



# ŻYWNOSĆ

Nauka Technologia Jakość

---

# FOOD

Science Technology Quality

Nr 4 (95)

Kraków 2014

Rok 21

# ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość

Organ naukowy PTTŻ – dwumiesięcznik

Nr 4 (95)

Kraków 2014

Rok 21

## SPIS TREŚCI

Od Redakcji.....	3
BARBARA SOKOŁOWSKA: <i>Alicyclobacillus</i> – termofilne kwasolubne bakterie przetrwalnikujące – charakterystyka i występowanie .....	5
IWONA SZOT, TOMASZ LIPA, BOŻENA SOSNOWSKA: Jagoda kamczacka – właściwości prozdrowotne owoców i możliwości ich zastosowania .....	18
DOROTA KLUSZCZYŃSKA, WANDA SOWIŃSKA: Wpływ procesów technologicznych na zawartość substancji bioaktywnych w owocach borówki czernicy .....	30
LUBOMIRA BRONIARZ-PRESS, JACEK RÓŻAŃSKI, SYLWIA RÓŻAŃSKA, JOANNA KMIĘCIK: Właściwości reologiczne warstwy powierzchniowej cieczy wybranych piw komercyjnych .....	43
URSZULA K. RAFALSKA, ANNA KAMIŃSKA-DWÓRZNIKA: Wpływ dodatku wybranych biopolimerów na parametry procesu zamrażania modelowego roztworu sacharozy.....	53
ANNA CHLEBOWSKA-ŚMIGIEL, MAŁGORZATA GNIEWOSZ, JACEK WILCZAK, DARIUSZ KAMOLA: Wpływ dodatku pullulanu na wzrost i zdolności fermentacyjne wybranych bakterii z rodzaju <i>Lactobacillus</i> .....	63
KAROL MIŃKOWSKI, ARTUR KALINOWSKI, ANNA KRUPSKA: Wpływ sposobu przygotowania nasion oraz dławienia masy nasiennej w prasie ślimakowej na parametry procesu tłoczenia i cechy jakościowe oleju lnianego .....	75
KATARZYNA JANDA, AGATA MARKOWSKA-SZCZUPAK, ANTONI W. MORAