnych aminokwasów wykonywano metodą chromatografii jonowymiennej, przy użyciu analizatora aminokwasów AAA 400 firmy INGOS (Centralne Laboratorium Agroekologiczne Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie). Zawartość peptydów rozpuszczalnych w wodzie oznaczano metodą spektrofotometryczną wg Lowry’ego i wsp. [10] – pomiar absorbancji przy $\lambda = 750$ nm. Polędwice poddawano analizie sensorycznej z zastosowaniem metody Ilościowej Analizy Opisowej (QDA) [19, 21]. Analizę QDA wykonywał 10-osobowy

zespół, przeszkolony zgodnie z wymaganiami normy PN-ISO 8586-2:1996 [22]. Do analizy sensorycznej wybrano 4 wyróżniki zapachu (suszonego mięsa, ostry, starego tłuszczu, inny), 7 wyróżników smaku (suszonego mięsa, słony, gorzki, przechowalniczy, piekący, kwaśny, inny). W ocenie sensorycznej określano jakość ogólną produktu. Intensywność wybranych wyróżników jakości sensorycznej zaznaczano na niestrukturowanej skali graficznej (0 ÷ 10 j.u.) z oznaczeniami na obu jej biegunach:

- ocena zapachu i smaku („niewyczuwalny” – „bardzo intensywny”),
- ocena jakości ogólnej („zła – „bardzo dobra”).

Dokonano statystycznej charakterystyki próby (wartości średnie, odchylenia standardowe) i przeprowadzono dwuczynnikową analizę wariancji ANOVA; istotność różnic pomiędzy wartościami średnimi określano na poziomie $p = 0,05$ testem Tukeya.

Wyniki i dyskusja

Najwyższą wartość pH bezpośrednio po dojrzewaniu (tab. 2) zaobserwowano w próbie ze szczepem *Lb. acidophilus* Bauer (5,94), natomiast najniższą – w próbie ze szczepem *Bifidobacterium bifidum* (5,72). Po dwóch miesiącach chłodniczego przechowywania nastąpiło obniżenie wartości pH we wszystkich próbach o ok. 0,5 jednostki, przy czym wartość pH w próbach K i P1 kształtowała się na poziomie ok. 5,3, natomiast w próbach P2 i P3 były na poziomie 5,4. Po 4 miesiącach chłodniczego przechowywania najwyższą kwasowością charakteryzowała się próba ze szczepem *Lb. acidophilus* Bauer (5,42), natomiast najniższą – próba kontrolna (5,87). Nastąpiło obniżenie wartości pH po dwóch miesiącach przechowywania (tab. 2). Zaobserwowana zmiana wynikała z zachodzących procesów fermentacyjnych i nagromadzenia związków zakwaszających w produkcie (kwas mlekowy, octowy i inne). Lücke [11] stwierdził, że etap, od którego wartość pH podczas fermentacji przestaje się obniżać i zaczyna rosnąć, zależy w dużej mierze od jakości surowca, typu technologii oraz dynamiki rozwoju mikroorganizmów determinowanej parametrami technologicznymi.

Wartość potencjału oksydacyjno-redukcyjnego (tab. 3) bezpośrednio po dojrzewaniu była najwyższa w próbie kontrolnej (381,5 mV), a najniższa – w próbie ze szczepem *Lb. acidophilus* Bauer (316,5 mV). W próbach z dodatkiem szczepu bakterii probiotycznych oznaczono niższą wartość potencjału redox w całym okresie przechowywania, w porównaniu z próbą kontrolną. Wartością najniższą potencjału w czasie całego okresu przechowywania charakteryzowała się próba ze szczepem bakterii *Lb. acidophilus* Bauer (odpowiednio: po dojrzewaniu – 316,5, po 2 miesiącach – 329,5, po 4 miesiącach – 328,95).

W badaniach zawartości peptydów rozpuszczalnych w wodzie (rys. 1) największą ich ilość bezpośrednio po dojrzewaniu oznaczono w próbie z dodatkiem szczepu *Lb. acidophilus* Bauer (3,56 mg/g), *Lb. casei* ŁOCK 0900 (3,54 mg/g) oraz w próbie kontrolnej (3,53 mg/g), zaś najmniejszą – w próbie z dodatkiem szczepu *Bifidobacterium*

bifidum (3,37 mg/g). Prawdopodobnie było to wynikiem działania kalpain, w pierwszym etapie zmian poubojowych mięsa, które do swojej aktywności wymagają wysokiego pH ($7,0 \div 7,5$) [15, 29].

Tabela 2. Wartość pH polędwic surowo dojrzewających.
Table 2. pH of raw-ripening pork loins.

| Próba / Sample | pH | | | | | |
|----------------|--|--------|-----------|--------|-----------|--------|
| | Czas przechowywania [miesiące] / Storage time [months] | | | | | |
| | 0 | | 2 | | 4 | |
| | \bar{x} | s / SD | \bar{x} | s / SD | \bar{x} | s / SD |
| K | 5,88 | 0,04 | 5,30 | 0,06 | 5,87 | 0,13 |
| P1 | 5,80 | 0,08 | 5,29 | 0,03 | 5,70 | 0,16 |
| P2 | 5,94 | 0,10 | 5,36 | 0,09 | 5,42 | 0,07 |
| P3 | 5,72 | 0,06 | 5,41 | 0,02 | 5,52 | 0,07 |

Objaśnienia: / Explanatory notes:

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

Tabela 3. Potencjał oksydacyjno-redukcyjny (ORP) polędwic surowo dojrzewających.
Table 3. Oxidation-reduction potential (ORP) of raw-ripening pork loin.

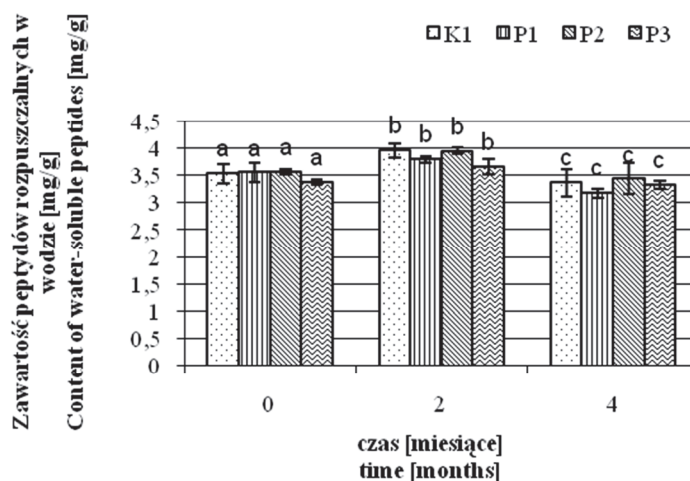
| Próba / Sample | ORP [mV] | | | | | |
|----------------|--|--------|-----------|--------|-----------|--------|
| | Czas przechowywania [miesiące] / Storage time [months] | | | | | |
| | 0 | | 2 | | 4 | |
| | \bar{x} | s / SD | \bar{x} | s / SD | \bar{x} | s / SD |
| K | 381,5 | 13,85 | 338,1 | 12,2 | 372,6 | 7,1 |
| P1 | 359,1 | 5,54 | 334,5 | 12,7 | 366,5 | 15,8 |
| P2 | 316,5 | 6,23 | 329,5 | 13,1 | 328,95 | 8,01 |
| P3 | 337,0 | 4,15 | 330,5 | 6,1 | 372,1 | 7,44 |

Objaśnienia: / Explanatory notes:

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

Największą zawartość peptydów rozpuszczalnych w wodzie po 2 miesiącach chłodniczego przechowywania zaobserwowano w próbie kontrolnej (3,95 mg/g) i w próbie z dodatkiem szczepu *Lb. acidophilus* Bauer (3,94 mg/g), natomiast najmniejszą – w próbie z dodatkiem szczepu *Bifidobacterium bifidum* (3,6 mg/g). Po czterech miesiącach chłodniczego przechowywania zaobserwowano zmniejszenie zawartości peptydów we wszystkich badanych wariantach polędwic. Największą zawartość peptydów oznaczono w próbie ze szczepem *Lb. acidophilus* Bauer (3,43 mg/g), a naj-

mniejszą – w próbie ze szczepem *Lb. casei* ŁOCK 0900 (3,1 mg/g). Nie zaobserwowano statystycznie istotnych różnic pod względem zawartości peptydów w badanych polędwicach.



Objaśnienia:/ Explanatory notes:

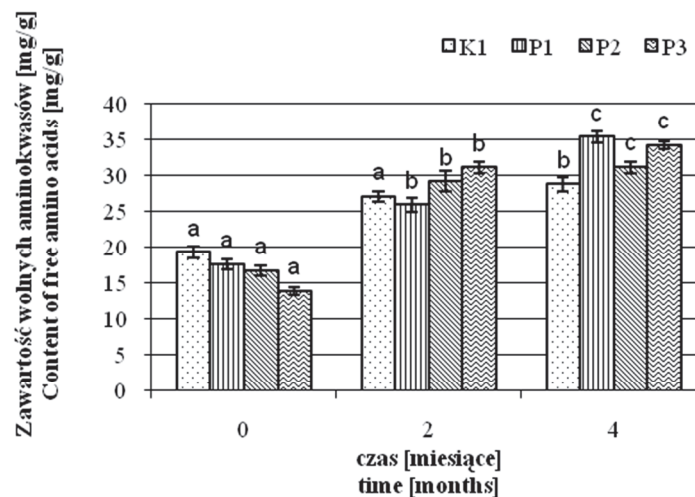
a, b, c- wartość oznaczone tymi samymi literami w obrębie tego samego czasu przechowywania nie różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$ / values within the same storage period and denoted by the same letters do not differ statistically significantly at $p \leq 0.05$.

Rys. 1. Zawartość peptydów w polędwicach surowo dojrzewających.

Fig. 1 Content of peptides in ripening pork loins.

Po dojrzewaniu zaobserwowano największą zawartość wolnych aminokwasów w próbie kontrolnej (19,24 mg/g), natomiast najmniejszą – w próbie ze szczepem *Bifidobacterium bifidum* (13,77 mg/g) (rys. 2). Po dwóch miesiącach chłodniczego przechowywania odnotowano wzrost zawartości wolnych aminokwasów we wszystkich próbach, przy czym największy stwierdzono w próbie ze szczepem *Bifidobacterium bifidum* (z 13,77 do 31,05 mg/g) oraz w próbie ze szczepem *Lb. acidophilus* Bauer (z 16,71 do 29,11 mg/g). Natomiast po czterech miesiącach największą zawartość wolnych aminokwasów zaobserwowano w próbie ze szczepem *Lb. casei* ŁOCK 0900 (35,34 mg/g) oraz w próbie ze szczepem *Bifidobacterium bifidum* (34,2 mg/g). Tak duży, statystycznie istotny wzrost zawartości wolnych aminokwasów po 2 miesiącach w próbie P2 i P3, świadczy o dużej intensywności zmian proteolitycznych, z udziałem wprowadzanych drobnoustrojów, zachodzących w wymienionych próbach. Wpływ na to mogła mieć taka sama w obu próbach wartość pH (ok. 5,4). O'Halloran i wsp. [16] obserwowali wyższą aktywność i uwalnianie katepsyny B i katepsyny L z lizosomów pod wpływem niskiego pH mięsa wołowego. Podobne tendencje zaobserwowali rów-

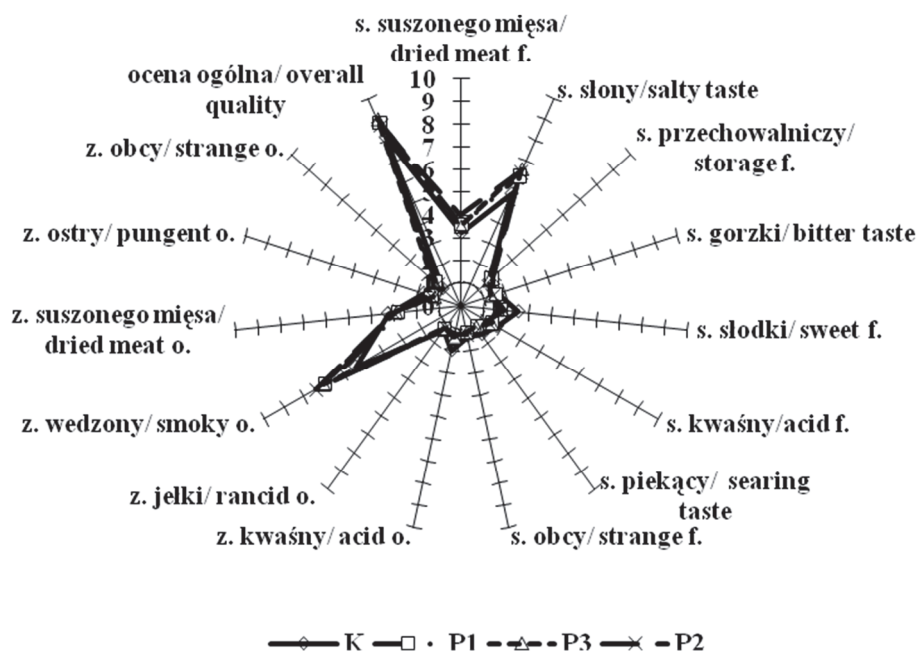
niez Berge i wsp. [4], którzy wykazali, że spadek wartości pH po wstrzyknięciu kwasu mlekowego do mięsa wołowego spowodował wzrost aktywności enzymów lizosomalnych i degradację białek miofibrylarnych. Sugeruje się, że niskie pH surowca stwarza dobre warunki do uwolnienia katepsyn z lizosomów i wzrostu ich aktywności [4, 16]. Zmiany aktywności poszczególnych katepsyn (B, L i H) w czasie dojrzewania szynek hiszpańskich zaobserwowali Parreño i wsp. [18], którzy wykazali, że najdłużej wykazują aktywność katepsyny B i L. Zhao i wsp. [30] dowiedli, że na aktywność katepsyn L i B w szynkach Jinhua istotny wpływ mają: temperatura, zawartość soli i wartość pH. Natomiast Pomponio i wsp. [23] ocenili inną grupę egzogennych enzymów tkanki mięśniowej i zaobserwowali obniżenie aktywności kalpain wraz ze wzrostem kwasowości mięsa w czasie przechowywania poubojowego. Zróżnicowane wartości wolnych aminokwasów w próbach mogą świadczyć o różnicach w czasie proteolizy białek, wywołanych inną mikroflorą produktu. Casaburi i wsp. [7] zaobserwowali różne zawartości wolnych aminokwasów w kiełbasach z różnymi kulturami bakterii. Podobne obserwacje podkreślają również Martín i wsp. [12], którzy analizowali aktywność proteolityczną szczepu *Penicillium chrysogenum* Pg222 oraz *Debaryomyces hansenii* Dh345 na podstawie produktów hydrolizy białek miofibrylarnych w surowo dojrzewających połówkach wieprzowych. Wykazali, że szczep *P. chrsogenum* Pg222 przejawiał większą aktywność proteolityczną, określaną na podstawie zawartości peptydów i wolnych aminokwasów, w porównaniu ze szczepem *D. hansenii* Dh345.



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

Rys. 2. Zawartość wolnych aminokwasów w połówkach surowo dojrzewających.

Fig. 2. Content of free amino acids in ripening pork loins.



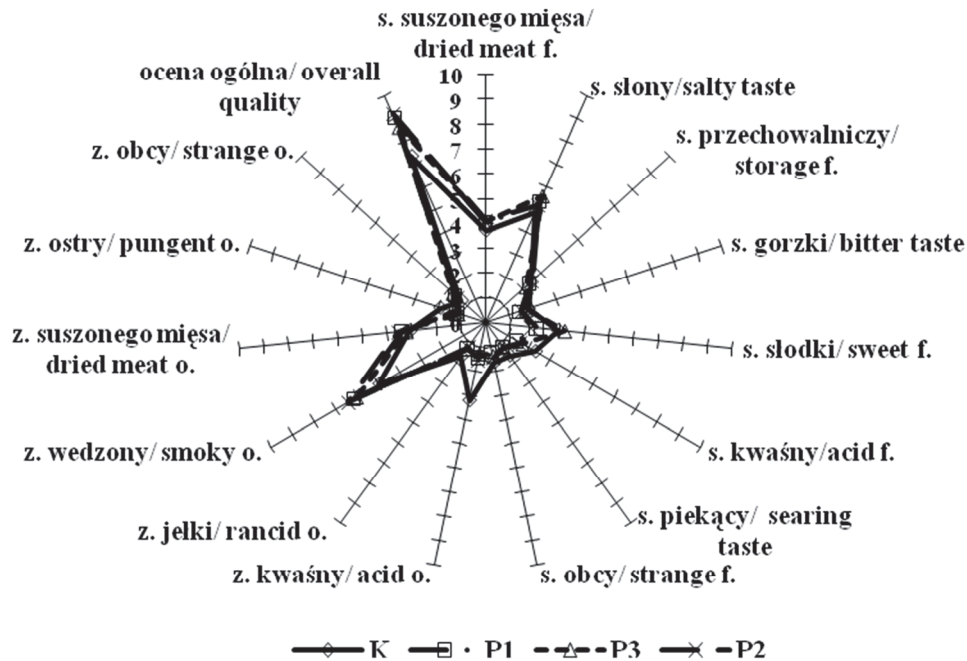
Objaśnienia: / Explanatory notes:

s – smak / f. flavour; z – zapach / o. – odour.

Rys. 3. Wyniki oceny intensywności wyróżników sensorycznych połówiec wieprzowych surowo dojrzewających, po dojrzewaniu.

Fig. 3. Assessment results of intensity of sensory traits indicators of raw ripening pork loins after ripening.

W ocenie jakości sensorycznej połówiec surowo dojrzewających bezpośrednio po dojrzewaniu (rys. 3) najwyższą ocenę ogólną przyznano próbom ze szczepem *Bifidobacterium bifidum* (9 j.u.), natomiast najniższą – próbom kontrolnym (8,1 j.u.). Najwyższa ocena ogólna próby ze szczepem *Bifidobacterium bifidum* prawdopodobnie wynikała z największego w niej udziału kwasu glutaminowego (6,35 %) (rys. 8). Po 2 i 4 miesiącach chłodniczego przechowywania (rys. 3 i 4) najwyższe oceny ogólne zostały przyznane próbie ze szczepem *Lb. acidophilus* Bauer (odpowiednio: 9,2 i 8,94 j.u.) zaś najniższe – próbie kontrolnej (odpowiednio: 7,3 i 7,1 j.u.). Po 2 i 4 miesiącach przechowywania próba ze szczepem *Lb. acidophilus* Bauer charakteryzowała się również najwyższym udziałem kwasu glutaminowego (po 2 miesiącach – 5 %, po 4 miesiącach – 7,92 %).

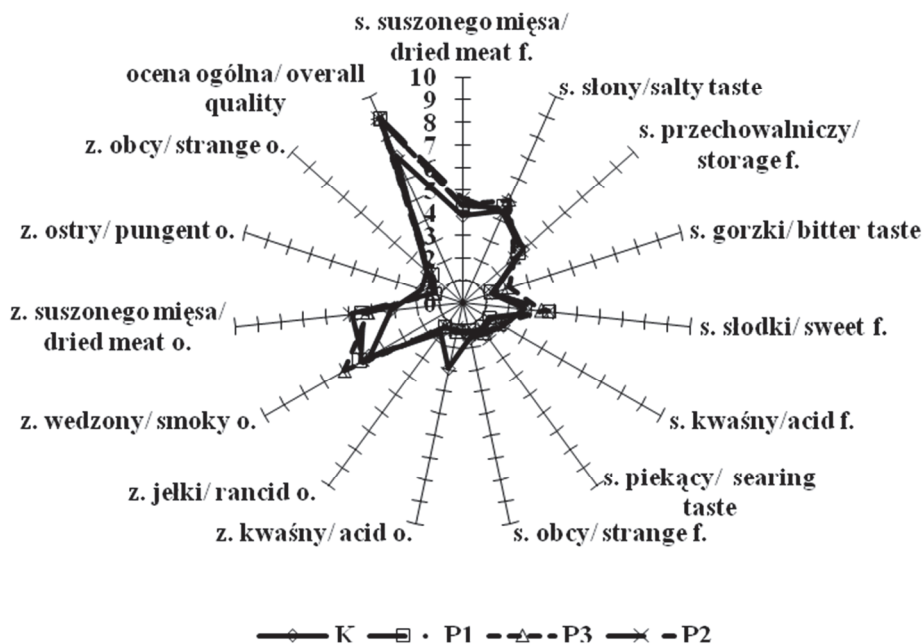


Objaśnienia jak na rys. 3. / Explanatory notes as in Fig. 3.

Rys. 4. Wyniki oceny intensywności wyróżników sensorycznych połówiec wieprzowych surowo dojrzewających, po 2 miesiącach przechowywania.

Fig. 4. Assessment results of intensity of sensory traits indicators intensity of ripening pork loins after 2-month storage.

Wyniki własne porównano z danymi przedstawionymi przez innych autorów i stwierdzono, że na jakość ogólną wyrobów surowo dojrzewających wpływa procentowy udział kwasu glutaminowego w próbce [6, 24]. W czasie przechowywania zaobserwowano istotne różnice wartości wyróżników smaku. Stwierdzono wzrost intensywności odczuwanego smaku słodkiego po 4 miesiącach chłodniczego przechowywania polędwicy ze szczepem *Bifidobacterium bifidum* z 1,62 do 3,48 j.u. oraz polędwicy ze szczepem *Lb. casei* ŁOCK 0900 z 1,7 do 3,78 j.u. Intensywność smaku słodkiego istotnie wzrosła w próbce ze szczepem *Lb. acidophilus* Bauer po 4 miesiącach chłodniczego przechowywania z 1,9 do 3,78 j.u. Zjawisko to można wytłumaczyć wzrostem zawartości takich aminokwasów, jak: alanina, seryna, histydyna i glicyna (rys. 6). Potwierdza to również intensywność odczuwanego smaku słonego, która istotnie zmalała we wszystkich wariantach polędwicy probiotycznych po 4 miesiącach chłodniczego przechowywania, na co wpływ miał wzrost zawartości wolnych aminokwasów (rys. 5).



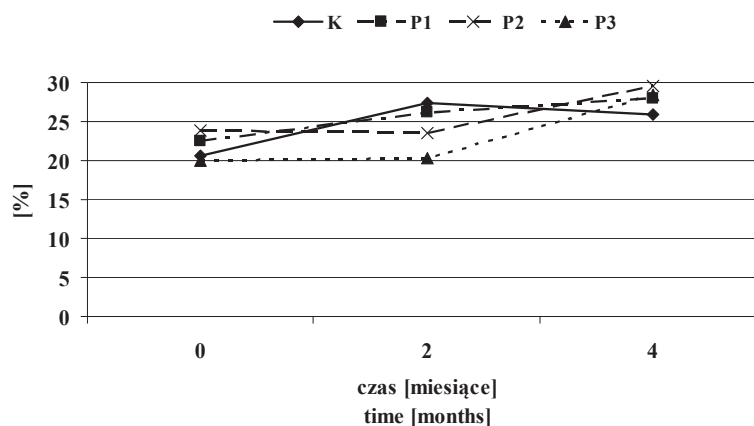
Objaśnienia jak na rys. 3. / Explanatory notes as in Fig. 3.

Rys. 5. Wyniki oceny intensywności wyróżników sensorycznych połówiec wieprzowych surowo dojrzewających, po 4 miesiącach przechowywania.

Fig. 5. Assessment results of intensity of sensory traits indicators of ripening pork loins after 4-month storage.

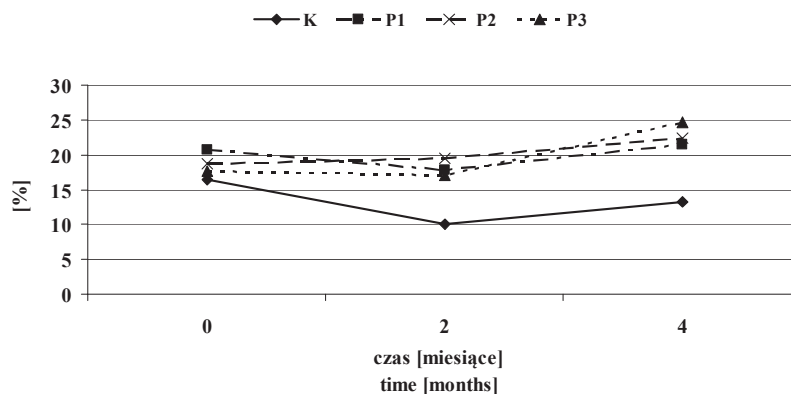
Do aminokwasów kształtujący smak słodki należą: alanina, histydyna, tyrozyna, seryna, prolina oraz glicyna [1, 2, 17, 27]. Procentowy udział aminokwasów kształtujących smak słodki w badanych próbach bezpośrednio po dojrzewaniu (rys. 6) był największy w próbie ze szczepem *Lb. acidophilus* Bauer (23,8 %), natomiast najmniejszy – w próbie ze szczepem *Bifidobacterium bifidum* (19,9 %). Po dwóch miesiącach chłodniczego przechowywania stwierdzono największy wzrost udziału aminokwasów „słodkich” w próbie kontrolnej – z 20,52 do 27,4 %, natomiast w próbie ze szczepem *Lb. acidophilus* Bauer odnotowano zmniejszenie z 23,8 do 23,5%. Po czterech miesiącach chłodniczego przechowywania zaobserwowano odwrotną zależność i największy wzrost w próbie ze szczepem *Bifidobacterium bifidum* – z 20,3 do 28,44 % oraz w próbie ze szczepem *Lb. acidophilus* Bauer – z 23,5 do 29,5 %, zaś w próbie kontrolnej zmniejszenie – z 27,4 do 25,8 %. Wykazano statystyczny wzrost intensywności odczuwanego smaku mięsa suszonego w połówicy ze szczepem *Bifidobacterium bifidum* po 4 miesiącach chłodniczego przechowywania – z 3,5 do 4,35 j.u. oraz między próbą kontrolną i połowicą ze szczepem *Lb. acidophilus* Bauer – odpowiednio: 3,84

i 4,61 j.u. Wzrost odczuwanego smaku suszonego mięsa po 4 miesiącach chłodniczego przechowywania jest wynikiem obniżenia aktywności wody w produkcie oraz nagromadzenia się wolnych aminokwasów. Wyższą oceną smaku suszonego mięsa charakteryzowały się również próby (P2 i P3) z większym udziałem kwasu glutaminowego (rys. 8) i aminokwasów słodkich (rys. 6).



Rys. 6. Udział wolnych aminokwasów kształtujących „smak słodki” w polędwicach surowo dojrzewających.

Fig. 6. Percent content of free amino acids that contribute to “sweet flavour” of ripening pork loins.

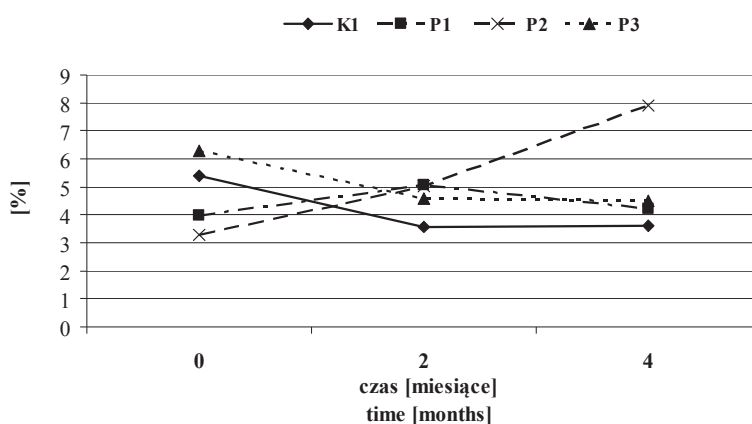


Rys. 7. Udział wolnych aminokwasów kształtujących „smak gorzki” w polędwicach surowo dojrzewających.

Fig. 7. Percent content of free amino acids that contribute to “bitter flavour” of ripening pork loins.

Za charakterystyczny mięsny, bulionowy smak i zapach odpowiedzialny jest kwas glutaminowy [6, 8]. Udział tego aminokwasu w polędwicach ze szczepem *Lb. acidophilus* Bauer (rys. 8) systematycznie wzrastał w czasie przechowywania –

z 3,28 % bezpośrednio po dojrzewaniu do 5,04 % po 2 miesiącach oraz do 7,92 % po 4 miesiącach. Największy udział kwasu glutaminowego bezpośrednio po dojrzewaniu zaobserwowano w próbie ze szczepem *Bifidobacterium bifidum* (6,35 %). Po dwóch miesiącach przechowywania w próbie ze szczepem *Lb. casei* ŁOCK 0900 oraz w próbie ze szczepem *Lb. acidophilus* Bauer udział kwasu glutaminowego wynosił ok. 5 %. Po czterech miesiącach stwierdzono największy udział aminokwasów kształtujących smak mięsny w próbie ze szczepem *Lb. acidophilus* Bauer (7,92 %).



Rys. 8. Udział wolnych aminokwasów kształtujących smak mięsny („umami”) w polędwicach surowo dojrzewających.

Fig. 8. Percent content of free amino acids that contribute to flavour of meat (“umami”) in ripening pork loins.

Odczuwany smak gorzki bezpośrednio po dojrzewaniu najwyżej oceniono w próbie kontrolnej (1,71 j.u.), natomiast najniżej – w próbie ze szczepem *Bifidobacterium bifidum* (1,4 j.u.). Po 2 i 4 miesiącach chłodniczego przechowywania najwyższą intensywność smaku gorzkiego odnotowano w próbie ze szczepem *Bifidobacterium bifidum* (1,8 i 2,12 j.u.), natomiast najniższą – po 2 miesiącach w próbie ze szczepem *Lb. casei* ŁOCK 0900 (1,45 j.u.) oraz po 4 miesiącach w próbie kontrolnej (1,32 j.u.). Nie wykazano jednak statystycznie istotnych różnic pod względem intensywności odczuwanego smaku gorzkiego. Intensywność smaku gorzkiego kształtowała się we wszystkich próbach w czasie całego okresu przechowywania na poziomie ok. 2 j.u. Za kształtowanie się smaku gorzkiego odpowiedzialne są wolne aminokwasy, takie jak: walina, metionina, izoleucyna, fenyloalanina i arginina oraz peptydy [1, 17, 27]. Zaobserwowano, że procentowy udział wolnych aminokwasów kształtujących smak gorzki (rys. 7) po dwóch miesiącach chłodniczego przechowywania zmniejszył się we wszystkich próbach w ogólnej ilości wolnych aminokwasów, w porównaniu z ich wartością po doj-

rzewaniu, z wyjątkiem próby ze szczepem *Lb. acidophilus* Bauer, w której odnotowano wzrost z 18,7 do 19,5 %. Po 4 miesiącach przechowywania zwiększył się udział aminokwasów gorzkich we wszystkich próbach. Najmniejsze ilości hydrofobowych aminokwasów w stosunku do pozostałych, odpowiedzialnych za tworzenie smaku gorzkiego, zaobserwowano w próbie kontrolnej (po dojrzewaniu – 16,4 %, po 2 miesiącach – 10 %, po 4 miesiącach – 13,2 %), natomiast największy – w próbie ze szczepem *Lb. casei* LOCK 0900 (po dojrzewaniu 20,6 %), w próbie ze szczepem *Lb. acidophilus* Bauer – po 2 miesiącach (19,5 %), a w próbie ze szczepem *Bifidobacterium bifidum* – po 4 miesiącach (24,6 %). Ocena sensoryczna smaku gorzkiego nie korespondowała z udziałem aminokwasów gorzkich. Może to być spowodowane blokowaniem ich wpływu przez większy udział aminokwasów słodkich i kwasu glutaminowego w badanych próbach. Udział aminokwasów kształtujących smak słodki oraz smak mięsny korzystnie wpływał na odbieranie wrażeń sensorycznych prób w czasie przechowywania. Udział tych aminokwasów wynosił ok. $26,03 \div 27,14$ % bezpośrednio po dojrzewaniu, $24,92 \div 31,28$ % po 2 miesiącach przechowywania oraz $32,15 \div 37,44$ % po 4 miesiącach, natomiast w próbie kontrolnej poziom ten był niższy i wynosił odpowiednio: 25,93, 30,97 i 29,51%.

Stwierdzono również, że wysoki poziom kwasu glutaminowego i alaniny pozytywnie wpływał na sensoryczny odbiór prób. Podobne tendencje zaobserwowali Casaburi i wsp. [7], którzy określili zmiany zawartości wolnych aminokwasów w kielbasach ze szczepami *Staphylococcus xylosus* oraz *Lactobacillus curvatus* i wykazali największe zawartości kwasu glutaminowego oraz alaniny w czasie dojrzewania.

Wnioski

1. Zastosowanie bakterii probiotycznych do produkcji polędwic surowo dojrzewających wpłynęło na zwiększenie udziału peptydów i wolnych aminokwasów w gotowym wyrobie mięsnym. Skutkowało to wzrostem ocen sensorycznych produktu, także w czasie chłodniczego przechowywania.
2. Zwiększenie intensywności wyróżników sensorycznych, takich jak smak mięsny czy smak słodki oraz zmiany w udziale peptydów i aminokwasów wskazuje na istotny udział probiotyków w proteolizie mięsa podczas fermentacji i przechowywania. Uzyskane wyniki badań wskazują na zasadność zastosowania bakterii probiotycznych jako kultur starterowych do produkcji wyrobów surowo dojrzewających.

Literatura

- [1] Ana San G., Hisayuki U.: Amino acid sensing in the gastrointestinal tract. Amino Acids. Springer-Verlag 2012.
- [2] Aro Aro J.M., Nyam-Osor P., Tsuji K., Shimada K-i., Fukushima M., Sekikawa M.: The effect of starter cultures on proteolytic changes and amino acid content in fermented sausages. Food Chem., 2010, **119** (1), 279-285.
- [3] Bailey J.L.: Techniques in protein chemistry. Elsevier Pub. Co., Amsterdam 1962, pp. 73-80.
- [4] Berge P., Ertbjerg P., Larsen L.M., Astruc T., Vignon X., Møller A.: Tenderization of beef by lactic acid injected at different times post mortem. Meat Sci., 2001, **57**, 347-357.
- [5] Candogan K., Wardlaw F.B., Acton J. C.: Effect of starter culture on proteolytic changes during processing of fermented beef sausages. Food Chem., 2009, **116** (3), 731-737.
- [6] Careri M., Mangia A., Barbieri G., Bolzoni L., Virgili R., Parolari G.: Sensory property relationships to chemical data of italian-type dry-cured ham. J. Food Sci., 1993, **58**, 968-972.
- [7] Casaburi A., Aristoy M.C., Cavella S., Di Monaco R., Ercolini D., Toldra F., Villani F.: Biochemical and sensory characteristics of traditional fermented sausages of vallo di diano (Southern Italy) as affected by use of starter cultures. Meat Sci., 2007, **76**, 295-307.
- [8] Flores M., Aristoy M.C., Antequera T., Barat J.M., Toldrá F.: Effect of brine thawing/salting on endogenous enzyme activity and sensory quality of Iberian dry-cured ham. Food Microbiol., 2012, **29** (2), 247-254.
- [9] Flores M., Toldrá F.: Microbial enzymatic activities for improved fermented meats. Trends Food Sci. Technol., 2011, **22** (2 - 3), 81-90.
- [10] Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L., Randall R.J.: Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 1951, **193**, 265-275.
- [11] Lücke F.K.: Utilization of microbes to process and preserve meat. Meat Sci., 2000, **56** (2), 105-115.
- [12] Martín A., Asensio M.A., Bermúdez M.E., Córdoba M.G., Aranda E., Córdoba J.J. : Proteolytic activity of *Penicillium chrysogenum* and *Debaryomyces hansenii* during controlled ripening of pork loins. Meat Sci. 2002, **62** (1), 129-137.
- [13] Mikami M., Nagao M., Sekikawa M., Miura H., Hongo Y.: Effect of electrical stimulation in peptide and free amino acid content of beef homogenate and sarcoplasm during storage. Jap. Animal Technol., 1994, **65**, 1034-1043.
- [14] Nam K.C., Ahn D.U.: Effects of ascorbic acid and antioxidants on the color of irradiated ground beef. J. Food Sci. 2003, **68** (5), 1686-1690.
- [15] Nowak M.: Rola kalpain w procesie kruszenia mięsa. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2005, **1** (42), 5-17.
- [16] O'Halloran G.R., Troy D.J., Buckley D.J., Reville W.J.: The role of endogenous proteases in the tenderisation of fast glycolysing muscle. Meat Sci., 1997, **47**, 187-210.
- [17] Ottinger H., Soldo T., Hofmann T.: Discovery and structure determination of a novel maillard-derived sweetness enhancer by application of the comparative taste dilution analysis (cTDA). J. Agric. Food Chem., 2003, **51**, 1035-1041.
- [18] Parreño M., Cussó R., Gil M., Sárraga C.: Development of cathepsin B, L and H activities and cystatin-like activity during two different manufacturing processes for Spanish dry-cured ham. Food Chem., 1994, **49**, 15-21.
- [19] PN-ISO 11035:1999. Analiza sensoryczna. Identyfikacja i wybór deskryptorów do ustalania profilu sensorycznego z użyciem metod wielowymiarowych.
- [20] PN-ISO 2917:2001. Mięso i przetwory mięsne. Pomiar pH (metoda odwoławcza).
- [21] PN-ISO 6658:1998. Analiza sensoryczna. Metodologia. Wytyczne ogólne.

- [22] PN-ISO 8586-2:1996. Analiza sensoryczna. Ogólne wytyczne wyboru, szkolenia i monitorowania oceniających – Eksperci.
- [23] Pomponio L., Ertbjerg P., Karlsson A.H., Costa L.N., Lametach R.: Influence of early pH decline on calpain activity in porcine muscle. *Meat Sci.*, 2010, **85**, 110-114.
- [24] Rivas-Cañedo A., Fernández-García E., Nuñez M.: Volatile compounds in dry-cured Serrano ham subjected to high pressure processing. Effect of the packaging material. *Meat Sci.*, 2009, **82 (2)**, 162-169.
- [25] Roseiro L.C., Gomes A., Gonçalves H., Sol M., Cercas R., Santos C.: Effect of processing on proteolysis and biogenic amines formation in a Portuguese traditional dry-fermented ripened sausage “Chouriço Grosso de Estremoz e Borba PGI”. *Meat Sci.*, 2010, **84 (1)**, 172-179.
- [26] Salgado A., García Fontán M. C., Franco I., López M., Carballo J.: Biochemical changes during the ripening of *Chorizo de cebolla*, a Spanish traditional sausage. Effect of the system of manufacture (homemade or industrial). *Food Chem.*, 2005, **92 (3)**, 413-424.
- [27] Soldo T., Blank I., Hofmann T.: (+)-(*S*)-Alapyridaine – a general taste enhancer ? *Chem. Senses.*, 2003, **28**, 371-379.
- [28] Soto E., Hoz L., Ordóñez J.A., Hierro E., Herranz B., López-Bote C., Cambero M.I.: Volatile profile and sensory characteristics of dry-cured loins as affected by feeding level in the period previous to the late fattening phase and by rearing system of iberian pigs. *J. Muscle Foods*, 2010, **21**, 636-657.
- [29] Toldra F., Rico E., Flores J.: Activities of pork muscle proteases in model cured meat systems. *Biochimie*, 1992, **74**, 291-296.
- [30] Zhao G.M., Zhou G.H., Wang Y.L., Xu X.L., Huan Y.J., Wu J.Q.: Time-related changes in cathepsin B and L activities during processing of Jinhua ham as a function of pH, salt and temperature. *Meat Sci.*, 2005, **70 (2)**, 381-388.

EFFECT OF PROBIOTIC BACTERIA ON FREE AMINO ACID PROFILE AND SENSORY TRAITS OF RAW-RIPENING PORK SIRLOIN DURING STORAGE

S u m m a r y

The objective of the research study was to determine the effect of probiotic bacteria strains on a free amino acid profile and sensory indicators of raw ripening sirloins.

The research material consisted of raw ripening pork sirloins with probiotic strains (*Lb. casei* LOCK 0900, *Lb. acidophilus* Bauer, *Bifidobacterium bifidum*); the material was assessed immediately after ripening and after 2- and 4-month cold storage. Four experimental sample variants were prepared: control sample without any probiotic strain, sample with *Lb. casei* LOCK 0900 strain, sample with *Lb. acidophilus* Bauer strain, and sample with *Bifidobacterium bifidum* strain. The analyses comprised the determination of the level of peptides and of the profile of free amino acids, and the sensory assessment.

It was found that the addition of probiotic bacteria affected sensory quality indicators of the product. The control sample was characterized by a lower sensory quality during the entire storage period compared to the samples with probiotics. Immediately after ripening, the sirloin sample with *Bifidobacterium bifidum* strain (9 j.u.) was rated as the best, and after 2- and 4- month storage, the sirloin sample with *Lb. acidophilus* Bauer strains (9.2 and 8.94 j.u., respectively). During cold storage, the best rated was the “taste of dried meat” indicator of the sample with a *Lb. acidophilus* Bauer (3.97 j.u. strain after ripening and 4.11 j.u. after 2 months, and 4.61 j.u. after 4 months); also, that sample was characterized by a high content of glutamic acid (0.49 mg/g, 1.15 mg/g, and 1.39 mg/g, respectively). Furthermore, a statistically

significant increase, from 19.24 mg/g to 28.74 mg/g, was found in the content of free amino acid in the control sample after 4-month refrigerated storage. The sample with *Lb. acidophilus* Bauer strain contained more peptides: after ripening: 3.99 mg/g, after 2 months: 3.95 mg/g, and after 4 months: 3.43 mg/g compared to the control sample (after ripening: 3.53 mg/g, after 2 months: 3.9 mg/g, and after 4 months of storage 3.36 mg/g, respectively).

Key words: ripening sirloin, probiotics, amino acids, sensory assessment ☒

MONIKA SKWAREK, ZBIGNIEW J. DOLATOWSKI,
DANUTA KOŁOŻYN-KRAJEWSKA

WPLYW NAPARU ZIELONEJ HERBATY I SPROSZKOWANEJ PAPRYKI NA BARWĘ PROBIOTYCZNYCH SZYNEK SUROWO DOJRZEWAJĄCYCH

Streszczenie

Celem pracy była ocena wpływu naparu zielonej herbaty oraz sproszkowanej papryki na parametry i trwałość barwy wieprzowych, probiotycznych szynek surowo dojrzewających podczas przechowywania. Przygotowano cztery warianty prób: K – bez dodatku probiotyku, LG – z dodatkiem probiotyku *Lactobacillus casei* ŁOCK 0900, LGH – z dodatkiem probiotyku i ekstraktu zielonej herbaty oraz próbę LGP – z dodatkiem probiotyku i sproszkowanej papryki. W próbach oznaczano: kwasowość, potencjał oksydacyjno-redukcyjny, parametry i trwałość barwy w systemie CIE L*a*b*. Dokonano analizy liczby bakterii kwasu mlekowego (LAB). Badania prowadzono bezpośrednio po dojrzewaniu wyrobu oraz po 5-miesięcznym okresie przechowywania w temp. 4 °C w warunkach beztlenowych.

Bezpośrednio po zakończeniu procesu dojrzewania stwierdzono istotne ($p \leq 0,05$) różnice pod względem kwasowości (pH) szynek w zależności od zastosowanych dodatków. Najniższymi wartościami pH charakteryzowały się próby LGP (pH = 5,19) oraz LG (pH = 5,34). Zaobserwowano wpływ dodatku naparu herbaty zielonej na otrzymanie szynek o najwyższych wartościach pH (6,05). Po upływie 5 miesięcy przechowywania najbardziej stabilne wartości pH (wzrost o 0,05 jednostki) obserwowano w próbce LGH. Zastosowanie naparu zielonej herbaty i sproszkowanej papryki do produkcji probiotycznych szynek surowo dojrzewających ze szczepem *Lactobacillus casei* ŁOCK 0900 wpłynęło na zahamowanie całkowitej zmiany barwy wyrobu podczas ekspozycji powierzchni na promieniowanie słoneczne rozproszone oraz podczas 5-miesięcznego przechowywania. Próby z dodatkami herbaty i papryki charakteryzowały się blisko dwukrotnie niższą całkowitą zmianą barwy podczas 5 miesięcy przechowywania (1,25 ÷ 1,68 jednostki) w porównaniu z próbą kontrolną (3,05 jednostki). Nie zaobserwowano wpływu dodatku zielonej herbaty i papryki na liczbę bakterii kwasu mlekowego.

Słowa kluczowe: szynka dojrzewająca, bakterie *Lb. casei* ŁOCK 0900, zielona herbata, papryka, barwa

Mgr inż. M. Skwarek, prof. dr hab. Z. J. Dolatowski, Katedra Technologii Mięsa i Zarządzania Jakością, Wydz. Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Skromna 8, 20-704 Lublin, prof. dr hab. D. Kołożyn-Krajewska, Katedra Technologii Gastronomicznej i Higieny Żywności, Wydz. Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa. Kontakt: monika.skwarek@up.lublin.pl

Wprowadzenie

Ważnym wyróżnikiem jakości produktów mięsnych jest barwa. Zależy ona od zawartości mioglobiny, hemoglobiny oraz stanu fizykochemicznego tkanki mięśniowej. Przy wysokim pH mięsa żelazo hemu występuje głównie w postaci Fe^{2+} , natomiast przy niskim pH następuje przyspieszenie konwersji Fe^{2+} do Fe^{3+} , w wyniku czego powstaje metmioglobina ($MbFe^{3+}$) o szaro-brązowej barwie. Brązowy lub szaro-brązowy odcień barwy jest związany z wyższymi wartościami parametru b^* barwy [7]. $MbFe^{3+}$ może reagować z innymi grupami, co prowadzi do powstania zielonych, żółtych lub nawet ciemnobrązowych odcieni barwy. W obecności substancji tiolowych mioglobina może być odwracalnie zredukowana do sulfmioglobiny, która wykazuje silną absorpcję światła w czerwonym zakresie widma [6]. W obecności innych substancji redukujących, jak kwas askorbinowy lub silnych utleniaczy, takich jak H_2O_2 , pierścień porfiryновый mioglobiny może się utleniać i prowadzić do powstania cholemioglobiny, wykazującej maksimum absorpcji światła przy $\lambda = 628$ nm i wizualną zieloność [9].

Chemiczny charakter reakcji tworzenia barwy surowo dojrzewającej szynki parmeńskiej [21] może być związany z niskocząsteczkowymi związkami utleniającymi, powstającymi podczas dojrzewania, w szczególności z peptydami lub aminokwasami z proteolizy białek, które mogą odgrywać istotną rolę jako ligandy żelaza w mioglobinie. Jak podają Møller i wsp. [15], barwa szynki parmeńskiej jest wynikiem powolnego tworzenia kompleksu Zn-protoporfiryny IX, powstającego z podstawowej formy Mb, w której Fe^{2+} zostało zastąpione Zn^{2+} . W innych produktach mięsnych, gdy istnieje kontakt mioglobiny z tlenem lub związkami azotowymi, kompleks ten powstaje w mniejszym stopniu [1].

W technologii produkcji wyrobów krótko dojrzewających typowa barwa produktu jest zwykle wynikiem dodatku azotanów(V) i/lub azotanów(III). Same azotany(V) nie wytwarzają pożądanej barwy i muszą być zredukowane do azotanów(III) za pośrednictwem reduktazy azotanowej wytwarzanej przez mikroorganizmy. Azotany(III) w wyniku działania substancji redukujących są przekształcane do NO, który z mioglobina tworzy nitrozylomioglobinę. Za charakterystyczną barwę peklowanych szynek surowo dojrzewających odpowiedzialny jest kompleks nitrozomioglobiny ($MbFe(II)NO$) [3].

Celem niniejszej pracy była ocena wpływu naparu zielonej herbaty oraz sproszkowanej papryki na trwałość barwy probiotycznej szynki surowo dojrzewającej.

Material i metody badań

Do wyrobu szynek użyto mięsa świń rasy wielka biała polska, 48 h po uboju, bez wad jakościowych. Mięśnie pozyskano ze zwierząt o masie przyżyciowej $120 \div 140$ kg. Szynka stanowiła wykrojony element mięśni o masie ok. $1,2 \div 1,5$ kg. Wy-

chłodzony surowiec mięsny peklowano 3-procentowym dodatkiem mieszanki peklującej o składzie: 0,084 g NaNO₂, 0,15 g NaNO₃, 29,76 g NaCl, w temp. 4 °C przez 48 h. Po zakończonym procesie peklowania dodawano glukozę (0,8 %) oraz szczep bakterii probiotycznych *Lactobacillus casei* LOCK 0900 o udokumentowanych właściwościach probiotycznych [8]. Szczep przygotowano w Zakładzie Higieny i Zarządzania Jakością SGGW w Warszawie. Liczba bakterii probiotycznych wynosiła 2×10^7 jtk/g produktu. Przygotowano cztery warianty wyrobów (tab. 1): K, LG, LGH, LGP. Ekstrakt zielonej herbaty sporządzano z odmiany 'Formosa Lung Ching' (SinAss – Tea Handel GmbH & Co KG). Ekstrakt przygotowywano z 4 g herbaty parzonej 5 min w 100 ml wody o temp. 85 °C. Ekstrakt sporządzano bezpośrednio przed użyciem i po wychłodzeniu dodawano 15 ml na 1 kg mięsa. Wysuszone, sproszkowane owoce papryki słodkiej i ostrej (firmy Prymat) mieszano w proporcji 1 : 1, a następnie nanoszono powierzchniowo na szynkę w ilości 0,25 % w stosunku do masy mięsa. Proces dojrzewania prowadzono w temp. 16 °C i wilgotności 70 ÷ 85 % przez 28 dni. Wyroby poddawano ocenie bezpośrednio po procesie dojrzewania oraz po 5 miesiącach chłodniczego przechowywania (4 °C) w warunkach beztlenowych, bez dostępu światła.

Tabela 1. Warianty badawcze.

Table 1. Research variants.

| Warianty Variants | Dodatek mikroorganizmów Micro-organisms added | Inne dodatki Other supplements |
|----------------------|--|---|
| K | - | - |
| LG | <i>Lactobacillus casei</i> LOCK 0900 | - |
| LGH | <i>Lactobacillus casei</i> LOCK 0900 | Napar herbaty zielonej / Green tea infusion |
| LGP | <i>Lactobacillus casei</i> LOCK 0900 | Papryka / Pepper |

Kwasowość czynną (pH) mierzono za pomocą cyfrowego pH-metru CPC-501 (Elmetron), wyposażonego w elektrodę zespoloną ERH-111 (Hydromet). Wyroby mięsne wstępnie rozdrabniano w wilku (\varnothing otworów 2 mm), następnie odważano próbki o masie 10 g i homogenizowano przez 1 min (18000 obr./min, Bamix of Switzerland) z 50 cm³ wody destylowanej. Pomiaru kwasowości otrzymanej zawiesiny dokonywano w temp. 20 °C.

Pomiaru potencjału oksydacyjno-redukcyjnego (ORP) dokonywano metodą Nam i Ahn [16], z wykorzystaniem cyfrowego pH/konduktometru CPC-501 (Elmetron) i przy użyciu elektrody zespolonej ERPt-13. Zawiesinę przygotowano analogicznie jak w przypadku oznaczenia kwasowości. Pomiar wykonywano w temp. 20 °C. Uzyskany wynik przeliczano na wartość potencjału redox względem standardowej elektro-

dy wodorowej E_H , w mV. W tym celu do zmierzonej wartości potencjału E_m dodano znaną wartość potencjału elektrody odniesienia ($E_{odn} = 211$ mV w temp. 20 °C).

Analizy mikrobiologiczne przeprowadzano z zastosowaniem automatycznego systemu pomiaru liczby drobnoustrojów – TEMPO® (bioMerieux).

Pomiaru parametrów barwy dokonywano w temp. 20 °C, metodą odbiciową [7] przy użyciu spektrofotometru sferycznego firmy X-Rite (USA) z otworem pomiarowym o średnicy 25,4 mm. Plastry o grubości 15 mm zawijano w bezbarwną, przylegającą folię do żywności. Stosowano źródło światła D65 i standardowy obserwator kolorymetryczny o polu widzenia 10°. Wyniki wyrażano w jednostkach (CIE) $L^*a^*b^*$.

Na podstawie wartości parametrów barwy L^* , a^* , b^* poszczególnych prób obliczano całkowitą zmianę barwy podczas naświetlania i chłodniczego przechowywania, zgodnie z równaniem: $\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$, gdzie: $\Delta E^*_{0 \text{ mies.}}$ – całkowita zmiana barwy wyrobu podczas 3 h naświetlania promieniowaniem słonecznym rozproszonym, pomiar w 60-minutowych odstępach czasu, badanie wyrobu bezpośrednio po produkcji; $\Delta E^*_{5 \text{ mies.}}$ – całkowita zmiana barwy wyrobu podczas 3 h naświetlania promieniowaniem słonecznym, pomiar w 60-minutowych odstępach czasu, badanie wyrobu przechowywanego 5 miesięcy; $\Delta E^*_{0-5 \text{ mies.}}$ – całkowita zmiana barwy podczas 5-miesięcznego przechowywania. Naświetlanie światłem słonecznym rozproszonym przeprowadzano w analogicznych warunkach atmosferycznych. Próby umieszczano w odległości 50 cm od okna skierowanego w kierunku zachodnim, godziny naświetlania 8.00 - 11.00. Zmiana barwy $\Delta E^*_{0-5 \text{ mies}}$ podczas 5-miesięcznego przechowywania została policzona dla prób niepoddawanych naświetlaniu.

Doświadczenie realizowano na trzech partiach wyrobów mięsnych, w trzech równoległych oznaczeniach każdego ze wskaźników pomiaru. Określenia zmienności wyników dokonywano metodą analizy wariancji, obliczając istotność różnic między wartościami średnimi na poziomie istotności $p = 0,05$, testem T-Tukeya.

Wyniki i dyskusja

Po zakończeniu procesu dojrzewania stwierdzono istotne ($p \leq 0,05$) różnice pod względem kwasowości (pH) szynek w zależności od zastosowanych dodatków (tab. 2). Najniższymi wartościami pH charakteryzowały się próby LGP (pH = 5,19) oraz LG (pH = 5,34). Zaobserwowano wpływ dodatku naparu zielonej herbaty na otrzymanie szynek o najwyższych wartościach pH (6,05). Odmienne wyniki otrzymał Bozkurt [5], który w badaniach tradycyjnej tureckiej kielbasy dojrzewającej z dodatkiem zielonej herbaty nie wykazał jej wpływu na kwasowość otrzymanego produktu.

Po upływie 5 miesięcy przechowywania obserwowano istotny ($p \leq 0,05$) wzrost wartości pH wszystkich wariantów szynek. Najbardziej stabilne wartości pH (wzrost o 0,05 jednostki) obserwowano w przypadku próby LGH, wyprodukowanej z dodat-

kiem bakterii probiotycznych oraz naparu herbaty. Podczas 5-miesięcznego przechowywania największymi zmianami pH (wzrost pH o 0,53 jednostki) charakteryzowała się próba LGP, co według Blesa i wsp. [4] może być spowodowane wyższą aktywnością enzymatyczną i/lub wyższym wzrostem drobnoustrojów przyczyniających się do wzrostu pH.

Tabela 2. Wartości pH, potencjału oksydacyjno-redukcyjnego (ORP) oraz liczby bakterii LAB szynek wieprzowych surowo dojrzewających.

Table 2. Values of pH, ORP and the number of lactic acid bacteria (LAB) of raw ripening hams.

| Wyróżniki Characteristics | Czas przechowywania Time storage | Warianty / Variants | | | |
|------------------------------|--|-------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| | | K ($\bar{x} \pm s / SD$) | LG ($\bar{x} \pm s / SD$) | LGH ($\bar{x} \pm s / SD$) | LGP ($\bar{x} \pm s / SD$) |
| pH | 0 mies. / 0 mths | 5,84 ^{aA} ± 0,09 | 5,34 ^{bA} ± 0,03 | 6,05 ^{cA} ± 0,02 | 5,19 ^{dA} ± 0,04 |
| | 5 mies. / 5 mos | 6,09 ^{aB} ± 0,01 | 5,56 ^{bB} ± 0,07 | 6,10 ^{aB} ± 0,03 | 5,73 ^{dB} ± 0,07 |
| ORP [mV] | 0 mies. / 0 mos | 278,6 ^{aA} ± 2,55 | 251,2 ^{bA} ± 3,23 | 249,0 ^{bA} ± 1,41 | 276,8 ^{aA} ± 3,93 |
| | 5 mies. / 5 mos | 305,6 ^{aB} ± 16,27 | 261,7 ^{bcB} ± 7,02 | 241,7 ^{bdB} ± 6,30 | 257,1 ^{cdB} ± 5,18 |
| LAB [log jtk/g] | 0 mies. / 0 mos | 5,96 ^{aA} ± 0,29 | 7,95 ^{bA} ± 0,41 | 7,46 ^{bA} ± 0,34 | 7,03 ^{bA} ± 0,52 |
| | 5 mies. / 5 mos | 5,17 ^{aB} ± 0,41 | 6,71 ^{bb} ± 0,28 | 6,47 ^{bb} ± 0,50 | 6,08 ^{bb} ± 0,44 |

Objaśnienia: / Explanatory notes:

$\bar{x} \pm s / SD$ – wartość średnia ± odchylenie standardowe / mean value ± standard deviation; n = 9; wartości średnie oznaczone tymi samymi dużymi literami (A, B) w obrębie tej samej próby i małymi literami (a, b) pomiędzy różnymi próbkami nie różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) / mean values denoted by the same capital letters (A, B) within the same sample and by small letters (a, b) among different samples do not differ statistically significantly ($p \leq 0.05$).

Najniższe wartości potencjału oksydacyjno-redukcyjnego (tab. 2) bezpośrednio po dojrzewaniu, wskazujące na redukcję układu podczas procesu produkcyjnego, obserwowano w próbce LGH (249,0 mV). Wpływ na obniżenie wartości redoks w tej próbce miały związki aktywne zielonej herbaty, głównie katechiny i inne polifenole, które wpływają na stabilność oksydacyjną wyrobów mięsnych [2, 5]. Niskie wartości potencjału oksydacyjno-redukcyjnego (251,2 mV) stwierdzono również w próbce LG, co można tłumaczyć wysoką liczbą bakterii LAB i możliwym hamowaniem innych drobnoustrojów zwiększających ORP. Istotnie wyższe wartości ORP, świadczące o wzroście zdolności systemu do pobierania elektronów, czyli utleniania, stwierdzono w próbce kontrolnej (278,6 mV) oraz w próbce LGP (276,8 mV). Wzrost ORP w próbce kontrolnej był wynikiem braku w niej substancji redukujących. Możliwe, że jest to również wynik rozwoju innych drobnoustrojów, na co wskazuje niski poziom LAB.

Po 5 miesiącach przechowywania szynek największy wzrost (o 27 mV) oraz najwyższe wartości ORP (305,6 mV) obserwowano w próbie kontrolnej. Wzrost ten był prawdopodobnie wynikiem wpływu naturalnie rozwijającej się mikroflory i jej aktywności enzymatycznej. W przypadku prób LGP i LGH obserwowano obniżenie wartości ORP o ok. $8 \div 10$ mV w porównaniu z wartościami bezpośrednio po dojrzewaniu. Wpływ na obniżenie potencjału oksydacyjno-redukcyjnego tych prób miała prawdopodobnie duża zawartość związków przeciwutleniających zawartych w herbacie zielonej (galokatechiny, epigalokatechiny, galusan epigalokatechiny) i papryce (kwercetyna, luteolina, kwasy fenolowe, kapsaicynoidy, tokoferole, karotenoidy) [13, 20]. Statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) różnice i niższe wartości ORP obserwowano w próbie z dodatkiem probiotyku w porównaniu z próbą kontrolną. Prawdopodobne jest, że przyczyną obniżenia wartości potencjału oksydacyjno-redukcyjnego mogły być wytworzone warunki do przyspieszenia zmian proteolitycznych, prowadzących do powstania peptydów o właściwościach przeciwutleniających, co zostało potwierdzone w badaniach Escudero i wsp. [10]. Dużą rolę mogła pełnić kwasowość aktywująca działanie proteaz [10].

Wyniki badań mikrobiologicznych bezpośrednio po procesie dojrzewania szynek (tab. 2) wykazały, że liczba bakterii LAB w wariantach z dodatkiem szczepu bakterii *Lactobacillus casei* LOCK 0900 była wyższa o około 2 rzędy logarytmiczne w porównaniu z próbą kontrolną. Wskazuje to na namnażanie szczepu probiotycznego. Wartości te kształtowały się na poziomie od 5,96 log jtk/g w próbie K do 7,95 log jtk/g w próbie LG. Podobne wyniki uzyskali Neffe-Skocińska i wsp. [17] oraz Neffe i Kołożyn-Krajewska [18]. W ich doświadczeniach szczep bakterii probiotycznych *Lactobacillus casei* LOCK 0900 wprowadzony do zapeklowanych połędwic wieprzowych rozmnażał się i wpływał na wzrost liczby LAB do $10^7 \div 10^8$ jtk/g produktu.

Po 5 miesiącach przechowywania w warunkach beztlenowych, w temp. 4 °C, we wszystkich szynkach liczba bakterii kwasu mlekowego obniżyła się (o około 1 rząd logarytmiczny) i kształtowała się na poziomie od 5,17 log jtk/g w próbie K do 6,7 log jtk/g w próbie LG. Zarówno bezpośrednio po wyprodukowaniu, jak i po przechowywaniu, nie zaobserwowano istotnych ($p \leq 0,05$) różnic w wartościach LAB pomiędzy próbą LG a próbami z dodatkiem naparu zielonej herbaty (LGH) lub sproszkowanej papryki (LGP).

Wartości parametru L* barwy szynek surowo dojrzewających (tab. 3) bezpośrednio po produkcji były niższe w próbie LGH (o około 3 jednostki) oraz w próbie LG (o około 2,8 jednostki) w porównaniu z próbą K. Tendencje te wynikały prawdopodobnie ze zwiększonej redukcyjności układu, na co wskazują niższe wartości potencjału oksydacyjno-redukcyjnego (tab. 2).

W wyniku przeprowadzonych badań trwałości barwy szynek podczas ekspozycji powierzchni przekroju na promieniowanie słoneczne (tab. 3), zaobserwowano wpływ

zielonej herbaty (próba LGH) i papryki (próba LGP) na pociemnienie barwy o około 1 jednostkę w ciągu 3 h naświetlania. Ciemnienie barwy na przekroju produktu mogło być związane z ochronnym działaniem związków biologicznie aktywnych, przeciwutleniaczy wiążących wolne rodniki, zawartych w zielonej herbacie i papryce, na formę żelaza hemowego Fe^{2+} w cząsteczce mioglobiny. Obniżenie wartości parametru L^* barwy (o około 0,9 jednostki po 3 h naświetlania) zaobserwowano także w przypadku próby kontrolnej, w której oznaczono najniższą liczbę bakterii kwasu mlekowego. W przypadku próby LG, o najwyższej liczbie bakterii LAB, wartości parametru L^* po 3 h naświetlania promieniowaniem słonecznym wzrosły o 1,3 jednostki. Podobne wyniki otrzymał Perez-Alvarez [19], który badał mięsne wyroby surowo dojrzewające i wykazał, że wzrost poziomu drobnoustrojów i wzrost kwasowości wyrobu może wpłynąć na wzrost jasności produktu.

Wartości parametru a^* barwy zmierzone bezpośrednio po produkcji kształtowały się na poziomie od 8,27 jednostek w przypadku próby K do 10,95 w próbie LG. Wraz z upływem czasu naświetlania we wszystkich próbach zaobserwowano obniżenie udziału barwy czerwonej (a^*). Największy spadek parametru a^* barwy (4 jednostki po 3 h naświetlania) zaobserwowano w przypadku próby LG. W próbach z zieloną herbatą (LGH) i papryką (LGP) obniżenie wartości parametru a^* barwy było na zbliżonym poziomie i wynosiło około 2,7 jednostki. Najmniejszą zmianą czerwonej barwy pod wpływem promieniowania słonecznego (1,6 jednostki) charakteryzowała się próba kontrolna, co mogło być spowodowane wyższymi wartościami pH i zachowaniem żelaza hemu głównie w stanie Fe^{2+} . Zaobserwowane zmniejszenie udziału barwy czerwonej w wyniku reakcji fotochemicznych, czyli dostarczenia do układu wolnych elektronów energii promieniowania elektromagnetycznego (światła) związane jest z utlenieniem żelaza hemowego w cząsteczce $MbFe^{2+}NO$ z Fe^{2+} do Fe^{3+} . Jak podaje Brewer [6], im niższe wartości pH, tym szybsza jest konwersja Fe^{2+} do Fe^{3+} w cząsteczce mioglobiny, prowadząca do powstania formy $MbFe^{3+}$ i brązowego odcienia barwy. García-Marcos i wsp. [12] sugerują, że główną przyczyną zmniejszenia udziału barwy czerwonej w wyrobach surowo dojrzewających, a więc parametru a^* , jest kwas mlekowy, który może częściowo lub całkowicie denaturować barwniki hemowe, prowadzić do utlenienia centralnego atomu żelaza i powstania formy metmioglobiny ($MbFe^{3+}$). Powstały w wyniku tej reakcji brązowy lub szaro-brązowy odcień jest często związany z wyższymi wartościami parametru b^* barwy.

W niniejszych badaniach największy udział barwy żółtej ($b^* = 7,73$) przy jednocześnie najwyższych wartościach parametru $a^* = 10,95$ zaobserwowano w próbie LG. Najniższym udziałem barwy żółtej ($b^* = 5,55$) charakteryzowała się próba z naparem zielonej herbaty.

Wraz z upływem czasu działania promieniowania słonecznego w większości prób (z wyjątkiem PG) zaobserwowano wzrost wartości parametru b^* barwy, co świadczy

o „żółceniu” wyrobów. Powstanie zielonkawej lub szaro-brązowej barwy mogło być wynikiem tworzenia tlenku żelaza w trakcie naświetlania barwników hemowych lub wpływu wolnych rodników, takich jak hydroksylowy i siarkowy, które według Brewera [6] w wyniku naświetlania mogą reagować z metmioglobina, prowadząc do powstania brązowej czy zielonej barwy.

Tabela 3. Wartości parametrów barwy L*, a* i b* szynek wieprzowych surowo dojrzewających podczas naświetlania promieniowaniem słonecznym (1 - 3 h); badania bezpośrednio po produkcji.

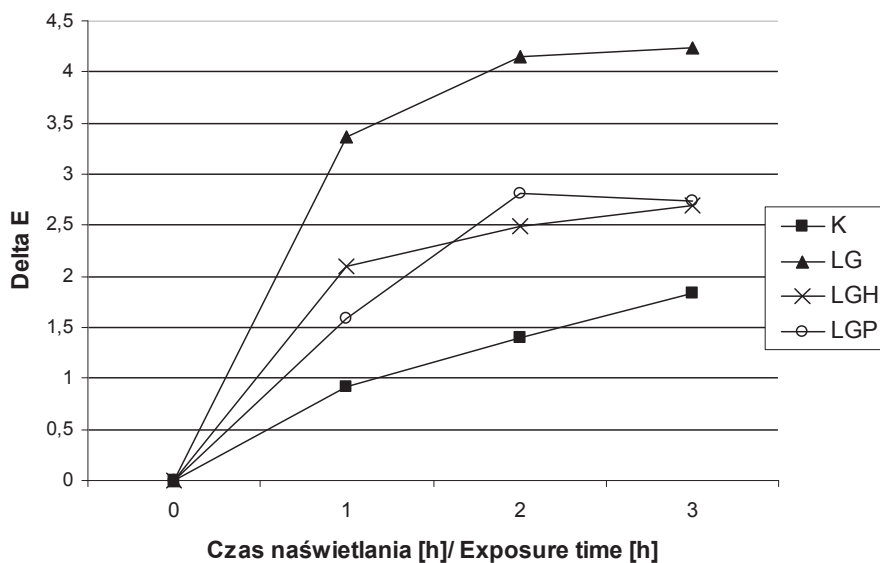
Table 3. Values of CIE L* a* b* colour parameters of raw ripening pork hams while exposed to daylight (1-3 h); analysis performed immediately after production).

| Parametry barwy Colour parameters | Warianty / Variants | | | |
|--------------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| | K ($\bar{x} \pm s / SD$) | LG ($\bar{x} \pm s / SD$) | LGH ($\bar{x} \pm s / SD$) | LGP ($\bar{x} \pm s / SD$) |
| Parametr L* / L* parameter | | | | |
| 0 h | 46,92 ^{aA} ± 2,09 | 44,13 ^{aA} ± 2,00 | 43,96 ^{aA} ± 4,44 | 46,25 ^{aA} ± 2,21 |
| 1 h | 47,36 ± 0,68 | 45,97 ± 2,36 | 42,88 ± 3,14 | 45,85 ± 2,00 |
| 2 h | 46,42 ± 1,66 | 46,36 ± 1,56 | 42,45 ± 2,13 | 44,08 ± 1,06 |
| 3 h | 46,01 ^{aA} ± 0,90 | 45,42 ^{aA} ± 1,80 | 42,81 ^{aA} ± 3,40 | 45,89 ^{aA} ± 0,62 |
| Parametr a* / a* parameter | | | | |
| 0 h | 8,27 ^{aA} ± 0,91 | 10,95 ^{bA} ± 0,85 | 8,38 ^{aA} ± 0,79 | 9,05 ^{abA} ± 1,23 |
| 1 h | 7,72 ± 2,10 | 9,17 ± 1,35 | 6,69 ± 0,17 | 7,57 ± 0,46 |
| 2 h | 7,09 ± 2,15 | 8,47 ± 0,80 | 6,42 ± 0,40 | 7,30 ± 0,20 |
| 3 h | 6,68 ^{abA} ± 1,37 | 7,91 ^{ab} ± 1,39 | 5,95 ^{bb} ± 0,54 | 6,33 ^{abB} ± 0,73 |
| Parametr b* / b* parameter | | | | |
| 0 h | 6,40 ^{abA} ± 1,14 | 7,73 ^{aA} ± 0,73 | 5,55 ^{bA} ± 0,57 | 7,02 ^{aA} ± 0,72 |
| 1 h | 7,00 ± 1,44 | 7,31 ± 0,71 | 4,95 ± 0,48 | 7,41 ± 0,64 |
| 2 h | 6,96 ± 0,96 | 7,35 ± 0,32 | 5,76 ± 0,60 | 7,46 ± 0,20 |
| 3 h | 7,13 ^{aA} ± 0,74 | 7,52 ^{aA} ± 0,75 | 6,51 ^{aA} ± 1,33 | 7,80 ^{aA} ± 1,07 |

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

Wyniki (rys. 1) charakteryzujące całkowitą zmianę barwy szynek (bezpośrednio po wyprodukowaniu) pod wpływem promieniowania słonecznego wykazały istotne ($p \leq 0,05$) różnice w trwałości barwy wyrobów w zależności od zastosowanych dodatków. Największe, pogłębiające się zmiany barwy w trakcie 3 h działania światła wystąpiły w próbie LG ($\Delta E^*_{0 \text{ mies}} = 4,2$). Prawdopodobną przyczyną większych zmian ΔE^* podczas ekspozycji na promieniowanie słoneczne było niższe pH, przyspieszające utlenianie żelaza hemowego z Fe^{2+} do Fe^{3+} . W przypadku próby LGP również zaobserwowano niskie pH, ale i mniejszą zmianę ΔE^* , co sugeruje, że związki fenolowe

papryki działały redukująco, chroniąc tym samym barwniki hemowe. Najmniejszą całkowitą zmianę barwy przekroju ($\Delta E^*_{0 \text{ mies.}} = 2,8$) stwierdzono w próbie kontrolnej, w której nie stosowano dodatku szczepu bakterii *Lactobacillus casei* ŁOCK 0900, a liczba naturalnie rozwijających się bakterii kwasu mlekowego była niższa o 2 rzędy logarytmiczne. Wartości $\Delta E^*_{0 \text{ mies.}}$ w przypadku prób z zieloną herbatą i papryką, były niższe w porównaniu z próbą LG i wyższe w porównaniu z próbą kontrolną, co wskazuje na hamujące działanie dodanych związków na zmiany barwy.



Rys. 1. Całkowita zmiana barwy szynek wieprzowych surowo dojrzewających podczas naświetlania promieniowaniem słonecznym; badania bezpośrednio po dojrzewaniu ($\Delta E^*_{0 \text{ mies.}}$).

Fig. 1. Total change in colour of raw ripening pork hams while exposed to daylight; analysis immediately after maturation ($\Delta E^*_{0 \text{ mies/mos.}}$).

Kolejnym istotnym zagadnieniem trwałości szynek surowo dojrzewających jest stabilność ich barwy podczas przechowywania. Po 5 miesiącach składowania najniższymi wartościami parametru L^* barwy ($L^* = 43,91$) charakteryzowała się próba LGH (tab. 4). Najwyższe wartości parametru L^* barwy obserwowano w próbie LGP ($L^* = 47,35$). W przypadku próby K i LG wartości parametru L^* kształtowały się na zbliżonym poziomie i wynosiły około 45,74 jednostki. Wartości parametru a^* barwy po przechowywaniu wynosiły od 8,05 w przypadku próby LGP do 9,67 w przypadku próby LG. Różnice te nie były jednak statystycznie istotne ($p \leq 0,05$).

Największy ubytek udziału barwy czerwonej (o około 2,3 jednostki) podczas 5-miesięcznego przechowywania zaobserwowano w próbie LG. Zmniejszenie udziału barwy czerwonej wynikało prawdopodobnie z postępujących przemian dojrzewalni-

czych, takich jak utlenianie tłuszczu i proteoliza, w wyniku których powstają niskocząsteczkowe związki utleniające, oddające elektrony innym atomom, wpływając tym samym na utlenienie formy nitrozomioglobiny. Zmiany barwy wyrobów podczas przechowywania mogły być wynikiem wpływu działalności enzymów własnych, pochodzenia mikrobiologicznego, nadtlenu wodoru i innych procesów fizykochemicznych. Prawdopodobne jest, że reakcje mogą zachodzić szybciej, gdy liczba bakterii LAB i zawartość kwasu mlekowego jest większa. Podobne zależności wykazali García-Marcos i wsp. [12], którzy zmiany wartości parametru a^* barwy podczas przechowywania szynek surowo dojrzewających przypisali działaniu kwasu mlekowego na różne formy mioglobiny, twierdząc, że kwas ten poprzez denaturację białek zmniejsza czerwoność barwy.

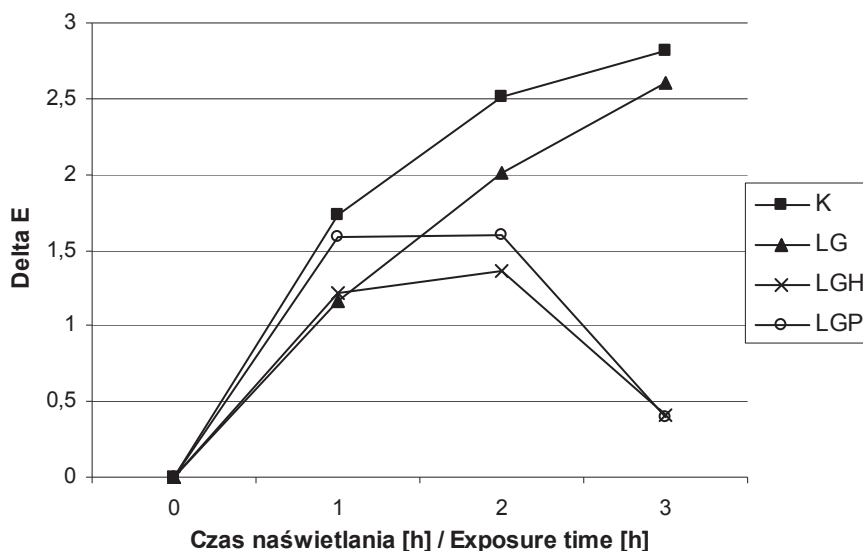
Tabela 4. Wartości parametrów barwy L^* , a^* i b^* szynek wieprzowych surowo dojrzewających podczas naświetlania promieniowaniem słonecznym (1 - 3 h); badania po 5 miesiącach przechowywania.
Table 4. Values of CIE L^* a^* b^* colour parameters of raw ripening pork hams while exposed to daylight (1-3 h); analysis performed after 5-months storage.

| Parametry barwy Colour parameters | Warianty / Variants | | | |
|--------------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---|
| | K ($\bar{x} \pm s / SD$) | LG ($\bar{x} \pm s / SD$) | LGH ($\bar{x} \pm s / SD$) | LGP ($\bar{x} \bar{x} \pm s / SD$) |
| Parametr L^* / L^* parameter | | | | |
| 0 h | 45,01 ^{aA} ± 3,00 | 45,74 ^{aA} ± 0,36 | 43,91 ^{aA} ± 1,68 | 47,35 ^{aA} ± 3,30 |
| 1 h | 46,18 ± 3,84 | 46,29 ± 1,24 | 43,11 ± 2,04 | 47,42 ± 2,08 |
| 2 h | 46,63 ± 2,86 | 46,72 ± 0,53 | 43,93 ± 1,92 | 47,30 ± 2,66 |
| 3 h | 47,07 ^{aA} ± 2,95 | 47,44 ^{aB} ± 1,42 | 43,61 ^{bA} ± 1,72 | 46,97 ^{aA} ± 1,06 |
| Parametr a^* / a^* parameter | | | | |
| 0 h | 8,51 ^{aA} ± 0,59 | 9,67 ^{aA} ± 1,23 | 9,13 ^{aA} ± 1,15 | 8,05 ^{aA} ± 0,99 |
| 1 h | 7,48 ± 0,14 | 8,65 ± 0,65 | 9,10 ± 0,62 | 8,48 ± 1,89 |
| 2 h | 6,73 ± 0,24 | 8,05 ± 0,94 | 8,91 ± 0,63 | 7,54 ± 1,49 |
| 3 h | 6,60 ^{aB} ± 0,29 | 7,71 ^{bB} ± 0,53 | 9,20 ^{cA} ± 0,57 | 7,94 ^{abcA} ± 1,53 |
| Parametr b^* / b^* parameter | | | | |
| 0 h | 8,76 ^{aA} ± 1,03 | 6,50 ^{bA} ± 1,17 | 6,56 ^{bA} ± 0,37 | 6,22 ^{bA} ± 0,52 |
| 1 h | 8,01 ± 1,70 | 6,55 ± 0,68 | 7,46 ± 0,07 | 7,75 ± 1,05 |
| 2 h | 8,08 ± 1,63 | 7,17 ± 1,14 | 7,90 ± 0,43 | 7,73 ± 1,22 |
| 3 h | 8,36 ^{abA} ± 2,15 | 7,28 ^{bA} ± 0,71 | 8,44 ^{aB} ± 0,25 | 8,30 ^{abB} ± 1,42 |

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

Analiza zmiany parametru L^* barwy szynek podczas 3-godzinnego naświetlania promieniowaniem słonecznym (tab. 4) dowiodła, że dodatki papryki oraz naparu zielonej herbaty wpłynęły ochronnie na barwniki hemowe, co przejawiało się stabilizacją jasności i czerwoności barwy. W pozostałych próbach zaobserwowano wzrost wartości parametrów L^* i a^* barwy (o około 2 jednostki). Ochrona przed utlenieniem żelaza hemowego związana była prawdopodobnie z wychwytywaniem reaktywnych form tlenu przez związki przeciwutleniające o dużej liczbie grup hydroksylowych, głównie dodawanych z naparem herbaty i sproszkowanej papryki. Zmiany wartości parametru b^* barwy pod wpływem promieniowania słonecznego przebiegały w kierunku wzrostu udziału barwy żółtej we wszystkich próbach ze szczepem bakterii probiotycznych, podczas gdy w próbie kontrolnej wartości tego parametru obniżyły się o około 0,4 jednostki. Największym wzrostem wartości parametru b^* barwy (o około 2 jednostki) charakteryzowały się próby LGP oraz LGH.

Wyniki badań całkowitej zmiany barwy $\Delta E^*_{5 \text{ mies.}}$ szynek surowo dojrzewających (rys. 2) wykazały, że w ciągu 3 h działania promieniowania słonecznego na wyrób przechowywany najbardziej stabilną barwą charakteryzowały się próby LGH i LGP, co świadczy o ochronnym działaniu przeciwutleniaczy na formy nitrozylomioglobiny.



Rys. 2. Całkowita zmiana barwy szynek wieprzowych surowo dojrzewających podczas naświetlania promieniowaniem słonecznym (1 - 3 h); po 5-miesięcznym przechowywaniu ($\Delta E^*_{5 \text{ mies.}}$).

Fig. 2. Total change in colour of raw ripening pork hams while exposed to daylight; analysis performed after 5-month storage ($\Delta E^*_{5 \text{ mos.}}$).

Największe zmiany barwy po jednej godzinie naświetlania (około 1,6 - 1,75 jednostki) obserwowano w próbach K i LGP. Po dwóch godzinach naświetlania zaobserwowano zwolnienie tempa przemian barwy w przypadku prób z dodatkami naparu zielonej herbaty i papryki (0,35 jednostki między 2. a 3. h naświetlania). Największe zmiany barwy po 3 h naświetlania wystąpiły w próbie K, w przypadku której fermentacja i rozwój bakterii środowiskowych zachodził spontanicznie ($\Delta E^*_{5 \text{ mies}} = 2,8$) oraz próby LG, z dodatkiem szczepu bakterii probiotycznych *Lactobacillus casei* ŁOCK 0900 ($\Delta E^*_{5 \text{ mies}} = 2,6$).

Analiza wartości $\Delta E^*_{0-5 \text{ mies.}}$ (tab. 5) charakteryzujących całkowitą zmianę barwy podczas 5-miesięcznego przechowywania dowiodła, że zbliżone, a zarazem największe zmiany barwy ($\Delta E^*_{0-5 \text{ mies}} = 3,5$) wykazywały próby: inokulowana szczepem *Lactobacillus casei* ŁOCK 0900 (LG) oraz K, zawierająca naturalnie rozwijające się bakterie fermentacji mlekowej.

Tabela 5. Całkowita zmiana barwy szynek wieprzowych surowo dojrzewających podczas 5-miesięcznego okresu przechowywania w warunkach chłodniczych.

Table 5. Total change in colour of raw ripening pork hams during 5-month cold storage.

| Warianty / Variants | K ($\bar{x} \pm s / SD$) | LG ($\bar{x} \pm s / SD$) | LGH ($\bar{x} \pm s / SD$) | LGP ($\bar{x} \pm s / SD$) |
|--|-------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| Całkowita zmiana barwy po 5 miesiącach przechowywania ($\Delta E^*_{0-5 \text{ mies.}}$) Total change in colour after 5-month cold storage ($\Delta E^*_{0-5 \text{ mos}}$) | 3,05 ^a ± 0,02 | 3,05 ^a ± 0,03 | 1,25 ^b ± 0,05 | 1,68 ^c ± 0,04 |

Wartości oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie przy $p \geq 0,05$.

Values denoted by the same letter do not differ statistically significantly at $p \geq 0.05$.

Najmniejsze zmiany barwy ($\Delta E^*_{0-5 \text{ mies.}} = 1,25$) stwierdzono w próbach LGH oraz LGP ($\Delta E^*_{0-5 \text{ mies.}} = 1,68$). Prawdopodobną przyczyną zahamowania zmian procesów utleniania barwników hemowych było działanie substancji aktywnych herbaty zielonej i papryki. Katechiny herbaty oraz inne polifenole w niej zawarte wychwytyują wolne rodniki, chelatują metale ciężkie będące katalizatorami reakcji wolnorodnikowych, inhibują czynniki transkrypcyjne oraz enzymy [22]. Można przypuszczać, że przeciwutleniacze dodatków roślinnych mogły również oddziaływać hamująco na aktywność innych drobnoustrojów (co obserwowano w niniejszych badaniach), które jako produkt uboczny wytwarzają H_2O_2 lub wspomagać aktywność drobnoustrojów wytwarzających katalazę – enzym rozkładający nadtlenek wodoru. Jedną z przyczyn większych zmian barwy produktu mogły być również mechanizmy reakcji utleniania lipidów tkanki mięśniowej, które według Faustmana i wsp. [11] silnie korelują z utlenianiem barwników hemowych i indukują się wzajemnie. Zależności wpływu ekstraktów zielonej

herbaty na obniżenie stopnia utlenienia tłuszczu i przemian barwników hemowych wykazali Aguirreza i wsp. [2], Bozkurt [5] i Mitsumoto i wsp. [14].

W przypadku próby LGH zmiana barwy podczas 5-miesięcznego przechowywania była mniejsza w porównaniu z próbą LGP, co może świadczyć o lepszej dyfuzji przeciwutleniaczy herbaty zawartych w roztworze wodnym. W próbie z powierzchniowym dodatkiem sproszkowanej papryki również zaobserwowano efekt stabilizujący barwę, co może wskazywać na dyfuzję składników przyprawy do produktu lub zewnętrzną ochronę przed dyfuzją tlenu do miejsc reakcji w trakcie procesu produkcyjnego.

Wnioski

1. Dodatek bakterii probiotycznych *Lactobacillus casei* LOCK 0900 do szynek surowo dojrzewających wpłynął na zmniejszenie trwałości ich barwy podczas ekspozycji na promieniowanie słoneczne rozproszone na skutek obniżenia pH wyrobów.
2. Zastosowanie naparu zielonej herbaty lub sproszkowanej papryki do produkcji szynek z dodatkiem probiotyku wpłynęło hamująco na całkowitą zmianę barwy produktu podczas naświetlania ($\Delta E^*_{0 \text{ mies.}}$, $\Delta E^*_{5 \text{ mies.}}$) oraz podczas 5-miesięcznego przechowywania ($\Delta E^*_{0-5 \text{ mies.}}$).
3. Zastosowanie naparu zielonej herbaty i sproszkowanej papryki nie wpłynęło istotnie ($p \leq 0,05$) na rozwój bakterii kwasu mlekowego LAB w porównaniu z próbą z dodatkiem samego szczepu *Lactobacillus casei* LOCK 0900.
4. Przeprowadzone badania potwierdziły celowość stosowania dodatków roślinnych do przedłużenia trwałości barwy produktów fermentowanych podczas ekspozycji na promieniowanie słoneczne oraz podczas przechowywania. Pozwoli to również na wytwarzanie produktów mięsnych wzbogaconych w korzystne dla zdrowia substancje biologicznie czynne, naturalnie występujące w zielonej herbacie i papryce.

Praca wykonana w ramach projektu badawczego MNiSzW nr NN 312275435.

Literatura

- [1] Adamsen C.E., Møller J.K.S., Laursen K., Olsen K.L., Skibsted L.H.: Zn-porphyrin formation in cured meat products: Effect of added salt and nitrite. *Meat Sci.*, 2006, **72** (4), 672-679.
- [2] Aguirreza M.M., Mateo J., DomoÂnguez M.C., Zumalaca Ârregui J.M.: The effect of paprika, garlic and salt on rancidity in dry sausages. *Meat Sci.*, 2000, **54**, 77-81.
- [3] Arnau J., Serra X., Comaposada J., Gou P.; Garriga M.: Technologies to shorten the drying period of dry-cured meat products. *Meat Sci.*, 2007, **77**, 81-89.
- [4] Blesa E., Aliño M., Barat J.M., Grau R., Toldrà F., Pagán M.J.: Microbiology and physico-chemical changes of dry-cured ham during the postsalting stage as affected by partial replacement of NaCl by other salts. *Meat Sci.*, 2008, **78**, 135-142.
- [5] Bozkurt H.: Utilization of natural antioxidants: Green tea extract and Thymbra spicata oil in Turkish dry-fermented sausage. *Meat Sci.*, 2006, **73** (3), 442-450.

- [6] Brewer S.: Irradiation effects on meat color – a review. *Meat Sci.*, 2004, **68**, 1-17.
- [7] CIE (Commission Internationale de l'éclairage). Recommendations on uniform colorspaces -Color equations, psychometric color terms. CIE, 1978, 15 (E-1.3.L) 1971 (9TC-1-3) CIE, Paris (Suppl. 2).
- [8] Cukrowska B., Motyl I., Kozáková H., Schwarzer M., Górecki R.K., Klewicka E., Slizewska K., Libudzisz Z.: Probiotic *Lactobacillus* strains: in vitro and in vivo studies. *Folia Microbiol.*, 2009, **54**, 533-7.
- [9] DeMan J.M.: Color. In *Principles of food chemistry*. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, MD, 1999, pp. 239-242.
- [10] Escudero E., Mora L., Fraser P.D., Aristoy M.C., Toldrá F.: Identification of novel antioxidant peptides generated in Spanish dry-cured ham. *Food Chem.*, 2013, **138**, 1282-1288.
- [11] Faustman C., Sun Q., Mancini R., Suman S.P.: Myoglobin and lipid oxidation interactions: mechanistic bases and control. *Meat Sci.*, 2010, **86** (1), 86-94.
- [12] García-Marcos M.L., Rosmini M.R., Pérez-Alvarez J.A., Gago M.A., López-Santoveña F., Aranda V.: Curing agents effects in a dry-cured sausage model system during the mixing resting stage. *Proc. 42nd Int. Congr. Meat Science Technol. Lillehammer, Norway*, 2002, **11**, 481-482.
- [13] Gómez R., Alvarez-Orti M., Pardo J.E.: Influence of the paprika type on redness loss in red line meat products. *Meat Sci.*, 2008, **80**, 823-828.
- [14] Mitsumoto M., Michael N., Grady O., Kerry J.P., Buckley J.D.: Addition of tea catechins and vitamin C on sensory evaluation, colour and lipid stability during chilled storage in cooked or raw beef and chicken patties. *Meat Sci.*, 2005, **69**, 773-779.
- [15] Møller J.K.S., Jensen J.S., Skibsted L.H., Knöchel S.: Microbial formation of nitrite-cured pigment, nitrosylmyoglobin, from metmyoglobin in model systems and smoked fermented sausages by *Lactobacillus fermentum* strains and a commercial starter culture. *Eur. Food Res. Technol.*, 2003, **216**, 463-469.
- [16] Nam K.C., Ahn D.U.: Effects of ascorbic acid antioxidants on the color of irradiated ground beef. *J. Food Sci.*, 2003, **68**, 689-690.
- [17] 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.
- [18] Neffe K., Kołożyn-Krajewska D.: Możliwości zastosowania bakterii probiotycznych w dojrzewających produktach mięsnych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **5** (72), 167-177.
- [19] Pérez-Alvarez J.A., Sayas-Barberá M.E., Fernández-López J., Aranda-Catalá V.: Physicochemical characteristics of Spanish-type dry-cured sausage. *Food Res. Int.*, 1999, **32** (9), 599-607.
- [20] Pérez-López A.J., López-Nicolas J.M., Núñez-Delgado E., Del Amor F.M., Carbonell-Barrachina A.A.: Effects of agricultural practices on color, carotenoids composition, and minerals contents of sweet peppers, cv. Almuden. *J. Agric. Food Chem.*, 2007, **55**, 8158-8164.
- [21] Virgili R., Parolari G., Soresi Bordini C., Schivazappa C., Cornet M., Monin G.: Free amino acid dipeptides in dry-cured ham. *J. Muscle Foods*, 1999, **10** (2), 119-130.
- [22] Worobiej E., Tyszką K.: Właściwości przeciwutleniające różnych rodzajów herbat czarnych. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2012, **3** (45), 659-664.

EFFECT OF GREEN TEA INFUSION AND PULVERIZED PEPPER ON COLOUR OF RAW RIPENING PROBIOTIC HAMS

Summary

The objective of the study was to assess the effect of green tea infusion and pulverized pepper on the parameters and colour stability of raw ripening probiotic hams during storage. Four variants of samples were prepared: K (without the addition of probiotic); LG (with the *Lactobacillus casei* ŁOCK 0900 probiotic added); LGH (with the probiotic and green tea extract added); LGP (with the probiotic and pulverized pepper added). In the samples analysed, the following was: acidity, oxidation-reduction potential, parameters, and colour stability using a CIE L* a* b* system. The count of lactic acid bacteria (LAB) was analyzed. The analyses were conducted immediately after the maturation of the product and after a 5-month period of storage at a temp. of 4 °C under anaerobic conditions.

Immediately after completion of the maturation process, statistically significant differences ($p < 0.05$) were found in the acidity (pH) of the ham samples; those differences depended on the additives added. The LGP samples were characterized by the lowest pH values (pH = 5.19) as were the LG samples (pH = 5.34). The effect was reported of the added green tea infusion on the hams produced; those hams had the highest pH values (6.05). After 5-month storage, the most stable pH values (an increase by 0.05 units) were reported in the LGH sample. The use of green tea infusion and pulverized pepper in the production of raw ripening probiotic products with *Lactobacillus casei* ŁOCK 0900 strain prevented the colour of the product to totally change while exposing its surface to daylight and during 5 months of storing it. The samples with tea and pepper added were characterized by an almost two-fold lower total change in the colour during 5-month storage (1.25 - 1.68 units) compared to the control sample (3.05 units). No effect was reported of the green tea and pepper added on the count of lactic acid bacteria.

Key words: ripening ham, *Lactobacillus casei* ŁOCK 0900 bacteria, green tea, pepper, colour 

ANETA CEGIELKA, NATALIA KUCZYŃSKA, DOROTA PIETRZAK

**ZASTĄPIENIE SUROWCA WIEPRZOWO-WOŁOWEGO
W KIEŁBASACH HOMOGENIZOWANYCH PRZEZ MIĘSO
DROBIOWE ODDZIELONE MECHANICZNICZNIE, UZYSKANE
PO SEPARACJI WYSOKO- I NISKOCIŚNIENIOWEJ**

Streszczenie

Celem pracy było porównanie wybranych wyróżników jakości parówek wytworzonych przez jednego z polskich producentów z surowców o różnej przydatności technologicznej. Analizie poddano 4 warianty kiełbas. Wariant WK – kiełbasa wyprodukowana z mięsa wieprzowego i wołowego, które w pozostałych wariantach doświadczalnych zastąpiono odpowiednio przez: WM – mięso drobiowe oddzielone mechanicznie (MDOM) uzyskane po separacji wysokociśnieniowej, WB – MDOM uzyskane po separacji niskociśnieniowej oraz WMB – MDOM uzyskane po separacji wysoko- i niskociśnieniowej. Jakość kiełbas oceniano po 24 h i po 2 tygodniach przechowywania w warunkach chłodniczych, na podstawie wyróżników fizycznych, chemicznych i sensorycznych. Stwierdzono, że zastosowanie do produkcji parówek (WM, WB, WMB) mięsa drobiowego oddzielonego mechanicznie pozwoliło na zmniejszenie kosztów surowców bez obniżenia jakości sensorycznej kiełbas, w porównaniu z kiełbasą wieprzowo-wołową (WK). Kiełbasy WM, WB i WMB zawierały istotnie mniej tłuszczu, cechowały się ciemniejszą barwą oraz mniejszą siłą cięcia niż kiełbasa WK. Utlenianie lipidów w parówkach z MDOM zachodziło nieznacznie szybciej niż w kiełbasie wieprzowo-wołowej.

Słowa kluczowe: parówki, mięso drobiowe oddzielone mechanicznie (MDOM), metody oddzielania mięsa, jakość

Wprowadzenie

Parówki to przetwory mięsne o drobno rozdrobnionej lub homogennej strukturze. Są produkowane zarówno z mięsa ssaków rzeźnych, jak i z mięsa drobiu [9, 15]. Z uwagi na specyfikę tej grupy asortymentowej wędlin, wytwarzanie parówek umożliwia zagospodarowanie tańszych surowców tłuszczowych i kolagenowych oraz mięsa

Dr inż. A. Cegielka, mgr inż. N. Kuczyńska, dr hab. inż. D. Pietrzak, Katedra Technologii Żywności, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa. Kontakt: aneta_cegielka@sggw.pl

drobiowego oddzielanego mechanicznie (MDOM). Udział poszczególnych składników w recepturze determinuje nie tylko jakość produktu, ale również jego cenę [9, 15, 27], która nadal stanowi ważne kryterium decydujące o zakupie produktu mięsnego [14].

Wykorzystanie MDOM do produkcji kielbas homogenizowanych jest uzasadnione przede wszystkim względami ekonomicznymi. Sposób i warunki produkcji tego surowca powodują, że cechuje się on ograniczoną przydatnością technologiczną, niższą wartością odżywczą i większym zanieczyszczeniem mikrobiologicznym w porównaniu z mięsem wykrawanym ręcznie. Parametry jakościowe MDOM zależą jednak w dużym stopniu od zastosowanej metody odkostniania. Surowiec ten może być pozyskiwany w procesie wysokociśnieniowym, np. metodą tłoczeniową (tzw. separat „twardy”), jak również w procesie niskociśnieniowym (tzw. separat „miękki”). W tej drugiej metodzie stosowane są urządzenia, które nie powodują uszkodzenia struktury kości, np. separator firmy Baader [5, 7, 11]. Makala [10] podaje, że w krajach UE 77 % produkcji stanowi mięso oddzielone mechanicznie w procesie wysokociśnieniowym. Cena takiego surowca kształtuje się na poziomie $0,3 \div 0,6$ euro/kg. Kilogram MDOM wytworzonego w procesie niskociśnieniowym kosztuje natomiast ok. $0,6 \div 1,5$ euro.

Właściwości technologiczne, skład chemiczny, trwałość przechowalnicza MDOM pozyskiwanego metodą wysokociśnieniową oraz możliwości jego zastosowania w produkcji różnych przetworów mięsnych poddanych obróbce cieplnej były tematem licznych opracowań [6, 11, 12, 13, 17, 18, 22, 23]. Mimo udoskonalenia technik wytwarzania MDOM oraz zaostrożenia nadzoru technologicznego i weterynaryjnego, frakcja mięsna uzyskana metodą wysokociśnieniową nadal budzi wiele zastrzeżeń natury zdrowotnej, m.in. ze względu na obecność szpiku kostnego i odłamków kostnych, a także zwiększoną zawartość fosforu, wapnia i żelaza [11, 13]. Alternatywą może być MDOM wytwarzane w procesie niskociśnieniowym, nienaruszającym struktury kości. Ze względu na lepsze zachowanie struktury włókien mięśniowych (tj. mniejszy stopień dezintegracji) nadal nie wiadomo, czy mięso to powinno być traktowane odrębnie niż MDOM pozyskiwane metodą tłoczeniową, w którym struktura ta jest w znacznym stopniu uszkodzona. MDOM uzyskane po separacji niskociśnieniowej wykazuje mniejsze zanieczyszczenie mikrobiologiczne oraz mniejszą zawartość wapnia i fosforu w porównaniu z surowcem po separacji wysokociśnieniowej, pozyskanym z tego samego gatunku drobiu [5, 7, 10]. W dostępnej literaturze brak jest informacji dotyczących możliwości jego wykorzystania przetwórczego. Atrakcyjność tego surowca, rozumiana jako suma jego właściwości funkcjonalnych, wartości odżywczej oraz kosztów pozyskiwania, stwarza potrzebę przeprowadzania badań w tym zakresie.

Celem pracy było porównanie wybranych wyróżników jakości homogenizowanych kielbas parzonych, w których składzie recepturowym mięso wieprzowe i wołowe zastąpiono surowcem o niższej przydatności technologicznej, jakim było MDOM uzyskane po separacji wysoko- i niskociśnieniowej.

Material i metody badań

Material doświadczalny stanowiły kielbasy homogenizowane typu parówki, wyprodukowane w warunkach przemysłowych (w średniej wielkości zakładzie produkcyjnym zlokalizowanym w północno-wschodniej Polsce) w 2011 roku. Surowce do produkcji kielbas, tj. mięso wieprzowe i wołowe, MDOM z kurcząt pozyskane metodą wysoko- i niskociśnieniową (w separatorze taśmowym typu Baader), pochodziły z bieżącego zaopatrzenia, a proces produkcji parówek przebiegał według technologii przyjętej w zakładzie. Celem modyfikacji recepturowych zastosowanych przez producenta (tab. 1) było opracowanie nowego sortymentu parówek o wysokiej jakości, przy założonym niższym koszcie produkcji. Próbę odniesienia stanowiła kielbasa wyprodukowana z mięsa wieprzowego i wołowego (WK), natomiast pozostałe warianty parówek (WM, WB, WMB) produkowano z mięsa drobiowego oddzielonego mechanicznie. Szczegółowy skład recepturowy parówek jest tajemnicą producenta, ale we wszystkich 4 wariantach wyrobu zastosowano tę samą wielkość dodatku: soli peklującej (99,4 % NaCl + 0,6 % NaNO₃), mieszanki przyprawowej oraz składników niemięsnych, tj. kaszy manny i błonnika sojowego.

Tabela 1. Skład i koszt surowcowy parówek.

Table 1. Composition of frankfurters and cost of raw materials therein.

| Składnik [%] Ingredient [%] | Wariant produktu Variant of product | | | |
|---|--|------|------|------|
| | WK | WM | WB | WMB |
| Mięso wieprzowe kl. IIB / Pork meat 70/30 | 50,0 | - | - | - |
| Mięso wołowe kl. II / Beef meat | 20,0 | - | - | - |
| Mięso drobiowe oddzielone mechanicznie (MDOM) - separat „twardy” Mechanically sectioned poultry meat (MSPM) - “hard” preparation | - | 70,0 | - | 35,0 |
| Mięso drobiowe oddzielone mechanicznie (MDOM) - separat „miękki” Mechanically sectioned poultry meat (MSPM) - “soft” preparation | - | - | 70,0 | 35,0 |
| Emulsja kolagenowo-tłuszczowa / Fat-collagen emulsion | 30,0 | 30,0 | 30,0 | 30,0 |
| Woda */ Water * | 38,0 | 30,0 | 30,0 | 30,0 |
| Koszty surowców [zł/kg] / Cost of raw materials [zł/kg] | 6,40 | 2,60 | 4,17 | 3,40 |

Objaśnienia: / Explanatory notes:

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

Część analityczną pracy wykonano w Zakładzie Technologii Mięsa (ZTM) SGGW w Warszawie. Oceniano trzy partie produkcyjne każdego wariantu parówek.

W tym celu kielbasy bezpośrednio po wytworzeniu dostarczano do laboratorium ZTM z zachowaniem warunków chłodniczych (chłodziarka turystyczna z wkładami chłodzącymi). Każdą partię danego wariantu produktu (3 kg) dzielono na dwie części: połowę batonów kielbas wykorzystywano do oznaczenia wybranych wyróżników jakości po 24 h od wytworzenia, resztę kielbas zamykano próżniowo i przechowywano przez 2 tygodnie w chłodni, w temperaturze 4 ± 1 °C.

W celu określenia wybranych wyróżników jakości parówek wykonano badania:

- fizyczne – pomiar siły cięcia parówek wykonywano za pomocą urządzenia do badań wytrzymałościowych Zwicky, typ 1120 (Zwick, Niemcy), wyposażonego w element tnący Warnera-Bratzlera (prędkość przesuwu głowicy: 50 mm/min). Próbkę kielbas (batony bez osłonki, wysokość 2,0 cm, średnica 2,0 cm) przygotowano bezpośrednio przed pomiarem. Temperatura prób podczas pomiaru siły cięcia wynosiła 4 °C. Za wynik oznaczenia przyjmowano średnią z 5 pomiarów. Dokonywano także pomiaru parametrów barwy kielbas na przekroju w systemie CIE L*a*b* przy użyciu kolorymetru Minolta CR-200 – źródło światła D₆₅, obserwator 10° (Konica Minolta, Japonia). Pomiary parametrów barwy i tekstury przeprowadzano po 24 h od wyprodukowania oraz po 2 tygodniach przechowywania parówek w warunkach chłodniczych. Za wynik oznaczenia przyjmowano średnią z 5 pomiarów. Wyciek przechowalniczy oznaczano metodą wagową (kielbasy ważono przed zapakowaniem, a następnie po wyjęciu z opakowania po 2 tygodniach przechowywania – z różnicy mas wyliczano ilość wycieku);
- chemiczne – analizę podstawowego składu chemicznego każdej partii produkcyjnej parówek wykonywano po 24 h od wyprodukowania. Oznaczenia zawartości wody, białka i tłuszczu wykonywano metodą spektrometrii transmisyjnej w bliskiej podczerwieni wg PN [20] przy użyciu aparatu FoodScan (Foss Analytical, Dania). Zawartość NaCl oznaczano metodą potencjometryczną przy użyciu aparatu 702 SM Titrino (Methrom, Szwajcaria) wyposażonego w zestaw do oznaczania chlorków – elektrodę i zbiornik 0,1 M AgNO₃. Szybkość utleniania lipidów w kielbasach oznaczano po 24 h oraz po 2 tygodniach przechowywania na podstawie zmian zawartości substancji wchodzących w reakcję barwną z kwasem 2-tiobarbiturowym – wskaźnik TBARS [24]. W każdej partii produktów wszystkie analizy chemiczne wykonywano w dwóch powtórzeniach, przyjmując za wynik oznaczenia średnią z 2 pomiarów;
- sensoryczne – ocenę jakości sensorycznej parówek „na zimno” (temp. 4 ÷ 6 °C) oraz „na ciepło” (temp. 55 ÷ 60 °C) po 24 h od wytworzenia wykonywał 10-osobowy zespół, posługujący się skalą 5-punktową, na której 1 pkt oznaczał najmniejszą, a 5 pkt – największą pożądalność danej cechy. Oceniane wyróżniki jakości sensorycznej kielbas – tj. wygląd ogólny batonu, strukturę i konsystencję, barwę batonu i przekroju oraz smak i zapach – zdefiniowano podczas dyskusji

z zespołem oceniającym, zgodnie z PN [19, 21]. Ogólną pożądalność produktów obliczano przy uwzględnieniu współczynników ważkości, które wynosiły: wygląd ogólny batonu – 0,1, struktura i konsystencja – 0,2, barwa batonu i przekroju – 0,3, smak i zapach – 0,4 [25].

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej przy użyciu programu Statgraphics 4.1 Plus (Manugistics Inc., USA). W celu określenia wpływu składu surowcowego kielbas (wariant) na poszczególne wyróżniki jakości zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji. Istotność różnic szacowano testem Tukeya ($p < 0,05$). W celu określenia wpływu przechowywania na wybrane wyróżniki jakości kielbas zastosowano test Studenta ($p < 0,05$).

Wyniki i dyskusja

W tab. 2. przedstawiono skład chemiczny parówek. Stwierdzono, że parówki, bez względu na surowiec, cechowały się zbliżoną zawartością białka. Kielbasy wyprodukowane z mięsa drobiowego oddzielonego mechanicznie (WM, WB, WMB) zawierały statystycznie istotnie mniej ($p < 0,05$) tłuszczu oraz nieznacznie więcej wody niż kielbasy wieprzowo-wołowe (WK), co jest zjawiskiem korzystnym dla konsumentów. Mniejsza zawartość tłuszczu w parówkach z MDOM mogła wynikać z różnic zawartości tego składnika w surowcach zastosowanych do ich produkcji. Mieszanina mięsa wieprzowego i wołowego zawierała średnio 30,5 % tłuszczu, MDOM z separacji wysokociśnieniowej 19,2 %, zaś MDOM z separacji niskociśnieniowej 14,4 %.

Tabela 2. Skład chemiczny parówek.

Table 2. Chemical composition of frankfurters.

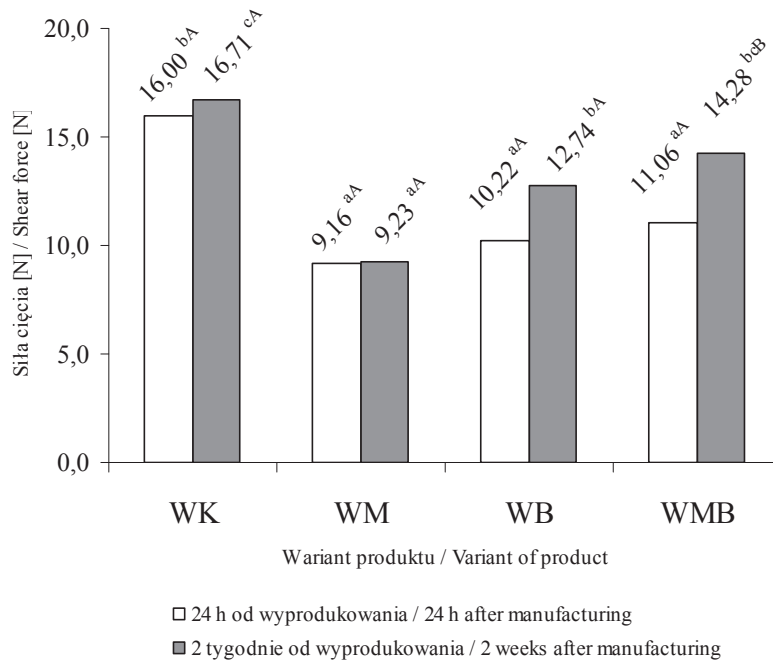
| Wyróżnik Characteristic | Wariant produktu / Product variant | | | |
|----------------------------|------------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | WK | WM | WB | WMB |
| Białko / Protein [%] | 10,2 ^a ± 1,3 | 10,8 ^a ± 0,7 | 10,6 ^a ± 0,9 | 10,8 ^a ± 0,7 |
| Tłuszcz / Fat [%] | 17,5 ^b ± 2,4 | 14,4 ^a ± 1,8 | 12,7 ^a ± 2,1 | 12,9 ^a ± 2,3 |
| Woda / Water [%] | 68,1 ^a ± 1,9 | 71,3 ^a ± 1,0 | 72,8 ^a ± 2,8 | 72,2 ^a ± 0,7 |
| NaCl [%] | 2,1 ^a ± 0,1 | 2,1 ^a ± 0,3 | 2,1 ^a ± 0,3 | 2,2 ^a ± 0,2 |
| Popiół / Ash [%] | 1,9 ^a ± 0,1 | 1,6 ^a ± 0,1 | 1,6 ^a ± 0,1 | 1,7 ^a ± 0,1 |

Objaśnienia: / Explanatory notes:

WK, WM, WB i WMB – warianty parówek objaśnione w tab. 1. / frankfurter variants explained in Tab.

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

a, b – wartości średnie w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) / mean values in rows and denoted by different letters differ statistically significantly ($p < 0,05$).



Objaśnienia: / Explanatory notes:

a, b, c – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) – wpływ wariantu produktu na wartości siły cięcia dla danego czasu / mean values denoted by different letters differ statistically significantly ($p < 0,05$) – effect of the product variant on shear force values for the given time period; A, B – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) – wpływ czasu przechowywania produktu na wartość siły cięcia dla danego wariantu / mean values denoted by with different letters differ statistically significantly ($p < 0,05$) – effect of storage time of product on shear force values for the given product variant.

Rys. 1. Wpływ składu recepturowego parówek na wartość siły cięcia.

Fig. 1. Effect of frankfurter ingredients on shear force values.

Skład chemiczny kiełbas homogenizowanych zależy w głównej mierze od ich składu recepturowego, co potwierdziły wyniki uzyskane w niniejszej pracy oraz przedstawione przez innych autorów. Według Dudy [4], parówki wytworzone z mięsa wieprzowego i wołowego zawierały ok. 11 % białka i 29 % tłuszczu. Tyburcy i wsp. [27], po porównaniu składu chemicznego kilku sortymentów parówek dostępnych na rynku warszawskim, stwierdzili, że wyroby drobiowe zawierały istotnie więcej wody oraz mniej tłuszczu (odpowiednio: 60,0 ÷ 62,0 % oraz 19,1 ÷ 19,4 %) niż analogiczne wyroby wieprzowe (odpowiednio: 58,1 ÷ 60,7 % oraz 23,0 ÷ 26,0 %). W parówkach zawierających 10 % mięsa kurcząt oraz 40 % MDOM z separatora wysokociśnieniowego średnia zawartość białka wynosiła 11,1 %, tłuszczu – 20,5 %, a wody – 61,6 % [9].

W porównaniu z przytoczonymi danymi, parówki z MDOM oceniane w niniejszej pracy cechowały się większą zawartością wody oraz mniejszą zawartością tłuszczu, zaś parówki wieprzowo-wołowe – mniejszą zawartością tłuszczu oraz porównywalną zawartością białka. W innych badaniach wykazano, że skład chemiczny kielbas homogenizowanych był uzależniony zarówno od udziału MDOM (frakcja mięsna uzyskana metodą wysokociśnieniową) w recepturze [3], jak i od rodzaju MDOM (kurczący, indyczy) użytego do produkcji [12]. Dyskusję wyników uzyskanych w niniejszej pracy ogranicza brak danych literaturowych dotyczących możliwości zastosowania oraz wpływu MDOM pozyskanego metodą niskociśnieniową na jakość kielbas.

Wykorzystanie do produkcji kielbas homogenizowanych surowców mięsno-tłuszczowych o różnej zawartości barwników hemowych nie zawsze ma istotny wpływ na barwę produktu, gdyż może być on zniwelowany w wyniku silnego rozdrobnienia i wymieszania składników farszu [26]. W niniejszej pracy stwierdzono jednak, że barwa parówek zawierających MDOM w składzie recepturowym (WM, WB, WMB) była ciemniejsza, o czym świadczą statystycznie istotnie mniejsze ($p < 0,05$) wartości parametru L^* w porównaniu z produktem wieprzowo-wołowym (WK). Ilość barwników w MDOM jest około trzy razy większa niż w mięsie wykrawanym ręcznie, co ma wpływ na barwę zarówno samego surowca, jak i produktów z niego wytworzonych [10, 18]. Różnice między poszczególnymi wariantami produktów dotyczące udziału czerwieni oraz barwy żółtej w ogólnym tonie barwy (wartości parametrów barwy a^* i b^*) nie były statystycznie istotne ($p < 0,05$). Stwierdzone po 24 h różnice między wartościami parametrów barwy utrzymały się po 2 tygodniach chłodniczego przechowywania kielbas zapakowanych próżniowo. Wyniki uzyskane przez innych autorów wskazują, że zastosowanie MDOM do produkcji kielbas drobno rozdrobnionych miało wpływ na barwę takich produktów, jak frankfurterki [2, 16] oraz mortadela [26], czego wyrazem było pociemnienie barwy oraz zwiększenie udziału czerwieni w ogólnym tonie barwy. Istotność zmian wymienionych parametrów barwy zależała jednak od udziału MDOM w składzie surowcowym kielbas.

Parówki wieprzowo-wołowe (WK) były twardsze niż parówki wytworzone z mięsa drobiowego oddzielonego mechanicznie (WM, WB, WMB), o czym świadczą istotnie wyższe ($p < 0,05$) wartości siły cięcia (rys. 1). Taka tendencja utrzymała się po 2 tygodniach przechowywania kielbas w warunkach chłodniczych. Wyniki uzyskane w niniejszej pracy są zgodne ze spostrzeżeniami innych autorów, którzy wykazali, że tekstura kielbas drobno rozdrobnionych i homogenizowanych może być istotnie różnicowana przez surowiec użyty do produkcji, w tym MDOM pozyskane metodą tłoczeniową [12, 26]. Pereira i wsp. [16] oraz Daros i wsp. [3] na podstawie wyników pomiaru tekstury z zastosowaniem metody dwukrotnego ściskania (tzw. test TPA) podają, że zwiększenie udziału MDOM w składzie surowcowym powodowało istotne zmniejszenie spoistości i sprężystości takich wyrobów, jak frankfurterki oraz parówki. Li i wsp.

[8] stwierdzili natomiast, że na teksturę kielbas wyprodukowanych z użyciem MDOM istotny wpływ miała wielkość dodatku wody do farszu w odniesieniu do masy surowców mięsno-tłuszczowych: zwiększanie dodatku wody skutkowało stopniowym obniżeniem twardości, spoistości i sprężystości kielbas.

Trindade i wsp. [26], którzy określali wpływ wymiany mięsa wołowego i słoniny przez MDOM na parametry tekstury mortadeli, wykazali, podobnie jak w niniejszej pracy, że siła cięcia kielbasy wyprodukowanej wyłącznie z mięsa wołowego i wieprzowego była istotnie wyższa niż podobnych kielbas, w których składzie surowcowym MDOM stanowiło co najmniej 80 %.

Tabela 3. Parametry barwy parówek.

Table 3. Colour parameters of frankfurters.

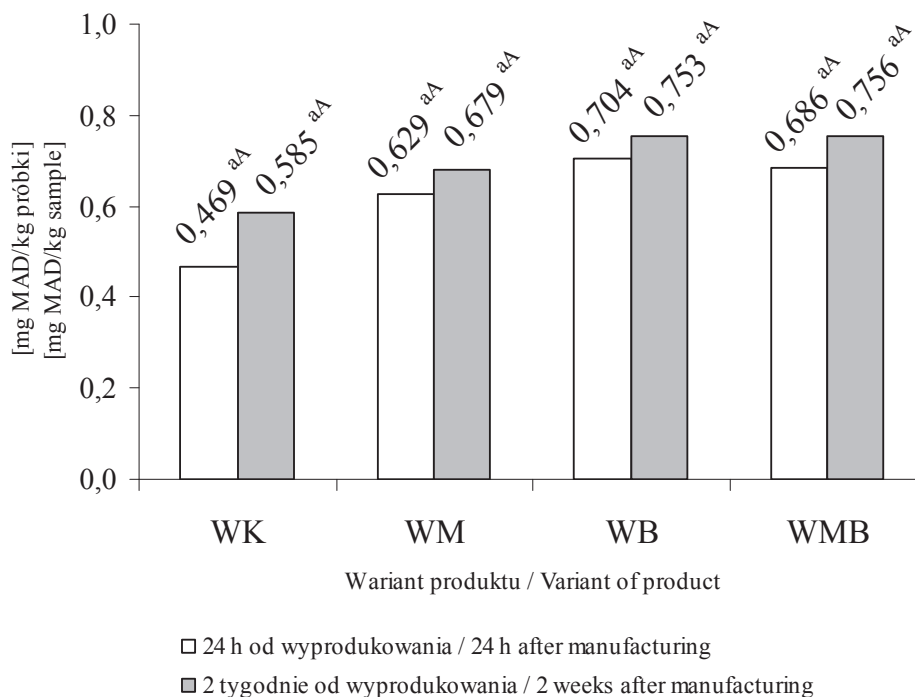
| L* | | | | a* | | | | b* | | | |
|---|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|--------------------|---------------------|---------------------|
| Wariant produktu / Product variant | | | | | | | | | | | |
| WK | WM | WB | WMB | WK | WM | WB | WMB | WK | WM | WB | WMB |
| po 24 h od wyprodukowania / 24 h after manufacturing | | | | | | | | | | | |
| 66,84 ^{ba} | 63,52 ^{aA} | 64,10 ^{aA} | 64,18 ^{aA} | 11,54 ^{aA} | 12,99 ^{aA} | 13,12 ^{aA} | 13,13 ^{aA} | 10,59 ^{aA} | 9,97 ^{aA} | 10,02 ^{aA} | 10,43 ^{aA} |
| ± 1,98 | ± 0,76 | ± 0,97 | ± 1,58 | ± 0,86 | ± 0,49 | ± 0,51 | ± 0,73 | ± 0,57 | ± 0,62 | ± 1,05 | ± 0,60 |
| po 2 tygodniach od wyprodukowania / 2 weeks after manufacturing | | | | | | | | | | | |
| WK | WM | WB | WMB | WK | WM | WB | WMB | WK | WM | WB | WMB |
| 66,70 ^{ba} | 63,46 ^{aA} | 64,03 ^{aA} | 64,08 ^{aA} | 11,62 ^{aA} | 13,13 ^{aA} | 13,35 ^{aA} | 13,46 ^{aA} | 10,49 ^{aA} | 9,78 ^{aA} | 9,91 ^{aA} | 10,12 ^{aA} |
| ± 0,57 | ± 0,67 | ± 0,92 | ± 0,82 | ± 0,52 | ± 0,74 | ± 1,07 | ± 0,68 | ± 0,54 | ± 0,54 | ± 1,29 | ± 0,39 |

Objaśnienia: / Explanatory notes:

a, b – wartości średnie w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) / mean values in rows and denoted by different letters differ statistically significantly ($p < 0,05$); A – wartości średnie w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ($p > 0,05$) / mean values in columns and denoted by the same letter do not differ statistically significantly ($p > 0,05$); Pozostałe objaśnienia jak pod tab. 2. / All other explanatory notes as in Tab. 2.

Zastosowanie MDOM do produkcji parówek (WM, WB, WMB) skutkowało wzrostem stopnia utlenienia lipidów w porównaniu z kielbasą wieprzowo-wołową, jednak stwierdzone zmiany nie były statystycznie istotne ($p < 0,05$) (rys. 2). Podczas przechowywania zapakowanych próżniowo kielbas w warunkach chłodniczych w żadnym z 4 wariantów parówek doświadczalnych nie stwierdzono statystycznie istotnego ($p < 0,05$) wzrostu wartości wskaźnika TBARS. Uzyskane wyniki mogą zatem świadczyć o dobrej jakości przetwórczej MDOM, które z uwagi na specyfikę pozyskiwania, stopień rozdrobnienia i skład chemiczny jest surowcem bardziej wrażliwym na procesy oksydacyjne niż mięso wykrawane ręcznie [5, 18, 23]. Dlatego należy pamiętać, że w produktach mięsnych wytworzonych z udziałem MDOM niekorzystne przemiany

lipidów mogą być jednym z głównych czynników determinujących trwałość przechowalniczą. Wartości wskaźnika TBARS oznaczone w parówkach zawierających w składzie surowcowym MDOM z separacji tłoczeniowej (WM, WMB) były porównywalne z wynikami przedstawionymi przez innych autorów, badających wpływ tego surowca na jakość kielbas drobno rozdrobnionych [1, 12, 26].



Objaśnienia: / Explanatory notes:

a – wartości średnie oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ($p > 0,05$) – wpływ wariantu produktu na wartość wskaźnika TBARS dla danego czasu / mean values denoted by the same letter do not differ statistically significantly ($p > 0,05$) – effect of product variant on value of TBARS indicator for the given time period; $n = 6$; A – wartości średnie oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ($p > 0,05$) – wpływ czasu przechowywania produktu na wartość wskaźnika TBARS dla danego wariantu / mean values denoted by with the same letter do not differ statistically significantly ($p > 0,05$) – effect of storage time of product on the value of TBARS indicator for the given variant; $n = 6$.

Rys. 2. Wpływ składu recepturowego parówek na wartość wskaźnika TBARS.

Fig. 2. Effect of frankfurter ingredients on value of TBARS indicator.

Ilość wycieku w opakowaniu kielbas oznaczona po 2 tygodniach przechowywania w temperaturze $4 \div 6$ °C wynosiła od 0,9 % (WM) do 1,3 % (WK) i nie była istotnie ($p < 0,05$) różnicowana przez rodzaj surowca zastosowanego do produkcji.

Tabela 4. Wyniki oceny sensorycznej parówek.

Table 4. Results of sensory assessment of frankfurters.

| Wyróżnik Characteristic | Wariant produktu Product variant | | | |
|---|---|------------------------|------------------------|------------------------|
| | WK | WM | WB | WMB |
| Wygląd ogólny batonu [pkt] General appearance of sausage surface [pts] | ocena „na zimno” / assessment of unheated products | | | |
| | 4,2 ^a ± 0,3 | 4,2 ^a ± 0,1 | 4,4 ^a ± 0,3 | 4,3 ^a ± 0,4 |
| Struktura i konsystencja [pkt] Structure and consistence [pts] | 3,9 ^a ± 0,2 | 4,1 ^a ± 0,4 | 4,2 ^a ± 0,4 | 4,2 ^a ± 0,3 |
| Barwa batonu i przekroju [pkt] Colour of sausage surface and cross section [pts] | 3,6 ^a ± 0,8 | 3,9 ^a ± 0,3 | 3,7 ^a ± 0,3 | 3,9 ^a ± 0,7 |
| Smak i zapach [pkt] / Taste and aroma [pts] | 3,8 ^a ± 0,3 | 3,7 ^a ± 0,2 | 3,7 ^a ± 0,7 | 4,1 ^a ± 0,3 |
| Ocena ogólna [pkt] / Overall score [pts] | 3,8 ^a | 4,0 ^a | 3,9 ^a | 4,1 ^a |
| Wygląd ogólny batonu [pkt] General appearance of sausage surface [pts] | ocena po podgrzaniu / assessment of heated products | | | |
| | 3,9 ^a ± 0,2 | 4,2 ^a ± 0,6 | 4,2 ^a ± 0,6 | 4,3 ^a ± 0,5 |
| Struktura i konsystencja [pkt] Structure and consistence [pts] | 3,4 ^a ± 0,7 | 3,6 ^a ± 0,3 | 3,7 ^a ± 0,4 | 4,1 ^a ± 0,2 |
| Barwa batonu i przekroju [pkt] Colour of sausage surface and cross section [pts] | 3,7 ^a ± 0,9 | 4,1 ^a ± 0,2 | 4,1 ^a ± 0,6 | 3,9 ^a ± 0,6 |
| Smak i zapach [pkt] / Taste and aroma [pts] | 3,4 ^a ± 0,9 | 3,6 ^a ± 0,1 | 3,7 ^a ± 0,8 | 4,1 ^a ± 0,6 |
| Ocena ogólna [pkt] / Overall score [pts] | 3,5 ^a | 3,8 ^a | 3,9 ^a | 4,1 ^a |

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

Po przeanalizowaniu wyników oceny sensorycznej (tab. 4) można stwierdzić, że zastąpienie w składzie recepturowym parówek mięsa wieprzowego i wołowego (WK) przez mięso drobiowe oddzielone mechanicznie (WM, WB, WMB) nie spowodowało istotnych ($p < 0,05$) zmian jakości kielbas. W porównaniu z pozostałymi produktami nieznacznie wyższe noty w ocenie ogólnej „na zimno” oraz po podgrzaniu przypisano produktowi zawierającemu w podstawowym składzie surowcowym oba rodzaje MDOM, tj. uzyskane metodą wysoko- i niskociśnieniową (WMB). Jednocześnie należy podkreślić, że zastąpienie mięsa ssaków rzeźnych przez MDOM pozwoliło znacząco obniżyć koszt surowcowy parówek (tab. 1), bez zmniejszenia zawartości białka ogółem w gotowym wyrobie i przy istotnie mniejszej zawartości tłuszczu. Na tej podstawie można sądzić, że wartość odżywcza parówek z MDOM jest wyższa w porów-

naniu z kielbasą wieprzowo-wołową. Jednak w celu dokonania pełnej oceny należałoby uwzględnić skład kwasów tłuszczowych oraz zawartość niektórych składników mineralnych w produktach finalnych (m.in. wapnia, fosforu i żelaza).

Wyniki badań innych autorów dotyczące jakości sensorycznej drobno rozdrobnionych produktów mięsnych zawierających MDOM pozyskane metodą tłoczeniową również wskazują, że użycie tego surowca nie musi oznaczać zmniejszenia pożądalności sensorycznej produktu. Kluczowe znaczenie ma w tym względzie optymalizacja udziału MDOM w składzie recepturowym [1, 2, 26].

Jako niepożądane skutki zbyt dużego udziału MDOM w produkcie mięsnym, w dostępnej literaturze wymienia się zmniejszenie pożądalności barwy, zapachu, soczystości i konsystencji produktów modelowych [1], smaku i konsystencji frankfurterek [2] czy barwy i zapachu mortadeli [26]. Podobnych odchyleń jakości sensorycznej nie stwierdzono natomiast w kielbasach wytworzonych z udziałem mięsa drobiowego oddzielonego mechanicznie, stanowiących przedmiot badań niniejszej pracy.

Wnioski

1. Zastosowanie mięsa drobiowego oddzielonego mechanicznie (MDOM), uzyskanego zarówno metodą wysokociśnieniową, jak i niskociśnieniową, nie wpłynęło na obniżenie wyróżników jakości sensorycznej kielbas w porównaniu z podobnym produktem zawierającym w składzie mięso wieprzowe i wołowe.
2. Parówki z MDOM charakteryzowały się ciemniejszą barwą oraz niższymi wartościami siły cięcia w porównaniu z kielbasą wieprzowo-wołową. Jednocześnie zawierały one istotnie mniej tłuszczu, co jest korzystne pod względem żywieniowym.
3. Dzięki zastosowaniu MDOM można obniżyć koszt surowcowy parówek, co powinno skutkować niższą ceną detaliczną, przy założeniu, że udział surowców w koszcie produkcji tego typu kielbas wynosi przeciętnie 65 - 70 %.

Literatura

- [1] Abdullah B.M.: Properties of five canned luncheon meat formulations as affected by quality of raw materials. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2007, **42**, 30-35.
- [2] Babji A.S., Chin S.Y., Seri-Chempaka M.Y., Alina A.R.: Quality of mechanically deboned chicken meat frankfurter incorporated with chicken skin. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 1998, **49**, 319-326.
- [3] Daros F.G., Masson M.L., Amico S.C.: The influence of the addition of mechanically deboned poultry meat on the rheological properties of sausage. *J. Food Eng.*, 2005, **68**, 185-189.
- [4] Duda Z.: Zamienniki tłuszczu stosowane w przetwórstwie mięsa. *Gosp. Mięs.*, 1998, **50 (2)**, 22-26.
- [5] Henckela P., Vyberg M., Thodec S., Hermansen S.: Assessing the quality of mechanically and manually recovered chicken meat. *LWT- Food Sci. Technol.*, 2004, **37**, 593-601.
- [6] Kijowski J.: Zagospodarowanie surowcowe, technologiczne i marketingowe w przetwórstwie mięsa drobiowego. *Gosp. Mięs.*, 1996, **48 (12)**, 30-40.
- [7] Kubiak M.S.: Barwa mięsa indyczego pozyskanego podczas separacji miękkiej na urządzeniu SEPAMATIC 1200 ST. *Gosp. Mięs.*, 2007, **59 (3)**, 42-43.

- [8] Li R., Carpenter J.A., Cheney R.: Sensory and instrumental properties of smoke sausage made with mechanically separated poultry (MSP) meat and wheat protein. *J. Food Sci.*, 1998, **63**, 923-929.
- [9] Makąła H.: Jakość parówek oferowanych konsumentom w sprzedaży detalicznej. *Gosp. Mięś.*, 2012, **64** (6), 22-25.
- [10] Makąła H.: Właściwości i wykorzystanie mięsa mechanicznie odkostnionego – wybrane zagadnienia. *Gosp. Mięś.*, 2012, **64** (4), 12-16.
- [11] Michalski M.: Zawartość wapnia w mięsie oddzielonym mechanicznie metodą tradycyjną (ciśnieniową) i techniką nieniszczącą struktury kości. *Rocz. Inst. Przem. Mięś. Tłuszcz.*, 2009, **47** (1), 77-82.
- [12] Mielnik M.B., Aaby K., Rolfsen K., Ellekjær M.R., Nilsson A.: Quality of comminuted sausages formulated from mechanically deboned poultry meat. *Meat Sci.*, 2002, **61**, 73-84.
- [13] Mroczek J., Słowiński M., Wasińska L.: Zawartość fosforu w mięsie drobiowym odzyskanym mechanicznie. *Mięso i Wędliny*, 1996, (6), 26-28.
- [14] Nowak M., Trziszka T.: Zachowania konsumentów na rynku mięsa drobiowego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **1** (68), 114-120.
- [15] Olszewski A.: Aspekty produkcji parówek. *Gosp. Mięś.*, 2009, **61** (2), 11-16.
- [16] Pereira A.G.T., Ramos E.M., Teixeira J.T., Cardoso G.P., Ramos A.S., Fontes P.R.: Effects of the addition of mechanically deboned poultry meat and collagen fibers on quality characteristics of frankfurter-type sausages. *Meat Sci.*, 2011, **89**, 519-525.
- [17] Perlo F., Bonato P., Teira G., Fabre R., Kueider S.: Physicochemical and sensory properties of chicken nuggets with washed mechanically deboned chicken meat: Research note. *Meat Sci.*, 2006, **72**, 785-788.
- [18] Pietrzak D., Słowiński M., Mroczek J.: Mięso drobiowe odkostnione mechanicznie. *Przem. Spoż.*, 2011, **65** (7-8), 68-71.
- [19] PN-A-82007:1996 ze zmianą A1: 1998. Przetwory mięsne. Wędliny.
- [20] PN-A-82109:2010. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości tłuszczu, białka i wody. Metoda spektrometrii transmisyjnej w bliskiej podczerwieni (NIT) z wykorzystaniem kalibracji na sztucznych sieciach neuronowych (ANN).
- [21] PN-A-86526:1995. Produkty drobiarskie. Wędliny drobiowe. Wymagania wspólne.
- [22] Pomykała R., Michalski M.: Jakość mikrobiologiczna mięsa drobiowego oddzielonego mechanicznie. *Acta Sci. Pol., Med. Veter.*, 2008, **7** (4), 43-49.
- [23] Pussa T.: A study of oxidation products of free polyunsaturated fatty acids in mechanically deboned meat. *J. Food Comp. Anal.*, **22**, 2009, 307-314.
- [24] Shahidi F.: The 2-thiobarbituric acid (TBA) methodology for the evaluation of warmed – over flavour and rancidity in meat products. 36th ICoMST, Cuba, 1990, p. 1008.
- [25] Słowiński M.: Ocena jakości wędlin. W: Ćwiczenia z kierunkowej technologii żywności – technologia mięsa i jaj. Red. J. Mroczek Wyd. SGGW, Warszawa 2000, ss. 47-63.
- [26] Trindade M.A., Contreras C.C., Felício P.E.: Mortadella sausage formulations with partial and total replacement of beef and pork backfat with mechanically separated meat from spent layer hens. *J. Food Sci.*, 2005, **70**, 236-241.
- [27] Tyburcy A., Toszek E., Cegielka A.: Porównanie składu surowcowego i wskaźników chemicznych parówek drobiowych i wieprzowych oferowanych w sprzedaży detalicznej w Warszawie. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **3** (44), 103-112.

**REPLACING PORK-BEEF RAW MATERIAL IN HOMOGENIZED SAUSAGES
WITH MECHANICALLY SECTIONED POULTRY MEAT AFTER HIGH PRESSURE
AND LOW PRESSURE SEPARATION**

S u m m a r y

The objective of the study was to compare the selected quality characteristics of frankfurters manufactured by one of the Polish producers with the use of raw materials showing different technological usefulness. 4 sausage variants were analyzed. The WK control product variant was a sausage made from pork and beef meat. In the remaining three experimental product variants, this raw material was replaced with the following, respectively: in the WM product variant: with mechanically sectioned poultry meat (MSPM) after high-pressure separation; in the WB variant: with MSPM after low-pressure separation; in the WMB variant: with MSPM after high- and low-pressure separation. The quality of sausages was assessed after 24 h and 2 weeks of cold storage based on the physical, chemical, and sensory characteristics determined. It was found that the application of MSPM to manufacture the frankfurters (WM, WB, and WMB) made it possible to reduce the cost of raw materials without deteriorating the sensory quality of sausages compared to pork and beef sausages (WK). The WM, WB, and WMB frankfurters contained significantly less fat, were characterized by a significantly darker colour and by a lower shear force than the WK frankfurters. The oxidation rate of lipids in the MDOM frankfurters was insignificantly higher than in the pork and beef frankfurters.

Key words: frankfurters, mechanically sectioned poultry meat (MSOM), methods of meat separation, quality ☒

URSZULA KRUPA-KOZAK, NATALIA BĄCZEK, JUSTYNA ADAMOWICZ

WPŁYW KAZEINIANU I CYTRYNIANU WAPNIA NA JAKOŚĆ I WŁAŚCIWOŚCI TECHNOLOGICZNE CHLEBA BEZGLUTENOWEGO

Streszczenie

Celiakia jest jedną z najczęściej występujących nietolerancji pokarmowych. Wzbogacanie produktów bezglutenowych składnikami odżywczymi stanowi istotny aspekt zapobiegania i leczenia niedoborów związanych z chorobą. Celem pracy było określenie wpływu dodatku organicznych soli wapnia na jakość i cechy technologiczne chleba bezglutenowego. Zastosowano 10-procentowy dodatek soli wapnia (kazeinianu i/lub cytrynianu wapnia). Sole wapniowe istotnie ($p < 0,05$) zwiększały objętość właściwą doświadczalnego chleba bezglutenowego oraz wpływały na pociemnienie skórki pieczywa. W porównaniu z chlebem kontrolnym, pieczywo doświadczone wzbogacone głównie kazeinianem wapnia charakteryzowało się istotnie większą zawartością białka, natomiast zawartość związków mineralnych i wapnia wzrosła istotnie w chlebie wzbogaconym głównie cytrynianem wapnia. Najwyższą jakością ogólną wyróżniał się chleb wzbogacony mieszanką obu soli wapnia (z przeważającym udziałem kazeinianu wapnia w mieszance). Badane organiczne sole wapnia mogą być stosowane jako dodatek wzbogacający do chleba bezglutenowego, a uzyskany produkt bezglutenowy mógłby stanowić cenne uzupełnienie diety bezglutenowej.

Słowa kluczowe: chleb bezglutenowy, suplementy wapniowe, właściwości technologiczne, celiakia

Wprowadzenie

Celiakia (CD), nazywana także enteropatią glutenową, jest jedną z najczęściej występujących nietolerancji pokarmowych [23]. Egzogennym czynnikiem środowiskowym wywołującym nadmierną odpowiedź układu immunologicznego w CD jest gluten, który jest mieszanką białek znajdujących się w ziarnach pszenicy (gliadyna), żyta (sekalina), jęczmienia (hordeina) i prawdopodobnie owsa (awenina).

*Dr inż. U. Krupa-Kozak, mgr N. Bączek, mgr J. Adamowicz, Zakład Chemii i Biodynamiki Żywności,
Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk, ul. Tuwima 10, 10-748 Olsztyn.
Kontakt: u.krupa-kozak@pan.olsztyn.pl*

Gluten ma właściwości lepko-elastyczne, wykorzystywane w produkcji pieczywa. Tworzy "siatkę", która zatrzymuje powstający w cieście w czasie fermentacji dwutlenek węgla, co powoduje wzrost objętości ciasta i umożliwia tworzenie porowatej struktury miększu pieczywa. Spożycie glutenu może prowadzić do stanu zapalnego błony śluzowej jelita i zaniku kosmków jelitowych, a w konsekwencji do zaburzeń wchłaniania ważnych składników odżywczych, takich jak: żelazo, kwas foliowy, wapń oraz witaminy rozpuszczalne w tłuszczach [22].

Wapń (Ca) jest podstawowym makroelementem pełniącym w organizmie szereg funkcji budulcowych i regulacyjnych. Na jego brak szczególnie narażone są dzieci i młodzież, u których mogą wystąpić zaburzenia wzrostu oraz osoby z upośledzeniem procesu trawienia i wchłaniania jelitowego (gruźlica jelit, mukowiscydoza, celiakia, choroba Crohna) [19]. U osób chorych na CD często wymagane jest uzupełnienie diety witaminą D i związkami wapnia.

Badania dotyczące podwyższenia jakości pieczywa bezglutenowego koncentrują się na uzyskaniu produktu charakteryzującego się cechami zbliżonymi do klasycznego pieczywa pszennego lub pszenno-żytniego. Poprawę właściwości technologicznych uzyskano po zastosowaniu naturalnie bezglutenowych mąk z pseudozbóż [1], mieszanek skrobiowych [5] lub żurków ze zbóż bezglutenowych [32] oraz różnych dodatków, np. hydrokoloidów [6] lub enzymów [11]. Wiele handlowych bezglutenowych produktów wypiekowych nadal charakteryzuje się niską jakością sensoryczną i wartością odżywczą [8]. Przeprowadzono szereg badań dotyczących wzbogacenia produktów bezglutenowych w składniki odżywcze oraz składniki pełniące ważne funkcje fizjologiczne, tj. w błonnik pokarmowy [4] i prebiotyki [18]. Generalnie produkty bezglutenowe są ubogie w białko, związki mineralne i witaminy. W porównaniu z produktami konwencjonalnymi niewiele jest produktów bezglutenowych wzbogaconych w wapń. Dodatki związków wapnia mogą jednak korzystnie wpływać na właściwości wypiekowe i jakość sensoryczną chleba bezglutenowego. Krupa-Kozak i wsp. [20] wykazali, że zastosowanie mieszanki cytrynianu i kazeinianu wapnia, jako składników ciasta bezglutenowego, wpływa korzystnie na barwę skórki i objętość właściwą uzyskanego chleba. Wzbogacenie wapniem produktów bezglutenowych mogłoby spowodować wymierne korzyści i stanowić sposób zapobiegania jego niedoborom.

Spośród dodatków wapniowych najczęściej stosowane są węglan i cytrynian wapnia. Wapń w postaci cytrynianu charakteryzuje się większą przyswajalnością niż w postaci węglanu, tym samym korzystniej oddziałuje na wzrost stężenia wapnia w surowicy i obniżenie poziomu parathormonu (PTH) [12]. Cytrynian wapnia hamuje resorpcję kości u kobiet po menopauzie równie skutecznie jak węglan wapnia [28]. Dodatkowo, wapń w postaci cytrynianu jest wchłaniany niezależnie od pH soku żołądkowego, co ma istotne znaczenie w przypadku osób z zaburzeniami wydzielania kwasów żołądkowych lub biorących leki obniżające kwasowość żołądka [25]. Dobrym

źródłem łatwo przyswajanego wapnia są produkty mleczne. Zastosowane jako dodatki do chleba bezglutenowego korzystnie wpływają na wartość odżywczą produktu, wzbogacając go w wartościowe białka i wapń, jednocześnie poprawiając właściwości sensoryczne i technologiczne [8, 24].

Celem pracy było określenie wpływu dodatku kazeinianu i cytrynianu wapnia oraz ich mieszanek na cechy technologiczne i jakość chleba bezglutenowego.

Material i metody badań

Materiałem doświadczalnym był chleb bezglutenowy, którego głównymi składnikami były: skrobia kukurydziana (AgroTrade, Warszawa, Polska), skrobia ziemniaczana (Przedsiębiorstwo Przemysłu Ziemniaczanego S.A., Niechlów, Polska), pektyna (E 440(i), ZPOW Pektowin, Jasło, Polska), olej słonecznikowy (ZPT Warszawa, Polska), świeże drożdże (Drożdże Babuni, Lesaffre Polska S.A., Wołczyn, Polska), handlowy cukier i sól oraz woda dejonizowana.

Doświadczalny chleb bezglutenowy wzbogacono 10-procentowym dodatkiem organicznych soli wapnia: kazeinianem wapnia (PHZ SM Lacpol, Murowana Goślina, Polska; zawartość wapnia oznaczona doświadczalnie 1,40 %) i cytrynianem wapnia (E 333(iii), Hortimex, Konin, Polska; zawartość wapnia według producenta 21,98 %). Cytrynian wapnia zastosowano ze względu na dużą zawartość wapnia – stanowił on główne źródło tego pierwiastka. Dodatek kazeinianu wapnia uwarunkowany był dużą zawartością białka (92,8 % według producenta), małą zawartością laktozy (0,5 % według producenta) oraz jego korzystnym wpływem na właściwości technologiczne i sensoryczne chleba [20].

Wypiek laboratoryjny

Suche składniki, stanowiące bazę do wypieku chleba bezglutenowego, zestawiono w tab. 1. Wypiek laboratoryjny prowadzono w warunkach opisanych we wcześniejszej publikacji [20]. Uzyskano 9 bochenków każdego rodzaju bezglutenowego chleba doświadczalnego.

Bezpośrednio po ostygnięciu określano masę (przy użyciu wagi elektronicznej z dokładnością 0,01 g) i objętość [26] bochenków oraz wilgotność miękiszu [15]. Obliczano objętość właściwą, wyrażoną jako stosunek objętości do masy, oraz stratę wypiekową całkowitą z równania:

$$\text{Strata wypiekowa całkowita} = ((a - b) \cdot 100) / a [\%]$$

gdzie:

a – masa ciasta uformowanego do wypieku [g],

b – masa pieczywa ochłodzonego [g].

Analizę barwy skórki (górnej powierzchni bochenka) i miękiszu chleba (kromka środkowa o grubości 10 mm) przeprowadzano 2 h po wypieku przy użyciu spektrofo-

tometru ColorFlex (Hunter Associates Laboratory, Inc, Virginia, USA). Pomiaru dokonywano przy użyciu nakładki ze szkłem optycznym o średnicy 30 mm, stosując typ obserwatora 10° oraz iluminat D65. Wyniki wyrażano w systemie CIE L*a*b*. Parametrami określanymi były: jasność L* (L = 0 – czerń, L = 100 – biel), która jest wektorem przestrzennym oraz a* (-a = zielony, +a = czerwony) i b* (-b = niebieski, +b = żółty), które są współrzędnymi trójchromatyczności.

Tabela 1. Skład doświadczalnego chleba bezglutenowego.
Table 1. Composition of experimental gluten-free bread.

| Składniki Ingredients | | [%] | K [g] | CIT [g] | CAS [g] | CIT1/ CAS1 [g] | CIT1/ CAS3 [g] | CIT1/ CAS6 [g] |
|---------------------------------------|---------------------------------------|-----|----------|------------|------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| Skrobia kukurydziana Corn starch | | 33 | 660 | 660 | 660 | 660 | 660 | 660 |
| Skrobia ziemniaczana Potato starch | | 8 | 160 | 160 | 160 | 160 | 160 | 160 |
| Pektyna Pectin | | 2 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 |
| Cukier Sugar | | 2,5 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 |
| Sól Salt | | 0,7 | 14 | 14 | 14 | 14 | 14 | 14 |
| Drożdże Yeast | | 2,5 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 |
| Olej Oil | | 1,3 | 26 | 26 | 26 | 26 | 26 | 26 |
| Woda Water | | 50 | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 |
| Sole Salts | cytrynian wapnia calcium citrate | 10 | - | 200 | - | 100 | 50 | 25 |
| | kazeinian wapnia calcium caseinate | | - | - | 200 | 100 | 150 | 175 |

Objaśnienia: / Explanatory notes:

K – bezglutenowy chleb kontrolny bez dodatku soli wapnia / control gluten-free bread without calcium salts added; CIT – chleb bezglutenowy z dodatkiem cytrynianu wapnia / gluten-free bread with calcium citrate added; CAS – chleb bezglutenowy z dodatkiem kazeinianu wapnia / gluten-free bread with calcium caseinate added; CIT/CAS – chleb bezglutenowy z dodatkiem cytrynianu i kazeinianu wapnia w stosunku 1 : 1 / gluten-free bread with calcium citrate and calcium caseinate added in 1 : 1 ratio; CIT1/CAS3 – chleb bezglutenowy z dodatkiem cytrynianu i kazeinianu wapnia w stosunku 1 : 3 / gluten-free bread with calcium citrate and calcium caseinate added in 1 : 3 ratio; CIT1/CAS6 – chleb bezglutenowy z dodatkiem cytrynianu i kazeinianu wapnia w stosunku 1 : 6 / gluten-free bread with calcium citrate and calcium added in 1 : 6 ratio.

Próbki doświadczalnego chleba bezglutenowego liofilizowano, a następnie oznaczano w nich zawartość związków mineralnych (w postaci popiołu) [13], białka ogółem ($N \times 6,25$) [14] oraz skrobi ogółem [16].

Zawartość wapnia w liofilizowanych próbkach chleba bezglutenowego oznaczano metodą spektroskopii absorpcji atomowej (AAS) poprzedzonej mineralizacją [31].

Ocenie semi-konsumenckiej poddawano próbki chleba bezglutenowego przechowywanego w woreczkach foliowych zamykanych klipssem, przez 24 h, w temp. 20 ± 2 °C, bez dostępu światła. Trzydziestu nieprzeszkolonych ochotników w wieku od 24 do 58 lat przeprowadzało ocenę hedonistyczną chleba doświadczalnego i wyraziło swoje preferencje w dziewięciopunktowej skali (1 = niepożądany, 9 = bardzo pożądany) [2].

W celu przeprowadzenia analizy obrazu wykonywano odwzorowanie przekrojów poprzecznych przykładowych kromek środkowych (10 mm) doświadczalnego chleba bezglutenowego przy użyciu skanera (90 pikseli/cm², Epson Perfection V200 Photo, Seiko Epson Corporation, Nagano, Japonia) zarządzanego oprogramowaniem Epson Creativity Suite Software. Zastosowano domyślne ustawienia jasności i kontrastu, a uzyskane obrazy zapisywano w formacie jpg, celem dalszej analizy przy użyciu oprogramowania ImageJ (National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA). Uzyskane wyniki obejmowały pole powierzchni kromki, obwód, grubość skórki oraz stosunek wysokości do szerokości kromki. W celu analizy porów mięksiszu obrazy konwertowano do 8-bitowej wersji w skali szarości i zastosowano manualną metodę wyznaczania progów binaryzacji do segmentacji obiektów [9]. Z każdego obrazu wybierano prostokątny obszar zainteresowania (ROI) w taki sposób, aby pokrywał możliwie największą część powierzchni mięksiszu. Uzyskane wyniki obejmowały liczbę porów przypadającą na 1 cm² oraz pole powierzchni porów na 1 cm². Obliczano kolistość porów z równania:

$$\text{Kolistość} = 4 \times \pi \times \text{średnia powierzchnia porów} / (\text{średni obwód porów})^2$$

Wartość 1 wskazuje na idealny okrąg [21].

Uzyskane wyniki stanowią średnią arytmetyczną z przynajmniej trzech powtórzeń, natomiast wyniki analizy barwy są średnią arytmetyczną z 9 powtórzeń. Analizę statystyczną wyników przeprowadzono przy użyciu programu Statistica 7.1 (StatSoft, Tulsa, OK, USA), stosując jednoczynnikową analizę wariancji. Istotność różnic między wartościami średnimi weryfikowano testem Fishera na poziomie istotności $p < 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Dodatek wybranych soli wapnia: cytrynianu i kazeinianu miał istotny wpływ na jakość technologiczną badanych prób chleba bezglutenowego (tab. 2). Najmniejszą objętością właściwą cechował się chleb kontrolny (bez dodatków), co było zgodne

z wynikami badań Krupy-Kozak i wsp. [20]. Dodatek soli wapnia do doświadczalnych mieszanek spowodował wzrost objętości właściwej uzyskanego pieczywa. W porównaniu z chlebem kontrolnym ($1,90 \text{ g/cm}^3$) objętość właściwa chlebów CAS i CIT1/CAS6, wzbogaconych głównie kazeinianem wapnia, wzrosła o blisko 40 %. Cytrynian wapnia wpływał na objętość właściwą eksperymentalnego pieczywa w mniejszym zakresie. Objętość właściwa chleba CIT i CIT1/CAS1 (odpowiednio z: 10- i 5-procentowym dodatkiem cytrynianu wapnia) była istotnie większa ($p < 0,05$) w porównaniu z chlebem kontrolnym, jednak znacząco mniejsza ($p < 0,05$) w stosunku do chleba o dużej zawartości kazeinianu wapnia. Gallagher i wsp. [8] wykazali istotny wpływ dodatku produktów mlecznych na wzrost objętości chleba bezglutenowego. Natomiast Krupa-Kozak i wsp. [20] uzyskały porównywalną objętość właściwą chleba wzbogaconego wyłącznie kazeinianem wapnia, jednak znacznie większą – chleba z cytrynianem wapnia. Mała objętość właściwa chleba CIT uzyskanego w tym doświadczeniu może być skutkiem zbyt wysokiego dodatku cytrynianu wapnia, który jest stosowany w przemyśle spożywczym jako regulator kwasowości. Jego nadmiar mógł wpłynąć niekorzystnie na aktywność drożdży piekarniczych, zbyt mocno zakwaszając środowisko.

Generalnie, wzbogacane wapniem pieczywo doświadczalne charakteryzowało się zbliżoną stratą wypiekową całkowitą, bliską 15 %, porównywalną z próbką kontrolną. Jedynie w chlebie CIT (wyłącznie z cytrynianem wapnia) strata wypiekowa była istotnie mniejsza ($p < 0,05$). Transport wody oraz rozpuszczonych w niej składników zależy od struktury mięksizu chleba, wielkości porów oraz liczby połączeń pomiędzy komórkami gazowymi [27, 29]. Różnice straty wypiekowej obserwowane pomiędzy doświadczalnymi próbkami pieczywa bezglutenowego mogą wynikać z wielkości porów mięksizu (fot.1, tab. 4).

Ocena barwy skórki doświadczalnego chleba bezglutenowego wykazała, że najwyższą wartością parametru L^* charakteryzował się chleb kontrolny (tab. 2), który był bladej i postrzegany jako nieatrakcyjny (fot. 1). Chleby bezglutenowe wzbogacone kazeinianem wapnia charakteryzowały się istotnie niższą ($p < 0,05$) wartością L^* i ciemniejszą barwą skórki. Jednak najniższą wartość parametru L^* zmierzono w chlebie bezglutenowym CIT1/CAS1, w którym dodatek cytrynianu i kazeinianu wapnia był równy 5 %. Obserwowane pociemnienie skórki było prawdopodobnie skutkiem zachodzących na powierzchni chleba reakcji Maillarda i karmelizacji. Obie reakcje nieenzymatycznego brązowienia są wykorzystywane w piekarnictwie i wpływają pozytywnie na barwę, smak i charakterystyczny zapach pieczywa. Wartości parametrów a^* i b^* były dodatnie we wszystkich analizowanych próbkach skórki chleba doświadczalnego, uzyskując najniższe wartości w chlebie kontrolnym (odpowiednio: 0,81 i 12,61). Wzbogacenie wypiekowych mieszanek bezglutenowych solami wapnia, szczególnie kazeinianem wapnia, znacząco podwyższyło ($p < 0,05$) wartości obu parametrów.

Chleb CAS, wzbogacony wyłącznie kazeinianem wapnia, wyróżniał się najwyższymi wartościami a^* (barwa czerwona) i b^* (barwa żółta).

Miękisz eksperymentalnych chlebów bezglutenowych istotnie różnił się ($p < 0,05$) barwą (fot. 1, tab. 2). Chleb z dodatkiem kazeinianu i cytrynianu wapnia w równych ilościach (5 %) charakteryzował się najjaśniejszym miękiszem ($L^* = 77,29$). Dodatek wyłącznie cytrynianu wapnia (CIT) nie powodował istotnych ($p < 0,05$) zmian w jasności barwy miękiszu w stosunku do próbki kontrolnej, natomiast próbki chleba z dodatkiem wyłącznie kazeinianu wapnia (CAS) charakteryzowały się istotnie niższą ($p < 0,05$) wartością parametru L^* . Te próbki miękiszu były tym ciemniejsze, im wyższy był dodatek tej soli (tab. 2). Podobnie, jak w przypadku barwy skórki, stwierdzono dodatnie wartości parametrów a^* i b^* we wszystkich analizowanych próbkach miękiszu chleba doświadczalnego. Chleby wzbogacone mieszanką soli wapnia charakteryzowały się istotnie wyższymi wartościami ($p < 0,05$) parametrów a^* i b^* , przy czym wartości parametrów wzrastały wraz ze wzrastającym udziałem kazeinianu wapnia w mieszance. Gallagher i wsp. [8] zastosowali dodatek proszków mlecznych o wysokiej zawartości białka i uzyskali pieczywo bezglutenowe charakteryzujące się brązową barwą skórki i jasnym miękiszem, wysoko ocenione w testach sensorycznych ze względu na wygląd. Podobnie Nunes i wsp. [24] wykazali, że dodatek proszków mlecznych do kompozycji bezglutenowej korzystnie wpłynie na barwę chleba.

Skład chemiczny eksperymentalnego chleba bezglutenowego przedstawiono w tab. 3. Największą wilgotnością miękiszu charakteryzował się chleb kontrolny (51,94 %). Dodatek badanych soli wapnia powodował istotne ($p < 0,05$) zmniejszenie wilgotność miękiszu. Jedynie wilgotność chleba CIT była porównywalna z chlebem kontrolnym (tab. 3). Mała wilgotność miękiszu wpływała ujemnie na jakość chleba bezglutenowego, który był kruchy i mało elastyczny. Handlowe mieszanki bezglutenowe [33], jak również chleb bezglutenowy [8] cechuje niewielka zawartość białka. Wzbogacenie eksperymentalnej mieszanki bezglutenowej zasobnym w białko kazeinianem wapnia skutkowało wzrostem zawartości białka ogółem w badanych próbkach chleba. Chleb CAS był ponad trzynastokrotnie zasobniejszy w białko (20,94 % s.m.) w porównaniu z niewzbogaconym chlebem kontrolnym (1,52 % s.m.). Zawartość białka we wzbogaconych mieszanką obu badanych soli wapnia chlebach bezglutenowych była proporcjonalna do wzrastającej ilości kazeinianu wapnia. Białka mleka cechują się wysoką wartością odżywczą, dlatego pieczywo z ich dodatkiem jest zasobne w białko, a przez to w ważne aminokwasy, tj. lizynę, metioninę i tryptofan. Pochodne mleka mogą być z powodzeniem dodawane do produktów bezglutenowych, jako suplementy białkowe oraz źródło wapnia [17]. Jednak stosując takie dodatki w produkcji żywności bezglutenowej, należy zwrócić szczególną uwagę na zawartą w nich laktozę. Osoby chore na celiakię często cierpią na nietolerancję laktozy z powodu zaburzeń w wydzielaniu laktazy na skutek atrofii kosmków jelitowych [22].

Tabela 2. Właściwości technologiczne doświadczalnego chleba bezglutenowego.

Table 2. Technological parameters of experimental gluten-free bread.

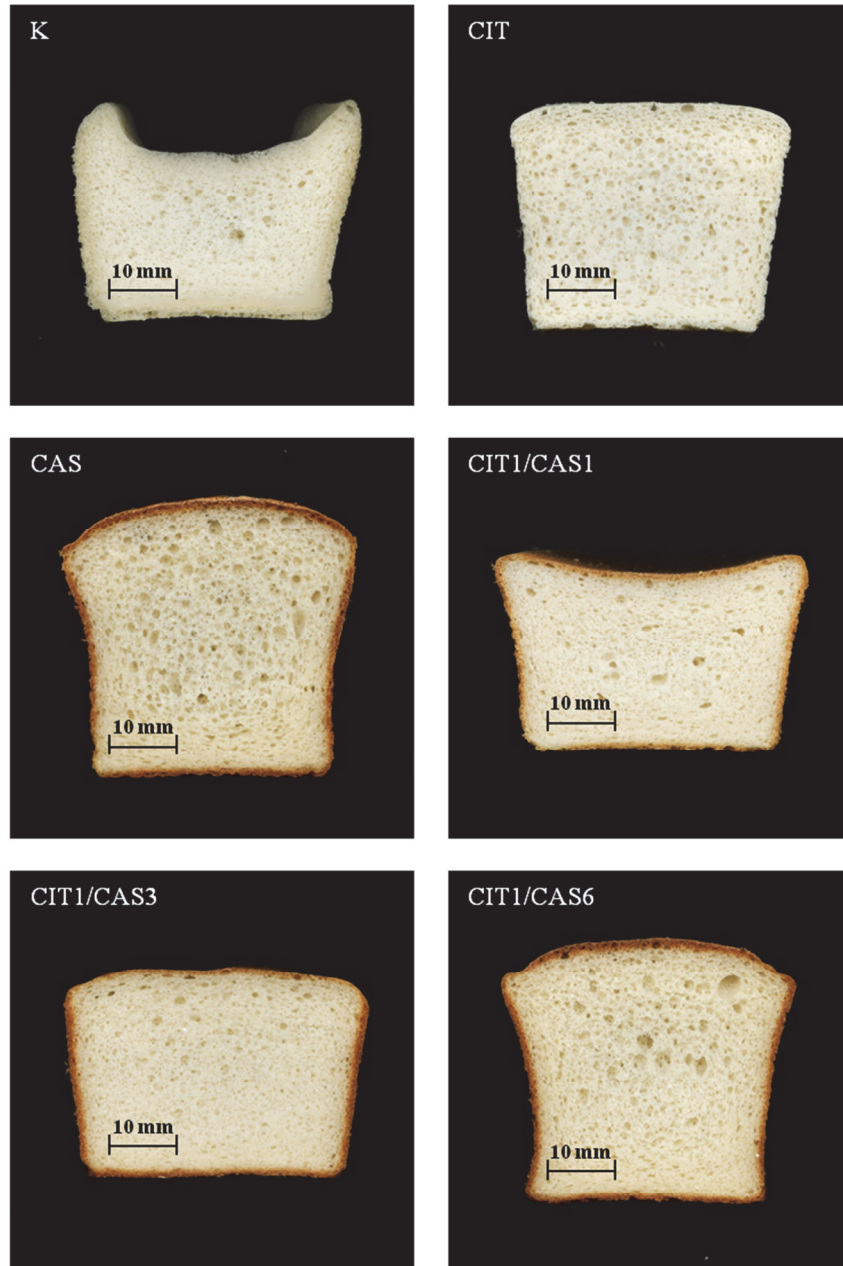
| Rodzaj pieczywa Type of bread | Objętość właściwa Specific volume [g/cm ³] | Strata wypiekowa Bake loss [%] | Barwa skórki Crust colour | | | Barwa mięszku Crumb colour | | |
|----------------------------------|--|--------------------------------------|------------------------------|---------------------------|----------------------------|-------------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | | | L* | a* | b* | L* | a* | b* |
| K | 1,90 ^d ± 0,07 | 15,14 ^a ± 0,64 | 73,38 ^a ± 3,41 | 0,81 ^f ± 0,07 | 12,61 ^e ± 0,44 | 75,71 ^b ± 1,18 | 1,00 ^c ± 0,05 | 13,59 ^d ± 0,44 |
| CIT | 2,29 ^c ± 0,13 | 12,78 ^b ± 0,64 | 69,06 ^b ± 3,02 | 4,19 ^c ± 0,50 | 21,54 ^d ± 2,01 | 76,11 ^b ± 0,90 | 0,74 ^d ± 0,09 | 12,27 ^e ± 0,59 |
| CAS | 2,65 ^a ± 0,01 | 14,58 ^a ± 0,72 | 46,00 ^c ± 0,99 | 18,74 ^a ± 0,75 | 27,70 ^a ± 1,58 | 71,08 ^c ± 1,56 | 1,66 ^a ± 0,17 | 15,99 ^a ± 0,57 |
| CIT1/CAS1 | 2,18 ^c ± 0,16 | 14,58 ^a ± 0,83 | 40,67 ^d ± 3,21 | 14,28 ^d ± 0,70 | 24,85 ^c ± 1,24 | 77,29 ^a ± 0,77 | 1,46 ^b ± 0,12 | 14,51 ^c ± 0,60 |
| CIT1/CAS3 | 2,47 ^{bc} ± 0,11 | 14,44 ^a ± 0,64 | 43,12 ^d ± 6,08 | 16,86 ^c ± 1,25 | 26,57 ^{ab} ± 2,44 | 71,69 ^c ± 1,73 | 1,50 ^b ± 0,23 | 15,09 ^b ± 0,87 |
| CIT1/CAS6 | 2,62 ^{ab} ± 0,25 | 15,00 ^a ± 1,50 | 42,63 ^d ± 3,71 | 17,58 ^b ± 0,85 | 26,23 ^b ± 2,21 | 71,37 ^c ± 1,98 | 1,56 ^{ab} ± 0,14 | 15,35 ^b ± 0,44 |

Objaśnienia: / Explanatory notes:

wartość średnia ± odchylenie standardowe; n = 9 / mean value ± standard deviation; n = 9; a, b, c – wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie (p < 0,05) / mean values in columns and denoted by different letters vary statistically significantly (p < 0.05); Pozostałe objaśnienia jak pod tab. 1. / Other explanatory notes as in Tab. 1.

Chleb kontrolny oraz chleb CIT charakteryzowały się największą zawartością skrobi (odpowiednio: 79,47 i 78,82 % s.m.). W przeciwieństwie do zawartości białka, ilość skrobi zmniejszała się stopniowo wraz ze wzrastającą ilością kazeinianu wapnia w mieszance wypiekowej. Chleb CAS zawierał blisko 20 % mniej skrobi w porównaniu z próbką kontrolną.

Dodatek cytrynianu wapnia miał istotny wpływ zarówno na zawartość składników mineralnych, jak i samego wapnia w próbkach chleba bezglutenowego (tab. 3). Dziesięciokrotnie większą zawartością popiołu w porównaniu z próbką kontrolną (0,48 % s.m.) charakteryzował się chleb CIT (4,82 % s.m.). Ponadto, chleb ten wyróżniał się zawartością wapnia, która w porównaniu z chlebem kontrolnym (0,22 % s.m.) była o ponad 30 mg/g większa. Dodatek ubogiego w wapń kazeinianu wapnia (1,4 %) wpływał istotnie na wzrost zawartość wapnia jedynie w chlebie CAS. Uzyskane doświadczalnie pieczywo bezglutenowe było bogate w składniki mineralne, a szczególnie w wapń. Zalecana dzienna podaż wapnia rekomendowana przez WHO wynosi: dla



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

Fot. 1. Widok eksperymentalnego chleba bezglutenowego wzbogaconego solami wapnia
Photo 1. Images of the gluten-free bread containing calcium supplements

dzieci do 9. roku życia od 300 ÷ 700 mg, w wieku dojrzewania – do 1300 mg, dla osób dorosłych: 1000 ÷ 1300 mg, a osób powyżej 65 roku życia – 1300 mg [30]. Zastosowane sole wapnia korzystnie wpływały na właściwości odżywcze doświadczalnych chlebów bezglutenowych.

Tabela 3. Skład chemiczny doświadczalnego chleba bezglutenowego.

Table 3. Chemical composition of experimental gluten-free bread.

| Rodzaj pieczywa Type of bread | Wilgotność miękiszu Crumb moisture [%] | Białko ogółem [% s.m.] Total protein [% d.m.] | Skrobia ogółem [% s.m.] Total starch [% d.m.] | Popiół [% s.m.] Ash [% d.m.] | Wapń Calcium [mg/g] |
|----------------------------------|---|--|--|---------------------------------------|---------------------------|
| K | 51,94 ^a ± 0,19 | 1,52 ^e ± 0,05 | 79,47 ^a ± 1,20 | 0,48 ^f ± 0,01 | 0,22 ^f ± 0,01 |
| CIT | 47,94 ^{ab} ± 0,02 | 1,36 ^e ± 0,04 | 78,82 ^a ± 2,04 | 4,82 ^a ± 0,01 | 31,29 ^a ± 0,34 |
| CAS | 45,04 ^b ± 0,00 | 20,94 ^a ± 0,13 | 60,44 ^c ± 1,96 | 1,03 ^e ± 0,20 | 1,45 ^e ± 0,02 |
| CIT1/CAS1 | 45,19 ^b ± 0,04 | 12,05 ^d ± 0,13 | 69,23 ^b ± 0,44 | 3,28 ^b ± 0,03 | 19,33 ^b ± 0,46 |
| CIT1/CAS3 | 44,05 ^b ± 0,03 | 18,96 ^c ± 0,05 | 63,51 ^c ± 1,04 | 2,21 ^c ± 0,02 | 10,98 ^c ± 0,50 |
| CIT1/CAS6 | 44,69 ^b ± 0,10 | 20,45 ^b ± 0,13 | 61,77 ^c ± 2,39 | 1,73 ^d ± 0,01 | 6,77 ^d ± 0,05 |

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

W analizie obrazu poprzecznego przekroju chleba bezglutenowego (tab. 4.) wykazano, że dodatek badanych soli wapnia wpływał istotnie ($p < 0,05$) na pole powierzchni i obwód badanych próbek chleba w stosunku do próbki kontrolnej. Największym polem powierzchni i obwodem kromki charakteryzował się chleb wzbogacony kazeinianem wapnia (CAS). W przypadku próbek z dodatkiem dwóch soli wapnia wartość obu parametrów wzrastała proporcjonalnie do zwiększającej się ilości kazeinianu wapnia w mieszance wypiekowej. Dodatek cytrynianu wapnia spowodował 25-procentowy wzrost pola powierzchni chleba CIT, nie wpływając istotnie na jego obwód. Zastosowane dodatki wapnia, a szczególnie kazeinian wapnia, wpływały na grubość skórki badanych chlebów doświadczalnych (tab. 4). W porównaniu z chlebem kontrolnym, chleb CAS charakteryzował się istotnie ($p < 0,05$) grubszą skórką. Chleby z dodatkiem obu soli wapnia miały tym grubszą skórę, im wyższy był udział kazeinianu wapnia w mieszance. Wielkość kromki środkowej chlebów bezglutenowych, wyrażona jako stosunek wysokości do szerokości, pozostaje w ścisłej relacji z objętością właściwą chleba. W porównaniu z chlebem kontrolnym, próbki chleba wzbogaconego wapniem cechowały się istotnie ($p < 0,05$) wyższą wartością tego wskaźnika. Wielkość kromki środkowej wzrastała proporcjonalnie do zwiększającej się zawartości kazeinianu wapnia w mieszance wypiekowej (tab. 4). Uzyskane wyniki były zgodne

z wynikami poprzednich badań [20]. Hager i wsp. [10] oceniali jakość chleba bezglutenowego uzyskanego z komercyjnych mąk bezglutenowych i stwierdzili, że chleb z mąki kukurydzianej charakteryzował się najmniejszą powierzchnią kromki, największą zaś – chleb uzyskany z mąki ryżowej. Autorzy podkreślili decydujący wpływ surowca użytego do wypieku na jakość i strukturę uzyskanego pieczywa. W przeprowadzonym doświadczeniu sole wapnia, a szczególnie kazeinian wapnia, korzystnie wpływały na parametry wielkości kromki, a uzyskane wyniki były zbliżone do wyników odnoszących się do chleba pszennego [10].

Analiza parametrów porów miękiszu chleba obejmowała liczbę, powierzchnię i kolistość porów (tab. 4). Liczba porów przypadająca na 1 cm² miękiszu we wzbogaconych chlebach bezglutenowych była wyższa w porównaniu z próbką kontrolną. Ponadto, pory miękiszu chlebów wzbogaconych kazeinianem wapnia (CAS) lub mieszkanką obu soli z przeważającym udziałem kazeinianu wapnia (CIT1/CAS3 i CIT1/CAS6) charakteryzowały się istotnie większym ($p < 0,05$) polem powierzchni. Powstający podczas fermentacji ciasta CO₂ dyfunduje szybciej do większych porów, ze względu na niższe ciśnienie w nich panujące [3], powodując powiększanie się porów. Różnice pod względem liczby i powierzchni porów pomiędzy badanymi próbkami chleba doświadczalnego mogą wynikać z różnic w konsystencji ciasta oraz intensywności procesu fermentacji [7]. Po przeanalizowaniu kolistości porów miękiszu nie stwierdzono istotnych różnic ($p < 0,05$) pomiędzy próbkami chlebów wzbogaconych a chlebem kontrolnym, z wyjątkiem chleba CIT. Zaobserwowane różnice w charakterystyce miękiszu doświadczalnych chlebów bezglutenowych (powierzchnia i liczba porów) wynikają prawdopodobnie z różnic w zawartości białka (tab. 3) oraz konsystencji uzyskanych ciast bezglutenowych [7]. Gallagher i wsp. [8] dowiedli, że pory chleba bezglutenowego wzbogaconego 6-procentowym dodatkiem kazeinianu sodu zajmowały 28 % całkowitej powierzchni kromki, podczas gdy w chlebie kontrolnym – aż 43 %. Autorzy wskazują, że zawartość białka w preparacie wzbogacającym wpływa na wymiary i liczbę porów miękiszu chleba bezglutenowego – im mniej białka zawiera dodatek wzbogacający, tym pory są większe. Nunes i wsp. [24] stwierdzili, że 10-procentowy dodatek kazeinianu w postaci soli sodowej do chleba bezglutenowego znacząco wpływa na zwiększenie średniej powierzchni porów miękiszu oraz na ich liczbę w stosunku do próbki kontrolnej, co wskazuje na bardziej otwartą strukturę miękiszu chleba wzbogaconego.

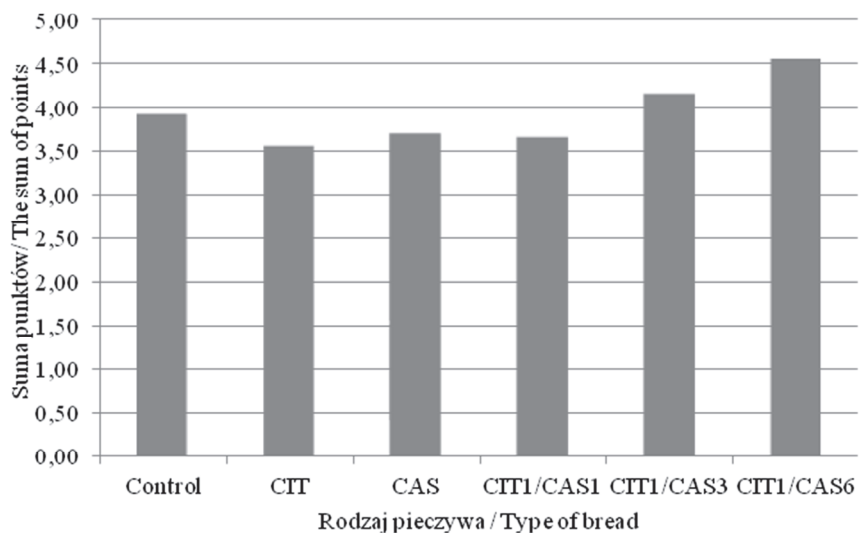
W analizie semi-konsumenckiej (rys. 1) kontrolny chleb bezglutenowy oceniono nisko (3,9 pkt). Chleb postrzegany był jako blade i nieatrakcyjny (fot. 1). W porównaniu z chlebem kontrolnym próbki chleba z dodatkiem jednego rodzaju soli wapnia, cytrynianem (CIT) lub kazeinianem (CAS), oceniono jeszcze niżej (odpowiednio: 3,6 i 3,7 pkt), podczas gdy zastosowana mieszanka obu soli wpłynęła na podwyższenie not

Tabela 4. Parametry kromki i porów miększu doświadczalnego chleba bezglutenowego.

Table 4. Parameters of slice and crumb cells of experimental gluten-free bread.

| Rodzaj pieczywa Type of bread | Parametry kromki Parameters of slice | | | | Parametry porów miększu Parameters of crumb cells | | |
|----------------------------------|--|-------------------------------|---|---|---|---|---------------------------------|
| | Powierzchnia Area [cm ²] | Obwód Perimeter [cm] | Grubość skórki Crust thickness [mm] | Stosunek wysokości do szerokości Height/width ratio [-] | Liczba porów [Nr/cm ²] Number of cells [No/1 cm ²] | Powierzchnia Area [mm ² /cm ²] | Kolistość Circularity [-] |
| K | 40,67 ^c ± 2,75 | 28,53 ^c ± 1,30 | 1,10 ^c ± 0,10 | 0,60 ^d ± 0,05 | 5 ^b ± 1 | 29,77 ^c ± 2,96 | 0,24 ^b ± 0,05 |
| CIT | 50,96 ^b ± 4,08 | 29,00 ^c ± 0,14 | 1,32 ^c ± 0,15 | 0,81 ^b ± 0,09 | 7 ^a ± 1 | 31,82 ^{bc} ± 5,28 | 0,37 ^a ± 0,03 |
| CAS | 62,00 ^a ± 1,82 | 31,70 ^a ± 0,17 | 3,49 ^a ± 0,08 | 1,13 ^a ± 0,02 | 7 ^a ± 1 | 36,09 ^b ± 2,18 | 0,28 ^b ± 0,01 |
| CIT/CAS | 53,07 ^b ± 5,52 | 30,14 ^b ± 1,31 | 2,39 ^b ± 0,32 | 0,79 ^c ± 0,09 | 7 ^a ± 1 | 30,38 ^{bc} ± 3,23 | 0,24 ^b ± 0,01 |
| CIT1/CAS3 | 56,05 ^{ab} ± 6,09 | 30,59 ^{ab} ± 1,58 | 2,44 ^b ± 0,36 | 0,82 ^b ± 0,12 | 6 ^{ab} ± 1 | 38,51 ^a ± 3,44 | 0,28 ^b ± 0,02 |
| CIT1/CAS6 | 59,86 ^a ± 5,06 | 31,38 ^a ± 0,92 | 2,88 ^b ± 0,05 | 1,01 ^{ab} ± 0,07b | 6 ^{ab} ± 1 | 39,39 ^a ± 5,06 | 0,25 ^b ± 0,04 |

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



Rys. 1. Wyniki oceny semi-konsumenckiej doświadczalnego chleba bezglutenowego.

Fig. 1. Results of semi-consumer evaluation of experimental gluten-free bread.

w ocenie ogólnej pieczywa. W ocenie konsumentów najlepszy był chleb bezglutenowy CIT1/CAS6, któremu przyznano 4,6 pkt. Podobnie, we wcześniejszych badaniach Krupy-Kozak i wsp. [20] wykazano, że zastosowanie mieszanki kazeinianu i cytrynianu wapnia, jako dodatku do chleba bezglutenowego, korzystnie wpływało na parametry sensoryczne uzyskanego pieczywa.

Wnioski

1. Zastosowanie do produkcji chleba bezglutenowego dodatku organicznych soli wapnia, szczególnie kazeinianu wapnia, miało pozytywny wpływ na jakość technologiczną uzyskanego pieczywa, skutkowało wzrostem objętości właściwej oraz korzystnym zabarwieniem skórki chlebów doświadczalnych.
2. Dodatek organicznych soli wapnia wpłynął na podwyższenie wartości odżywczej chleba bezglutenowego, zwiększając istotnie ($p < 0,05$) zawartość białka (kazeinian wapnia) oraz związków mineralnych, w tym wapnia (cytrynian wapnia) w pieczywie.
3. Wyróżniającą jakością ogólną w ocenie konsumentów charakteryzował się chleb CIT1/CAS6 wzbogacony mieszanką obu soli, z przeważającym udziałem kazeinianu wapnia.
4. Organiczne sole wapnia, kazeinian i cytrynian, mogą być stosowane jako dodatek wzbogacający do chleba bezglutenowego, a uzyskany produkt mógłby stanowić cenny składnik diety bezglutenowej.

Badania finansowane przez Narodowe Centrum Nauki w ramach projektu DEC-2011/01/D/NZ9/02692, Fundację na Rzecz Nauki Polskiej w ramach programu Pomost – wsparcie dla kobiet w ciąży /1/NQC/2011 oraz z budżetu na badania statutowe Zakładu Chemii i Biodynamiki Żywności IRZiBŻ PAN w Olsztynie.

Literatura

- [1] Alvarez-Jubete L., Auty M., Arendt E.K., Gallagher E.: Baking properties and microstructure of pseudocereal flours in gluten-free bread formulations. *Eur. Food Res. Technol.*, 2011, **230** (3), 437-445.
- [2] Baryłko-Pikielna N., Matuszewska I.: *Sensoryczne badania żywności. Podstawy. Metody. Zastosowania.* Wyd. II. Wyd. Nauk. PTTŻ, Kraków 2014.
- [3] Bloksma A.H.: Dough structure, rheology, and baking quality. *Cereal Foods World*, 1990, **35**, 237-244.
- [4] Diowksz A., Sucharzewska D., Ambroziak W.: Rola błonnika pokarmowego w kształtowaniu cech funkcjonalnych ciasta i chleba bezglutenowego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, **2** (63), 83-93.
- [5] Diowksz A., Sucharzewska D., Ambroziak W.: Wpływ składu mieszanek skrobiowych na właściwości chleba bezglutenowego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **2** (57), 40-50.

- [6] Dłużewska E., Marciniak K., Dojczew D.: Koncentraty chleba bezglutenowego z dodatkiem wybranych hydrokoloidów. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2001, **8** (2), 56-67.
- [7] Dobraszczyk B.J., Smewing J., Albertini M., Maesmans G., Schofield J.D.: Extensional rheology and stability of gas cell walls in bread doughs at elevated temperatures in relation to bread making performance. *Cereal Chem.* 2003, **80**, 218-224.
- [8] Gallagher E., Gormley T.R., Arendt E.K.: Crust and crumb characteristics of gluten free breads. *J. Food. Eng.*, 2003, **56** (2-3), 153-161.
- [9] Gonzales-Barron U., Butler F.: A comparison of seven thresholding techniques with the k-means clustering algorithm for measurement of breadcrumb features by digital image analysis. *J. Food Eng.*, 2006, **74** (2), 268-278.
- [10] Hager A.S., Wolter A., Czerny M., Bez J., Zannini E., Arendt E.K., Czerny M.: Investigation of product quality, sensory profile and ultrastructure of breads made from a range of commercial gluten-free flours compared to their wheat counterparts. *Eur. Food Res. Technol.*, 2012, **235** (2), 333-344.
- [11] Hamada S., Suzuki K., Aoki N., Suzuki Y.: Improvements in the qualities of gluten-free bread after using a protease obtained from *Aspergillus oryzae*. *J. Cereal Sci.*, 2013, **57** (1), 91-97.
- [12] Heller H.J., Greer L.G., Haynes S.D., Poindexter J.R., Pak C.Y.: Pharmacokinetic and pharmacodynamic comparison of two calcium supplements in postmenopausal women. *J. Clin. Pharmacol.*, 2002, **40** (11), 1237-1244.
- [13] ICC – Approved methods of analysis. Method 104/1 Determination of Ash in Cereals and Cereal Products. Approved 1960, revised 1990. International Association of Food Science and Technology. Vienna, Austria, 1994.
- [14] ICC – Approved methods of analysis. Method 105/2 Determination of Crude Protein in Cereals and Cereal Products for Food and for Feed. Approved 1980, revised 1994. International Association of Food Science and Technology. Vienna, Austria, 1994.
- [15] ICC – Approved methods of analysis. Method 110/1 Determination of the Moisture Content of Cereals and Cereal Products (Practical method). Approved 1960, revised 1976. International Association of Food Science and Technology. Vienna, Austria, 1994.
- [16] ICC – Approved methods of analysis. Method 123/1 Determination of Starch Content by Hydrochloric Acid Dissolution. Approved 1976, revised 1994. International Association of Food Science and Technology. Vienna, Austria, 1994.
- [17] Kenny S., Wehrle K., Stanton C., Arendt E.K.: Incorporation of dairy ingredients into wheat bread: effects on dough rheology and bread quality. *Eur. Food Res. Technol.*, 2000, **210** (6), 391-396.
- [18] Korus J., Grzelak K., Achremowicz B., Sabat R.: Influence of prebiotic additions on the quality of gluten-free bread and on the content of inulin and fructooligosaccharides. *Food Sci. Technol. Int.*, 2006, **12** (6), 489-495.
- [19] Krupa-Kozak U. Pathologic bone alterations in celiac disease: Etiology, epidemiology, and treatment. *Nutrition*, 2014, **30**, 16-24.
- [20] Krupa-Kozak U., Troszyńska A., Bączek N., Soral-Śmietana M.: Effect of organic calcium supplements on the technological characteristic and sensory properties of gluten-free bread. *Eur. Food Res. Technol.*, 2011, **232** (3), 497-508.
- [21] Matos M.E., Rosell C.M.: Relationship between instrumental parameters and sensory characteristics in gluten-free breads. *Eur. Food Res. Technol.*, 2012, **235** (1), 107-117
- [22] Murray J.A.: The widening spectrum of celiac disease. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1999, **69** (3), 354-365.
- [23] Mustalahti K., Catassi C., Reunanen A., Fabiani E., Heier M., McMillan S., Murray L., Metzger M.H., Gasparin M., Bravi E., Mäki M. and the members of the Coeliac EU Cluster, Epidemiology: The prevalence of celiac disease in Europe: Results of a centralized, international mass screening project. *Annal Med.*, 2010, **42**, 587-595.

- [24] Nunes M.H.B., Ryan L.A.M., Arendt E.K.: Effect of low lactose dairy powder addition on the properties of gluten-free batters and bread quality. *Eur. Food Res. Technol.*, 2009, **229** (1), 31-41.
- [25] O'Connell M.B., Madden D.M., Murray A.M., Heaney R.P., Kerzner L.J.: Effects of proton pump inhibitors on calcium carbonate absorption in women: a randomized crossover trial. *Am. J. Med.*, 2005, **118** (7), 778-781.
- [26] PN-A-74108:1996. Pieczywo. Metody badań.
- [27] Roca E., Guillard V., Guilbert S., Gontard N.: Moisture migration in a cereal composite food at high water activity: Effects of initial porosity and fat content. *J. Cereal Sci.*, 2006, **43** (2), 144-151.
- [28] Thomas S.D.C., Need A.G., Tucker G., Slobodian P., O'Loughlin P.D., Nordin B.E.: Suppression of parathyroid hormone and bone resorption by calcium carbonate and calcium citrate in postmenopausal women. *Calcified. Tissue Int.*, 2008, **83** (2), 81-84.
- [29] Van Dalen G, Nootenboom P., van Vliet L.J., Voortman L., Esveld E.: 3-D imaging, analysis and modelling of porous cereal products using x-ray microtomography. *Image Anal. Stereol.*, 2007, **26** (3), 169-177.
- [30] Vitamin and mineral requirements in human nutrition : report of a joint FAO/WHO expert consultation, Bangkok, Thailand 1998, September 21-30, p. 69.
- [31] Whiteside P., Miner B.: Pye Unicam Atomic Absorption Data Book. Pye Unicam LTD. Cambridge, UK, 1984.
- [32] Wolska P., Ceglińska A., Dubicka A.: Produkcja pieczywa na żurkach ze zbóż bezglutenowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **5** (72), 104-111.
- [33] Wronkowska M.; Soral-Śmietana M.: Buckwheat flour - a valuable component of gluten-free formulations. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2008, **58**, 59-63.

EFFECT OF CALCIUM CASEINATE AND CALCIUM CITRATE ON QUALITY AND TECHNOLOGICAL PARAMETERS OF GLUTEN-FREE BREAD

S u m m a r y

Celiac disease is one of the most common food intolerances. Nutrient supplementation of gluten-free products is a significant aspect of prevention and treatment of deficiencies associated with that disease. The objective of the research study was to determine the effect of organic calcium salts additive on the quality and technological parameters of gluten-free bread. A 10 % additive of calcium salts (calcium caseinate and/or calcium citrate) was added. The calcium salts added caused the specific volume of the experimental gluten-free bread to increase significantly ($p < 0.05$) and the crust thereof to darken. Compared to the control bread sample, the experimental gluten-free bread enriched mainly with calcium caseinate was characterized by a significantly ($p < 0.05$) higher protein content, while the content of minerals and calcium increased substantially in the bread enriched with calcium citrate. The highest overall quality had the gluten-free bread supplemented with the mixture of two calcium salts (with the predominant content of calcium caseinate). The organic calcium salts studied can be used as a food additive to enrich the gluten-free bread, and the gluten-free product produced could be a valuable complement to the gluten-free diet.

Key words: gluten-free bread, calcium supplements, technological parameters, celiac disease ☒

DANUTA BOROS, DAMIAN GOŁĘBIEWSKI, KINGA MYSZKA

WSTĘPNE BADANIA ZIARNA WYBRANYCH RODÓW HODOWLANYCH PSZENICY JAKO SUROWCA DO SŁODOWANIA

Streszczenie

Wzrastający popyt na piwa niszowe w Polsce spowodował zapotrzebowanie na słody pszeniczne, czego następstwem jest poszukiwanie rodzimych surowców do ich produkcji. Podjęte badania miały na celu określenie przydatności ziarna wybranych rodów pszenicy zwyczajnej do słodowania, ustalenie najważniejszych parametrów jakościowych ziarna, a także wskazanie kryteriów selekcyjnych dla hodowli. Zastosowano proces technologiczny sładu pszenicznego analogiczny do produkcji sładów typu pilzneńskiego w skali laboratoryjnej. Podobnie zastosowano metody oceny wartości browarnej ziarna pszenicy, sładu i brzezki używane w ocenie ziarna, sładów i brzeczek jęczmiennych. Badania przeprowadzono z udziałem ziarna 12 rodów hodowlanych pszenicy jarej i ozimej oraz dwóch komercyjnych sładów pszenicznych i wzorcowego sładu jęczmiennego. Słody pszeniczne charakteryzowały się małą kruchością, wynoszącą 22,5 %. Ta cecha oddziaływała negatywnie na pozostałe parametry jakości sładu i brzezki. Zawartość białka wpływała istotnie na szereg cech determinujących przydatność ziarna do słodowania. Pozytywnie wpłynęła na aktywność proteolityczną i siłę diastatyczną, a negatywnie – na zawartość skrobi w ziarnie, ekstraktywność sładu oraz lepkość brzezki. Zawartość białka ogółem w ziarnie pszenicy, podobnie jak w jęczmieniu, może stanowić wyjściowe kryterium wyboru odmian do słodowania. Stwierdzono, że ziarno pszenicy ozimej jest lepszym surowcem do produkcji sładu aniżeli pszenicy jarej, przede wszystkim z uwagi na mniejszą zawartość białka. Uzyskane wyniki wskazują na konieczność powadzenia dalszych prac nad opracowaniem właściwej technologii słodowania pszenicy, ukierunkowanej na optymalizację procesów moczenia, kiełkowania oraz suszenia, dostosowanej do cech surowca.

Słowa kluczowe: pszenica jara i ozima, ziarno, sól, brzezka, wartość browarna

Wprowadzenie

Najpopularniejszym polskim piwem pszenicznym, o światowej renomie, było piwo grodziskie produkowane od średniowiecza w Grodzisku Wielkopolskim, którego

receptura i oryginalny sposób produkcji przetrwały w niemal niezmienionej postaci do XX wieku [5]. Słód używany do jego produkcji był wędzony w dymie z drewna dębowego lub bukowego. Było to piwo górnej fermentacji, klarowne, z osadem drożdżowym na dnie butelki, jasne, lekkie i bardzo musujące, leżakowane jak szampan [26]. Ze względów finansowych zaprzestano produkcji popularnego „grodzisza” w roku 1993 [17]. W Polsce obserwuje się jednak wznowienie popytu na piwa niszowe, do których zalicza się piwa pszeniczne. W literaturze naukowej niewiele jest informacji dotyczących kryteriów jakościowych, jakie musi spełniać ziarno przeznaczone do słodowania, metod oceny jego wartości browarnej czy samej technologii otrzymywania słodu [10, 11, 16, 23, 29]. Kunze [14] podaje, że w produkcji piwa pszenicznego udział procentowy słodu pszenicznego wynosi zazwyczaj nie więcej niż 50 ÷ 60 %. Tylko niewielka ilość produkowanego ziarna pszenicy jest wykorzystywana do celów browarnych, z tego względu prowadzi się niewiele prac hodowlanych nad wytworzeniem dobrego surowca do słodowania. Podkreśla się, że odmiany ozime są bardziej wskazane do tych celów z uwagi na mniejszą zawartość białka w ziarnie i większą wydajność ekstraktu oraz możliwość uzyskania z takiego słodu piwa o jaśniejszej barwie. W porównaniu z jęczmieniem ziarno pszenicy zawiera mniej β -glukanów, ale więcej arabinoksylianów, stąd dość często przy produkcji piwa ze słodu pszenicznego pojawia się problem związany z dużą lepkością brzezki [14]. W badaniach porównawczych wykazano, że jęczmień zawiera ogółem około 4,4 % β -glukanów oraz 5,7 % arabinoksylianów, podczas gdy pszenica odpowiednio: 0,7 % i 6,6 % [9]. Różnice między ziarnem tych zbóż dotyczą także udziału frakcji rozpuszczalnych w wodzie obu polisacharydów. Henry [9] podaje, że w jęczmieniu β -glukany rozpuszczalne w wodzie mogą stanowić do 66 % ich ilości, w pszenicy ich niewielka ilość prawie całkowicie może być rozpuszczalna w wodzie. Kunze [14] uważa, że do słodowania najbardziej odpowiednie są ziarniaki odmian pszenic mało podatnych na modyfikację proteolityczną w procesie słodowania oraz pozwalające na uzyskanie słodów, z których brzezka ma małą lepkość.

Celem pracy było wstępne określenie przydatności ziarna wybranych rodów pszenicy zwyczajnej do otrzymywania słodów pszenicznych w warunkach analogicznych do stosowanych przy otrzymywaniu słodów typu pilzneńskiego, ustalenie najważniejszych parametrów jakościowych ziarna jako surowca do produkcji słodu, a także wskazanie potencjalnych kryteriów selekcyjnych dla hodowli.

Material i metody badań

Materiałem doświadczalnym było ziarno 6 rodów pszenicy jarej i 6 rodów pszenicy ozimej, z doświadczeń rejestrowych COBORU przeprowadzonych w 2011 roku. Dla celów porównawczych do badań włączono komercyjnie dostępny jasny i ciemny słód pszeniczny, a także 17. wzorzec EBC słodu jęczmiennego.

Kryteriami oceny wartości browarnej były w odniesieniu do ziarna: masa 1000 ziaren (MTZ), celność, zawartość białka ogółem, zawartość skrobi; w odniesieniu do słodu: kruchość, zawartość białka ogółem i rozpuszczalnego, liczba Kolbacha, siła diastatyczna, ekstraktywność; w odniesieniu do brzezki kongresowej: lepkość i stopień ostatecznego odfermentowania.

Słodowaniu poddano próbki ziarna o masie 450 g, o grubości warstwy powyżej 2,5 mm, umieszczone w koszyczkach o spodzie i bokach perforowanych, ze stali kwasoodpornej. Podczas namaczania i kiełkowania ziarna temperatura pomieszczenia była utrzymywana na poziomie około 12 °C, a wilgotność względna powietrza wynosiła nie mniej niż 95 %. Wanny zamoczkowe były wypełniane każdego dnia świeżą wodą o temp. około 12 °C. W trakcie moczenia ziarno pszenicy opornie, ale względnie jednakowo wchłaniało wodę. Trzeciego dnia moczenie trwało dłużej w porównaniu z ziarnem jęczmienia, aby wilgotność ziarna pszenicy we wszystkich próbkach została doprowadzona do 45 %. Postępowanie technologiczne w trakcie otrzymywania słodu z ziarna pszenicy było zgodne z metodyką przyjętą przez Europejską Unię Browarną w odniesieniu do ziarna jęczmienia [1]. Zastosowano następujący schemat postępowania z ziarnem:

- 1. doba – 5 h moczenia,
- 2. doba – 4 h moczenia,
- 3. doba – 7 h moczenia wraz z tzw. dokrapianiem do osiągnięcia 45 % wilgotności (w przypadku ziarna jęczmienia okres ten trwa przeciętnie od 0,5 do 2 h),
- od 3. do 7. doby – następował etap kiełkowania ziarna zwany „słodowaniem właściwym”. W tym czasie ustawione w koszyczkach na regałach kiełkujące ziarno mieszano dwa razy w ciągu każdej doby. Po 7 dobach sład poddawano suszeniu przez 24 h. Pierwsze 18 h było fazą suszenia wstępnego, w której sład suszono w temperaturze do około 45 °C. Po tej fazie powinien osiągnąć wilgotność poniżej 10 %. Pod koniec tej fazy następuje ograniczenie funkcji życiowych zarodka oraz zmniejszenie tempa przemian enzymatycznych. Następnie temperaturę powietrza w suszarni zwiększano w ciągu 1 h do 80 °C i utrzymywano przez następne 4 h. Jest to tzw. faza prażenia, czyli dosuszania. Prawidłowo wysuszony sład powinien zawierać mniej niż 5 % wody. Po schłodzeniu sład odkiełkowano i oznaczano jego kruchość przy użyciu friabilimetru.

Oznaczenie zawartości białka w ziarnie, sładzie i brzezce kongresowej wykonywano zgodnie z normą PN [22] w aparacie Kjeltex Auto 1030 Analizer, metodą Kjeldahla. Dodatkowo, zawartość białka w ziarnie oznaczano według Duma [cyt. za 3], w aparacie Rapid N Cube Elementar [2]. Zawartość skrobi oznaczano stosując Megazyme kit, według procedury AOAC [2]. Oznaczenie zawartości ekstraktu wykonywano zgodnie z PN [20], a stopień ostatecznego odfermentowania – zgodnie z metodą 8.6.1 podaną w Analytica-EBC [1] – te dwa parametry oznaczano gęstościomierzem Anton

Paar DMA 48. Siłę diastatyczną słoðu oznaczano zgodnie z normą PN [19] metodą Windischa-Kolbacha. Lepkość brzezki określano zgodnie z PN [21], natomiast ekstraktu wodnego ziarna i słoðu – zmodyfikowaną metodą Boros i wsp. [4]. Modyfikacja polegała na zmianie warunków ekstrakcji poprzez zmniejszenie proporcji ziarna lub słoðu i wody (1 : 3 m/v) celem zwiększenia zmienności w próbkach analitycznych. Lepkość mierzono przy użyciu lepkościomierza Brookfield LVTDV-II, w pierwszym przypadku z obracającym się walcem, w drugim – przy zastosowaniu aparatu typu stożek/płytki. Każdą analizę wykonywano w dwóch powtórzeniach, z wyjątkiem oznaczenia stopnia ostatecznego odfermentowania, które wykonywano w jednym powtórzeniu. Błąd każdej z analiz nie przekraczał 3 %. W odniesieniu do wszystkich analizowanych wskaźników jakości browarnej wyliczono współczynniki korelacji liniowej Pearsona.

Wybrane cechy jakości poddano jednoczynnikowej analizie wariancji przy użyciu Systemu SAS w wersji 9.3 [25].

Wyniki i dyskusja

Jak wspomniano wyżej, w badaniach pilotażowych zdecydowano się na zastosowanie technologii słodowania, stosowanej w ocenie przydatności słodowniczej ziarna jęczmienia. Uzyskane wstępne informacje będą stanowić podstawę do dalszych prac nad optymalizacją procesu słodowania ziarna polskich odmian pszenicy.

Pod względem barwy wszystkie brzezki otrzymane ze słoðów pszenicznych nie różniły się znacząco od barwy brzezki uzyskanej ze wzorca EBC, poza komercyjnym słoðem ciemnym, z którego uzyskano bardzo ciemną barwę brzezki.

Ziarno pszenicy przeznaczone do słodowania charakteryzowało się dobrą energią kiełkowania – powyżej 95 % oraz celnością wynoszącą średnio 94,7 % w odniesieniu do form jarych i ozimych, przy czym stwierdzono duże różnice w zmienności tej cechy między formami pszenicy (tab. 1). O ile celność była w niewielkim stopniu zróżnicowana w grupie pszenic jarych, o tyle znacznie większe zróżnicowanie tej cechy stwierdzono w odniesieniu do badanych rodów ozimych. W tej grupie pszenic jeden ród miał bardzo małą celność, na poziomie 71 %, podczas gdy pozostałe pięć rodów odznaczało się największą wartością tej cechy – w zakresie od 98,6 do 99,7 %. Celność wyjściowa ziarna prawdopodobnie nie miała wpływu na parametry jakości uzyskanego słoðu, gdyż był on wyprodukowany z ziarna celnego, tj. o średnicy powyżej 2,5 mm. Celne i wyrównane ziarno jest pożądane w słodownictwie, gdyż równomiernie pochłania ono wodę przy namaczaniu i zapewnia równomierne kiełkowanie [7].

Tabela 1. Cechy jakościowe ziarna pszenicy jarej i ozimej, determinujące jego przydatność do słodowania.
Table 1. Qualitative characteristics of spring and winter wheat grain to determine its usability for malting.

| Pszenica Wheat | Forma Type | MTZ 1000 KW | Celność Plumpness | Energia kielekowania* Germination energy* | Białko ogółem Total protein | Skrobia Starch |
|-------------------|-----------------|----------------|----------------------|--|-----------------------------------|-------------------|
| | | [g] | [%] | [%] | [% s.m. d.m.] | [% s.m. d.m.] |
| A | Jara Spring | 41,5 | 91,0 | 96 | 17,75 | 57,8 |
| B | | 39,6 | 96,8 | 96 | 18,05 | 57,6 |
| C | | 41,5 | 97,0 | 97 | 16,76 | 57,5 |
| D | | 38,9 | 95,1 | 96 | 17,90 | 58,1 |
| E | | 39,7 | 97,5 | 97 | 16,67 | 60,2 |
| F | | 36,1 | 91,6 | 95 | 15,38 | 60,6 |
| \bar{x} | | 39,6 | 94,8 | 96,2 | 17,1 | 58,6 |
| s / SD | | 2,0 | 2,9 | 0,8 | 0,9 | 1,3 |
| CV [%] | | 5 | 3 | 1 | 5 | 2 |
| 360/VIII/11 | Ozima Winter | 42,2 | 99,7 | 94 | 15,38 | 61,4 |
| 382/VIII/11 | | 38,9 | 98,6 | 97 | 17,03 | 57,3 |
| 386/VIII/11 | | 36,1 | 71,0 | 95 | 14,52 | 57,3 |
| 403/VIII/11 | | 38,6 | 98,7 | 95 | 14,89 | 61,6 |
| 405/VIII/11 | | 45,4 | 99,6 | 95 | 15,38 | 61,3 |
| 408/VIII/11 | | 40,7 | 99,6 | 95 | 15,36 | 59,9 |
| \bar{X} | | 40,3 | 94,5 | 95,2 | 15,4 | 59,8 |
| s / SD | | 3,2 | 11,5 | 1,0 | 0,8 | 1,9 |
| CV [%] | | 8 | 12 | 1 | 5 | 3 |
| NIR / LSD | | n.e. | n.e. | n.e | 0,13 | 2,35 |

*Wykonano w laboratorium: / Determined in: 'Optima Słodownia Pneumatyczna Sp. z o.o.' Co. Ltd.;
 \bar{x} – wartość średnia / mean value; s / SD – odchylenie standardowe/ standard deviation; CV [%] – współczynnik zmienności / coefficient of variation; NIR / LSD – najmniejsza istotna różnica na poziomie $p \leq 0,05$ / the lowest significant difference at $p \leq 0.05$; n = 12.

Zawartość białka w ziarnie pszenic jarych wynosiła średnio 17,1 %. W przypadku odmian ozimych zawartość białka była mniejsza średnio o 1,7 % i wynosiła 15,4 %. Te badania potwierdziły stwierdzenia innych autorów o mniejszej na ogół zawartości białka w formach ozimych pszenicy niż w formach jarych, stąd wynika większa przydatność ziarna pszenic ozimych do słodowania [25]. Zbyt duża zawartość białka wpływa

bowiem niekorzystnie na niektóre z podstawowych parametrów jakości browarnej, a mianowicie jest przyczyną mniej efektywnego słodowania i zacierania oraz powoduje wytrącanie się osadów i zmętnienia piwa podczas jego leżakowania [14]. Poziom zawartości białka w ziarnie pszenicy, podobnie jak w ziarnie jęczmienia, jest w dużym stopniu uwarunkowany genetycznie, jednak może być modyfikowany także czynnikami abiotycznymi, takimi jak warunki glebowo-klimatyczne, poziom nawożenia azotowego czy termin siewu [18, 15].

Słód charakteryzuje się mniejszą zawartością białka aniżeli ziarno użyte do słodowania, co wynika z konieczności odkiełkowania wysuszonego słodu. W słodzie jęczmiennym kielki stanowią około $3 \div 4$ % jego suchej masy, a zawartość w nich białka może sięgać około 30 % [14]. Ubytek białka w badanym słodzie pszenicznym wynosił średnio 0,68 %, przy czym większe jego zmniejszenie zaobserwowano w przypadku form jarych niż ozimych (0,76 vs. 0,59 %) (tab. 2). Ubytek białka był porównywalny ze zmniejszeniem jego zawartości uzyskanym przez Weinera i wsp. [29] w odniesieniu do słodu jęczmiennego (0,62 %) i prawie dwukrotnie mniejszy niż w przypadku słodu pszenicznego (1,22 %).

Kruchość słodu, która jest miarą rozluźnienia cytologicznego w procesie słodowania, sprzyja uzyskaniu dużej wydajności ekstraktu w procesie zacierania brzezki [6, 14]. Generalnie wartość tej cechy wszystkich badanych rodów pszenicy była mała (tab. 2). W przypadku odmian jarych kształtowała się ona na średnim poziomie 20,9 %, a odmian ozimych – 24,1 %. W przypadku odmian ozimych zaobserwowano ponadto dużą zmienność wyników ($CV = 27$ %). W dostępnej literaturze brak jest wyznaczników kruchości słodu pszenicznego. Natomiast dobrej jakości słód jęczmienny powinien charakteryzować się wartością tej cechy w zakresie od 75 do 81 % [14]. Z dużym prawdopodobieństwem można stwierdzić, że mała kruchość badanych sładów pszenicznych wpłynęła niekorzystnie na pozostałe cechy ich wartości browarnej, mimo stwierdzenia braku istotnej ($p < 0,05$) korelacji kruchości z innymi cechami jakościowymi. Niektórzy autorzy wskazują na przydatność kruchości w szacowaniu jakości słodu w materiałach hodowlanych jęczmienia [3, 6, 28].

Ekstraktywność słodu, cecha w największym stopniu wpływająca na wartość browarną ziarna, wskazuje na wielkość ekstraktu do pozyskania, a w efekcie na ilość piwa możliwą do wyprodukowania z danej masy słodu [13]. Określa ona ilość substancji rozpuszczalnych przechodzących ze słodu do brzezki. W obowiązującej obecnie w Polsce ocenie jakościowej słodu jęczmiennego, w 40 % wpływa ona na wartość wskaźnika wartości browarnej Q [12]. Ekstraktywność zależy od składu chemicznego ziarna i aktywności enzymów hydrolizujących związki w nim zawarte. Ekstraktywność jęczmienia jest cechą odmianową, w mniejszym stopniu zależną od czynników siedliskowo-agrotechnicznych [30]. Ekstraktywność badanych sładów pszenicznych była na

Tabela 2. Wartości parametrów jakościowych słodów i brzecek otrzymanych z ziarna pszenicy jarej i ozimej.
Table 2. Quality parameter values of malts and worts produced from grain of spring and winter wheat.

| Pszenica Wheat | Forma Type | Kruchość słodu Friability [%] | Białko słodu Malt protein [% sm / dm] | Białko roz- puszczalne Soluble protein [% sm / dm] | Ekstrakt mąki Extracta- bility [% sm / dm] | Odfermen- towanie Fermen- tability [%] | Liczba Kolbacha Kolbach index [%] | Lepkość brzezki Wort viscosity [mPa·s] | Siła diastatyczna Diastatic power [j, W·K] | Czas filtracji 400 ml Filtration time 400ml [min] |
|-------------------|-----------------|--|---|--|--|--|---|--|--|---|
| | | | | | | | | | | |
| A | Jara Spring | 19,6 | 16,74 | 6,66 | 79,5 | 81,2 | 40,1 | 1,65 | 450 | 30 |
| B | | 16,4 | 17,75 | 6,36 | 78,9 | 82,4 | 35,9 | 1,75 | 580 | 40 |
| C | | 20,0 | 16,25 | 5,64 | 81,3 | 83,2 | 35,2 | 1,65 | 350 | 30 |
| D | | 23,6 | 17,12 | 6,22 | 78,6 | 82,2 | 36,3 | 1,66 | 470 | 35 |
| E | | 21,6 | 15,80 | 6,59 | 82,2 | 84,5 | 41,9 | 1,59 | 550 | 30 |
| F | | 24,2 | 14,28 | 5,69 | 82,3 | 83,5 | 40,0 | 1,70 | 380 | 30 |
| \bar{x} | | 20,9 | 16,3 | 6,19 | 80,5 | 82,8 | 38,2 | 1,67 | 463 | 33 |
| s / SD | | 2,6 | 1,1 | 0,4 | 1,5 | 1,0 | 2,5 | 0,1 | 82,8 | - |
| CV [%] | | 13 | 7 | 6 | 2 | 1 | 7 | 3 | 18 | - |
| 360/VIII/11 | Ozima Winter | 19,0 | 14,81 | 5,68 | 82,2 | 81,8 | 38,0 | 1,69 | 350 | 40 |
| 382/VIII/11 | | 35,6 | 15,89 | 5,55 | 81,5 | 83,3 | 35,0 | 1,70 | 460 | 40 |
| 386/VIII/11 | | 26,0 | 14,11 | 5,59 | 84,1 | 82,0 | 39,4 | 1,80 | 430 | 40 |
| 403/VIII/11 | | 19,2 | 14,54 | 5,06 | 83,3 | 81,8 | 34,8 | 1,86 | 290 | 40 |
| 405/VIII/11 | | 27,8 | 14,80 | 7,46 | 85,2 | 84,0 | 50,2 | 1,85 | 470 | 40 |
| 408/VIII/11 | | 16,8 | 14,84 | 5,56 | 83,9 | 84,3 | 37,6 | 1,86 | 340 | 40 |
| \bar{x} | | 24,1 | 14,8 | 5,82 | 83,4 | 82,9 | 39,2 | 1,79 | 390 | 40 |
| s / SD | | 6,5 | 0,5 | 0,8 | 1,2 | 1,0 | 5,2 | 0,1 | 67,1 | - |
| CV [%] | | 27 | 4 | 14 | 1 | 1 | 13 | 4 | 17 | - |
| NIR / LSD | | n.e | 0,29 | n.e | 0,84 | n.e | n.e | 0,03 | 25 | n.e. |

\bar{x} – wartość średnia / mean value; s / SD – odchylenie standardowe / standard deviation; CV [%] – współczynnik zmienności / coefficient of variation; NIR / LSD – najmniejsza istotna różnica na poziomie $p \leq 0,05$ / the lowest significant difference at $p \leq 0,05$; n = 12.

ogół niezadowalająca, w szczególności w porównaniu z wartością tej cechy w odniesieniu do sładów komercyjnych. Szczególnie małą ekstraktywnością odznaczały się słody otrzymane z ziarna rodów pszenicy jarej – średnio 80,5 %. Słody z ziarna rodów pszenicy ozimej charakteryzowały się wyższą średnią wartością tej cechy – 83,4 %. Dwa, spośród ozimych genotypów pszenicy, charakteryzowały się dobrą ekstraktywnością (84,1 i 85,2 %), porównywalną, a nawet przewyższającą tę uzyskaną ze sładów komercyjnych. Wskazuje to na możliwość selekcji genotypów pszenicy ozimej o dużej przydatności do słodowania. Zmienność ekstraktywności sładów otrzymanych z obu form pszenicy była mała i wynosiła około 2 %. Jeszcze mniejsze zróżnicowanie dotyczyło stopnia ostatecznego odfermentowania brzezki. Było ono rzędu 1 % w obu przypadkach (tab. 2). Nie stwierdzono również różnic wartości średnich tej cechy pomiędzy brzezkami otrzymanymi ze sładów form jarych i ozimych pszenicy. W odniesieniu do obu tych form wartość średnia ostatecznego odfermentowania brzezki wynosiła 82,8 %.

Liczba Kolbacha określa stopień rozluźnienia sładu białkowego, informuje jaka część białka zawartego w sładzie przemieszcza się do brzezki w czasie zacierania kongresowego [14]. Wartość tej cechy zależy od zawartości białka ogółem w ziarnie, a także od ilości białka rozpuszczalnego, na którą oprócz czynników genetycznych wpływa wiele czynników glebowo-klimatycznych oraz agrotechnicznych. Mimo dużej zawartości białka, badane słody pszeniczne odznaczały się ogólnie małą wartością liczby Kolbacha, na poziomie średnio 38,7 %, przy czym nie stwierdzono dużego zróżnicowania wartości tej cechy w obrębie 11 rodów formy jarej bądź ozimej. Wyjątek stanowił jeden ród ozimy, z którego otrzymany sólód charakteryzował się dużą wartością liczby Kolbacha, równą 50,2 %.

Lepkość brzezki uważana jest za główny miernik modyfikacji składników bielma sładu [14]. Duża lepkość brzezki wskazuje na niedostateczną modyfikację cytolityczną sładu, stąd mniejsza jego ekstraktywność i najczęściej utrudniona filtracja brzezki oraz gotowego piwa. Składnikiem, który wpływa na zwiększenie lepkości brzezki otrzymanej ze sładów pszenicznych są arabinoksylany [17]. Suhasini i wsp. [28] stwierdzili, że ziarno odmiany pszenicy, z której wyprodukowano sólód niższej jakości charakteryzowało się większą zawartością arabinoksylianów, a w szczególności frakcji rozpuszczalnych w wodzie w porównaniu z ziarnem pszenicy o dobrej wartości browarnej. W niniejszych badaniach średnia wartość lepkości brzezki uzyskanych z odmian jarych wynosiła 1,67 mPa·s. W przypadku odmian ozimych średnia wartość wynosiła 1,79 mPa·s. Lepkość brzezki była cechą o małym stopniu zróżnicowania, średnio 3 i 4 %, odpowiednio w odniesieniu do formy jarej i ozimej. Na ogół przyjmuje się, że sólód jęczmienny o dobrej i bardzo dobrej modyfikacji cytolitycznej odznacza się lepkością brzezki w zakresie od 1,63 do 1,51 mPa·s [14]. Większa lepkość brzezki pszenicznych może wskazywać na niedostateczną cytolizę sładu bądź na odmien-

ne od przyjętych dla jęczmienia normy lepkości brzezki otrzymanej ze słodów pszenicznych.

Siła diastatyczna jest uważana za miarę sumarycznej aktywności enzymów amylolitycznych hydrolizujących skrobię do różnych oligomerów glukozy, głównie maltozy [14]. Siła diastatyczna odpowiadająca jednej jednostce Windischa-Kolbacha (j.W-K) wyraża wytworzenie 1 g maltozy z roztworu skrobi, w warunkach określonych metodą, przez enzymy zawarte w 100 g badanego siodu. Wszystkie badane siody pszeniczne charakteryzowały się dobrą wartością siły diastatycznej. W przypadku odmian jarych wynosiła ona średnio 463 j.W-K, a w odmianach ozimych była mniejsza i wynosiła 390 j.W-K. Według Kunzego [14] siła diastatyczna siodu jęczmiennego powyżej 250 j.W-K wskazuje na dobry potencjał enzymatyczny siodu, który w trakcie zacierania jest zdolny do hydrolizy skrobi własnej oraz skrobi zawartej nawet w 20-procentowym zasypie niesłodowanego ziarna.

Tabela 3. Charakterystyka wartości browarnej siodów pszenicznych dostępnych w handlu.

Table 3. Brewing value profile of commercially available wheat malts.

| Słód Malt | Białko siodu Malt protein | Białko rozpuszczalne Soluble protein | Ekstrakt mąki Extract-tability | Odfermentowanie Fermen-tability | Liczba Kolbacha Kolbach index | Lepkość brzezki Viscosity | Siła diastatyczna Diastatic power | Czas filtracji Filtration time |
|---|------------------------------|---|-----------------------------------|------------------------------------|----------------------------------|------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------|
| | [% sm / dm] | [% sm / d.m.] | [% sm / d.m.] | [%] | [%] | [mPa·s] | [W-K] | [min] |
| Pszeniczny jasny Light wheat | 12,50 | 3,97 | 84,3 | 83,1 | 31,5 | 1,91 | 380 | 60 |
| Pszeniczny ciemny Dark wheat | 12,77 | 5,79 | 84,3 | 83,1 | 45,3 | 2,08 | 210 | 75 |
| Jęczmienny wz, 17 EBC Barley, 17 th EBC | 11,29 | 4,16 | 81,3 | 85,4 | 36,9 | 1,58 | 310 | 40 |

Mimo obaw o trudności z filtrowaniem brzezki pszenicznych, z uwagi na brak łuski, nie odnotowano w tym względzie żadnych problemów. Wszystkie badane siody pszeniczne miały zbliżony czas filtracji brzezki do czasu filtracji brzezki otrzymanej z 17. wzorca siodu jęczmiennego EBC, przy 400 ml objętości mieściły się w granicach od 30 do 40 min (tab. 2 i 3). Wyjątek stanowiły komercyjne siody pszeniczne. Czas

filtracji obu brzeczek otrzymanych z tych sładów był znacznie dłuższy, średnio o 31 min, od średniego czasu filtracji brzeczek uzyskanych ze sładów badanych rodów pszenicy.

Porównując wyniki badań sładów pszenicznych, otrzymanych z badanych rodów, z wynikami otrzymanymi w przypadku komercyjnych sładów, uwagę zwraca w tych drugich mniejsza zawartość białka powiązana z dużo większą ich ekstraktywnością (tab. 3). Komercyjne słody pszeniczne charakteryzowały się jednak większą o 16 % lepkością brzeczki, która z pewnością miała istotny wpływ na znacznie dłuższy czas filtracji brzeczki kongresowej otrzymanej w warunkach laboratoryjnych.

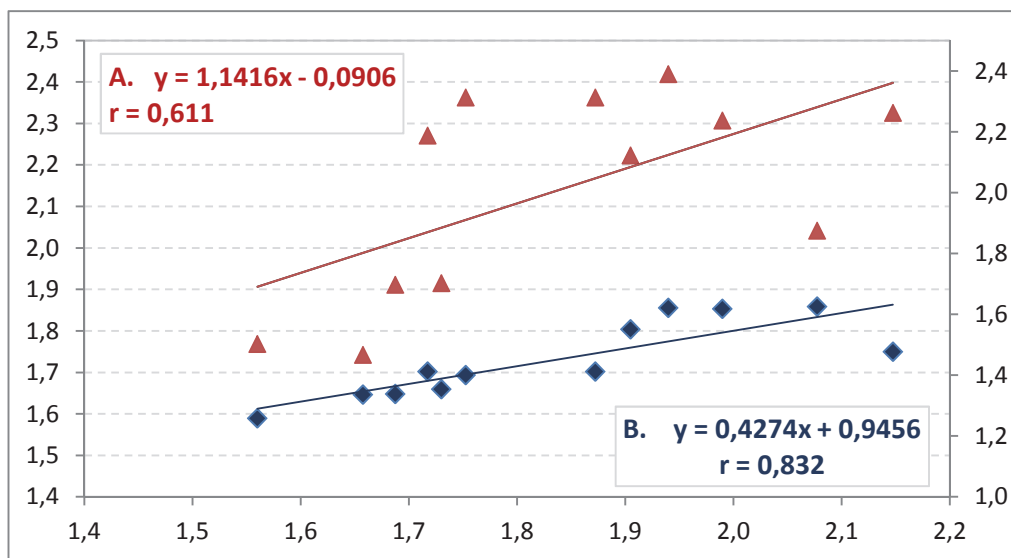
Tabela 4. Współczynniki korelacji liniowej Pearsona pomiędzy cechami wartości browarnej ziarna, słodu i brzeczki z pszenicy jarej i ozimej.

Table 4. Coefficients of Pearson linear correlation amongst brewing value characteristics of grain, malt and wort of spring and winter wheat.

| Parametr Parameter | Ziarno / Grain | | Słód / Malt | | |
|--|-------------------|-------------------|-------------------|--|----------------------------------|
| | Białko Protein | Skrobia Starch | Białko Protein | Białko rozpuszczalne Soluble protein | Ekstraktywność Extractability |
| Skrobia / Starch | -0,589* | - | - | - | - |
| Energia kiełkowania Germination energy | 0,677* | -0,644* | - | - | - |
| Białko słodu Malt protein | 0,972*** | -0,588* | - | - | - |
| Ekstraktywność Extractability | -0,901*** | - | -0,885*** | - | - |
| Liczba Kolbacha Kolbach index | - | - | - | 0,785** | - |
| Lepkość / Viscosity | -0,614* | - | - | - | 0,633* |
| Siła diastatyczną Diastatic power | 0,622* | - | 0,609* | 0,676* | - |
| Korelacje istotne: * przy $p < 0,05$; ** przy $p < 0,01$ oraz *** przy $p < 0,001$. Correlations significant: * at $p < 0,05$; ** at $p < 0,01$ and *** at $p < 0,001$ | | | | | |

Z danych literaturowych wynika, że zawartość białka i skrobi to cechy ziarna, które w największym stopniu determinują wartość browarną pszenicy, a tym samym jej przydatność do produkcji słodu [11]. Jin i wsp. [10] zbadali wartość browarną sześciu chińskich odmian uprawnych pszenicy i stwierdzili istotne liniowe zmniejszenie ekstraktywności ($r = -0,923$; $p < 0,01$) oraz liczby Kolbacha ($r = -0,850$; $p < 0,05$) w miarę

wzrostu zawartości białka w ziarnie. Autorzy wykazali również znaną z wcześniejszych prac i niemożliwą dotychczas do przezwyciężenia w hodowli zbóż ujemną zależność między zawartością białka i skrobi. W tych badaniach odmiana z najmniejszą zawartością białka zawierała również największą ilość skrobi i największą ekstraktywność, a w odniesieniu do całego zestawu rodów pszenicy stwierdzono istotną ($p < 0,05$) ujemną korelację ($r = -0,59$) między tymi składnikami ziarna (tab. 4). Ponadto zawartość białka w ziarnie negatywnie wpłynęła na ekstraktywność słodu ($r = -0,90$) oraz lepkość brzezki ($r = -0,61$), a dodatnio na energię kiełkowania ($r = 0,68$) i siłę diastatyczną ($r = 0,62$), wskazując na powiązanie zawartości białka i aktywności proteolitycznej.



Rys. 1. Zależności między lepkością wodnych ekstraktów ziarna i słodu (A) oraz między lepkością wodnego ekstraktu słodu oraz lepkością brzezki (B).

Fig. 1. Relationships between viscosity of water extracts of grain and malt (A) and viscosity of malt water extract and viscosity of wort (B).

Badania lepkości wykazały występowanie istotnych ($p < 0,05$) korelacji między lepkością wodnego ekstraktu ziarna a lepkością wodnego ekstraktu słodu ($r = 0,61$) i brzezki pszenicznej ($r = 0,60$) oraz ($p < 0,001$) między lepkością wodnego ekstraktu słodu a lepkością brzezki ($r = 0,83$) (rys. 1). Lepkość wodnego ekstraktu ziarna pszenicy była w głównej mierze zależna ($r = 0,80$) od zawartości rozpuszczalnych w wodzie arabinoksylianów [8]. Postuluje się, aby pszenica do celów browarnych charakteryzowała się małą zawartością tych polisacharydów, stąd już wstępne badania

wskazują, że prosty test lepkości może być pomocny w selekcji odpowiednich odmian pszenicy do słodowania.

Wnioski

1. W badaniach przydatności ziarna wybranych odmian pszenicy do celów browarnych stwierdzono, że proces słodowania wymaga udoskonalenia. Technologia dostosowana do ziarna jęczmienia okazała się nieefektywna w zastosowaniu do ziarna pszenicy.
2. Genotyp pszenicy ma istotny wpływ na jakość otrzymanego słodu, przy czym wykazano większą przydatność genotypów ozimych niż jarych.
3. Zawartość białka w ziarnie pszenicy jest cechą wpływającą istotnie na cechy determinujące przydatność ziarna do słodowania. Pozytywnie wpływa na aktywność enzymatyczną mierzoną jako energia kiełkowania ziarna oraz siła diastatyczna słodu, a negatywnie na zawartość skrobi w ziarnie, ekstraktywność słodu oraz lepkość brzezki.
4. Zawartość białka ogółem w połączeniu z lepkością wodnego ekstraktu ziarna może stanowić wyjściowe kryterium wyboru odmian pszenicy do słodowania.

Autorzy składają serdeczne podziękowania Panu T. Rzemieniukowi za podsuniecie pomysłu tematyki badawczej, COBORU za udostępnienie materiału badawczego, pracownikom inżynieryjno-technicznym SPOJPR oraz ZRZ w IHAR-PIB za zaangażowanie i pomoc w analizach chemicznych oraz za wykonanie słodowania ziarna. Praca była częściowo wykonana jako usługa badawcza dla „OPTIMA” Słodownia Pneumatyczna Sp. z o.o.

Literatura

- [1] Analytica – EBC. Hans Carl Getränke-Fachverlag, Method 8.6.1 (fermentability). Wyd. EBC Analysis Committee, Norymberga 2004.
- [2] AOAC. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists, 16th ed. AOAC, Arlington, method 990.03 for protein with Dumas procedure; method 996.11 for starch, 1995.
- [3] Bathgate G.N.: The relationship between malt friability and wort viscosity. J. Inst. Brew., 1983, **89**, 416-419.
- [4] Boros D., Marquardt R.R., Słominski B.A., Guenter W.: Extract viscosity as an indirect assay for water-soluble pentosan content in rye. Cereal Chem., 1993, **70** (5), 575-580.
- [5] Chrzanowski J.: Zarys historii piwa grodziskiego. Wyd. Tow. Miłośników Ziemi Grodz. Grodzisk Wielkopolski 1986.
- [6] Fox G., Onley K., Ferguson R., Skerman A., Inkerman A.: The friabilimeter as a tool in assessing malt quality in a breeding program. [on line] Proceedings of 10th Australian Barley Technical Symposium. 16-20 September 2001, Canberra, ACT, Australia. Dostęp w Internecie: <http://www.regional.org.au>

- [7] Gąsiorowski H.: Jęczmień – chemia i technologia. PWRiL, Poznań 1997.
- [8] Gebruers K., Dornez E., Boros D., Fraś A., Dynkowska W., Bedo Z., Rakszegi M., Delcour J.A., Courtin C.M.: Variation in the content of dietary fiber and components thereof in wheats in the HEALTHGRAIN diversity screen. *J. Agric. Food Chem.*, 2008, **56**, 9740-9749. DOI: 10.1021/jf800975w
- [9] Henry R.J.: A comparison of the non-starch carbohydrates in cereal grains. *J. Sci. Food Agric.*, 1985, **36**, 1243-1253.
- [10] Jin Y., Zhang K., Du J.: Effects of wheat protein content on endosperm composites and malt quality. *J. Inst. Brew.*, 2008, **114**, 289-293.
- [11] Jin Y-H., Du J-H., Zhang K-L., Zhang X-C.: Effect of wheat starch contents on malt qualities. *J. Inst. Brew.*, 2011, **117**, 534-540.
- [12] Klockiewicz-Kamińska E.: Metoda oceny wartości browarnej i klasyfikacja jakościowa odmian jęczmienia. *COBORU*, 2005, **80**, 3-15.
- [13] Kowalska M., Ruśniak L.: Jęczmień dla przemysłu browarnego. W: Jęczmień. Red. L. Ruśniak, PWRiL, Warszawa 1973, pp. 230-262.
- [14] Kunze W.: *Technology Brewing and Malting*. 4th updated edition. VLB, Berlin 2010.
- [15] Liszewski M., Błazewicz J., Kozłowska K., Zembold-Guła A., Szwed Ł.: Wpływ nawożenia azotem na cechy rolnicze ziarna jęczmienia browarnego. *Fragm. Agron.*, 2011, **28**, 40-49.
- [16] Lu J., Li Y.: Effect of arabinoxylans solubilization on wort viscosity and filtration when mashing with grist containing wheat and wheat malt. *Food Chem.*, 2006, **98**, 164-170.
- [17] Piwo grodziskie. [on line] Dostęp w Internecie: http://pl.wikipedia.org/wiki/Piwo_grodziskie
- [18] Podolska G., Stankowski S.: Plonowanie i jakość ziarna pszenicy ozimej w zależności od gęstości siewu i dawki nawożenia azotem. *Biul. IHAR*, 2001, **218/219**, 127-136.
- [19] PN-A-79083-10:1998. Słód browarny. Metody Badań. Oznaczanie siły diastatycznej słodu.
- [20] PN-A-79083-6:1998. Słód browarny. Metody badań. Oznaczanie zawartości ekstraktu, różnicy zawartości ekstraktów, czasu scukrzania, czasu spływu brzezki laboratoryjnej i klarowności.
- [21] PN-A-79083-7:1998. Słód browarny. Metody Badań. Oznaczanie lepkości brzezki laboratoryjnej.
- [22] PN-A-79083-9:1998. Słód browarny. Metody Badań. Oznaczanie białka ogólnego, azotu rozpuszczalnego i obliczanie liczby Kolbacha.
- [23] Pomeranz Y., Standridge N.N., Robbins G.S., Goplin E.: Malting of new wheat cultivars. *Cereal Chem.*, 1975, **52**, 485-492.
- [24] Rothkaehl J., Stępniewska S.: Jakość ziarna pszenicy ze zbiorów ostatnich lat w Polsce. *Przegl. Zboż. Młyn.*, 2005, **8**, 3-6.
- [25] SAS Institute Inc. *SAS/STAT 9.2 User's Guide*, Second Edition. Cary, NC, USA: SAS Publishing, SAS Institute Inc., 2009.
- [26] Słodownik [on line], Dostęp w Internecie: www.slodownik.pl/kursy/word/hierarchia_tekstu_historia_piwa.doc.
- [27] Suhasini A.W., Muralikrishna G., Malleshi N.G.: Free sugars and non-starch polysaccharide contents of good and poor malting varieties of wheat and their malts. *Food Chem.*, 1997, **60**, 537-540.
- [28] Thomas D.A.: A novel results of malt friabilimeter analysis: case-hardened malt. *J. Inst. Brew.*, 1986, **92**, 65-68.
- [29] Weiner W., Gozdecka G., Korpala W.: Badania możliwości pozyskiwania słodu z ziarna wybranych zbóż. *Acta Agrophysica*, 2008, **12**, 813-823.
- [30] Węgrzyn S., Bichoński A.: Zróżnicowanie i genetyczne uwarunkowanie cech wartości technologicznej jęczmienia jarego browarnego. *Biul. IHAR*, 2001, **220**, 153-160.

PRELIMINARY STUDY ON QUALITY OF SOME WHEAT LINES SELECTED AS RAW MATERIAL FOR MALTING

S u m m a r y

An increasing demand for niche beers in Poland has created the need for wheat malts and, thus, there are sought indigenous raw materials for the manufacture of beers. The objective of the research study was to determine the suitability of grain of some common wheat lines selected for malting, to establish the most important quality parameters of that grains and to point out the selection criteria for cultivation. A lab scale technological process of wheat malt was applied, the one similar to the process used in producing a Pilsen malt. Likewise, the methodologies utilized when evaluating grain, malts, and wort of barley were used to assess the brewing value of grain, malt, and wort of wheat. The study performed included grain of 12 cultured lines of spring and winter wheat, grain of 2 commercially available wheat malts, and grain of standard EBC barley malt. Wheat malts were characterized by a very poor friability equalling 22.5 %. That characteristic adversely affected other quality parameters of malt and wort. The content of protein significantly impacted several characteristics to decide on the suitability of the grain for malting. The effect of protein content on the proteolytic activity and diastatic power was positive; however, it was negative on the content of starch in grain, malt extractability, and wort viscosity. The content of total protein in wheat, similar to barley, can be set as an initial criterion of selecting cultivars for malting. It was found that the grain of winter wheat was a better material for malting than the grain of spring wheat, mainly because it had less protein. The results obtained highlight that it is necessary to continue the research studies in order to develop an appropriate wheat malting technology oriented on the optimization of steeping, germination, and kilning processes and well suited to the characteristics of a raw material.

Key words: spring wheat, winter wheat, grain, malt, wort, brewing value ☒

IWONA DROŻDŹ, MAGDALENA SŁOWIK, PAWEŁ SROKA,
MAŁGORZATA MAKAREWICZ

WPLYW *OENOCOCCUS OENI* NA PARAMETRY ENOLOGICZNE POLSKICH WIN GRONOWYCH

Streszczenie

Celem pracy było określenie parametrów enologicznych win odkwaszanych mikrobiologicznie. Przedmiotem badań były młode wina czerwone Marechal Foch i Frontenac oraz białe Seyval Blanc odkwaszane przy użyciu kultury starterowej Viniflora Oenos (*Oenococcus oeni*). Przed odkwaszaniem i po nim wykonano analizę zawartości alkoholu, kwasowości ogólnej, lotnej, polifenoli oraz oznaczono aktywność przeciwutleniającą i profil związków lotnych. Nie powiodła się próba zniwelowania nadmiernej kwasowości wina Frontenac. Stosowany do odkwaszania *O. oeni* spowodował zmniejszenie kwasowości ogólnej wina Marechal Foch o 28 %, a wina Seyval Blanc – o 12 %. Wykazano wzrost kwasowości lotnej we wszystkich badanych winach (w Marechal Foch o 69 %, we Frontenac o 20 % i w Seyval Blanc o 95 %). Stwierdzono wzrost aktywności przeciwutleniającej we wszystkich badanych winach i polifenoli ogółem w winach czerwonych po fermentacji jabłkowo-mlekowej. *O. oeni* spowodował wzrost zawartości octanu etylu oraz zmniejszenie octanu izobutyli i heksanianu etylu we wszystkich badanych winach. W badaniach wykazano ograniczoną przydatność szczepionki do odkwaszania win klimatu umiarkowanego o wysokiej kwasowości ogólnej i dużej zawartości alkoholu.

Słowa kluczowe: fermentacja jabłkowo-mlekowa (MLF), *Oenococcus oeni*, wino, odkwaszanie, polifenole

Wprowadzenie

Uważa się, że polskie wina gronowe mają mało wykwintny, zbyt ostry i kwaśny smak. Wynika to z niesprzyjających warunków uprawy winorośli, dzięki czemu polskie wina określa się winami klimatu chłodnego.

W celu zmniejszenia kwasowości win stosuje się kupażowanie względnie chemiczne lub biologiczne odkwaszanie. Proces mikrobiologicznego odkwaszania może zachodzić w winach po zakończeniu fermentacji etanolowej, pod wpływem bakterii

Dr I. Drożdż, mgr inż. M. Słowik, dr P. Sroka, dr M. Makarewicz, Katedra Technologii Fermentacji i Mikrobiologii Technicznej, Wydz. Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, 30-149 Kraków, ul. Balicka 122. Kontakt: idrozd@ur.krakow.pl

fermentacji mlekowej (LAB – *lactic acid bacteria*) i nosi nazwę fermentacji jabłkowo-mlekowej (MLF – *malolactic fermentation*). Podczas MLF następuje przekształcenie mocno zdysocjowanego kwasu L-jabłkowego do słabo zdysocjowanego kwasu L-mlekowego trzema różnymi sposobami enzymatycznymi [21]. Przemiana powoduje redukcję kwasowości wina. Biologiczne odkwaszanie wpływa ponadto na cechy aromatyczno-smakowe wina oraz jego mikrobiologiczną stabilizację.

Bakterie kwasu mlekowego w winie pochodzą z powierzchni owoców lub są dodawane w postaci kultur starterowych [4, 35]. MLF przeprowadzana jest przez bakterie należące do rodzajów: *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus* i *Pediococcus*. Bakteriami odkwaszającymi najczęściej izolowanymi z win są gatunki: *Oenococcus oeni*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus hilgardii* i *Lactobacillus plantarum* [9, 13]. Ze względu na powszechność występowania i zdolność adaptacyjną *O. oeni* jest najczęstszą bakterią kultur starterowych [4, 18]. *O. oeni* to Gram dodatnie ziarniaki występujące w parach lub krótkich łańcuszkach. Są to fakultatywne beztlenowce, katalazoujemne, wykazujące charakter heterofermentatywny. W procesie fermentacji glukozy produkują kwas mlekowy, dwutlenek węgla, etanol i kwas octowy lub aldehyd octowy. Kwas jabłkowy wykorzystują jednak w pierwszej kolejności. Optymalne warunki do wzrostu: pH 4,8 i temp. 18 - 30 °C. *O. oeni* tolerują stosunkowo wysokie stężenia etanolu (> 15 % v/v), niskie pH (< 3,5), dwutlenek siarki (50 ÷ 100 mg/l – ogólny i 1 ÷ 10 mg/l – wolny) oraz ograniczoną dostępność składników odżywczych [8, 20]. Hamujący wpływ na ich rozwój wywierają kwasy tłuszczowe o średniej długości łańcucha, niedobór aminokwasów, niektóre fenole oraz drożdże i ich białkowe metabolity [6]. LAB wykazywać mogą również negatywne efekty, metabolizując związki powodujące „choroby” win.

Kompozycja składników chemicznych nadaje winom indywidualne cechy smakowo-zapachowe kształtowane przez związki pochodzące z surowca, powstałe podczas fermentacji i leżakowania. Na skład jakościowy i ilościowy substancji aromatyczno-smakowych wpływają również: rasa drożdży, warunki fermentacji, dostępność tlenu, a także dodatek innych substancji np. SO₂ [35]. Na bukiet oraz barwę wina wpływ mają alkohole, kwasy organiczne, garbniki, cukry, barwniki, związki azotowe i składniki mineralne. W mniejszych ilościach tłuszcze, estry, aldehydy, pektyny, substancje aromatyczne, witaminy i CO₂ [23]. Na szczególną uwagę zasługują związki lotne i polifenole.

Związki fenolowe są odpowiedzialne za różnice pomiędzy winami białymi i czerwonymi, w szczególności za ich barwę i smak. Są to nielotne składniki wina, które w interakcji ze związkami zapachowymi uwalniają aromat [25]. Wykazują właściwości prozdrowotne, bakteriostatyczne oraz przeciwutleniające. Związki polifenolowe to kwasy fenolowe i ich pochodne oraz flawonoidy (m. in. flawony, flawonole

i antocyjany) [28]. Do polifenoli zalicza się też antocyjany [22] oraz taniny, umożliwiające długoletnie leżakowanie i nadające specyficzny, ściągający smak [32].

Do związków lotnych zalicza się estry (octan etylu, octan izobutyli), alkohole, węglowodory, aldehydy (aldehyd octowy), acetale, ketony, kwasy organiczne oraz alkohole wyższe (m.in. izobutanol, alkohole amylowe oraz 2-fenyletanol) [35].

Celem pracy było określenie parametrów enologicznych polskich win gronowych odkwaszanych mikrobiologicznie. Badane wina poddano MLF za pomocą kultury starterowej *O. oeni*.

Material i metody badań

Materiałem badawczym były młode wina czerwone szczepów Marechal Foch i Frontenac oraz białe Seyval Blanc, po fermentacji alkoholowej. Wina pochodziły z winnicy UR w Krakowie, w Garlicy Murowanej.

Do odkwaszania używano szczepionki przemysłowej Viniflora Oenos (liofilizowane komórki *O. oeni* szczep DSM 7008; Chr Hansen, Dania). Bakterie *O. oeni* rozbankowano w 250 ml płynnej pożywki MRS. Gęstość komórek *O. oeni* (10^9 jtk/ml) wyznaczano za pomocą densytometru McFarlanda (Den-1B, Biosan). Wina, po 300 ml każde i w trzech powtórzeniach, zaszczepiano natychmiast po rozbankowaniu szczepionki (10^9 jtk/ml). Wszystkie zaszczepione próbki poddawano fermentacji jabłkowomlekowej (temp. 20 °C, 2 - 3 tygodnie, bez dostępu światła, próbki rozstawione losowo w pokoju fermentacyjnym).

Przed i po MLF w winach oznaczano zawartość wolnego i ogólnego dwutlenku siarki (SO₂) wg OIV-MA-AS323-04A, zawartość alkoholu wg OIV-MA-AS312-01B przy użyciu gęstościomierza (DenDi), pH wg OIV-MA-AS313-15, kwasowość ogólną wg OIV-MA-AS313-01 oraz kwasowość lotną wg OIV-MA-AS313-02 [24].

Aktywność przeciwutleniającą oznaczano metodą spektrofotometryczną. W tym celu przygotowano rodnik ABTS, w reakcji pomiędzy 7 mM solą amonową kwasu 2,2'azynobis(3-etylenobenzotiazolinowego) a 2,45 mM pirosiarczynem potasu. Rodnik stabilizowano 16 h w ciemności, w temp. 22 - 25 °C. Po tym czasie roztwór ABTS rozcieńczano buforem fosforanowym PBS tak, aby jego absorbancja przy $\lambda = 734$ nm wynosiła $A = 0,70 \pm 0,02$ (ABTS_{0,7}). Do kuwet odczytywano po 1 ml ABTS_{0,7} oraz 100 μ l badanej próbki. Dokładnie w 6. minucie od zmieszania dokonywano odczytu absorbancji względem PBS (próba kontrolna). Aktywność przeciwutleniającą wyrażano w mg Troloxu/100 ml. Wyniki odczytywano z krzywej kalibracyjnej dla syntetycznej witaminy E (Troloxu).

Zawartość związków polifenolowych ogółem oznaczano wg Sawin i Hillis [33]. Wina czerwone rozcieńczono 200 razy, a wino białe – 50 razy. Do oznaczenia pobierano 5 ml badanej próbki, dodawano 0,25 ml odczynnika Folina-Ciocalteau'a oraz 0,5 ml 7-procentowego roztworu Na₂CO₃. Próbki pozostawiano na 30 min w ciemno-

ści. Po tym czasie odczytywano absorbancję przy $\lambda = 760$ nm (spektrofotometr Beckman DU 650). Całkowitą zawartość polifenoli odczytano z krzywej wzorcowej roztworu (+)katechiny i wyrażano w mg/100 ml.

Wybrane związki lotne win oznaczano metodą chromatografii gazowej (Hewlett Packard 5890, seria II). Do fiolek o objętości 15 ml dodawano po 2 ml poszczególnych win ze wzorcem o stężeniu 40 mg/l (4-metylo-2-pentanol) oraz 1 g NaCl. Fiolki zamknięto zakrętkami z uszczelkami teflonowymi, po czym przenoszono do cieplarki o temp. 40 °C, mieszając jednocześnie za pomocą mieszadła magnetycznego. W warstwie nadpowierzchniowej umieszczano włókno SPME (PDMS, 100 μ m, Supelco) na 35 min. Zaadsorbowane anality desorbowano przez 3 min w dozowniku chromatografu gazowego (temp. dozownika i detektora 250 °C, programowana temp. kolumny: 35 °C/5 min, wzrost temp. z szybkością 5 °C/min do 110 °C, kolejny wzrost z szybkością 40 °C/min do 220 °C i utrzymanie stałej temp. przez 5 min). Identyfikacji ilościowej dokonywano na podstawie krzywych wzorcowych wykreślonych dla: octanu etylu, octanu izobutyłu, izobutanolu, alkoholi amyloowych, heksanianu etylu, oktanianu etylu, octanu fenyletylu, laurynianu etylu oraz alkoholu fenyletylowego.

Oznaczenia wykonywano w minimum 3 powtórzeniach. Do określenia różnic między wartościami średnimi zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA z testem post hoc Tukeya. Rozkład normalności określano za pomocą testu Kołgomorowa-Smirnowa w programie InStat3.

Wyniki i dyskusja

Na rozwój bakterii *O. oeni* hamujący wpływ mogą wykazywać: SO₂, wysokie stężenie etanolu i wysokie pH [4]. Dlatego próbki win przed odkwaszaniem analizowano pod względem tych parametrów i porównywano z zaleceniami producenta.

Siarkowanie win zabezpiecza je przed rozwojem niepożądaną mikroflorą. Bakterie mlekowe wykazują niewielką odporność na dwutlenek siarki. Według zaleceń producenta użytej szczepionki odkwaszającej zawartość wolnego SO₂ w winie nie powinna przekraczać 10 mg/l, a SO₂ ogólnego 30 mg/l. Badane wina były słabo siarkowane (tab. 1) i można było zastosować szczepionkę. Według literatury ogólny dwutlenek siarki w ilości 20 mg/l obniża aktywność fermentacji jabłkowo-mlekowej o 13 %. Natomiast antybakteryjne działanie SO₂ wzrasta wraz z obniżaniem się pH [9].

Bakterie *O. oeni* wykazują stosunkowo dużą odporność na obecność etanolu. Mogą rozwijać się w winach zawierających do 14 % obj. Badane wina spełniały wymagania dotyczące dopuszczalnego stężenia alkoholu (tab. 2). Podczas odkwaszania we wszystkich winach zawartość alkoholu nie uległa zmianie. Podobne wyniki uzyskali Abrahamse i Bartowsky [1].

Tabela 1. Zawartość SO₂ w badanych winach gronowych przed MLF.Table 1. Content of SO₂ in grape wines analyzed prior to MLF.

| Zawartość SO ₂ Content of SO ₂ | Rodzaj wina / Type of wine | | |
|---|----------------------------|-----------|--------------|
| | Marechal Foch | Frontenac | Seyval Blanc |
| SO ₂ wolny [mg/l] Free SO ₂ [mg/l] | 6 | 7 | 7 |
| SO ₂ ogólny [mg/l] Total SO ₂ [mg/l] | 16 | 18 | 15 |

Wartość średnia / mean value

Tabela 2. Zawartość alkoholu etylowego w badanych winach gronowych przed fermentacją jabłkowomlekową i po niej.

Table 2. Content of ethyl alcohol in grape wines analyzed prior to and after malolactic fermentation.

| Zawartość alkoholu etylowego Content of ethyl alcohol | Rodzaj wina / Type of wine | | |
|--|----------------------------|------------|--------------|
| | Marechal Foch | Frontenac | Seyval Blanc |
| Przed MLF [% obj.] Prior to MLF [% obj.] | 12,3 ± 0,1 | 12,7 ± 0,3 | 12,3 ± 0,1 |
| Po MLF [% obj.] After MLF [% obj.] | 12,0 ± 0,1 | 12,5 ± 0,2 | 12,0 ± 0,3 |

Wartość średnia ± odchylenie standardowe/ mean value ± standard deviation; n = 5.

W badanych winach czerwonych po MLF stwierdzono wzrost pH o ok. 0,1 ÷ 0,25 jednostki, natomiast w winie białym był on dwukrotnie wyższy (tab. 3). Producent szczepionki zaleca, aby pH win nie przekraczało 3,1. Przed odkwaszaniem pH obu analizowanych win czerwonych, Marechal Foch i Frontenac, było właściwe i proces odkwaszania przebiegł prawidłowo. Natomiast niższe od zalecanego pH wina białego Seyval Blanc mogło wzmocnić działanie antybakteryjne dwutlenku siarki, przyczyniając się do słabego namnożenia LAB i niedostatecznego odkwaszenia [4].

Zgodnie z rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi [31] kwasowość win gronowych powinna się zawierać w przedziale 3,5 ÷ 9,0 g/l w przeliczeniu na kwas winowy. W badanych winach przed MLF średnia kwasowość ogólna kształtowała się powyżej górnej wartości. W wyniku odkwaszania stwierdzono statystycznie istotne ($p < 0,05$) obniżenie kwasowości ogólnej wina czerwonego Marechal Foch o 28 %, a białego Seyval Blanc – o 12 % (tab. 4). Kwasowość wina Frontenac zmniejszyła się o 2 %, pozostając powyżej górnej wartości.

Tabela 3. pH badanych win gronowych przed fermentacją jabłkowo-mlekową i po niej.

Table 3. pH of grape wines analyzed prior to and after malolactic fermentation.

| pH | Rodzaj wina / Type of wine | | |
|------------------------|----------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | Marechal Foch | Frontenac | Seyval Blanc |
| Przed MLF Prior MLF | 3,37 ^a ± 0,00 | 3,07 ^a ± 0,00 | 2,43 ^a ± 0,00 |
| Po MLF After MLF | 3,64 ^b ± 0,06 | 3,27 ^b ± 0,02 | 3,28 ^b ± 0,03 |

Objaśnienia: / Explanatory notes:

wartość średnia ± odchylenie standardowe/ mean value ± standard deviation; n = 3;

a, b – wartości oznaczone w kolumnach różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy $p < 0,05$ / values in columns and denoted by different letters differ statistically significantly at $p < 0.05$.

Tabela 4. Kwasowość ogólna badanych win gronowych przed fermentacją jabłkowo-mlekową i po niej.

Table 4. Acidity of grape wines analyzed prior to and after malolactic fermentation.

| Kwasowość ogólna Total acidity | Rodzaj wina / Type of wine | | |
|--|----------------------------|------------|--------------|
| | Marechal Foch | Frontenac | Seyval Blanc |
| Przed MLF [g kwasu winowego/l] Prior to MLF [g tartaric acid/l] | 9,6 ^a ± 0,0 | 10,3 ± 0,1 | 8,9 ± 0,02 |
| Po MLF [g kwasu winowego/l] After MLF [g tartaric acid/l] | 6,9 ^b ± 0,3 | 10,0 ± 0,0 | 7,8 ± 0,1 |

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

Pomimo znaczącego obniżenia kwasowości ogólnej wina Marechal Foch po MLF, wciąż pozostała ona na wysokim poziomie, co jest charakterystyczne dla win chłodnego klimatu. Dla porównania, w hiszpańskich winach Tempranillo i Merlot stwierdzono obniżenie kwasowości po MLF, odpowiednio: z 3,99 do 3,03 ÷ 3,53 g/l oraz z 5,13 do 3,65 ÷ 4,23 g/l kwasu winowego w zależności od użytego szczepu *O. oeni* [5]. Z kolei w białych winach zimnego klimatu po MLF odnotowano istotne zmniejszenie kwasowości [16]. Powodem tak wysokiej kwasowości badanych win mogły być warunki pogodowe w czasie dojrzewania winogron. Zawartość cukrów i kwasów w owocach zależy od stopnia nasłonecznienia i średnich temperatur panujących podczas wegetacji.

Kwasowość lotna win gronowych zgodnie z rozporządzeniem MRiRW [31] nie powinna przekraczać 1,3 g/l w przeliczeniu na kwas octowy. Kwasowość lotna badanych win przed i po MLF zawierała się poniżej tej wartości. W wyniku odkwaszania w winie Marechal Foch stwierdzono 69-procentowy wzrost kwasowości lotnej, a w winie Seyval Blanc – o 95 %, przy czym zmiany były statystycznie istotne ($p < 0,05$), a w winie Frontenac – o 20 % (tab. 5). Kwasowość lotna badanych win

gronowych po MLF była niska. W winach Tempranillo i Merlot stwierdzono wzrost kwasowości po MLF, odpowiednio: do $0,3 \div 0,51$ g/l oraz do $0,27 \div 0,38$ g/l kwasu octowego [5]. Różnice kwasowości lotnej mogą być wynikiem odmiennego prowadzenia fermentacji oraz składu mikroflory owoców. Ponadto, dobór szczepu drożdży do fermentacji alkoholowej oraz bakterii kwasu mlekowego do MLF w istotny sposób wpływa na kwasowość lotną [5].

Tabela 5. Kwasowość lotna badanych win gronowych przed fermentacją jabłkowo-mlekową i po niej.
Table 5. Volatile acidity of grape wines analyzed prior to and after malolactic fermentation.

| Kwasowość lotna Volatile acidity | Rodzaj wina / Type of wine | | |
|--|----------------------------|----------------|-----------------|
| | Marechal Foch | Frontenac | Seyval Blanc |
| Przed MLF [g kwasu octowego/l] Prior to MLF [g acetic acid/l] | $0,3^a \pm 0,0$ | $0,25 \pm 0,0$ | $0,2^a \pm 0,0$ |
| Po MLF [g kwasu octowego/l] After MLF [g acetic acid/l] | $0,4^b \pm 0,0$ | $0,3 \pm 0,0$ | $0,4^b \pm 0,1$ |

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

W winach czerwonych stwierdzono wzrost zawartości polifenoli po MLF, w przypadku wina Marechal Foch był on statystycznie istotny ($p < 0,05$) (tab. 6). Podobnie jak w niniejszej pracy, również włoskie wina charakteryzowały się zawartością polifenoli w granicach $783 \div 2209$ mg/100 ml [17]. W winie białym Seyval Blanc nie zaobserwowano zmian zawartości polifenoli (170 mg/100 ml), co stwierdzono również w winach niemieckich ($126 \div 271$ mg/100 ml) [15]. Wina czerwone odznaczają się ponad dziesięciokrotnie większą zawartością związków fenolowych, co jest wynikiem różnic w składzie chemicznym owoców i w procesie ich produkcji. Na zawartość polifenoli wpływ mają: odmiana winogron, stopień dojrzałości oraz nasłonecznienie w czasie dojrzewania owoców. Wina krajowe, z powodu krótkiego okresu wegetacyjnego i mniej sprzyjających warunków pogodowych, odznaczają się mniejszą zawartością polifenoli w porównaniu z winami pochodzącymi z krajów o cieplejszym klimacie [7, 14, 16].

Powodem wzrostu ilości związków polifenolowych podczas odkwaszania mogła być również aktywność enzymatyczna bakterii oraz mała specyficzność metody. *O. oeni* wykazuje niewielką zdolność do syntezy lotnych związków fenolowych, jednak ma enzymy hydrolizujące polimery flawanoli, a także wykazuje aktywność β -glukozydazy. Wina czerwone są bogate w taniny, które mogą zostać rozłożone do katechiny i epikatechiny, zwiększając tym samym poziom polifenoli ogółem. Po MLF stwierdzono wzrost zawartości epikatechiny i barwnych polimerów nawet o 15 mg/l [1]. Bakterie mlekowe mają również enzymy z rodzaju glikozydaz, które hydrolizują glikozydowe związki fenoli [8]. Dodatkowo *O. oeni* wykazuje największą wśród LAB

zdolność do produkcji amin, głównie histaminy i tyraminy. Powstające cząsteczki mogą zafałszowywać wynik, ponieważ odczynnik Folina-Ciocalteau'a reaguje z cukrami, aminami biogennymi i aromatycznymi, a także SO₂, witaminą C, aminokwasami, białkami, żelazem, miedzią, aldehydami i innymi związkami [26, 30].

Tabela 6. Zawartość polifenoli ogółem w badanych winach gronowych przed fermentacją jabłkowo-mlekową i po niej.

Table 6. Content of total polyphenols in grape wines analyzed prior to and after malolactic fermentation.

| Zawartość polifenoli ogółem Content of total polyphenols | Rodzaj wina / Type of wine | | |
|--|----------------------------|------------|--------------|
| | Marechal Foch | Frontenac | Seyval Blanc |
| Przed MLF [mg katechiny/100 ml] Prior to MLF [mg catechin/100 ml] | 1186 ^a ± 6 | 1224 ± 1 | 177 ± 2 |
| Po MLF [mg katechiny/100 ml] After MLF [mg catechin/100 ml] | 1713 ^b ± 154 | 1425 ± 183 | 169 ± 10 |

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

W wyniku fermentacji jabłkowo-mlekowej nastąpił znaczący wzrost aktywności przeciwutleniającej badanych win (tab. 7). Powodem mogła być hydrolityczna działalność enzymów bakteryjnych. Rozkład estrów kwasów fenolowych i glikozydów prowadzi do uwolnienia ich formy kwasowej lub aglikonu, które wykazują największe bioaktywne właściwości przeciwutleniające. Zwiększeniu tej aktywności sprzyja enzymatyczna hydroliza białek. Wolne aminokwasy działają bowiem synergistycznie z przeciwutleniaczami [27]. Widoczna jest również zależność pomiędzy zawartością polifenoli ogółem a pojemnością przeciwutleniającą badanych win czerwonych. Wzrost zawartości polifenoli powodował wzrost aktywności przeciwutleniającej, co obserwowano również w innych badaniach [15].

Tabela 7. Aktywność przeciwutleniająca win gronowych przed fermentacją jabłkowo-mlekową i po niej.

Table 7. Antioxidant activity in grape wines analyzed prior to and after malolactic fermentation.

| Aktywność przeciwutleniająca Antioxidant activity | Rodzaj wina / Type of wine | | |
|---|----------------------------|-----------------------|----------------------|
| | Marechal Foch | Frontenac | Seyval Blanc |
| Przed MLF [mg Troloxu/100 ml] Prior to MLF [mg Trolox /100 ml] | 311 ^a ± 1 | 286 ^a ± 7 | 54 ^a ± 1a |
| Po MLF [mg Troloxu /100 ml] After MLF [mg Trolox /100 ml] | 1125 ^b ± 5 | 787 ^b ± 18 | 87 ^b ± 3 |

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

W wyniku odkwaszania wzrosła kwasowość lotna, a więc i stężenie octanu etylu (tab. 8). Związek ten istotnie wpływa na aromat wina. Charakteryzuje się zapachem owocowym (gruszka, brzoskwinia, ananas, malina) [12]. Jego próg wyczuwalności to 12,26 mg/l [10]. W stężeniu do 70 mg/l wpływa korzystnie na aromat, natomiast powyżej 150 mg/l – niekorzystnie [19]. W winach Marechal Foch i Seyval Blanc, w których proces odkwaszania przebiegał w najwyższym stopniu, zawartość octanu etylu zwiększyła się. Podobnie wzrost tego związku stwierdzono po MLF w hiszpańskich winach czerwonych [5] i w winach białych Riesling [16]. Natomiast w winach czerwonych Pinotage, odkwaszanych *O. oeni* stwierdzono zmniejszenie zawartości tego związku w jednym roku i wzrost w kolejnym [19].

We wszystkich badanych winach stwierdzono zmniejszenie zawartości heksanianu etylu i octanu izobutyli (tab. 8). Ten ostatni wyczuwalny jest w stężeniu 1,1 mg/l. W niskich stężeniach odpowiada za aromat owocowy (wiśnia, truskawka, malina), w większych ma nieprzyjemny zapach. Heksanian etylu charakteryzuje się aromatem truskawki i anyżu i jest wyczuwalny już w stężeniu 0,014 mg/l [11]. Zawartość obu substancji w badanych winach była zbyt mała, aby miała wpływ na aromat.

Alkohole amyłowe są wyczuwalne już w stężeniu 30 mg/l. Wprowadzają one do wina nutę fuzli, whisky, słodu i spalenizny. Pomimo swojego ostrego zapachu i szkodliwych właściwości są pożądane w winie, w ilościach do 350 mg/l [19]. Proces odkwaszania wywołał zmniejszenie zawartości alkoholi amyłowych, szczególnie w winie białym (tab. 8). W greckich białych winach stwierdzono zmniejszenie lub zwiększenie zawartości tych alkoholi w zależności od sposobu prowadzenia fermentacji [2]. Natomiast nie odnotowano zmian w ich ilości w winach czerwonych [19]. Zawartość pozostałych związków lotnych nieznacznie się zmniejszyła lub pozostała bez zmian.

Uzyskane wyniki świadczą o poprawie aromatu w wyniku działania bakterii odkwaszających. Zwiększenie stężenia estrów o nucie owocowej wzbogaciło aromat wina. Z drugiej strony została zmniejszona zawartość związków nadających winu niepożądane zapachy. Prawidłowo przeprowadzony proces odkwaszania umożliwia korektę bukietu wina [34]. Fenotypowa zmienność szczepów *O. oeni* ma zasadnicze znaczenie dla tworzenia różnych rodzajów wina (zróżnicowanie w tworzeniu wtórnych metabolitów). Szczególnie pożądane w winiarstwie jest wzmocnienie aromatów owocowych i jagodowych, które umożliwia MLF [3].

Kwasowość ogólna w winie Marechal Foch podczas MLF zmniejszyła się o ok. 3 g kwasu winowego/l, co odpowiada rozkładowi 6 g/l kwasu jabłkowego. W winie Frontenac nastąpiło zmniejszenie zawartości kwasów ogółem poniżej 0,5 g/l (rozkład ok. 1 g/l kwasu jabłkowego). W winie Seyval Blanc kwasowość ogólna zmniejszyła się o ponad 1 g/l, co było wynikiem rozkładu ponad 2 g/l kwasu jabłkowego. W winie

Tabela 8. Zawartość związków lotnych w badanych winach gronowych przed fermentacją jabłkowo-mlekową i po niej.
Table 8. Content of volatile compounds in grape wines analyzed prior to and after malolactic fermentation.

| Związek lotny Volatile compound | Rodzaj wina / Type of wine | | | | | | | |
|--|----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------|
| | Marechal Foch | | Frontenac | | Seyval Blanc | | | |
| | Przed MLF to MLF | Po MLF After MLF | Przed MLF Prior to MLF | Po MLF After MLF | Przed MLF Prior to MLF | Po MLF After MLF | Przed MLF Prior to MLF | Po MLF After MLF |
| Octan etylu / Ethyl acetate | 62,16 ^a ± 0,75 | 90,67 ^b ± 2,14 | 40,34 ^c ± 0,58 | 52,90 ^d ± 1,56 | 32,50 ^c ± 0,50 | 59,16 ^d ± 3,46 | | |
| Octan izobutyli Isobutyl acetate | 0,40 ^a ± 0,01 | 0,27 ± 0,03b | 0,39 ^a ± 0,01 | 0,28 ^b ± 0,01 | 0,52 ^a ± 0,01 | 0,27 ^b ± 0,01 | | |
| Izobutanol / Isobutanol | 44,87 ± 0,76 | 41,91 ± 4,25 | 49,19 ± 0,27 | 46,43 ± 2,40 | 41,97 ± 0,64 | 37,87 ± 3,48 | | |
| Alkohole amyłowe Amyl alcohol | 111,34 ± 0,55 | 108,72 ± 1,86 | 130,32 ± 0,62 | 124,55 ± 6,33 | 105,14 ^a ± 0,69 | 94,55 ^b ± 3,35 | | |
| Heksanian etylu Ethyl hexanoate | 0,77 ^a ± 0,01 | 0,59 ± 0,01b | 0,69 ^a ± 0,01 | 0,60 ^b ± 0,00 | 0,89 ^c ± 0,02 | 0,64 ^b ± 0,03 | | |
| Oktanian etylu Ethyl octanoate | 0,58 ± 0,01 | 0,56 ± 0,01 | 0,58 ± 0,01 | 0,55 ± 0,02 | 0,68 ^a ± 0,01 | 0,58 ^b ± 0,01 | | |
| Octan fenyletyli Phenylethyl acetate | 0,03 ± 0,01 | 0,03 ± 0,01 | 0,02 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 | 0,02 ± 0,01 | 0,01 ± 0,006 | | |
| Laurynian etylu Ethyl laurate | 4,08 ± 0,01 | 4,08 ± 0,01 | 4,07 ± 0,00 | 4,07 ± 0,00 | 4,09 ± 0,01 | 4,09 ± 0,01 | | |
| Alk. fenyletylowy Phenylethyl alcohol | 23,14 ± 1,09 | 23,82 ± 0,08 | 26,38 ± 0,55 | 26,27 ± 0,99 | 22,77 ± 0,70 | 23,02 ± 0,33 | | |

Objaśnienia: / Explanatory notes:

wartość średnia ± odchylenie standardowe/ mean value ± standard deviation; n = 3;

a - d – wartości oznaczone w wierszach różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy $p < 0,05$ / values in lines and denoted by different letters differ statistically significantly at $p < 0,05$.

Marechal Foch i Seyval Blanc MLF przebiegła w większym stopniu niż w winie Frontenac. W wyniku odkwaszania poprawiły się właściwości fizykochemiczne badanych win. Jedynie słabe odkwaszenie wina Frontenac mogło być spowodowane wypadkową jego parametrów chemicznych, takich jak wysoka kwasowość ogólna, zawartość SO₂ i polifenoli. Z drugiej strony można zauważyć, że został zahamowany jedynie szlak konwersji kwasu jabłkowego do mlekowego, a uboczna działalność mikroflory odkwaszającej zachodziła w podobnym stopniu jak w winie Marechal Foch (wzrost pH o ok. 0,2 jednostki, poprawa właściwości przeciwutleniających oraz zmiany związków lotnych). Powodem takich wyników mogło być niskie pH badanych win, co wykazy wyniki innych autorów [16, 29].

Kultura starterowa *Viniflora oenos* używana jest do odkwaszenia i nadania winom klasycznego i czystego profilu smakowego, przy małej produkcji kwasów lotnych. Wina z owoców dojrzewających w klimacie umiarkowanym, z roczników o wyjątkowo niekorzystnych warunkach atmosferycznych, charakteryzują się wysoką kwasowością ogólną, małą zawartością cukrów i kwasów lotnych. Odkwaszanie takich win tylko przy użyciu zastosowanych bakterii *O. oeni* nie jest efektywne. Niezbędne byłoby wstępne odkwaszenie miazgi lub moszczu. Obniżenie kwasowości ogólnej o ponad 1 g/l przy zastosowaniu wyłącznie MLF nie jest zalecane, gdyż może prowadzić do pogorszenia aromatu.

Wnioski

1. W warunkach przeprowadzonych doświadczeń nie powiodła się próba zniwelowania nadmiernej kwasowości wina Frontenac. Stosowany do odkwaszania *O. oeni* spowodował zmniejszenie kwasowości ogólnej wina Marechal Foch (o ok. 28 %) oraz wina Seyval Blanc (o 12 %).
2. Po fermentacji jabłkowo-mlekowej prowadzonej przez *O. oeni* stwierdzono wzrost kwasowości lotnej we wszystkich badanych winach, w winie Marechal Foch o 69 %), we Frontenac – 20 %) i w Seyval Blanc – o 95 %.
3. W wyniku MLF stwierdzono wzrost aktywności przeciwutleniającej wszystkich badanych win i zwiększenie zawartości polifenoli ogółem w winach czerwonych. *O. oeni* spowodował wzrost zawartości octanu etylu oraz zmniejszenie ilości octanu izobutyłu i heksanianu etylu we wszystkich badanych winach, a także zmniejszenie zawartości alkoholi amylowych z winie Seyval Blanc.

Literatura

- [1] Abrahamse C.E., Bartowsky E.J.: Timing of malolactic fermentation inoculation in Shiraz grape must and wine: influence on chemical composition. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 2012, **28**, 255-265.

- [2] Agouridis N., Kopsahelis N., Plessas S., Koutinas A.A., Kanellaki M.: *Oenococcus oeni* cells immobilized on delignified cellulosic material for malolactic fermentation of wine. *Biores. Technol.*, 2008, **99**, 9017-9020.
- [3] Bartowsky E.J., Borneman A.R.: Genomic variations of *Oenococcus oeni* strains and the potential to impact on malolactic fermentation and aroma compounds in wine. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2011, **92**, 441-447.
- [4] Bonin S., Bielawska M.: Rola bakterii fermentacji jabłkowo-mlekowej w winiarstwie. *Przem. Ferm. Owoc.-Warz.*, 2013, **5-6**, 57-58.
- [5] Cañas P.M.I., Pérez-Martín F., Romer E.G., Prieto S.S., de los Llanos Palop Herreros M.: Influence of inoculation time of an autochthonous selected malolactic bacterium on volatile and sensory profile of Tempranillo and Merlot wines. *Int. J. Food Microbiol.*, 2012, **156**, 245-254.
- [6] Comitini F., Ciani M.: The inhibitory activity of wine yeast starters on malolactic bacteria. *Ann. Microbiol.*, 2007, **57**, 61-66.
- [7] Corder R.: *Dieta winna*. Bellona, Warszawa 2008.
- [8] Costantini A., Garcia-Moruno A., Moreno-Arribas M.V.: Biochemical Transformations Produced by Malolactic Fermentation. In: *Wine Chemistry and Biochemistry*. Eds. M.V. Moreno-Arribas, C. Polo. Springer, 2009, pp. 27-49.
- [9] Du Toit M., Engelbrecht L., Lerm E., Krieger-Weber S.: *Lactobacillus*: the next generation of malolactic fermentation starter cultures-an overview. *Food Bioproc. Technol.*, 2011, **4**, 876-906.
- [10] Ferreira V., Aznáz M., Lopez R., Cacho J.: Quantitative gas chromatography-olfactometry carried out at different dilutions of grape extract. Key differences in the odour profiles of four high-quality Spanish aged red wines. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, **49**, 4818-4824.
- [11] Ferreira V., Lopez R., Cacho J.F.: Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties. *J. Sci. Food Agric.*, 2000, **80**, 1659-1667.
- [12] Francis I.L., Newton J.L.: Determining wine aroma from compositional data. *Aust. J. Grape Wine Res.*, 2005, **11**, 114-126.
- [13] Fugelsang K.C., Edwards C.G.: *Wine Microbiology*. Springer, Washington 2007.
- [14] Garcia-Ruiz A., Bartolom B., Martinem-Rodriguez A.J., Pueyo E., Martin-Alvarez P.J., Moreno-Arribas M.V.: Potential of phenolic compounds for controlling lactic acid bacteria growth in wine. *Food Control*, 2008, **19**, 835-841.
- [15] Honer, K., Cervellati R., Neddens C.: Measurements of the in vitro antioxidant activity of German white wines using a novel method. *Eur. Food Res. Technol.*, 2002, **214**, 356-360.
- [16] Knoll C., Fritsch S., Schnell S., Grossmann M., Krieger-Weber S., du Toit M., Rauhut D.: Impact of different malolactic fermentation inoculation scenarios on Riesling wine aroma. *World J. Microbiol., Biotechnol.*, 2012, **28**, 1143-1153.
- [17] Legin A., Rudnitskaya A., Lvova L., Vlasov Y., Di Natale C., D'Amico A.: Evaluation of Italian wine by the electronic tongue: recognition, quantitative analysis and correlation with human sensory perception. *Anal. Chim. Acta*, 2003, **484**, 33-44.
- [18] Lopez I., Tenorio C., Zarazaga M., Dizy M., Torres C., Ruiz-Larrea F.: Evidence of mixed wild populations of *Oenococcus oeni* strains during wine spontaneous malolactic fermentations. *Eur. Food Res. Technol.*, 2007, **226**, 215-223.
- [19] Malherbe S., Tredoux A.G.J., Nieuwoudt H.H., du Toit M.: Comparative metabolic profiling to investigate the contribution of *O. oeni* MLF starter cultures to red wine composition. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 2012, **39**, 477-494.
- [20] McKay M., Buglass A.J., Lee C.G.: Fermented Beverages: Beers, Ciders, Wines and Related Drinks. In: *Handbook of alcoholic beverages: technical, analytical and nutritional aspects*. Ed. A.J. Buglass. John Wiley, 2011, pp. 96-112.

- [21] Miller B.J., Franz C.M., Cho G.S., du Toit M.: Expression of malolactic enzyme gene (MLE) from *Lactobacillus plantarum* under winemaking conditions. *Curr. Microbiol.*, 2011, **62**, 1682-1688.
- [22] Monagas M., Bartolome B.: Anthocyanins and Anthocyanin-Derived Compounds. In: *Wine Chemistry and Biochemistry*. Eds. M.V. Moreno-Arribas, C. Polo. Springer, 2009, pp. 439-456.
- [23] Myśliwiec R.: *Wino i winorośl*. PWRL, Warszawa 2006.
- [24] OIV. *Compendium of International Methods of Wine and Musts Analysis*. Paris 2014.
- [25] Pozo-Bayon M.A., Reineccius G.: Interactions Between Wine Matrix Macro-Components and Aroma Compounds. In: *Wine Chemistry and Biochemistry*. Eds. M.V. Moreno-Arribas, C. Polo. Springer, 2009, pp. 417-432.
- [26] Prior R.L., Wu X., Schaich K.: Standardized Methods for the Determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agric. Food Chem.*, 2005, **53**, 4290-4302.
- [27] *Przeciwnutleniacze w żywności. Aspekty zdrowotne technologiczne molekularne i analityczne*. Red. W. Grajek. WNT, Warszawa 2007.
- [28] Ribereau-Gayon P., Dubourdieu D., Doneche B., Lonvaud A.: *The Handbook of Enology: The Chemistry of Wine - Stabilization and Treatments*. John Wiley and Son. Ltd., Chichester 2006.
- [29] Rosi I., Fia G., Canuti V.: Influence of different pH values and inoculation time on the growth and malolactic activity of a strain of *Oenococcus oeni*. *Aust. J. Grape Wine Res.*, 2003, **9**, 194-199.
- [30] Rosi I., Nannelli F., Giovani G.: Biogenic amine production by *Oenococcus oeni* during malolactic fermentation of wines obtained using different strains of *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Sci. Technol.*, 2009, **42**, 525-530.
- [31] Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 22 maja 2013 r. w sprawie rodzajów fermentowanych napojów winiarskich oraz szczegółowych wymagań organoleptycznych, fizycznych i chemicznych, jakie powinny spełniać te napoje. *Dz. U.* 2013 r., poz. 633.
- [32] Sikorski Z.E. (Red.): *Chemia żywności*, t. I. WNT, Warszawa 2007.
- [33] Swain T., Hillis W.E.: The phenolic constituents of *Prunus domestica*. The quantitative analysis of phenolic constituents. *J. Sci. Food Agric.*, 1959, **1**, 63-68.
- [34] Torriani S., Felis G.E., Fracchetti F.: Selection criteria and tools for malolactic starters development: an update. *Ann. Microbiol.*, 2011, **61**, 33-39.
- [35] Wzorek W., Pogorzelski E.: *Technologia winiarstwa owocowego i gronowego*. Wyd. Sigma, Warszawa 1998.

EFFECT OF OENOCOCCUS OENI ON PARAMETERS OF OENOLOGICAL POLISH WINES

Summary

The objective of the research study was to determine the oenological parameters of microbiologically de-acidified wines. *Marechal Foch* and *Frontenac*, young red wines, and *Seyval Blanc*, a white wine were the subject of the study; the wines studied were de-acidified using a starter culture of *Viniflora Oenos* (*Oenococcus oeni*). Prior to de-acidifying the wines and after it, the following was analysed: content of ethanol, total and volatile acidity, content of polyphenols; moreover, the antioxidant activity and profile of volatile compounds were determined. An attempt to reduce the excess acidity of the *Frontenac* wine failed. The *Oenococcus oeni* strains used for de-acidification caused the total acidity of the *Marechal Foch* wine to decrease by 28 %, and of the *Seyval Blanc* wine to decrease by 12 %. It was proved that the volatile acidity increased in all the wines studied (in *Marechal Foch* by 69 %, in *Frontenac* by 20 %, and in *Seyval Blanc* by 95 %). It was found that the antioxidant activity increased in all the wines analyzed, and

the content of total polyphenols increased only in the red wines after malolactic fermentation. In all the wines analyzed, *O. oeni* caused the content of ethyl acetate to increase and the contents of isobutyl acetate and ethyl hexanoate to decrease. The analyses performed proved that *O. oeni* had a limited usefulness in de-acidifying cool climate wines with a high total acidity and a high content of alcohol.

Key words: malolactic fermentation (MLF), *Oenococcus oeni*, wine, de-acidification, polyphenols ☒

ALEKSANDRA JEDLIŃSKA, BARTOSZ KRUSZEWSKI, MICHAŁ ANTCZAK,
EDYTA LIPIŃSKA, DOROTA WITROWA-RAJCHERT

NOWA METODA OTRZYMYWANIA PROSZKÓW MIODOWYCH I ICH WŁAŚCIWOŚCI FIZYCZNE

Streszczenie

Celem pracy było określenie możliwości zmniejszenia zawartości cukrów prostych w roztworach miodów metodą fermentacji alkoholowej, co umożliwi zwiększenie udziału składników miodu w proszkach uzyskanych metodą suszenia rozpyłowego, a następnie oznaczenie właściwości fizycznych proszków. Miody rozcieńczano wodą do uzyskania 30 % ekstraktu i poddawano fermentacji alkoholowej. Po osiągnięciużądanego stężenia ekstraktu pozornego (30 i 27 %), zafermentowane miody rozcieńczano wodą do zawartości 20 % suchej substancji, zateżano gumą arabską oraz skrobią tapiokową (w stosunku 2 : 1) do stężenia 33 % i suszono rozpyłowo.

Badano wybrane właściwości fizyczne proszków pobranych z odbieralnika i komory suszarki rozpyłowej. W otrzymanych proszkach oznaczono: zawartość wody, aktywność wody, gęstość nasypową luźną złoża, gęstość pozorną cząstek, barwę i morfologię cząstek. Dzięki zmniejszeniu zawartości cukrów prostych metodą fermentacji alkoholowej uzyskano proszek, w którym około 50 % suchej substancji stanowiły składniki miodu. Stwierdzono statystycznie istotne ($p < 0,05$) różnice w barwie i wielkości cząstek proszków uzyskanych z różnych miejsc suszarki rozpyłowej. Większymi cząstkami intensywniejszą barwą charakteryzowały się proszki pobrane z komory. Ekstrakt pozorny sfermentowanych miodów nie miał znaczącego wpływu na badane właściwości fizyczne proszków, z wyjątkiem gęstości pozornej, która była większa w przypadku produktu otrzymanego z roztworu o mniejszym ekstrakcie.

Słowa kluczowe: miody, suszenie rozpyłowe, morfologia cząstek proszku, gęstość proszku, barwa

Wprowadzenie

Miód w 80 % składa się z glukozy i fruktozy – cukrów prostych łatwo przyswajalnych przez organizm człowieka [1]. Jest źródłem niezbędnych aminokwasów, en-

Mgr inż. A. Jedlińska, prof. dr hab. D. Witrowa-Rajchert, Katedra Inżynierii Żywności i Organizacji Produkcji, mgr inż. B. Kruszewski, mgr inż. M. Antczak, dr inż. E. Lipińska, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 15 C 02-776 Warszawa. Kontakt: aleksandra_jedlinska@sggw.pl

zymów, związków mineralnych, witamin A, B, C, D, E i K, a także flawonoidów, które wykazują działanie przeciwnowotworowe [4]. Dodatkowo, wysoka zawartość cukrów działa hamująco na rozwój bakterii *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella species* i *Staphylococcus aureus* oraz chroni organizm przed szkodliwym działaniem czynników środowiskowych [3, 7, 10].

Z uwagi na małą aktywność wody oraz wysokie ciśnienie osmotyczne, spowodowane zawartością cukrów, miód wykazuje dużą stabilność mikrobiologiczną. Jednak w temperaturze pokojowej ma tendencję do krystalizacji, co powoduje zmniejszenie jego atrakcyjności dla konsumentów [12].

Stosowanie miodu na skalę przemysłową jest utrudnione ze względu na jego niekorzystne cechy technologiczne. Ma to związek z dużą gęstością i lepkością miodu, utrudniającymi dozowanie czy suszenie rozpyłowe. Miód oblepia wnętrza urządzeń, co powoduje straty surowca oraz generuje koszty czyszczenia [4, 12]. Duża zawartość cukrów prostych zmniejsza temperaturę przemiany szklistej i decyduje o występowaniu produktu o małej zawartości wody w stanie struktury amorficznej w formie gumy, która okleja ściany suszarki i może nawet przypalać się na jej ścianach. Problem suszenia produktów o dużej zawartości cukrów prostych można rozwiązać poprzez dodatek substancji nośnikowych (np. maltodekstryny, skrobi czy gumy arabskiej). Istnieje także możliwość zmniejszenia w miodzie zawartości cukrów prostych, co również umożliwi wysuszenie surowca przy ograniczonym dodatku substancji nośnikowych. Jednym ze sposobów na zredukowanie zawartości cukrów prostych jest proces fermentacji alkoholowej [1, 4, 9, 11].

Wiele polskich przedsiębiorstw używa starych suszarek rozpyłowych, które nie są wyposażone w systemy zapobiegające lokalnemu osadzeniu się proszku w komorze. W takich przypadkach, w celu zmniejszenia strat, proszki pobierane są zarówno z odbieralnika, jak i z komory suszarki rozpyłowej [9].

Celem pracy było określenie możliwości zmniejszenia zawartości cukrów prostych w roztworach miodów metodą fermentacji alkoholowej. To umożliwi zwiększenie udziału składników miodu w proszkach uzyskanych metodą suszenia rozpyłowego, a następnie oznaczenie właściwości fizycznych proszków. Założeniem doświadczenia było prowadzenie fermentacji na tyle długo, aby zmniejszyć zawartość cukrów prostych utrudniających suszenie i jednocześnie na tyle krótko, aby utrzymać właściwości odżywcze miodu wyjściowego.

Material i metody badań

Podstawowy materiał do badań stanowił miód gryczany, pochodzący z niewielkiej pasieki w Supraślu (10 rodzin pszczelich), której produkcja zaspokaja głównie własne potrzeby producenta. Miód z pasieki o masie 10 kg, stanowiący mieszaninę

równych części miodu pozyskanego od każdej pszczelej rodziny, został pobrany w sierpniu 2011 roku do jednego sterylnego pojemnika. Do czasu pobrania próbek miód przechowywano w chłodni w temp. 7 ± 1 °C, przy wilgotności względnej powietrza wynoszącej 70 %, bez dostępu światła. W celu poddania fermentacji i dalszego przetworzenia, pobrano osiem próbek miodu z kilku miejsc pojemnika po uprzednim upłynięciu przy ciągłym mieszaniu w temperaturze około 30 °C.

Fermentację rozcieńczonych próbek miodu prowadzono przy użyciu szczepu drożdży *Saccharomyces cerevisiae* nr 33, pochodzącego z Kolekcji Czystych Kultur Zakładu Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności Wydziału Nauk o Żywności w Warszawie. „Matki drożdżowe” namnażano w podłożu przygotowanym z miodu rozcieńczonego wodą w stosunku 1 : 2. Hodowlę inokulum prowadzono w wytrząsarce laboratoryjnej Bühler SM30 Control (Niemcy) przy 200 rpm, w temp. 28 °C przez 48 h. Następnie tak przygotowanym inokulum szczepiono nastawy sporządzone z miodu i wody w stosunku 1 : 2. Po 7 i 12 dniach fermentacji stosowano dodatek miodu tak, aby ostateczny stosunek miodu do wody wyniósł 1 : 1. Przygotowywano równolegle 8 identycznych nastawów, a ich fermentacja w temp. 28 °C trwała maksymalnie 48 dni.

Po osiągnięciu zawartości ekstraktu pozornego, oznaczonego refraktometrycznie, na poziomie 30 i 27 % próby rozcieńczano do stężenia 20 %, dodawano nośniki do zawartości suchej substancji równej 33 % i suszono rozpyłowo w dwóch powtórzeniach. Nośnik stanowiły guma arabska instant („Nexira food”, Francja) i skrobia tapiokowa typu OSA (sól sodowa oktenylobursztynianu skrobiowego) w stosunku wagowym

2 : 1. Skład roztworów poddanych suszeniu był następujący: 300 g 20-procentowego roztworu miodu, 40 g gumy, 20 g skrobi tapiokowej. Roztwory homogenizowano przez 5 min w homogenizatorze MPW-120 (Polska) o prędkości obrotowej 15000 obr./min. Podczas suszenia rozpyłowego w suszarce laboratoryjnej Büchi Mini Spray Dryer B-290 (Szwajcaria) na stałym poziomie utrzymywano: temperaturę powietrza wlotowego – 180 °C, strumień podawania surowca – $5,55 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^3 \cdot \text{s}^{-1}$, strumień rozpylanego surowca – $230,77 \text{ cm}^3 \cdot \text{s}^{-1}$, przepływ powietrza – $9,72 \cdot 10^3 \text{ cm}^3 \cdot \text{s}^{-1}$. Po suszeniu oddzielnie pobierano proszki z komory i odbieralnika.

W otrzymanych proszkach oznaczano: zawartość wody (metodą suszarkową), aktywność wody (Rotronic Hygroskop DT, Szwajcaria), gęstość nasypową luźną (objętościomierz wstrząsowy STAV 2003/Engelsmann AG, Niemcy), gęstość pozorną (piknometr helowy Stereopycnometer/Quantachrome Instruments, USA), barwę (Chromametr typu CR-300 firmy Minolta; system CIE L*a*b*, oświetlenie standardowe C, obserwator standardowy 2°). Zdjęcia mikroskopowe proszków wykonywano przy użyciu skaningowego mikroskopu elektronowego Phenon G2 pro (Japonia) przy powiększeniu 500 razy. Do analizy zdjęć wykorzystano program MultiScan v.18.03. Oznaczenia analityczne wykonywano w trzech powtórzeniach.

Wyniki opracowano statystycznie za pomocą programu Statistica, wykonując jednoczynnikową analizę wariancji oraz test Tukeya HSD. Testowanie prowadzono na poziomie istotności $p = 0,05$. W przypadku niespełnienia założeń analizy wariancji, związanej z niejednorodnością wariancji pomiędzy porównywanymi grupami, używano modyfikacji testu t-Studenta, tj. testu Welcha (w przypadku wykluczenia jednej średniej) lub testu Kruskala-Wallisa (gdy istniała konieczność wykluczenia więcej niż jednej średniej).

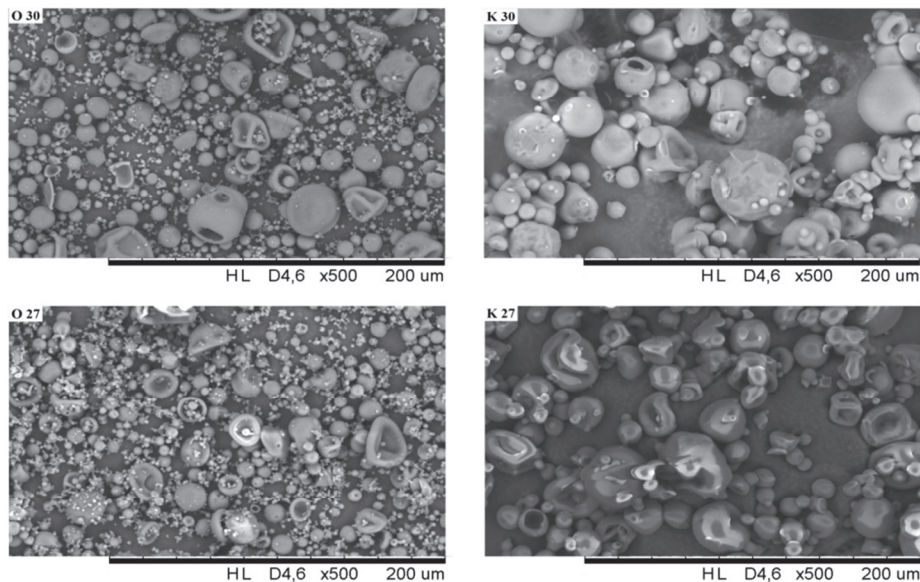
Wyniki i dyskusja

Średnia zawartość miodu w suchej substancji otrzymanych proszków wyniosła $48,29 \pm 0,24$ %. Z kolei wcześniejsze badania realizowane w Katedrze Inżynierii Żywności i Organizacji Produkcji Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie [5, 8, 9] pozwoliły na otrzymanie proszków o średniej zawartości miodu wynoszącej maksymalnie 30 %. Zwiększenie zawartości składników miodu było możliwe przede wszystkim dzięki zmniejszeniu zawartości cukrów prostych poprzez fermentację alkoholową.

W przypadku suszenia roztworów o mniejszym stężeniu pofermentacyjnym powstały proszek mniej przyklejał się do ścian suszarki i karmelizował. Roztwory te zawierały mniejszą ilość cukrów prostych o niskiej temperaturze przejścia szklistego, których obecność jest przyczyną powstawania proszku o postaci amorficznej gumy, oklejającej i przypalającej się do ścian suszarki. W większości próbek, uzyskana w wyniku suszenia masa proszku otrzymanego z komory była ponad dwukrotnie większa od masy proszku z odbieralnika. Było to związane z właściwościami adhezyjnymi proszku, który przyklejał się do ścian komory suszarki.

Na podstawie analizy zdjęć mikroskopowych stwierdzono, że proszki pobrane z komory miały większe rozmiary od uzyskanych z odbieralnika (fot. 1), czyli charakteryzowały się większą adhezyjnością. Rozkład średnic cząstek proszków przedstawiono na rys. 1. Najczęściej występujące średnice cząstek proszków, otrzymanych z zafermentowanych rozcieńczonych miodów o ekstrakcie pozornym wynoszącym 30 %, pobranych z komory i odbieralnika wynosiły odpowiednio: 16 i 11 μm , a otrzymanych z zafermentowanych rozcieńczonych miodów o ekstrakcie pozornym wynoszącym 27 % – 15 i 9 μm .

Z krzywej skumulowanej (rys. 2) wynika, że proszki z komory charakteryzowały się większymi wielkościami cząstek w porównaniu z pobranymi z odbieralnika. Przykładowo, średnicę równą i większą od 15 μm osiągnęły proszki otrzymane z zafermentowanych rozcieńczonych miodów o ekstrakcie pozornym wynoszącym 30 %, pobrane z komory i odbieralnika odpowiednio: 52 i 22 %, a_w w przypadku proszków otrzymanych z zafermentowanych rozcieńczonych miodów o ekstrakcie pozornym

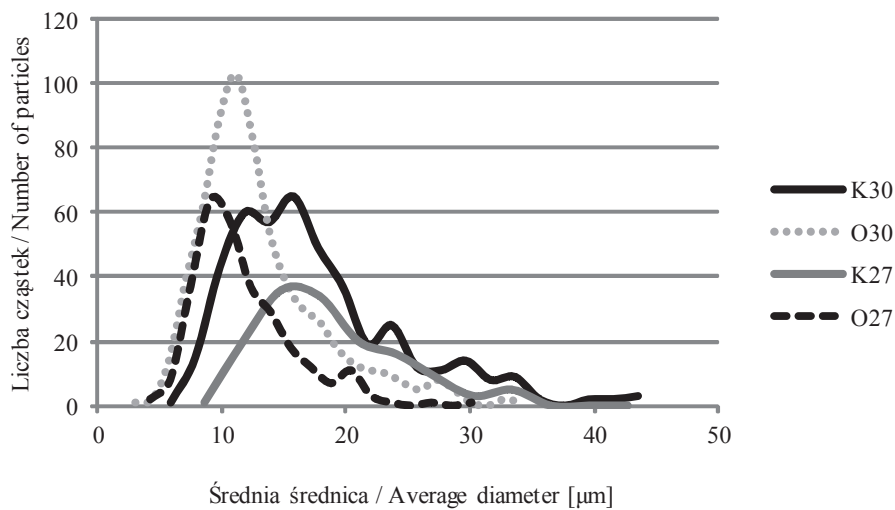


Objaśnienia: / Explanatory notes:

O – odbieralnik / receiver, K – komora / chamber, 27, 30 – ekstrakt pozorny [%] / apparent extract [%]

Fot 1. Zdjęcia mikroskopowe proszków miodowych.

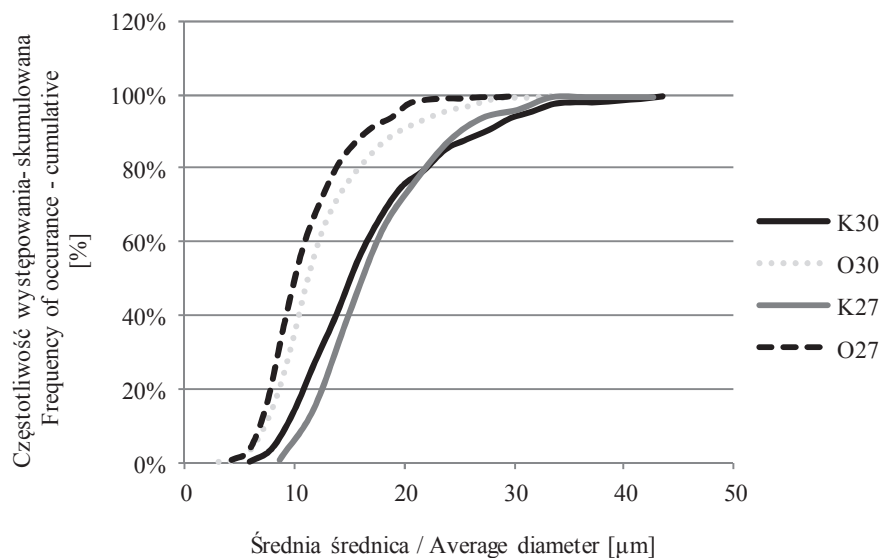
Phot. 1. Photomicrographs of honey powders.



Objaśnienia jak na fot. 1. / Explanatory notes as in Phot. 1.

Rys. 1. Rozkład wielkości cząstek uzyskanych proszków.

Fig. 1. Size distribution of particles of produced powders.



Objaśnienia jak na fot. 1. / Explanatory notes as in Phot. 1.

Rys. 2. Krzywe skumulowane rozkładów wielkości cząstek proszków.

Fig. 2. Cumulative curves of size distributions of particles of powders.

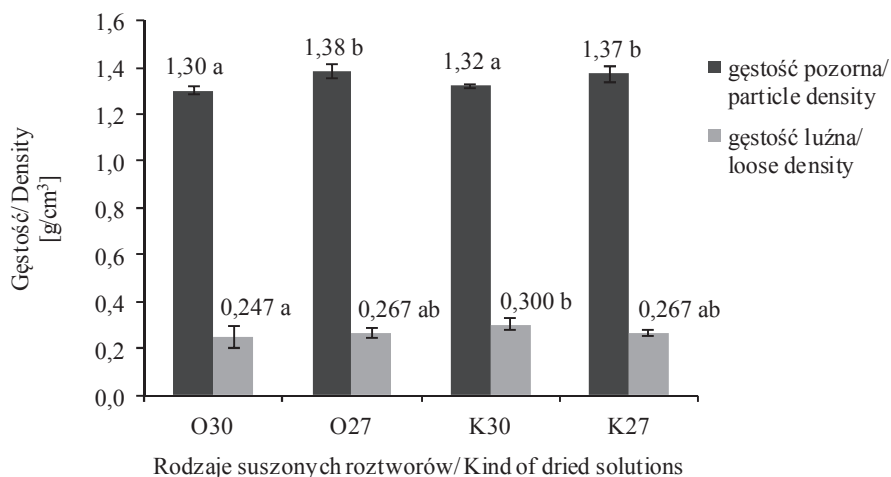
wynoszącym 27 %, odpowiednio: 61 i 84 %. Natomiast nie stwierdzono znaczącego wpływu ekstraktu pozornego w roztworze przeznaczonym do suszenia na wielkość cząstek.

Zawartość wody w proszkach wynosiła od $2,69 \pm 0,53$ do $3,74 \pm 1,1$ %. Na podstawie przeprowadzonej analizy wariancji stwierdzono brak statystycznie istotnych różnic pomiędzy zawartościami wody w proszkach otrzymanych z rozcieńczonych zafermentowanych miodów o różnym ekstrakcie pozornym oraz pobranych z różnych miejsc suszarki rozpyłowej. Podobne wyniki zawartości wody, wynoszące 2,3 i 4,4 % otrzymali Nurhadi i wsp. [6] podczas suszenia rozpyłowego roztworów miodu, przy zastosowaniu jako nośnika odpowiednio: maltodekstryny i gumy arabskiej. Z kolei Samborska i wsp. [8] suszyli rozpyłowo roztwory miodu oraz maltodekstryny i uzyskali zawartość wody w zakresie od $0,9 \pm 0,1$ do $1,1 \pm 0,3$ %.

W niniejszym doświadczeniu aktywność wody uzyskanych proszków mieściła się w przedziale od $0,114 \pm 0,008$ do $0,161 \pm 0,041$. Stężenie ekstraktu pozornego rozcieńczonych i zafermentowanych miodów oraz miejsce odebrania proszków nie różnicowały statystycznie istotnie aktywności wody.

Gęstość pozorna proszków mieściła się w przedziale od $1,30 \pm 0,02$ g·cm⁻³ do $1,38 \pm 0,03$ g·cm⁻³ (rys. 3). Otrzymane wyniki potwierdzają, że większość cząstek żywności przyjmuje wartości gęstości pozornej rzędu $1,0 \div 1,5$ g·cm⁻³ [2]. Wystąpił

statystycznie istotny ($p < 0,05$) wzrost gęstości pozornej proszków wraz ze zmniejszającym się stężeniem ekstraktu pozornego roztworów miodów. Przymuszczenie zawartości cukrów prostych zwiększa temperaturę przemiany szklistej i decyduje o otrzymaniu mikrokapsułki o lepszym zamknięciu oraz bardziej równomiernej i mniej porowatej strukturze. Nie stwierdzono statystycznie istotnych ($p < 0,05$) różnic gęstości pozornej pomiędzy proszkami pobranymi z różnych miejsc suszarki rozpyłowej. Gęstość nasypowa luźna wynosiła od $0,247 \pm 0,04 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ do $0,300 \pm 0,02 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ (rys. 3). Jedynie proszki otrzymane z 30-procentowego roztworu, pobrane z różnych miejsc suszarki, różniły się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) pod względem gęstości luźnej. Większe wartości gęstości luźnej proszków z komory prawdopodobnie były związane z największym zakresem średnic cząstek (rys. 1), co powodowało, że w złożu cząstki mniejsze zajmowały przestrzeń pomiędzy większymi, powodując tym samym wzrost gęstości nasypowej.



Objaśnienia jak na fot. 1. / Explanatory notes as in Phot. 1.

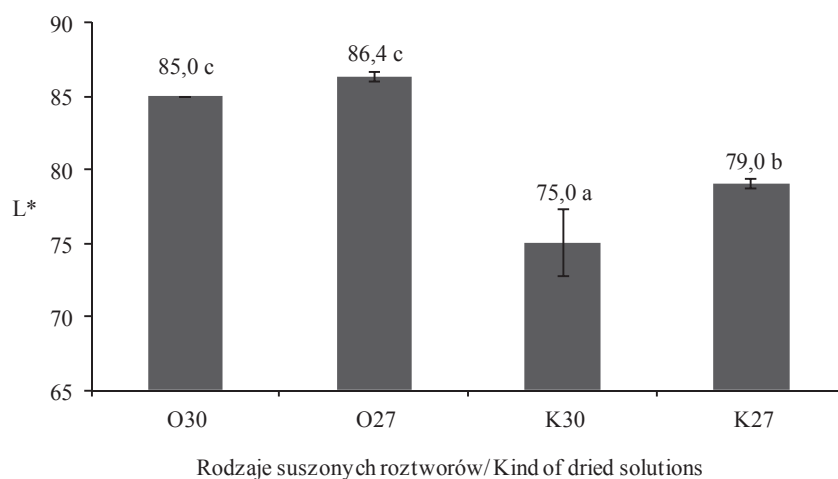
a, b – różne litery oznaczają występowanie statystycznie istotnych różnic między porównywanymi grupami / different letters indicate the presence of statistically significant differences between compared groups.

Rys. 3. Średnia gęstość nasypowa i pozorna proszków miodowych.

Fig. 3. Average bulk and particle density of honey powders.

Jasność charakteryzowana parametrem L^* wynosiła od $86,4 \pm 0,3$ do $75,0 \pm 2,3$. Proszki pobrane z odbieralnika miały statystycznie istotnie ($p < 0,05$) jaśniejszą barwę od proszków z komory (rys. 4). Wartości współczynnika jasności uzyskane przez Nurhadi i wsp. [6], przy zastosowaniu dwóch różnych nośników, takich jak malto-dekstryna i guma arabska, wynosiły odpowiednio: 94,6 i 98,1. Ciemniejsza barwa proszków odebranych z komory mogła być związana z długotrwałym działaniem wy-

sokiej temperatury i tym samym intensywniejszym przebiegiem reakcji nieenzymatycznego brunatnienia. Miód, oprócz dużej zawartości cukrów prostych, zawiera również aminokwasy oraz białka, będące substratami reakcji brązowienia. Zheng-Wei i wsp. [12] suszyli mikrofalowo miód pod obniżonym ciśnieniem i nie stwierdzili różnic w barwie w porównaniu z miodem wyjściowym, a mniejszej ilości maltozy i sacharozy nie tłumaczyli zachodzeniem reakcji Maillarda (bo te nie zachodzą w warunkach beztlenowych), ale przekształceniem w glukozę i fruktozę. Stężenie roztworu miodu wykorzystywanego do suszenia nie wpłynęło znacząco na jasność proszków otrzymanych w odbieralniku, ale istotnie – w przypadku materiału pobranego z komory. Prawdopodobnie większa zawartość cukrów prostych przyczyniła się do ich intensywniejszej karmelizacji w trakcie suszenia.

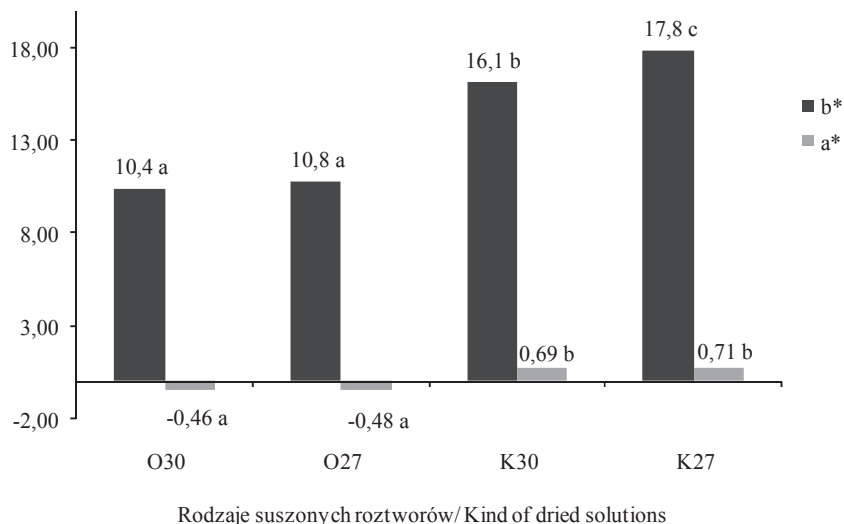


Objaśnienia jak na fot. 1. i pod rys. 3. / Explanatory notes as in Phot. 1., and Fig. 3.

Rys. 4. Wartości parametru L* proszków miodowych.

Fig. 4. Values of L* brightness parameter of honey powders.

Stwierdzono statystycznie istotne różnice ($p < 0,05$) wartości współrzędnej odpowiedzialnej za barwę czerwoną i zieloną, w zależności od miejsca odbioru proszku, natomiast stężenie roztworu nie wpłynęło na wartość współrzędnej a* (rys. 5). Jego ujemna wartość w proszkach pobranych z odbieralnika świadczy o większym udziale barwy zielonej w stosunku do barwy czerwonej. Proszki z komory wykazywały dodatnią wartość współczynnika a*, co świadczyło o większym udziale barwy czerwonej, a mniejszym – zielonej. Dla porównania, wartości współrzędnej a* proszków miodowych otrzymanych przez Nurhadi i wsp. [6] również były ujemne i przy zastosowaniu maltodekstryny i gumy arabskiej jako nośników wyniosły odpowiednio: -0,3 i -0,1.



Objaśnienia jak na fot. 1. i pod rys. 3. / Explanatory notes as in Phot. 1., and Fig. 3.

Rys. 5. Wartości współrzędnych chromatycznych a* i b* proszków miodowych.

Fig. 5. Chromatic coordinates: a* and b* of honey powders.

Dodatnia wartość współrzędnej b* potwierdza żółtą barwę uzyskanych proszków (rys. 5). Stwierdzono statystycznie istotne różnice ($p < 0,05$) w wartościach parametru b*, w zależności od miejsca odbioru proszku. Istotnie większy ($p < 0,05$) był udział barwy żółtej w proszkach z komory w porównaniu z proszkami pobranymi z odbieralnika, co również potwierdzały wartości współczynnika jasności. Prawdopodobnie było to związane z tym, że proszki pobrane z komory były narażone na długotrwałe działanie wysokiej temperatury, co przyczyniło się do bardziej znaczącego przebiegu reakcji nieenzymatycznego brunatnienia, a także karmelizacji monosacharydów. Nurhadi i wsp. [6] również uzyskali dodatnie wartości współczynnika b*, rzędu 2,16 i 6,94, przy użyciu odpowiednio: maltodekstryny i gumy arabskiej jako nośników. Z kolei Hebbar i wsp. [4] suszyli rozpyłowo miód z dekstryną, maltozą i dodatkami przeciwbrylającymi, przy temperaturze wlotowej: $115 \div 125$ °C i wylotowej: $80 \div 85$ °C i uzyskali średnią wartość współczynnika b* w wysokości 18,71. Dodatkowo, spośród proszków uzyskanych z komory, istotnie większy udział barwy żółtej wykazywały proszki otrzymane z roztworów o mniejszym stężeniu.

Wnioski

1. Zmniejszenie zawartości cukrów prostych poprzez fermentację alkoholową pozwala na otrzymanie proszków o średniej zawartości miodu na poziomie $48 \pm 0,58$ %.

2. Proszki pobrane z odbieralnika i komory statystycznie istotnie ($p < 0,05$) różniły się wielkościami cząstek oraz barwą. Proszki z odbieralnika były mniejsze i charakteryzowały się jaśniejszą i mniej intensywną barwą. Wyższą jakością charakteryzowały się proszki z odbieralnika, miały przyjemną miodową barwę (proszek z komory miał wygląd przypalonego) oraz jednorodną strukturę. Różnice pod względem właściwości fizycznych pomiędzy proszkami pobranymi z różnych miejsc suszarki rozpyłowej mogą wskazywać, że nie należy mieszać tych proszków po procesie suszenia, co jest powszechnie stosowane w praktyce przemysłowej.
3. Ekstrakt pozorny miodów rozcieńczonych i poddanych fermentacji nie miał znaczącego wpływu na badane właściwości fizyczne proszków, z wyjątkiem gęstości pozornej, która była większa w przypadku produktu otrzymanego z roztworu o mniejszym ekstrakcie. Zmniejszenie zawartości cukrów prostych w ekstrakcie skutkowało otrzymaniem mniej porowatego proszku o bardziej równomiernej strukturze, co świadczy o jednorodności złoża, istotnej w procesach technologicznych, np. transportu, dozowania, pakowania.

Literatura

- [1] Bhandari D., D'Arcy B., Kelly C.: Rheology and crystallization kinetics of honey: Present status. *Int. J. Food Prop.*, 1999, **2**, 217-226.
- [2] Domian E.: Gęstość i sypkość wybranych produktów spożywczych. W: Właściwości geometryczne, mechaniczne i strukturalne surowców i produktów spożywczych. Red. B. Dobrzański, L. Mieszkański. Wyd. Nauk. Fundacja Rozwoju Nauk Agrofizycznych, Komitet Agrofizyki PAN, Lublin, 2007, ss. 96-108.
- [3] Doner L.W., Hicks K.B.: Lactose and the sugar of honey and maple: Reactions, properties and analysis. In: *Food carbohydrates*. Eds. D.R Lineback., G.E Inglett. AVI Publishing Company, West Port, 1982, pp. 74-112.
- [4] Hebbar H.U., Rastogi N.K., Subramanian R.: Properties of dried and intermediate moisture honey products: A review. *Int. J. Food Prop.*, 2008, **11**, 804-819.
- [5] Jedlińska A., Samborska K., Witrowa-Rajchert D.: Właściwości fizyczne proszków na bazie miodu pszczelego otrzymanych metodą suszenia rozpyłowego i sublimacyjnego. *Acta Agrophysica*, 2012, **19 (3)**, 563-574.
- [6] Nurhadi B., Andoyo R., Indiarso M.R.: Study the properties of honey powder produced from spray drying and vacuum drying method. *Int. Food Res. J.*, 2012, **19 (3)**, 907-912.
- [7] Renate F.: *Miód – odżywia, leczy, pielęgnuje*. Wyd. RM, Warszawa 2008.
- [8] Samborka K., Choromańska A., Witrowa-Rajchert D., Bakier S.: Suszenie rozpyłowe miodu pszczelego z maltodekstryną. *Post. Techn. Przetw. Spoż.*, 2011, **21 (38)**, 19-23.
- [9] Samborska K.: Suszenie rozpyłowe w przemyśle spożywczym. *Post. Techn. Przetw. Spoż.*, 2008, **18 (32)**, 63-69.
- [10] Stary M., Kowalski S.: Miód – jego właściwości żywieniowe i zdrowotne. *Zdrowa Żywność Zdrowy Styl Życia*, 2010, **87**, 14-18.
- [11] Truong V., Bhandari B.R., Howes T.: Optimization of co-current spray drying process of sugar-rich foods. Part I- Moisture and glass transition temperature profile during drying. *J. Food Eng.*, 2005, **71**, 55-65.

- [12] Zheng-Wei Cui, Li-Juan Sun, Wei Chen, Da-Wen Sun: Preparation of dry honey by microwave-vacuum drying. *J. Food Eng.*, 2008, **84**, 582-590.


NOVEL METHOD TO PRODUCE HONEY POWDERS AND THEIR PHYSICAL PROPERTIES

S u m m a r y

The objective of the research study was to determine the possibility of reducing the content of monosaccharides in honey solutions through alcoholic fermentation in order to increase the content of honey compounds in honey powders produced using a spray drying method, and, next, to determine physical properties of those powders.

Honey was diluted with water and a 30 % extract was produced; then, the solution underwent alcoholic fermentation. As soon as the desired concentration of the apparent extract (30 and 27 %) was reached, the fermented honey was diluted with water to make the content of dry matter be 20 %; next, it was concentrated by a gum Arabic and a tapioca starch (at 2 : 1 ratio) to a concentration level of 33 % of dry matter, and, finally, spray dried.

Some selected physicochemical properties were analyzed of powders taken from a receiver and a chamber of spray dryer. In the powders produced, the following was determined: water content, water activity, bulk density, particle density, colour, and particle morphology. Owing to reducing the content of monosaccharides through alcoholic fermentation, a honey powder was produced, in which ca. 50 % of dry mass were honey compounds. Statistically significant differences were found among the colour and particle sizes of powders taken from different points in the dryer. The powders taken from the chamber were characterized by a larger particle size and a more intense colour. The apparent extract of fermented honey had no significant effect on the analyzed physical properties of the powders except for the particle density, which was larger in the case of the product produced from the solution with a lower extract.

Key words: honeys, spray drying, morphology of powder particles, powder density, colour 

EUGENIA CZERNYSZEWICZ, MAŁGORZATA WIŚNIEWSKA

DETERMINANTS OF FRUIT QUALITY SYSTEM IMPLEMENTATION IN POLAND

S u m m a r y

A commercial GLOBALG.A.P. standard and an integrated production system are the most popular methods to ensure the quality and safety of fruits. The implementation thereof in fruit farms is a consequence of food law requirements and expectations of consumers who want to consume products that are of high quality and, in the first place, safe for health. The implementation of those quality assurance (QA) methods is a prerequisite for selling products to large international retail chains at home and abroad. Motives for and barriers to application of QA methods were identified based on a survey of fruit growers, including those who implemented a GLOBALG.A.P. standard, and on interviews with experts. It was found that the major motives for implementing QA systems in orchard farms in Poland were the following: increased sale opportunities, entering new markets with products, and meeting customer requirements. Amidst the major barriers were the lack of economic incentives and the lack of knowledge about the methods and systems of quality assurance.

Key words: orchard farms, systems of quality, implementation, GLOBALG.A.P.

Introduction

An integrated production and a commercial GLOBALG.A.P. standard are most popular in the production of fruits [7]. Fruit farms implement them because they are obliged to do so by requirements of the current food law in force (with regard to liability for unsafe products) and because consumers want to consume products of high quality and, in the first place, safe for health [1, 6]. Moreover, the implementation of QA methods results in obtaining the trade partner position and increases the competitiveness in the domestic and international market. According to what Hermaniuk and

*Dr hab. E. Czernyszewicz prof. nadzw., Zakład Ekonomiki Ogrodnictwa, Wydz. Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Leszczyńskiego 58, 20-068 Lublin, dr hab. M. Wiśniewska prof. nadzw. Zakład Zarządzania Jakością i Środowiskiem, Wydz. Zarządzania, Uniwersytet Gdański, ul. Armii Krajowej 101, 81-824 Sopot.
Kontakt: eugenia.czernyszewicz@up.lublin.pl*

Sikora [4] say, the quality of products as well as the quality of management process has a positive impact on the growth of client/customer trust in the producer and, also, on many other aspects of running a business. From the point of view of food safety and reduced risks, the pressure to standardize quality in the primary processes and food industry has become important. Therefore, quality assurance will capture the process of food production and distribution [16]. Producers who could prove they had made every effort to meet the demands of customers in terms of quality and safety of their products have got the advantage in the competitive horticultural market. Moreover, it is very important to identify external and internal conditions for implementing those systems as well as to determine the existing barriers. This knowledge can support actions intended to meet legal requirements and to increase the competitiveness of fruit farms in the global market.

The objective of the research study was to identify motives of and barriers to the implementation of QA methods and systems in orchard farms in Poland and to analyse the correlations between producer opinions, especially of those who implemented the most popular commercial GLOBALG.A.P. standard, and to analyse profiles of farms and their owners.

Legal and market determinants of quality systems implementation

In recent years, food law requirements have contributed to changes in the behaviour of business entities in the European Union market. Those changes also refer to fruit and vegetable producers, and to distributors & purchasers of their products. At the stage of primary production, the producers are obliged to fulfil a number of legal requirements relating to the common organization of fruit and vegetable market as well as certain food law regulations relating to, among other things, the traceability system and hygienic requirements as contained in Annex I to the Regulation (EC) No 852/2004 [14]. The hygiene-related regulations require companies (and farms) ensure that their raw materials and processed products are protected against contaminants in air, soil, waters, fertilizers, biocides, contaminants derived from plant protection products or from storage facilities, also, from treatment and disposal of waste and other plant health-related measures and processes, which can have an impact on human health. Mandatory requirements for traceability are provided in Art. 18, Regulation (EC) No. 178/2002 [13]. The law on the common organization of fruit and vegetable market obliges the producers to, also, comply with commercial quality standards. The implementation of QA methods and systems as well as the presentation of relevant evidences of their proper functioning is, increasingly, a prerequisite for selling fruits to distribution networks at home and within the European Union. Optionally, when implementing QA methods and systems, the fruit growers can start with the Good Agricultural Practice (GAP), Good Manufacturing Practice/Good Hygiene Practice systems

(GMP / GHP systems), and integrated production, next, they can perform a Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) system, commercial standards (GLOBALG.A.P., International Food Standard (IFS), British Retail Consortium (BRC), Global Standard for Food). In the end, they can implement management systems according to ISO 22000 and other regulations [18]. It is confirmed that fruit producers in Poland, more often than others, implement commercial standards, especially the GLOBALG.A.P. standard [7]. There is an interest in this standard resulting, mainly, from growing demands and consumer awareness, also, from retail chains requirements; for the latter, the GLOBALG.A.P. certificate is a reliable measure of high standards in primary production. According to the data provided by Wiśniewska [18] and the organization to which the standard [15] belongs, more than 130 thousand world farms in Europe were certified according to the commercial GLOBALG.A.P. standard, mostly in Italy, Spain, and Greece.

Material and methods

The research study comprises both the results of the survey carried out amidst fruit producers and the interviews with experts conducted in 2011. Prior to appropriate analyses, a pilot study was conducted; the objective thereof was to verify the accuracy and articulation of questions of the survey. The study covered 530 producers from all over the country; they were mostly members of a Society for Promotion of Dwarf Fruit Orchards. A method of survey delivery was applied. Of all the 450 sent questionnaires in total, 30 filled in questionnaires were returned. Owing to a low quantity of responses received, another 80 questionnaires were distributed amidst producers with a request to fill in them during seminars, conferences, and training courses. Finally, the authors received 110 filled in questionnaires. Every questionnaire consisted of three parts. The questionnaires comprised questions ref. to basic information on a farm, its owner, and an opinion of fruit producer containing his/her motives of and barriers to the implementation of QA assurance system in the farm, and the achieved results of the producers. The data collected from the first and second part of the survey were used as explanatory variables. To investigate relationships among the variables and to verify the null hypothesis on the lack of any relationship among the explained variables (according to the opinions of the producers surveyed) and the explanatory variables (the profile of farms and their owners), a chi-square independence test was applied. The null hypothesis was verified with a significance level of $p = 0.05$. The null hypotheses of independence of the variables were rejected in the case the calculated value of chi-square was higher than the limit value (with the adopted significance level of $p = 0.05$). According to formal requirements referring to found (empirical) numbers of the chi-square test, when the response category is indicated by a small number of respondents,

then, the answers in this category are omitted in the analysis. The collected data were analyzed using a Statistica 10 software (StatSoft).

Profile of fruit farms surveyed

The research study presents the growers opinions in total and, also, the opinions of those who implemented GLOBALG.A.P. standard in their farms. The latter farms covered 34.5 % of all the fruit farms surveyed. Of all the farms surveyed the farms with the GLOBALG.A.P. standard implemented were characterized by a higher average area of orchards and longer fruit-producing traditions. Often, their owners had a university degree; more often, they were members of groups of producers and, more likely, they benefited from the EU funding. Those farms exported their fruits slightly more often and, significantly less frequently, sold their fruits directly from the farms. The subjective assessment showed that the knowledge of those owners, as regards the pest management, QA systems, commercial quality standards, food law, and principles of raising funds from the EU assistance fundings was broader compared to others. The detailed profiles of the two groups of farms are shown in Table 1.

The respondents with the implemented GLOBALG.A.P. standard were engaged in the orchard production at least 21 years, on average. 79 % of those growers had, at least, a secondary education, and almost every other grower had a university degree (47 %). 84.2 % of those farms were members of a group or a organization of producers. Apart from the direct payments, 89.5 % of fruit growers with the implemented commercial GLOBALG.A.P. standard benefited, or currently benefit from the financial backing by the European Union. The farms surveyed were well-equipped with major means of production and had a proper infrastructure. More than 55 % of the producers exported their fruits; over 60 % supplied fruits to supermarket wholesalers, wholesale stores, or they sold fruits in a wholesale market. Approximately 29 % of the producers sold fruits to customers directly from their farms; nearly 24 % supplied fruits to shop retailers or sold fruits in markets and stalls. Other fruit sales channels were used by 37 % of the farms with the implemented GLOBALG.A.P. standard and included: selling to a processing company and selling through groups of producers or organizations they belonged to as their were members. The majority of respondents who implemented GLOBALG.A.P. (92 %) knew exact principles of integrated pest management, 60 % of the respondents declared to have a very good knowledge of fruit quality assurance systems, 51 % declared to have a very good knowledge of commercial quality standards, and the remaining respondents declared to have knowledge of how to apply and receive funds from EU fundings. It is quite probable that the producers have a really good knowledge of those issues thanks to their participation in respective trainings, conferences, and seminars.

Table 1. Profile of surveyed fruit producers in total (n = 110) and of those who implemented GLOBALG.A.P. standard (n = 38).

Tabela 1. Charakterystyka badanych producentów owoców ogółem (n = 110) i mających wdrożony standard GLOBALG.A.P. (n = 38).

| Specification Wyszczególnienie | \bar{x} | | SD / s | |
|--|------------|-----------|------------|-----------|
| | n = 110 | n = 38 | n = 110 | n = 38 |
| Area of orchards [hectares] / Powierzchnia sadów [ha] | 19.4 | 22.5 | 35.3 | 33.3 |
| Traditions in fruit production (years) / Tradycje w produkcji owoców (lata) | 19.9 | 21.5 | 10.5 | 9.3 |
| Producer's education [% of indication] / Wykształcenie producentów [% wskazań]: | | | | |
| - primary / podstawowe | 3.7 | 0.0 | - | - |
| - vocational / zawodowe | 17.6 | 21.0 | - | - |
| - secondary / średnie | 40.7 | 31.6 | - | - |
| - higher / wyższe | 38.0 | 47.4 | - | - |
| Age of farm owner [% of responses] / Wiek właściciela gospodarstwa [% wskazań]: | | | | |
| - 20 - 29 years old / lat | 13.8 | 2.6 | - | - |
| - 30 - 39 years old / lat | 23.8 | 31.6 | - | - |
| - 40 - 49 years old / lat | 24.8 | 23.7 | - | - |
| - 50 - 59 years old / lat | 26.6 | 23.7 | - | - |
| - 60 and more years old / 60 lat i więcej | 11.0 | 18.4 | - | - |
| Group of producers membership [% of responses] / Członkostwo w grupie producentów [% wskazań] | 45.5 | 84.2 | 0.5 | 0.4 |
| Use of EU funds [% of response] / Korzystanie z funduszy UE [% wskazań] | 69.7 | 89.5 | 0.4 | 0.3 |
| Fruit sales channels ¹ : / Kierunki sprzedaży owoców ¹ : | | | | |
| - export / eksport | 52.4 | 56.0 | 30.1 | 28.9 |
| - wholesale / sprzedaż hurtowa | 52.8 | 43.1 | 30.6 | 32.0 |
| - retail / sprzedaż detaliczna | 29.7 | 26.1 | 23.9 | 17.6 |
| - directly from the farm / bezpośrednio z gospodarstwa | 27.3 | 8.5 | 33.4 | 6.5 |
| - others / inne | 75.3 | 78.4 | 34.5 | 29.5 |
| Subjective assessment of knowledge ² of: / Obiektywna oceny znajomości ² : | | | | |
| - food law / prawa żywnościowego | 3.2 | 3.4 | 1.1 | 1.1 |
| - integrated plant protection / integrowanej ochrony roślin | 4.1 | 4.4 | 0.9 | 0.8 |
| - quality assurance (QA) systems / systemów zapewnienia jakości | 4.1 | 4.5 | 0.9 | 0.7 |
| - commercial quality standards / standardów jakości handlowej | 4.5 | 4.9 | 0.7 | 0.3 |
| - usage of EU assistance programs / korzystania z programów pomocowych UE | 4.0 | 4.4 | 0.9 | 0.5 |
| Location of the farm [% of responses] / Położenie gospodarstwa [% wskazań]: | | | | |
| - lubelskie | 50.9 | 62.2 | - | - |
| - mazowieckie | 6.5 | 13.5 | - | - |
| - świętokrzyskie | 20.4 | 8.1 | - | - |
| - other voivodeships / inne województwa | 22.2 | 16.2 | - | - |

Explanatory notes: / objaśnienia:

¹ percentage of fruits sold using given distribution channel / procent owoców sprzedawanych przez dany kanał zbytu;

² 1-5 assessment scale / ocena w skali 1-5: 1 – I definitely do not know / zdecydowanie nie znam, 2 – I do not know much / raczej nie znam, 3 – I heard about it / słyszałem o tym, 4 - I know but without details / znam lecz bez szczegółów, 5 – I know exactly / znam dokładnie.

Interviews with Experts

Interviews with experts constituted an important part of the study. 24 semi-structured interviews in total were conducted. The experts questioned were scientists, auditors and quality assurance consultants, orchard advisors, government officials and representatives of grower organization community. Prior to the interview, every expert surveyed signed an agreement of participation in the study. The interviews were conducted on the basis of a pre-prepared script framework that orchestrated a conversation. Depending on the direction of conversation, a fixed order of questions was sometimes changed and additional clarifying questions were asked. Every interview began with a short briefing, in which the objective of the survey was presented and information about recording the conversation was announced. The recorded interviews were transcribed without correcting the style of the statements. The surveys analysis consisted, mainly, in the categorization, compilation, and analysis of relevant fragments of the text. When analyzing the interviews, no specific methods of analysis were applied, only a range of *ad hoc* techniques (known as bricolage) [8].

Results and discussion

Motives of quality systems implementation

The studies and analyzes prove that the organizational and economic conditions have a significant impact on the degree of implementation of methods and quality assurance systems in the fruit production. Most commonly, the producers indicated the following motives for implementing GLOBALG.A.P. standard: increased sale opportunities, entering products into new markets, and meeting customer requirements (Fig. 1). The opinions of growers as regards the motives of quality assurance systems implementation were significantly associated with the location of the farm in the country (voivodeship) and with how the respondent subjectively assessed the knowledge of the food law issues (Table 2).

It can be assumed that the requirements of domestic fruit consumers will constantly increase in the future and the implementation of quality assurance standards will be a necessary condition for selling fruits not only abroad but also locally. The least frequent motives of standard implementation as indicated by the producers were the improvement of work organization on the farm, the rational usage of production

means resulting in reduced production costs, and the improvement of production efficiency. While taking steps to implement quality standards, the producers with implemented GLOBALG.A.P. standard are guided, more frequently than other respondents, by the desire to face the competition in the sector, as well as to obtain a positive outcome of official control of fruit quality, and to improve the work organization on the farm (Fig. 1).

Table 2. Motives of quality assurance system implementation in farms with implemented GLOBALG.A.P. standard depending on profile of farms and their owners.

Tabela 2. Motywy wdrożenia systemu zapewnienia jakości w gospodarstwach, które miały wdrożony standard GLOBALG.A.P. w zależności od charakterystyk gospodarstw i ich właścicieli.

| Profile of farms or their owners Charakterystyki gospodarstw lub ich właścicieli | | Motives for implementing quality assurance systems in farms Motywy wdrażania systemów zapewnienia jakości w gospodarstwach | | | | | | | |
|---|---------------|--|----------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | | a | c | e | f | g | h | l | ł |
| Farm location (voivodship) Położenie gospodarstwa (województwo) | χ^2 p | 5.20 0.51 | 16.94* 0.01 | 10.92 0.09 | 7.16 0.30 | 6.59 0.36 | 4.24 0.64 | 6.94 0.32 | 10.37 0.11 |
| Area of orchards Powierzchnia sadów | χ^2 p | - | 11.91 0.92 | 16.44 0.68 | 19.74 0.47 | 18.95 0.52 | 14.14 0.82 | - | 19.65 0.48 |
| Membership in a group of producers Członkostwo w grupie producentów | χ^2 p | 0.93 0.33 | 0.45 0.50 | 0.00 0.95 | 3.03 0.08 | 0.58 0.44 | 0.04 0.83 | 1.09 0.29 | 3.77 0.05 |
| Raising funds from UE assistance funding Korzystanie z funduszy pomocowych UE | χ^2 p | 0.00 0.95 | 0.31 0.57 | 0.63 0.42 | 0.88 0.34 | 0.05 0.82 | 0.88 0.34 | 0.01 0.90 | 0.89 0.34 |
| Fruit sales channels: Kierunki sprzedaży owoców: | | | | | | | | | |
| - export /eksport | χ^2 p | 12.49 0.33 | 15.00 0.18 | 11.20 0.42 | 9.51 0.57 | 10.79 0.46 | 12.35 0.34 | - - | 14.33 0.21 |
| - wholesale / sprzedaż hurtowa | χ^2 p | 16.23 0.23 | 15.34 0.28 | 13.51 0.41 | 14.56 0.33 | 13.50 0.41 | 17.73 0.16 | 13.65 0.39 | 15.14 0.29 |
| - retail sale / sprzedaż detaliczna | χ^2 p | 6.30 0.28 | 9.00 0.11 | 6.00 0.30 | 4.27 0.51 | 6.97 0.22 | 6.30 0.28 | - - | 6.30 0.28 |
| - directly from the farm / bezpośrednio z gospodarstwa | χ^2 p | - - | - - | - - | 1.57 0.81 | - - | - - | - - | 6.97 0.14 |
| - other channels / inne kierunki zbytu | χ^2 p | 2.94 0.56 | 5.56 0.23 | 4.08 0.39 | 4.19 0.38 | 5.56 0.23 | 2.02 0.72 | 4.39 0.35 | 7.61 0.46 |
| Fruit production traditions Tradycje w produkcji owoców | χ^2 p | - | 15.46 0.56 | 18.44 0.36 | 14.26 0.64 | 14.26 0.64 | 14.18 0.65 | 19.28 0.31 | 17.67 0.41 |
| Age of farm owner Wiek właściciela | χ^2 p | - | 6.02 0.19 | 1.25 0.87 | 4.85 0.30 | 4.85 0.30 | 2.69 0.61 | 1.26 0.87 | 1.66 0.78 |
| Education of farm owner Wykształcenie właściciela | χ^2 p | - | 0.18 0.91 | 2.04 0.36 | 3.63 0.19 | 0.36 0.83 | 0.16 0.92 | 2.14 0.34 | 0.97 0.61 |

c.d. Tab. 2.

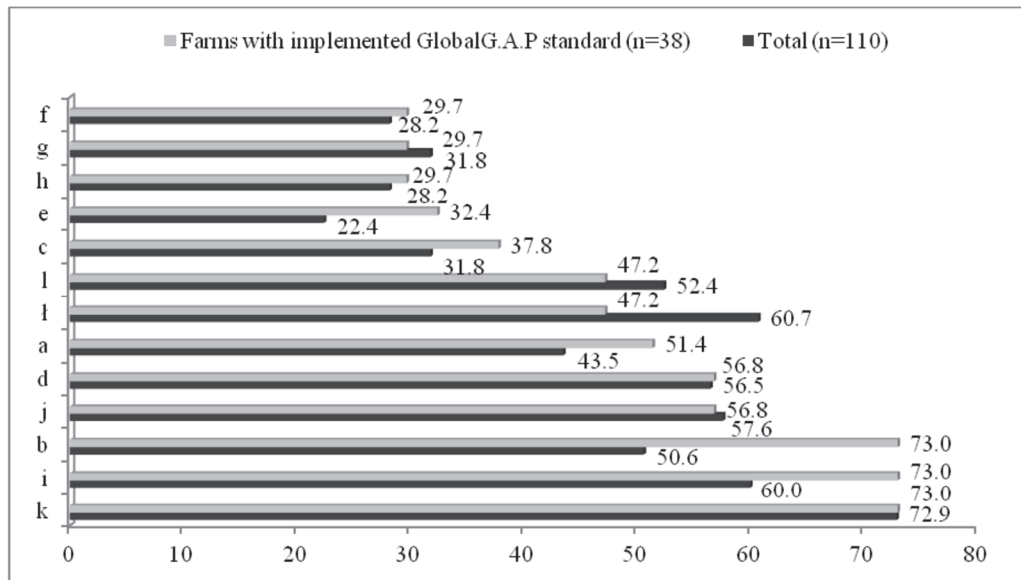
| | | | | | | | | | |
|---|----------|---|------|------|------|------|------|---------------|------|
| Subjective assessment of knowledge of: Subiektywna ocena znajomości: | | | | | | | | | |
| - food law / prawa żywnościowego | χ^2 | - | 6.03 | 3.23 | 6.94 | 5.23 | 5.23 | 10.30* | 6.24 |
| - standards of commercial quality / standardów jakości handlowej | p | | 0.19 | 0.52 | 0.14 | 0.26 | 0.26 | 0.03 | 0.18 |
| - systems of quality assurance / systemów zapewnienia jakości | χ^2 | | 2.08 | 3.67 | 4.96 | 4.96 | 2.60 | 2.89 | 5.00 |
| - integrated plant protection / integrowanej ochrony roślin | p | - | 0.55 | 0.29 | 0.17 | 0.17 | 0.45 | 0.41 | 0.17 |
| - raising funds from UE assistance / korzystania z funduszy pomocowych UE | χ^2 | | 1.52 | 0.49 | 3.17 | 0.29 | 0.29 | 2.82 | 4.94 |
| | p | - | 0.47 | 0.78 | 0.29 | 0.86 | 0.86 | 0.24 | 0.08 |
| | χ^2 | | 0.03 | 1.56 | 1.38 | 1.38 | 1.38 | 0.49 | 0.25 |
| | p | - | 0.86 | 0.21 | 0.24 | 0.24 | 0.24 | 0.48 | 0.61 |
| | χ^2 | | 1.85 | 0.55 | 0.78 | 2.17 | 0.45 | 2.31 | 1.61 |
| | p | - | 0.39 | 0.76 | 0.67 | 0.34 | 0.79 | 0.31 | 0.44 |

Explanatory notes: / objaśnienia:

- motives are denoted in the same way as in Fig. 1/ oznaczenia motywów jak na rys. 1.;

- in Table, some motives were omitted owing to a small number of respondents indicating a given motive and because of the formal requirements of the test χ^2 as regards the number of empirical data (the observed) / w tabeli pominięto niektóre motywy z uwagi na niewielką liczbę respondentów wskazujących dany motyw i formalne wymogi testu χ^2 wobec liczebności empirycznych (obserwowanych);* - hypothesis of independence of the variables should be rejected at a significance level of $p = 0.05$ / hipotezę o niezależności zmiennych należy odrzucić na poziomie istotności $p = 0,05$.

The above findings imply that in the investigated farms, market conditions are more important than those referring to the work organization and management efficiency improvement. Probably it results from a high marketability of production in the farms surveyed. On the other hand, it is contradictory with a rather low profitability of fruit production as assessed in every third surveyed farm; however, the low profitability should encourage the producers to seek other ways to decrease production costs of fruits. Mayes and Mortimore [9] also point out such motives for implementing quality management systems and food safety as, usually, consumer pressure, legal requirements, and desire for self-improvement. Kijowski [5] indicates the following to be consequences of activities taken to assure quality: increase in safety and food quality in domestic and international trade, improvement of production hygiene and compliance with the EU legal requirements, reduced risk of food poisoning, reducing the number of complaints and, also, creation of an important marketing factor for business. In the reference literature, the impact is highlighted of QA system implementation on the increase in awareness and involvement of employees, and it is stressed that the implemented QA system helps manage farms [12].



Explanatory notes: / objaśnienia:

a – Increasing level of trust /credibility among customers / Podniesienie zaufania/wiarygodności u klientów/odbiorców; b – Meeting customer demands / Sprostanie wymaganiom klientów/odbiorców; c – Facing competition in the sector / Sprostanie konkurencji w sektorze; d – Improving fruit quality / Poprawa jakości owoców; e – Positive results of official inspection / Pozytywne wyniki kontroli urzędowej; f – Better work organization on the farm / Poprawa organizacji pracy w gospodarstwie; g – Improving production efficiency / Poprawa efektywności produkcji; h – Efficient use of production factors (and, as a result, reduction in production costs) / Racjonalizacja zużycia czynników produkcji (i w efekcie zmniejszenie kosztów produkcji); i – Introducing products to new markets / Wejście z produktami na nowe rynki zbytu; j – Increasing bargaining power of farm when negotiating with customers / Zwiększenie siły negocjacyjnej gospodarstwa w kontaktach z odbiorcami; k – More possibilities to market products / Większe możliwości zbytu; ł – Possibility to obtain higher prices for certified fruits / Możliwość uzyskania wyższych cen za owoce z certyfikatem; l – Maintaining current customers / Utrzymanie dotychczasowych odbiorców.

Fig. 1. Motives of QA standards and systems implementation in orchard farms [% of responses].

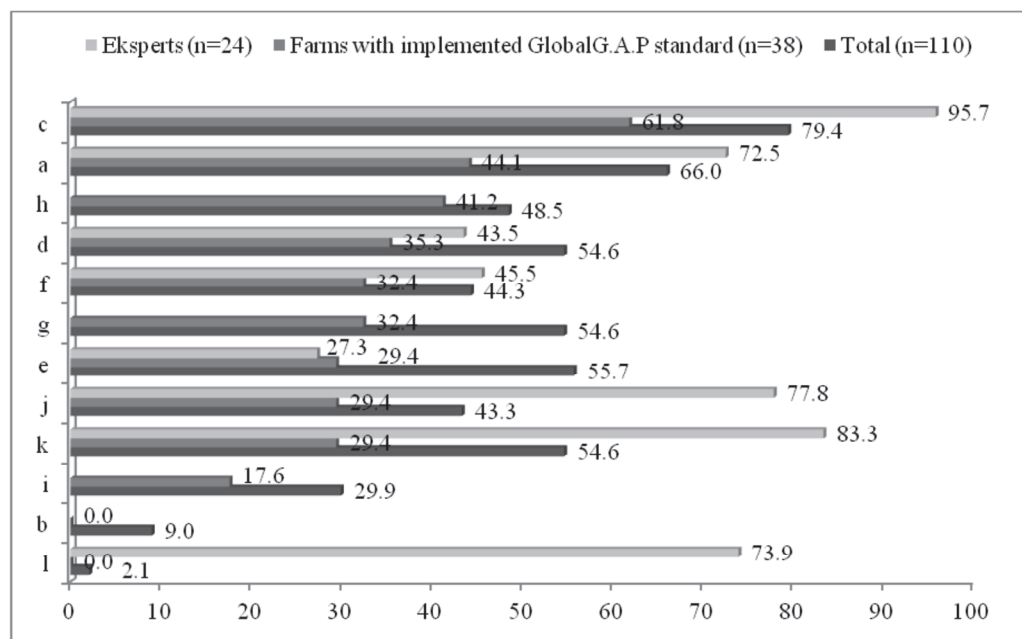
Rys. 1. Motywy wdrażania standardów i systemów zapewnienia jakości w gospodarstwach sadowniczych [% wskazań].

What is more, many other benefits are pointed out in the reference literature. Some of them are as follows: business is run in accordance with applicable laws and regulations; the level of food safety assurance and its quality is increased; satisfaction and expectations of external customers are improved; communication with customers is improved; documents are better arranged; it is possible for producers to introduce their products in certain retail chains that require the use of non-compulsory quality

management system; the competitiveness of enterprises and their management is improved, etc. [11].

Barriers to the quality systems implementation in fruit farms

According to the producers surveyed, the barriers to implementation of quality assurance systems are: the lack of economic motivation since there is no price difference between the certified and non-certified products (Fig. 2). The above barrier is more



Explanatory notes: / objaśnienia:

a – Lack of knowledge about QA assurance systems and methods / Brak wiedzy o metodach i systemach zapewnienia jakości; b – I do not understand the idea of those systems / Nie rozumiem idei tych systemów; c – I am not economically motivated / Nie mam motywacji ekonomicznej; d – Lack of financial means to implement the system / Brak środków finansowych na wdrożenie systemu; e – It is not necessary / Nie ma takiej potrzeby; f – Difficulties in preparing the required documentation / Trudności z opracowaniem wymaganej dokumentacji; g – High costs / Duże koszty; h – Lack of time / Brak czasu; i – Reluctant employees / Niechęć zatrudnionych; j – Fears of the new and unknown system / Obawy przed nowym i nieznanym systemem; k – Fears of the farm's future / Obawy o przyszłość gospodarstwa; l – Other barriers / Inne bariery.

Fig. 2. Barriers to implementing QA systems and fruit safety assurance systems in farms [% of responses].

Rys. 2. Bariery wdrażania systemów zapewnienia jakości i bezpieczeństwa owoców w gospodarstwach [% wskazań].

often indicated by the experts (95.7 % of the responses of experts and 79.4 % of the responses of fruit producers). However, it was pointed out that the profitability of production provided not only a higher price, but also a drop in the production expenditures as a result of rationalization of its consumption. Moreover, the farms with quality assurance certificates for their products have calculable economic benefits because they face more possibilities of selling fruits, both at home and abroad.

Dąbrowski [3] emphasizes the need for changing the perception of potential economic benefits resulting from the implementation of quality system among producers, so that they would make decisions about the system implementation on the basis of a comprehensive analysis of the requirements of the law, the market, and consumers. Some experts pointed out a significant increase in the costs during the implementation phase and its maintenance, and little support in this sphere from the national and EU financial resources. Other experts pointed out that the increase in costs was associated not so much with the system implementation as with adjusting farms to the legal requirements and with the application of good agricultural practice. When calculating costs connected with the implementation of the EurepGAP commercial standard (a previous version of the GLOBALG.A.P. standard) in the citrus production in Spain, Moll and Igual [10] concluded that the total costs were higher by approximately 34 % in the traditional production system compared to farms with the EurepGAP standard, at about 0.02 euros per kilogram. Some experts claim that the lack or insufficient support from the national or EU funds is a barrier to the implementation in small and medium-sized farms, but not in the large ones. Based on the research conducted in the family farms in Chile, Villalobos et al. [17] found that the economic and technical requirements relating to the implementation and official certification of the PABCO standard were not the major barriers, because the costs associated with adapting to the requirements have been met by higher product prices. Another important barrier mentioned by the producers is a lack of knowledge about the methods and systems of quality assurance among a large number of fruit growers and a shortage of time resulting from a significant time-consuming production (Fig. 2). Likewise, 73 % of the experts also pointed out a lack of knowledge about the methods and systems among the t growers. Notwithstanding those opinions, 60 % of the respondents to implement the GLOBALG.A.P. standard said they knew the exact requirements of the system to ensure the quality of the fruit; 27 % were familiar with them without detailed information. The research conducted by Dąbrowski and Majewski [2] show significant differences in the knowledge and awareness of different groups of producers from various regions of Poland and potential barriers to the implementation of good practice in crop protection and integrated production in the fruit farms. Dąbrowski [3] suggests that knowledge of quality systems should be treated as an equal part of new technologies, tools, experiences, and information. The significantly fewer producers pointed to fears

of the future of the farm, of the new and unknown system, or overburdening the employees with additional notes. The experts rarely indicated high requirements on the keeping of documentation and a lack of financial resources for the implementation or an unstable situation in the domestic market. The lowest percent of the experts (27.3 %) and producers (29.4 %) assumed there was no need for implementing QA

Table 3. Barriers to implementing QA systems in farms who implemented the GLOBALG.A.P. standard depending on the profile of farms and their owners.

Tabela 3. Bariery wdrożenia systemów zapewnienia jakości w gospodarstwach, które miały wdrożony standard GLOBALG.A.P. w zależności od charakterystyki gospodarstw i ich właścicieli.

| Profile of farm or farm owners Charakterystyki gospodarstw lub ich właścicieli | | Barriers to implementing QA systems in farms Bariery wdrażania systemów zapewnienia jakości w gospodarstwach | | | | | | | | | |
|---|----------|---|------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|
| | | a | c | d | e | f | g | H | i | j | k |
| Farm location (voivodeship) Polożenie gospodarstwa (województwo) | χ^2 | 9.12 | - | 6.75 | 11.80 | 8.46 | 6.28 | 4.44 | 15.71* | 9.43 | 6.39 |
| | p | 0.01 | - | 0.34 | 0.06 | 0.20 | 0.39 | 0.61 | 0.01 | 0.15 | 0.38 |
| Area of orchards Powierzchnia sadów [ha] | χ^2 | 18.93 | - | 16.70 | 18.27 | 20.64 | 20.79 | - | 14.18 | 20.79 | 20.64 |
| | p | 0.52 | - | 0.67 | 0.57 | 0.42 | 0.41 | - | 0.82 | 0.41 | 0.41 |
| Membership in a group of producers Członkostwo w grupie producentów | χ^2 | 4.54* | 0.07 | 3.14 | 0.05 | 3.92* | 1.04 | 1.36 | 5.25* | 4.87* | 0.05 |
| | p | 0.33 | 0.78 | 0.07 | 0.81 | 0.04 | 0.30 | 0.24 | 0.02 | 0.02 | 0.81 |
| Raising funds from UE assistance fundings Korzystanie z funduszy pomocowych UE | χ^2 | 0.06 | 0.34 | 8.31* | 0.03 | 0.65 | 0.65 | 0.15 | 0.97 | 0.93 | 0.93 |
| | p | 0.80 | 0.56 | 0.04 | 0.33 | 0.42 | 0.42 | 0.70 | 0.32 | 0.33 | 0.33 |
| Fruit sales channels: Kierunki zbytu owoców: - export / eksport | χ^2 | 8.63 | | 8.20 | 10.45 | 12.91 | 13.52 | 9.89 | 7.46 | 9.69 | 12.16 |
| | p | 0.65 | | 0.69 | 0.49 | 0.29 | 0.26 | 0.70 | 0.76 | 0.56 | 0.35 |
| - wholesale / sprzedaż hurtowa | χ^2 | 8.00 | | 7.87 | 8.89 | 17.07 | 12.89 | | 12.89 | 12.36 | 10.22 |
| | p | 0.84 | | 0.85 | 0.78 | 0.19 | 0.45 | | 0.45 | 0.49 | 0.67 |
| - retail sales / sprzedaż detaliczna | χ^2 | 6.00 | | | 4.27 | 4.27 | 6.30 | 6.87 | 9.00 | 4.27 | |
| | p | 0.30 | | | 0.51 | 0.51 | 0.27 | 0.14 | 0.11 | 0.51 | |
| - directly from the farm / bezpośrednio z gospodarstwa | χ^2 | 1.33 | | 2.33 | 2.59 | 2.06 | 2.70 | 5.33 | 1.65 | 3.25 | 2.59 |
| | p | 0.85 | | 0.67 | 0.62 | 0.72 | 0.61 | 0.25 | 0.79 | 0.51 | 0.63 |
| - other channels / inne kierunki zbytu | χ^2 | 3.00 | | 5.25 | 3.00 | 5.82 | 3.00 | | 5.33 | 5.33 | 3.00 |
| | p | 0.55 | | 0.26 | 0.55 | 0.21 | 0.55 | | 0.25 | 0.25 | 0.55 |
| Traditions in fruit production Tradycje w produkcji owoców | χ^2 | 12.09 | | 15.39 | 25.81 | 16.18 | 17.09 | 19.74 | 15.42 | 14.73 | 19.79 |
| | p | 0.79 | | 0.56 | 0.08 | 0.51 | 0.45 | 0.31 | 0.53 | 0.61 | 0.28 |
| Age of farm owner Wiek właściciela | χ^2 | 2.04 | | 2.21 | 0.78 | 0.83 | 0.49 | 1.40 | 0.07 | 1.74 | 1.74 |
| | p | 0.35 | | 0.33 | 0.67 | 0.66 | 0.78 | 0.49 | 0.96 | 0.42 | 0.42 |
| Education of farm owner Wykształcenie właściciela | χ^2 | 5.56 | | 3.11 | 3.38 | 3.24 | 9.79* | 3.33 | 9.63* | 4.58 | 2.63 |
| | p | 0.23 | | 0.4 | 0.49 | 0.52 | 0.04 | 0.50 | 0.04 | 0.3 | 0.62 |

c.d. Tab. 3.

| | | | | | | | | | | |
|---|----------|------|------|------|-------|------|------|--------|------|------|
| Subjective assessment of knowledge of: | | | | | | | | | | |
| Subiektywna ocena znajomości: | | | | | | | | | | |
| - food law / prawa żywnościowego | χ^2 | 6.60 | 5.86 | 6.79 | 9.75* | 2.02 | 3.66 | 10.34* | 6.62 | 8.02 |
| | p | 0.15 | 0.21 | 0.14 | 0.04 | 0.73 | 0.45 | 0.03 | 0.15 | 0.09 |
| - standards of commercial quality / standardów jakości handlowej | χ^2 | 1.81 | 1.69 | 1.07 | 1.09 | 0.42 | 3.29 | 0.44 | 1.54 | 1.37 |
| | p | 0.61 | 0.64 | 0.78 | 0.78 | 0.93 | 0.34 | 0.93 | 0.67 | 0.71 |
| - QA systems / systemów zapewnienia jakości | χ^2 | 1.94 | 2.28 | 2.37 | 0.48 | 0.37 | 1.58 | 0.39 | 0.23 | 0.61 |
| | p | 0.38 | 0.32 | 0.30 | 0.78 | 0.83 | 0.45 | 0.82 | 0.89 | 0.74 |
| - integrated plant protection / integrowanej ochrony roślin | χ^2 | 0.15 | 0.00 | 0.02 | 0.00 | 1.77 | 0.08 | 0.55 | 0.02 | 2.19 |
| | p | 0.69 | 0.94 | 0.87 | 0.97 | 0.18 | 0.77 | 0.45 | 0.87 | 0.14 |
| - raising funds from UE assistance fundings; korzystania z funduszy pomocowych UE | χ^2 | 1.61 | 4.78 | 2.42 | 0.74 | 2.55 | 0.74 | 3.87 | 0.85 | 0.85 |
| | p | 0.44 | 0.09 | 0.29 | 0.69 | 0.28 | 0.69 | 0.14 | 0.65 | 0.65 |

Explanatory notes: / objaśnienia:

- barriers are denoted in the same way as in Fig. 2. / Oznaczenia barier jak na rys. 2.

* - hypothesis about the independence of variables should be rejected at a significance level of $p = 0.05$ / hipotezę o niezależności zmiennych należy odrzucić przy poziomie istotności $p = 0,05$

system in the farms. Such opinions seem surprising if considering the consumer market conditions and strong competition therein. For 41 % of those experts, the domestic customers of fruits do not require the implementation of QA systems; over 27 % believed that the fruits produced in the country were of high quality and the production standards in many farms were very high. It seems the presented opinions could result from inadequate knowledge of the requirements of food law in the European Union and, also, of the role of systems to ensure traceability and responsibility for products traded in the market. Compared to the others, the producers with the implemented commercial GLOBALGAP standard less often indicated the following barriers: lack of need to implement the quality system in the farm; fears of the future of the farm; high costs, especially costs of adaptation to the requirements of the quality standard; lack of knowledge about QA methods and systems, including a lack of professional employment; lack of financial resources, especially of their own resources.

The producers with the implemented commercial GLOBALG.A.P. standard indicated, more often than the others, a lack of specialists and consultants in this field and fears of a new and unknown system as the barrier to implement a quality system. They claimed more often that the technology of production would assure the quality of fruits (Fig. 2). The opinions of the producers as regards barriers to the implementation of QA assurance systems were significantly correlated with the location of farm in the country (voivodeship), the membership in the group of producers, the education of farm owners, and the subjective assessment of knowledge of food law (Table 3).

Conclusion

Currently, without an appropriate quality certification system or commercial standards, fruits cannot be sold in the international market. In the Polish orchards, the integrated production and the commercial GLOBALG.A.P. standard are most popular. The use of those voluntary standards results from the legal conditions relating to food law requirements on traceability and responsibility for unsafe products, from the plant protection law, the use of pesticides, etc. Market conditions are also very important, especially such as the increasing possibility of selling products, maintaining the existing customers, and entering new sales markets. According to the survey results, the producers consider the organizational and economic factors to be less important. For the producers who implemented the GLOBALG.A.P. standard, the significance of those factors is correlated, to a considerable degree, with the location of the farm in the country (voivodeship) as well as with the producer's knowledge of wider issues relating to the quality of fruits assurance including the knowledge of food law. The most important barrier to the implementation of fruit quality and safety standards is the lack of economic incentives resulting from a lack of diversification of the market price for certified and non-certified fruits. Lack of motivation is compounded by the fears of the future of farm resulting, mainly, from the instability in the market. It is possible to assure a broader implementation of quality systems through increasing the knowledge of both the producers and the consumers about legal requirements on food sales, about QA systems, and the benefits for the producers and the consumers resulting from the implementations of those systems. The awareness is maintained by the lack of requirements regarding the implementation of the quality systems for some domestic customers. Thus, a stronger market pressure, especially the domestic market pressure, as well as the effective training of fruit producers could help overcome those barriers to the implementation of QA methods and systems in the fruit farms in Poland, in particular of the most popular commercial GLOBALG.A.P. standard.

Further research should focus on how the producers are to undertake economic initiatives encompassing decisions on the implementation of new methods and concepts of farm management as well as on increasing the effectiveness of trainings of the producers on the implementation of QA methods and systems in the farm. Those issues are particularly important for the development of orchard consultancy, which can stimulate the activeness of producers towards pro-quality activities through informative, educational and consultative actions. The importance of this issue grows in the face of changes in the perception of the producers' position in the market, from manufacturer to active entrepreneur, whose aim is to support the family by providing the income and conditions for running a long-term business and improving management efficiency.

The research has been supported by the National Science Centre granted on the basis of a Project No NN 115430540 titled 'Motives and barriers of fruit producers activity in the field of the implementation of quality assurance systems and methods'. The authors wish to express their gratitude to Prof. Eberhard Makosz (TRSK) for helping with conducting the surveys.

References

- [1] Czernyszewicz E.: Ważność wybranych cech jakościowych jabłek dla konsumentów. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **1 (56)**, 114-125.
- [2] Dąbrowski Z., Majewski M.: Status of knowledge and practices of plant protection by various groups of farmers and requirements of integrated pest management – Have changes taken place during the last 5 years? *Progress in Plant Protection/ Problemy w ochronie roślin*, 2010, **50 (3)**, 1143-1152.
- [3] Dąbrowski Z.: The need for changes in design and implementation of integrated plant protection methods. *Plant Progress Protection/ Problemy w ochronie roślin*, 2000, **40 (1)**, 334-342.
- [4] Hermaniuk T., Sikora T.: Quality management systems implementation - advantages and difficulties. *Problemy Jakości*, 2010, maj, 7-11.
- [5] Kijowski J. Przesłanki wdrażania zasad GMP/GHP oraz systemu HACCP. W: *Zarządzanie jakością i bezpieczeństwem żywności. Integracja i informatyzacja systemów*. Red. J. Kijowski, T. Sikora. WNT, Warszawa 2003, ss 35-36.
- [6] Kim R.B.: Determinants of brand equity for credence goods: Consumers' preference for country origin, perceived value and food safety. *Agricultural Economics – Czech*, 2012, **7 (58)**, 299-307.
- [7] Kosik M.: Metody i systemy zapewnienia i zarządzania jakością w produkcji podstawowej GlobalGAP – dobrowolna konieczność. W: *Mat. XIII Konf. Kraj. Jakość owoców. Wymagania prawa i rynkowa konieczność*. Red. E. Czernyszewicz, Wyd. Zakł. Ekonomiki Ogrodnictwa, Lublin 2010, ss. 49-57.
- [8] Kvale S.: *Prowadzenie wywiadów*. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2010.
- [9] Mayes T., Mortimore S.: *Making the most of HACCP – Learning from others' experience*. Woodhead Publishing, 2001.
- [10] Moll E.M.P., Igual J.F.J.: Production costs of citrus growing in the Comunidad Valenciana (Spain): EurepGAP protocol versus standard production. in *Quality management in food chains*. Ed. Theuvsen L., Spiller A., Peupert M., Jahn G., Wageningen Academic Publishers, The Netherlands 2007, pp. 69-77.
- [11] Morkis G.: Zakres wdrożenia obowiązkowych systemów zapewnienia bezpieczeństwa zdrowotnego i zarządzania jakością w przedsiębiorstwach przemysłu spożywczego w Polsce. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **5 (84)**, 203-2014.
- [12] Pałacha B.: Mocne i słabe strony producentów rolnych, szanse i zagrożenia wynikające z rynku. W: *Mat. Konf. nt. Przyszłość producentów w zakresie współpracy z nowoczesnymi kanałami dystrybucji*. Warszawa 2010, ss. 5-47.
- [13] Regulation (EC) No 178/2002 of the European Parliament and of the Council of 28 January 2002 laying down the general principles and requirements of food law, establishing the European Food Safety Authority and laying down producers in matters of food safety (OJ L 31, 1.2.2002, p. 1-24).
- [14] Regulation (EC) No 852/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 on the hygiene of foodstuffs (OJ L 139, 30.4.2004, p. 1-54).
- [15] The GlobalG.A.P. Database. [online]. [Access: 23.01.2014]. Available on the Internet: www.globalgap.org/uk_en/what-we-do/the-gg-system/database.

- [16] Trienekens J., Zuurbier P.: Quality and safety standards in the food industry developments and challenges. *International Journal of Production Economics*, 2008, vol. **113**, issue 1, 107-122.
- [17] Villalobos P., Leporati M., Saez L., Padilla Carlos A.: The effect of transaction cost associated with certification of exports on the profitability of farming systems for Chilean small farmers. Eds. Theuvsen L., Spiller A., Peupert M., Jahn G.: *Quality management in food chains*. Wageningen Academic Publishers, The Netherlands 2007, pp. 57-67.
- [18] Wiśniewska M.: *GlobalGAP. Podstawy. Wymagania. Wdrażanie i nadzór*. ODDK, Gdańsk 2011, ss. 10-18.

UWARUNKOWANIA WDRAŻANIA SYSTEMÓW ZAPEWNIENIA JAKOŚCI OWOCÓW W POLSCE

Streszczenie

Standard handlowy GLOBALG.A.P. i integrowana produkcja są najbardziej powszechnymi metodami zapewnienia jakości i bezpieczeństwa owoców. Ich wdrożenie w gospodarstwach sadowniczych jest konsekwencją wymagań prawa żywnościowego i konsumentów, którzy chcą spożywać produkty wysokiej jakości i przede wszystkim bezpieczne dla zdrowia. Wdrożenie tych metod zapewnienia jakości warunkuje sprzedaż produktów do dużych międzynarodowych sieci handlowych w kraju i na eksport. Motywy i bariery ich stosowania określono na podstawie badań ankietowych wśród producentów owoców, w tym tych, którzy mieli wdrożony standard GLOBALG.A.P. i wywiadów z ekspertami. Stwierdzono, że głównymi motywami wdrożenia systemów zapewnienia jakości w gospodarstwach sadowniczych w Polsce są: zwiększenie możliwości sprzedaży, wprowadzenie produktów na nowe rynki zbytu i sprostanie wymaganiom klientów. Natomiast do głównych barier można zaliczyć brak motywacji ekonomicznej i brak wiedzy o metodach i systemach zapewnienia jakości.

Słowa kluczowe: gospodarstwa sadownicze, systemy jakości, wdrożenie, GLOBALG.A.P. ☒

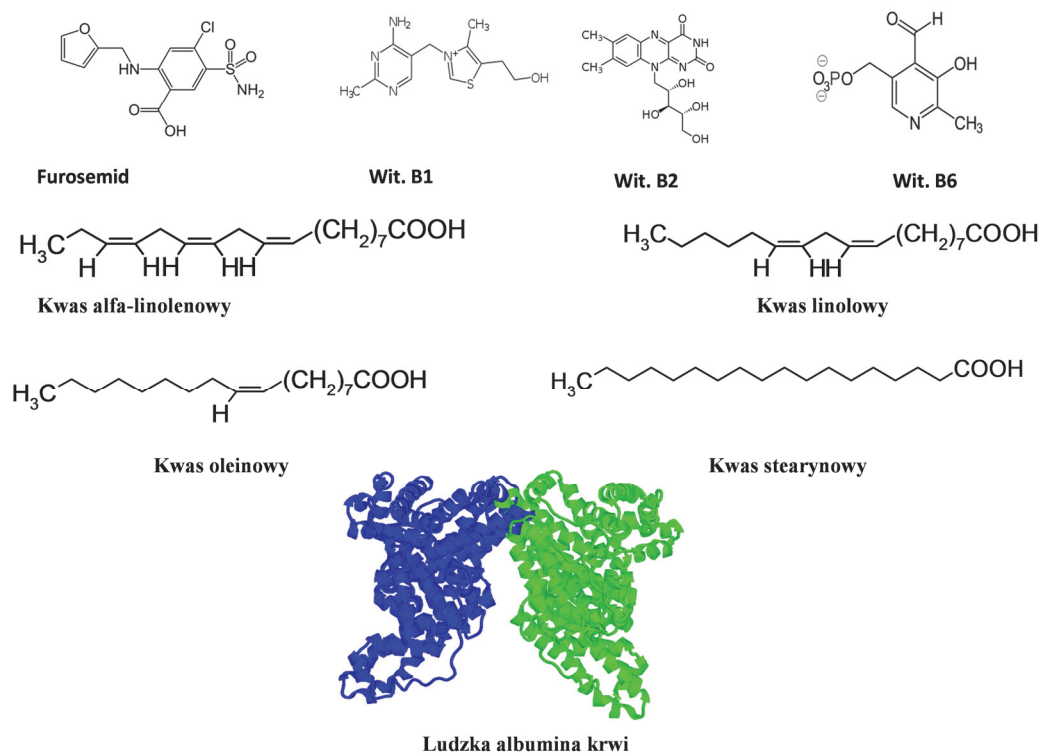
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA

INTERAKCJE SKŁADNIKÓW ŻYWNOŚCI

Prezentujemy 21. część cyklu nt.: „Interakcje składników żywności”. Druk materiałów z tego cyklu rozpoczęliśmy w Żywności nr 1 (74), 2011.

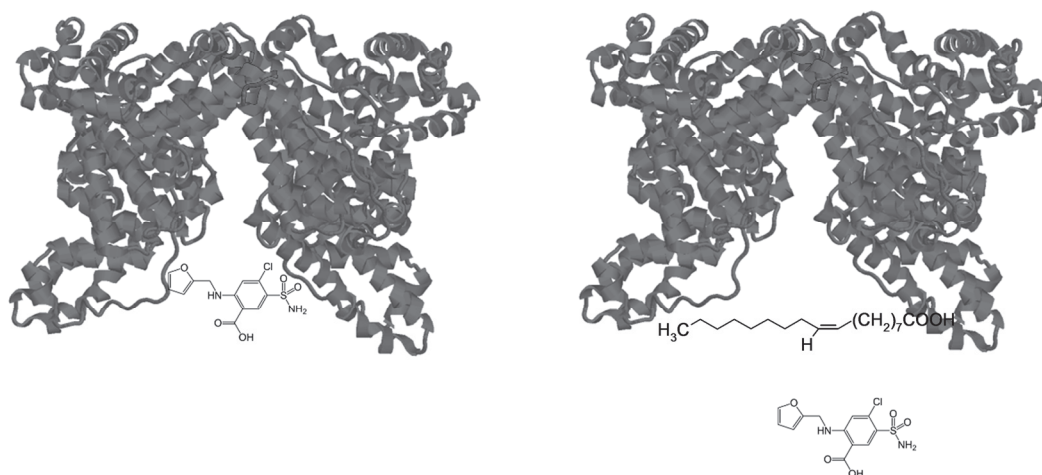
Zgodnie z wcześniejszą zapowiedzią kolejne artykuły poświęcone będą interakcjom wybranych leków ze składnikami żywności. Diuretyki są to leki moczopędne, które stosuje się w celu usunięcia płynów obrzękowych w stanach niewydolności serca i choroby nerek. Furosemid należy do diuretyków pętlowych powodujących znaczne zwiększenie wydalania wody z moczem przez hamowanie wchłaniania zwrotnego chlorków i jonów sodowych w pętli Henlego cewek nerkowych. Jest lekiem dobrze rozpuszczającym się w osoczu krwi, tworząc w 99 % kompleksy z obecnymi w nim albuminami. W celu zrozumienia interakcji albuminy krwi ze składnikami żywności konieczne jest przytoczenie kilku danych odnośnie jej budowy strukturalnej. Strukturę trzeciorzędową albuminy surowicy krwi tworzy pofałdowany w kształcie serca łańcuch polipeptydowy. Pojedyncza cząsteczka albuminy składa się z trzech homologicznych domen, z których każda podzielona jest na subdomeny. Albumina surowicy krwi zbudowana jest z 585 aminokwasów, które tworzą drugo- i trzeciorzędową strukturę. W strukturze drugorzędowej występuje 17 mostków disulfidowych, jedna reszta cysteiny i tryptofanu oraz 17 reszt tyrozylowych. Jej budowa jest w 67 % helikalna, pozostałe 33 % to skręty i długie fragmenty polipeptydowe (rys. 1). Albumina osocza krwi ma miejsca wiązań substancji niepolarnych, chociaż w całości wykazuje ładunek ujemny i dlatego działa jako białko transportujące. Ma zdolność wiązania i transportu licznych endo- i egzogennych substancji, m.in. witamin, metabolitów, barwników, kwasów tłuszczowych, leków, jonów metali. Poza tym albumina surowicy krwi odpowiada za utrzymanie ciśnienia osmotycznego oraz pH krwi. Wyjaśnienie mechanizmu interakcji furosemidu ze składnikami żywności rodzi następujące pytanie: czy interakcje leków ze składnikami żywności są uwarunkowane ich podobieństwem strukturalnym? W celu odpowiedzi na to pytanie przedstawiono na ryc. 1. Struktury

Prof. dr hab. H. Kostyra, Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN, Oddział Nauki o Żywności, 10-747 Olsztyn, ul. Tuwima 10, prof. dr hab. E. Kostyra, Wydz. Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, ul. Oczapowskiego 7, 10-957 Olsztyn



Rys. 1. Wzory strukturalne albuminy surowicy krwi, furosemidu, witamin B1, B2, B6, kwasów alfa-linolenowego, linolowego, oleinowego i stearynowego

chemiczne furosemidu i wybranych składników żywności. Konieczne jest również przytoczenie danych dotyczących działania furosemidu w środowisku osocza krwi. Reakcja furosemidu z albuminą surowicy krwi jest odwracalna, ponieważ musi istnieć pewien stan równowagi między wolnymi cząsteczkami leku a jego postacią związaną. Formy związane leku są nieaktywne i dopiero po rozdysocjowaniu utworzonego kompleksu uwalniają jego aktywną postać. W aspekcie interakcji lek – żywność ważne jest, że kwasy tłuszczowe są również transportowane w postaci kompleksów z albuminą surowicy krwi. Furosemid powoduje także wzmożone wydalanie witamin z grupy B, a w szczególności witaminy B₁. Jest to związane z dobrą rozpuszczalnością tych witamin w wodzie. Furosemid zwiększa ilość wody wydalanej z moczem, co powoduje ubytek rozpuszczonych w niej witamin z grupy B. Furosemid i witaminy z grupy B mają strukturę hydrofobowo-hydrofilową, co wynika z obecności w nich pierścieni hydrofobowych, do których przyłączone są grupy hydrofilowe. Oznacza to, że zarówno furosemid, jak i witaminy z grupy B będą tworzyły kompleksy z albuminą surowicy krwi, jednak o różnym stopniu ich trwałości. Z analizy struktury tych związków



Rys. 2. Kompleks albuminy surowicy krwi z furosemidem (słabszy) i z kwasem stearynowym (silniejszy)

można wnosić, że furosemid tworzy trwalsze kompleksy z albuminą surowicy krwi niż witaminy. Zawiera on bowiem nie tylko reszty hydrofobowe mogące łączyć się z hydrofobowymi domenami albuminy, ale również dwie grupy o charakterze kwasowym zdolne do oddziaływań elektrostatycznych, które wydają się być zdecydowanie mniej efektywne niż domeny hydrofobowe. Drugą interesującą właściwością jest wypieranie przez kwasy tłuszczowe furosemidu z kompleksów utworzonych z albuminą surowicy krwi, co powoduje wzrost jego działania farmakologicznego. Kwasy tłuszczowe są zdecydowanie bardziej hydrofobowe niż furosemid. Wypieranie furosemidu z połączenia z albuminą surowicy krwi sugeruje, że łączy się on z nią głównie w obszarze hydrofobowym, co oznacza że bardziej hydrofobowy związek będzie wypierał z tego kompleksu związek mniej hydrofobowy (rys. 2). Oznacza to, że przyjmując furosemid, należy unikać żywności wysokotłuszczowej, natomiast wzbogaconej w witaminy z grupy B. Nie przestrzeganie tej diety może być przyczyną niepożądanych skutków chorobowych. ☒

GRAŻYNA MORKIS

PROBLEMATYKA ŻYWNOSCIOWA 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 23 czerwca 2014 r.

Polskie akty prawne

1. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dn. 28 kwietnia 2014 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie środków spożywczych specjalnego przeznaczenia żywieniowego (Dz. U. 2014 r., poz. 570).
W rozporządzeniu Ministra Zdrowia z dn. 16 września 2010 r. w sprawie środków spożywczych specjalnego przeznaczenia żywieniowego (Dz. U. Nr 180, poz. 1214) wprowadzono zmiany, które dotyczą preparatów do początkowego żywienia niemowląt i preparatów do dalszego żywienia niemowląt.
2. Ustawa z dn. 21 grudnia 2000 r. o jakości handlowej artykułów rolno-spożywczych (Dz. U. 2014 r., poz. 669).
Ogłoszony został jednolity tekst ustawy z dn. 21 grudnia 2000 r. o jakości handlowej artykułów rolno-spożywczych. Ustawa reguluje sprawy jakości handlowej artykułów rolno-spożywczych oraz organizację i zasady działania Inspekcji Jakości Handlowej Artykułów Rolno-Spożywczych.
3. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 10 lipca 2007 r. w sprawie znakowania środków spożywczych (Dz. U. 2014 r., poz. 774).
Ogłoszony został jednolity tekst rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 10 lipca 2007 r. w sprawie znakowania środków spożywczych.

Niniejsze rozporządzenie reguluje szczegółowy zakres informacji podawanych w oznakowaniu opakowanych środków spożywczych i środków spożywczych bez opakowań przeznaczonych bezpośrednio dla konsumenta finalnego lub do zakładów żywienia zbiorowego oraz sposób znakowania tych środków spożywczych.

Unijne akty prawne

1. Rozporządzenie Komisji (UE) NR 488/2014 z dn. 12 maja 2014 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1881/2006 w odniesieniu do najwyższych dopuszczalnych poziomów kadmu w środkach spożywczych (Dz. Urz. UE L. Nr 138, s. 75).
Wprowadzone zmiany dotyczą najwyższych dopuszczalnych poziomów kadmu w środkach spożywczych wymienionych w załączniku do niniejszego rozporządzenia. Najwyższe dopuszczalne poziomy kadmu ustanowione w pkt 3.2.19 i 3.2.20 załącznika do rozporządzenia (WE) nr 1881/2006 i zmienione niniejszym rozporządzeniem stosuje się od dnia 1 stycznia 2015 r. Środki spożywcze, które nie są zgodne ze wspomnianymi najwyższymi dopuszczalnymi poziomami i które zostały zgodnie z prawem wprowadzone do obrotu przed dniem 1 stycznia 2015 r., mogą być przedmiotem obrotu po tej dacie do upływu ich daty minimalnej trwałości lub przydatności do spożycia. Natomiast najwyższe dopuszczalne poziomy kadmu ustanowione w pkt 3.2.7 załącznika do rozporządzenia (WE) nr 1881/2006 i zmienione niniejszym rozporządzeniem stosuje się od dnia 1 stycznia 2019 r. Środki spożywcze, które nie są zgodne ze wspomnianymi najwyższymi dopuszczalnymi poziomami i które zostały zgodnie z prawem wprowadzone do obrotu przed dniem 1 stycznia 2019 r., mogą być przedmiotem obrotu po tej dacie do upływu ich daty minimalnej trwałości lub przydatności do spożycia.
Niniejsze rozporządzenie wiąże w całości i jest bezpośrednio stosowane we wszystkich państwach członkowskich.
2. Rozporządzenie Komisji (UE) NR 505/2014 z dn. 15 maja 2014 r. zmieniające załącznik II do rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1333/2008 w odniesieniu do stosowania barwników karmelowych (E 150a–d) w piwie i napojach słodowych (Dz. Urz. UE L. Nr 145, s. 32).
W załączniku II do rozporządzenia (WE) nr 1333/2008 wprowadzono zmiany w kategorii żywności 14.2.1. „Piwo i napoje słodowe”, poz. E 150a-d, a dotyczące zawartości barwników karmelowych w tych wyrobach.
Niniejsze rozporządzenie wiąże w całości i jest bezpośrednio stosowane we wszystkich państwach członkowskich.
3. Rozporządzenie Komisji (UE) NR 601/2014z dnia 4 czerwca 2014 r. zmieniające załącznik II do rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1333/2008 w odniesieniu do kategorii żywności „Mięso” oraz w odniesieniu do

stosowania określonych dodatków do żywności w surowych wyrobach mięsnych
(Dz. Urz. UE 2014 r. Nr 166, s. 11).

Wprowadzono zmiany dotyczące kategoryzacji żywności grupy 08 „Mięso” oraz zmieniono wykaz dozwolonych dodatków do żywności w tej grupie produktów spożywczych.

Niniejsze rozporządzenie wiąże w całości i jest bezpośrednio stosowane we wszystkich państwach członkowskich. ☒

NOWE KSIĄŻKI

Żywność prozdrowotna. Składniki i technologia.

Czapski J., Górecka D. (red.)

Wydawnictwo: Wyd. Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, 2014 rok, ISBN 978-83-7160-730-1, stron 439, cena 27 zł

Zamówienia: wydawnictwo.up-poznan.net

Obserwuje się zmianę zachowań żywieniowych i poszukiwanie żywności służącej zdrowiu. Aby sprostać tym oczekiwaniom powstał segment żywności prozdrowotnej. W książce opisano rolę różnych składników żywności w utrzymaniu dobrego zdrowia. Scharakteryzowano funkcje tych składników, surowce i technologie żywności o charakterze prozdrowotnym.

Sensoryczne badania żywności. Podstawy-Metody-Zastosowania

Baryłko-Pikielna N., Matuszewska I.

Wydawnictwo: Wyd. Naukowe PTTŻ, Kraków 2014, Wyd. II, ISBN 978-83-935421-3-0, stron 375, cena 63 zł

Zamówienia: wnptz@wp.pl

Ukazało się II wydanie książki, w której przedstawiono aktualny stan wiedzy z zakresu psychofizjologicznych podstaw ocen sensorycznych żywności, doboru i metod szkolenia zespołów oceniających oraz warunków prawidłowego przeprowadzania ocen. W sposób szczegółowy i wyczerpujący omówiono metody analizy sensorycznej (poświęcając tym zagadnieniom sześć rozdziałów) oraz sensorycznych badań konsumencjnych (trzy rozdziały). Materiał uzupełnia problematyka interpretacji uzyskanych wyników oraz terminologia pojęć stosowanych w analizie sensorycznej i badaniach konsumencjnych.

Do opracowania monografii autorki wykorzystały obszerną literaturę przedmiotu oraz wiedzę nabytą w ciągu wieloletniej pracy naukowej. Analityczne podejście do przedstawianych problemów, twórcza ich interpretacja i równoczesne ilustrowanie metod analizy sensorycznej licznymi przykładami zastosowań nadaje dziełu wymiar aplikacyjny.

Publikacja może stanowić cenny materiał źródłowy dla naukowców, posłużyć jako pomoc dydaktyczna dla nauczycieli i studentów kształcących się na kierunkach związanych z naukami o żywności i żywieniu człowieka, umożliwi technologom dobór metod oceny sensorycznej, zwłaszcza w projektowaniu nowych produktów żywnościowych lub w ulepszaniu już wytwarzanych, a także ułatwi podnoszenie kwalifikacji zawodowych pracownikom laboratoriów kontrolnych i zakładów przemysłu spożywczego.

Atlas rozbioru tusz zwierząt rzeźnych

Olszewski A.

Wydawnictwo: WNT, Warszawa 2014, ISBN 978-83-63623-11-1, stron 206, cena 50 zł

Zamówienia: www.wnt.pl

W opracowaniu szczegółowo przedstawiono zasadniczy i uzupełniający rozbiór tusz wieprzowych, wołowych, cielęcych, baranich oraz podano wskaźniki uzysku mięsa, tłuszczu i kości w ujęciu tabelarycznym. W książce zamieszczono również przepisy prawa weterynaryjnego. Książka została wzbogacona o liczne rysunki i barwne fotografie, które ułatwiają przyswajanie wiedzy.

Methods in Food Analysis

[Metody analizy żywności]

Cruz R. M. S., Khmelinskii I., Vieira M.

Wydawnictwo: CRC Press, 2014, ISBN 9781482231953, stron 250, cena 129,95 \$

Zamówienia: www.crcpress.com

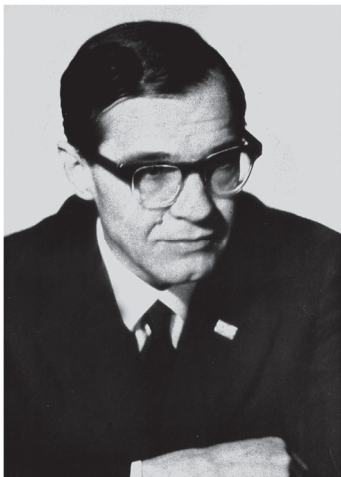
W opracowaniu dokonano przeglądu metod analizy żywności. W każdym rozdziale scharakteryzowano metody określania parametrów jakości żywności, takich jak: tłuszcz, barwa, tekstura oraz właściwości reologiczne różnych rodzajów produktów spożywczych.

Książka jest szczególnie przydatna dla technologów żywności, naukowców i studentów kierunków związanych z żywnością.

Opracowała: Magdalena Niewczas

TWÓRCY POLSKIEJ NAUKI O ŻYWNOSCI

POLSCY UCZENI PO II WOJNIE ŚWIATOWEJ PROF. DR HAB. STANISŁAW MASIOR (1912-1993)



Stanisław Jan Masiór urodził się 7 kwietnia 1912 roku w Dublanach, w województwie lwowskim. W roku 1930 ukończył Gimnazjum Humanistyczne w Tarnobrzegu, a następnie w roku 1935 ukończył studia dzienne na Wydziale Chemicznym Politechniki Lwowskiej. Pracę zawodową rozpoczął w 1935 roku na swojej macierzystej uczelni, najpierw w charakterze asystenta, a od 1936 do 1941 starszego asystenta w Katedrze Technologii Rolnej Politechniki Lwowskiej w Dublanach. W latach 1941 - 1943 był asystentem na Fachowych Kursach Rolniczych w Dublanach. W latach 1936 - 1938 odbył miesięczne praktyki zawodowe w spółdzielniach mleczarskich w Rzeszowie, Wrześni i Bażanowicach. W okresie tym prowadził wykłady na kursach gorzelniczych w Szkole Gorzelniczej w Dublanach oraz wykłady i ćwiczenia na kursach mleczarskich organizowanych przez Towarzystwo Oświaty Zawodowej we Lwowie. W latach 1938 - 1939 był, z nominacji Ministerstwa Oświaty, członkiem Komisji Egzaminacyjnej dla kierowników zakładów mleczarskich. Od 1943 r. pełnił funkcję instruktora Instytutu Przemysłu Fermentacyjnego w Warszawie na okręg wschodni w Galicji.

W roku 1945, S. Masiór objął stanowisko adiunkta, a następnie zastępcy kierownika w Katedrze Technologii Chemicznej Przemysłu Rolniczego Politechniki Wrocławskiej (1946 - 1952) i dyrektora Dolnośląskiego Oddziału Zrzeszenia Gorzeln Rolniczych (1946 - 1949).

Karierę naukową prof. Masióra zapoczątkowało wygłoszenie referatu we wrześniu 1937 r. na I Polskim Kongresie Inżynierów we Lwowie pt. „Zagadnienia przemysłu fermentacyjnego”. Kontynuacją tej tradycji był czynny udział Profesora w obradach I Kongresu Nauki Polskiej w 1951 r. w Warszawie. Promocja doktorska na podstawie pracy nt. „Hydrolyza skrobi ziemniaczanej wodą pod ciśnieniem w reakcji

obojętnej i kwaśnej”, której promotorem był prof. dr Aleksander Tychowski, miała miejsce w grudniu 1947 roku na Uniwersytecie i Politechnice Wrocławskiej. Podobnie praca habilitacyjna pt. „Wpływ odgałęziania się drobiny oraz jej grupy redukującej na utlenianie skrobi ziemniaczanej nadjodanem” została złożona na Wydziale Rolniczym tej samej uczelni w 1951 i zatwierdzona awansem na stanowisko docenta w 1951. We wrześniu 1951 r. S. Masiór uzyskał nominację na kontraktowego profesora nadzwyczajnego, a w kolejnych latach – w kwietniu 1955 roku tytuł profesora nadzwyczajnego, a w marcu 1968 profesora zwyczajnego.

Kolejne etapy awansu zawodowego to kierownictwo Katedry Technologii Przemysłu Rolnego Politechniki Wrocławskiej (1949) jako zastępcy profesora i po uzyskaniu habilitacji oraz otrzymaniu nominacji na stopień docenta (1951) objęcie obowiązków kierownika Oddziału Chemii Technicznej na Wydziale Matematyki, Fizyki i Chemii Uniwersytetu i Politechniki we Wrocławiu (1951 - 1952). W 1951 r. prof. Masiór pełnił również obowiązki prodziekana Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej. Po uzyskaniu we wrześniu 1951 roku nominacji na kontraktowego profesora nadzwyczajnego, dekretem Ministra Szkolnictwa Wyższego z dnia 1.09.1952 został przeniesiony na tworzony w ramach Politechniki Łódzkiej Wydział Chemii Spożywczej, gdzie organizował i kierował (1952 - 1970) Katedrą Technologii Fermentacji. Pełnił również funkcję prodziekana (1953 - 1954) i dziekana (1966 - 1968) Wydziału Chemii Spożywczej Politechniki Łódzkiej. Po reorganizacji struktury Wydziału, w latach 1970-1973 był pierwszym dyrektorem nowego Instytutu Technologii Fermentacji i Mikrobiologii Wydziału Chemii Spożywczej oraz kierownikiem Studium Doktoranckiego.

Od 1954 r. prof. Masiór był doradcą naukowym w Instytucie Przemysłu Fermentacyjnego w Warszawie i przewodniczącym Rady Naukowej Instytutu. Na uwagę zasługuje jego działalność naukowa i organizacyjna w Komitecie Technologii i Chemii Żywności PAN, którego członkiem był od 1957 r. oraz Rady Naukowej przy Ministrze Przemysłu Spożywczego i Skupu w latach 1955 - 1982. Pełnił szereg innych funkcji społecznych, będąc przez 26 lat, od roku 1965, członkiem Rady Programowej czasopiśma Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny, a w latach 1961 - 1964 radnym WRN w Łodzi.

Jako nauczyciel akademicki, prof. Masiór wychował ponad 300 magistrów inżynierów i inżynierów ze specjalnością technologii fermentacji. Był również promotorem 10 przewodów doktorskich oraz opiekunem 2 przewodów habilitacyjnych. Do jego wychowanków zaliczali się znani naukowcy, m.in. prof. dr hab. Jerzy Ziobrowski, prof. dr hab. Tadeusz Gołębiowski, dr hab. profesor PŁ Eugeniusz Pogorzelski, doc. dr Władysław Dylkowski, doc. dr Aleksander Czyżycki czy dr inż. Tadeusz Kuchciak.

W uznaniu za działalność naukową, dydaktyczną i społeczną prof. dr hab. Stanisław Masiór był nagrodzony Krzyżem Kawalerskim OOP, Krzyżem Oficerskim OOP,

Medalem Komisji Edukacji Narodowej. Otrzymał również nagrody I i II stopnia Ministra Nauki, tytuł Zasłużonego Nauczyciela, Złotą Odznakę Zasłużonego Pracownika Przemysłu Spożywczego i Skupu oraz Medal 40-lecia PRL.

Tematyka badawcza profesora obejmowała szereg zagadnień naukowych, ze szczególnym uwzględnieniem technologii winiarstwa, piwowarstwa, produkcji kwasu cytrynowego. Prace te obejmowały w dziedzinie winiarstwa: stabilizację win gronowych, zimną fermentację moszczów owocowych, technologię produkcji win wieloowocowych, gronowych i musujących, a z dziedziny piwowarstwa: technologię produkcji koncentratów chmielowych i ich analizę, surowce niesłodowane w produkcji piwa, technologię produkcji piwa nisko- i bezalkoholowego, izomeryzację ekstraktów chmielowych. Efektem tych badań było opublikowanie, jako autor lub współautor, ponad 90 publikacji w czasopismach krajowych i zagranicznych oraz 4 patentów (współautor).

Z ważniejszych publikacji profesora należy wymienić przede wszystkim podręczniki: „Maszyny i urządzenia słodowni i browarów”, praca zbiorowa pod red. S. Masiora, WPLiS, Warszawa 1965, „Kontrola chemiczno-techniczna produkcji słodu i piwa”, praca zbiorowa pod red. S. Masiora, WPLiS, Warszawa 1959 oraz: „Odgałężenia w drobinie skrobiowej na tle wyników utleniania skrobi ziemniaczanej nadjodanem” (Roczniki Chemii, 1952), „Uboczne produkty fermentacji win owocowych w zależności od rodzaju fermentowanego cukru” (Bull. Office Int. Vin, 1962), „Próby usuwania metanolu z moszczów i win otrzymywanych z hybrydów winorośli” (Acta Alimentaria Polonica 1976), „Przyspieszona produkcja stabilnych win jabłkowych (Przem. Fermentacyjny, 1980), „Metody produkcji i analizy koncentratów chmielowych” (monografia 1962).

Po przejściu na emeryturę w 1982 r. prof. S. Masior utrzymywał kontakt z Politechniką Łódzką oraz ze swoim macierzystym Zakładem. Wśród pracowników i studentów cieszył się ogromnym poważaniem jako człowiek szlachetny, prawy i uczciwy, a przy tym skromny i pełen życzliwości dla ludzi. Ceniono Jego ogromną wiedzę naukową oraz doświadczenie życiowe i umiejętność współzycia z innymi, które zjednały Mu powszechny szacunek i sympatię.

Zmarł w dniu 22 grudnia 1993 roku w Łodzi i został pochowany na Cmentarzu Katolickim na Dołach.

Dr Tadeusz Kuchciak, prof. Wojciech Ambroziak

PROF. DR HAB. WŁODZIMIERZ GRAJEK DOKTOREM *HONORIS CAUSA* UNIwersYTETU PRZYRODNICZEGO WE WROCLAWIU



W dniu 25 czerwca 2014 r. Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu nadał najwyższą godność akademicką – tytuł *doktora honoris causa* – profesorowi Włodzimierzowi Grajkowi z Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.

Prof. dr hab. Włodzimierz Grajek urodził się w 1946 r. w Poznaniu. Po ukończeniu studiów na Wydziale Technologii Rolno-Spożywczej w Wyższej Szkole Rolniczej w Poznaniu (obecnie Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu), podjął na tym samym Wydziale studia doktoranckie. Od 1973 roku rozpoczął pracę na uczelni w Instytucie Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego w Zakładzie Technologii Fermentacji i Biosyntezy Składników Paszowych. W 1975 roku obronił pracę doktorską pt.

“Próby wykorzystania surowca ligninocelulozowego jako podłoża do biosyntezy białka przy użyciu wybranych mikroorganizmów”, którą przygotował pod kierunkiem prof. dr hab. Kazimierza Szebiotko, a w 1988 r. przedstawił rozprawę habilitacyjną pt. “Wpływ hydratacji substratu na wzrost i fizjologię grzybów w hodowlach na podłożu stałym” i na tej podstawie uzyskał stopień doktora habilitowanego nauk rolniczych w zakresie technologii żywności – specjalność biotechnologia.

W 1984 r. W. Grajek wyjechał na długoterminowy staż naukowy do Narodowego Instytutu Badań Rolniczych (INRA) w Dijon, we Francji. Po odbyciu tego stażu został zatrudniony w INA-INRA Paris-Grignon, Oddział w Dijon, na stanowisku samodzielnego pracownika naukowego (*charge de recherche, premiere classe*). Na stanowisku tym przez trzy lata kierował programem, który był poświęcony badaniom nad wpływem aktywności wody na metabolizm mikroorganizmów. Po powrocie do macierzy-

stej uczelni, w 1990 r. zorganizował nową, samodzielną jednostkę naukową – Zakład Biotechnologii, który rok później został przekształcony w Katedrę Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, którą kierował do 2013 r. W latach 90. stworzył bazę materiałną i powołał kadrę tej jednostki oraz rozwinął jej potencjał naukowo-badawczy. Od 1991 r. pracował na stanowisku profesora nadzwyczajnego, a w 1996 r. uzyskał tytuł profesora nauk rolniczych. W 2000 r. prof. Grajek został mianowany na stanowisko profesora zwyczajnego. W roku 2005 zorganizował Centrum Doskonałości Biotechnologii Żywności przy Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu, którym obecnie kieruje. Brał także aktywny udział w tworzeniu Centrum Biotechnologii Medycznej i Wielkopolskiego Centrum Zaawansowanych Technologii.

Praca naukowa prof. W. Grajka koncentruje się na zagadnieniach biotechnologii żywności i biotechnologii przemysłowej. Podstawą Jego warsztatu naukowego jest technologia bioprosesowa i metabolomika rozumiane jako wykorzystanie potencjału genetycznego mikroorganizmów do produkcji określonych metabolitów i prowadzenia zaprogramowanych przemian biochemicznych oraz wykorzystanie biokatalizatorów w procesach biodegradacji, biokonwersji i biosyntezy.

Dorobek naukowy prof. W. Grajka obejmuje łącznie 551 pozycji, w tym 144 oryginalne prace twórcze, 30 podręczników i rozdziałów w podręcznikach, 60 artykułów naukowych, 28 pełnotekstowych publikacji w materiałach konferencyjnych, 236 referatów i komunikatów naukowych na konferencjach krajowych i zagranicznych, 28 patentów i zgłoszeń patentowych oraz 25 prac nieprzeznaczonych do druku.

Główne tematy badawcze rozwijane przez prof. W. Grajka to:

- wykorzystanie mikroorganizmów do produkcji żywności, poprawa jej bezpieczeństwa żywieniowego i utrwalanie,
- studia nad wpływem aktywności wody na fizjologię i metabolizm mikroorganizmów, szczególnie grzybów strzępkowych,
- mikrobiologiczna denitryfikacja soków warzywnych i wody pitnej,
- badania nad żywnością o zaprogramowanych właściwościach prozdrowotnych, ze szczególnym uwzględnieniem roli przeciwutleniaczy,
- bakterie fermentacji mlekowej i ich metabolity jako czynniki ochronne przed mikroorganizmami chorobotwórczymi ludzi i zwierząt,
- badanie nad oddziaływaniem składników żywności na metabolizm i genom człowieka na modelach ludzkich kultur komórkowych *in vitro*,
- ocena właściwości technologicznych, bezpieczeństwa żywności transgenicznej i jej akceptacji społecznej,
- biosynteza enzymów celulolitycznych i amylolitycznych oraz ich wykorzystanie do modyfikacji polimerów roślinnych,

- doskonalenie procesów fermentacyjnych poprzez dobór drobnoustrojów, wprowadzenie nowych surowców oraz zastosowanie nowych metod fermentacji etanolowej i mlekowej,
- rozwój technologii wytwarzania płynnych i gazowych nośników energii z biomasy roślinnej i odpadów przemysłowych,
- biotechnologiczna konwersja odpadów przemysłowych do niskocząsteczkowych „zielonych chemikaliów”, szczególnie di-oli.

Do ważniejszych osiągnięć prof. W. Grajka należy zaliczyć m.in. wyjaśnienie mechanizmu adaptacji struktur komórkowych do szoku osmotycznego i określenie roli czynników środowiskowych i biologicznych na szybkość sekrecji enzymów amylolitycznych i charakter procesów sekrecyjnych, a także określenie związku między sokiem osmotycznym a sygnałami jonowymi, szczególnie sygnałem wapniowym a sekrecją białek. Niezwykle ważny był współdziałanie prof. W. Grajka w latach 80. - 90. w badaniach nad biosyntezą witaminy B₁₂ przy użyciu bakterii fermentacji propionowej z rodzaju *Propionibacterium*, które były kontynuowane do ostatnich lat i zakończyły się opracowaniem przez Profesora innowacyjnej i opatentowanej w 140 krajach technologii wytwarzania preparatów białkowo-witaminowych do żywienia ludzi i zwierząt. Sukcesem Profesora było sprzedanie w 2012 r. licencji na wytwarzanie tej witaminy według opracowanej przez niego technologii do Niemiec. Ważne pod względem praktycznym było też wyjaśnienie przez prof. W. Grajka mikrobiologicznej denitryfikacji oraz technologii pozwalającej na całkowite usunięcie z soku buraczanego azotanów (V) i (III) przy użyciu bakterii *Paracoccus denitrificans* i *Ochrobactrum athropi* bez istotnych zmian jego cech chemicznych i sensorycznych. Prof. dr hab. W. Grajek opracował też wraz z zespołem warunki przemysłowej syntezy diwercyny – bakteriocyny produkowanej przez *Carnobacterium divergens* oraz produkcji aktywnych biopreparatów zawierających to białko, co zaowocowało uzyskaniem szeregu patentów i wdrożeniem do produkcji preparatu probiotycznego „Levipan”.

Profesor opracował też nową technologię produkcji skrobi odpornej na trawienie enzymatyczne, przeznaczoną do produkcji żywności niskokalorycznej oraz wykorzystywanej jako prebiotyk stymulujący wzrost bifidobakterii jelitowych. Jest ponadto autorem metody enzymatycznej syntezy oligosacharydów o stopniu polimeryzacji od 2 do 6 przy użyciu cyklodekstranazy. Jest twórcą opatentowanej bezściekowej, wodno-energooszczędnej technologii produkcji bioetanolu ze skrobi kukurydzianej.

Prof. dr hab. W. Grajek jest także uznanym specjalistą w zakresie wykorzystania GMO w produkcji żywności. Ważne są Jego prace nad produkcją nasion ogórka przez embriogenezę somatyczną i badania nad syntezą gencjopikrozydu przez komórki *Gentiana tibetica* hodowane w kulturach bioreaktorowych.

Aktualnie prof. W. Grajek realizuje badania nad modyfikacją genetyczną roślin w celu zwiększenia syntezy celulozy przy jednoczesnym ograniczeniu syntezy ligniny

i wykorzystaniu tego surowca do produkcji bioetanolu na cele paliwowe, wykorzystując przy tym technologię fermentacji polegającą na skonsolidowanym użyciu mikroorganizmów, które w jednym reaktorze produkują jednocześnie enzymy, przeprowadzają hydrolizę celulozy i hemiceluloz oraz metabolizują heksozy i pentozy do etanolu. Tematyka ta mieści się w najbardziej zaawansowanej obecnie koncepcji biotechnologicznej biorafinerii trzeciej generacji. Prof. W. Grajek zajmuje się ponadto badaniami dotyczącymi biokonwersji odpadowego glicerolu do polioli i kwasów dikarboksylowych.

Za największy sukces prof. W. Grajka należy uznać stworzenie od podstaw nowoczesnego ośrodka biotechnologicznego w Poznaniu, obejmującego kompleks wyspecjalizowanych laboratoriów badawczych połączonych z póltechniką procesów biotechnologicznych, a także utworzenie Laboratorium Bezpieczeństwa i Badania Właściwości Prozdrowotnych Żywności.

Prof. W. Grajek w swojej pracy badawczej rozwija szeroko współpracę z innymi ośrodkami zarówno za granicą, jak i w kraju, w tym z Uniwersytetem Przyrodniczym we Wrocławiu.

W dorobku Profesora jest koordynacja dużych, konsorcyjnych projektów.

W 2003 r. KBN powierzył Profesorowi funkcję koordynatora dużego projektu zamawianego pt. „Weryfikacja zasad technologii wytwarzania i wykorzystania żywności bogatej w naturalne antyoksydanty pod względem jej działania prozdrowotnego”, w którym wzięły udział 32 zespoły badawcze, w tym zespoły z Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Obecnie koordynuje dwa takie projekty. Prof. W. Grajek brał udział w 56 projektach badawczych, w 30 był ich pomysłodawcą i kierownikiem naukowym.

Prof. W. Grajek w swojej ponad 40-letniej praktyce akademickiej prowadził wykłady, seminaria i ćwiczenia na pięciu kierunkach studiów (technologia żywności, biotechnologia, ochrona środowiska, agronomia i ogrodnictwo) na Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu, wykładał również na dwóch kierunkach studiów na Politechnice Poznańskiej (ochrona środowiska, inżynieria chemiczna), na Uniwersytecie im. A. Mickiewicza w Poznaniu (biotechnologia) oraz na Akademii Medycznej w Poznaniu (biotechnologia medyczna). Był wielokrotnie ekspertem Polskiej Komisji Akredytacyjnej w zakresie kształcenia na kierunku biotechnologia.

Profesor ma ogromny wkład w rozwój kadr naukowych w naszym kraju. Wypromował 16 doktorów, a aktualnie opiekuje się kolejnymi 11 doktorantami. Wykonał ogółem 125 recenzji dorobku polskich naukowców, w tym 31 recenzji na tytuł profesora, 9 recenzji na stanowisko profesora zwyczajnego, 1 recenzję na stanowisko profesora nadzwyczajnego i na tytuł doktora honoris causa, 29 recenzji na stopień doktora habilitowanego i 54 recenzje prac doktorskich. Ponadto brał udział w finalizacji dwóch przewodów doktorskich w uczelniach zagranicznych.

Prof. dr hab. W. Grajek jest członkiem wielu organizacji i towarzystw naukowych, w wielu z nich pełnił ważne funkcje organizacyjne. Jest członkiem Komitetu Biotechnologii PAN (wcześniej przy Prezydium PAN) i Komitetu Nauk o Żywności PAN. Pełnił funkcję wiceprezesa Polskiej Federacji Biotechnologów, był też członkiem Prezydium Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów.

Prof. W. Grajek jest członkiem wielu komitetów redakcyjnych czasopism naukowych, takich jak: *Biotechnologia*, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, *Acta Scientiarum Polonorum Biotechnologia*, *Herba Polonica*, *Przemysł Spożywczy*.

Profesor aktywnie działa na rzecz własnej uczelni, w której pełnił wiele odpowiedzialnych funkcji. Był wielokrotnie wybierany do Senatu Uczelni, był przewodniczącym i członkiem wielu senackich i rektorskich komisji, członkiem Rady Wydziału i działał w wielu komisjach wydziałowych.

Prof. W. Grajek działa także w organizacjach regionalnych. Był m.in. członkiem Rady Marszałka Wielkopolski ds. Innowacji i członkiem Komitetu Koordynacyjnego Wielkopolskiego Centrum Zaawansowanych Technologii w Poznaniu.

Za osiągnięcia naukowe został wyróżniony dwoma indywidualnymi nagrodami ministerialnymi, odznaczony Złotym Krzyżem Zasługi i Medalem Komisji Edukacji Narodowej. Otrzymał także liczne nagrody Rektora swojej Uczelni, wyróżnienia regionalne oraz wyróżnienia kongresowe.

Profesor Włodzimierz Grajek od lat aktywnie współpracuje z Wydziałem Nauk o Żywności Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, głównie z Katedrą Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności. W 2007 roku Wydział Nauk o Żywności UP we Wrocławiu przyznał prof. W. Grajkowi medal „Zasłużony dla Wydziału Nauk o Żywności”, a obecnie Uniwersytet Przyrodniczy nadał Profesorowi tytuł doktora honorowego. ☒

Redakcja ŻNTJ

TECHNOLOG ŻYWNOSCI

INFORMATOR POLSKIEGO TOWARZYSTWA TECHNOLOGÓW ŻYWNOSCI

Rok 24 Nr 2

kwiecień 2014

DZIAŁALNOŚĆ TOWARZYSTWA

Sekcja Młodej Kadry Naukowej

W dniach 8 - 9 maja br., w Warszawie, odbyła się XIX Sesja Naukowa Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ i 3rd Interantional Session – „Food Science Horizon. Somewhere, something incredible is waiting to be known”.

Konferencja była kontynuacją corocznych spotkań, które mają na celu wymianę poglądów oraz doświadczeń w zakresie nauk o żywności i żywieniu oraz integrację młodych środowisk naukowych z kraju i ze świata.

WAŻNIEJSZE MIĘDZYKRAJOWE I KRAJOWE KONFERENCJE NAUKOWE W 2014 r.

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

Sierpień

17-21 MONTREAL, Kanada = 17th World Food Congress

Kontakt: <http://iufost.org/world-food-congress>

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

Kontakt: e-mail: igwt2014@uek.krakow.pl

18 - 19 KRAKÓW = XI Konferencja Naukowa z cyklu: Żywność XXI wieku nt. „Żywność a bezpieczeństwo zdrowotne”.

Organizatorzy: PTTŻ Oddział Małopolski, Wydział Technologii Żywności UR w Krakowie, Komitet Nauk o Żywności PAN

Informacje: www.pttzm.org

Kontakt: e-mail: rrjuszcz@cyf-kr.edu.pl

e-mail: aduda-chodak@ar.krakow.pl

Październik

16 – 17 GDYNIA = Zachowania konsumentów na rynku towarów i usług.

Organizatorzy: Katedra Handlu i Usług, Wydział Przedsiębiorczości i Towaroznawstwa Akademii Morskiej w Gdyni oraz Katedra Organizacji i Ekonomiki Konsumpcji, Wydział Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji SGGW.

Kontakt: e-mail: konsument@wpit.am.gdynia.pl

20 -21 POZNAŃ = Konferencja Naukowa nt. „Postępy w analityce lipidów żywności”

Organizatorzy: Sekcja Chemii i Technologii Tłuszczów PTTŻ, Euro Fed Lipid, Wydz. Nauk o Żywności i Żywieniu UP w Poznaniu, IBPRS – Oddział Technologii Mięsa i Tłuszczu

Kontakt: e-mail: dorota.klensporf-pawlik@ue.poznan.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 3 (94)/2014 Biuletynu podano według stanu informacji do 15 czerwca 2014 r. Materiały do Nr 4 (95)/2014 prosimy nadsyłać do 1 sierpnia 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>

**Adresy Zarządu Głównego, Oddziałów i Sekcji
Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności**

| PREZES / ODDZIAŁ | ADRES |
|--|---|
| Prof. dr hab. Edward Pospiech Prezes PTTŻ | UP, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ Tel.: 61 848 72 60; e-mail: pospiech@up.poznan.pl |
| Dr hab. Dorota Piasecka-Kwiatkowska Sekretarz PTTŻ | UP, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ e-mail: dorotapk@up.poznan.pl |
| Prof. dr hab. Maria Śmiechowska Oddział Gdański | AM, ul. Morska 81-87, 81-225 GDYNIA Tel.: 58 690 15 62; e-mail: smiemari@am.gdynia.pl |
| Dr hab. 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 |
| Prof. dr hab. inż. Agnieszka Kita Oddział Wrocławski | UP, ul. Chełmońskiego 37/41, 51-630 WROCŁAW Tel.: 71 320 50 38; e-mail: agnieszka.kita@wnoz.up.wroc.pl |
| SEKCJE | |
| Dr Karol Krajewski Ekonomiczna | WSliZ, ul. Rakowiecka 32, 02-532 WARSZAWA Tel.: 22 646 20 60; e-mail: krajewski@wsiiz.pl |
| Dr inż. Arkadiusz Żych 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 |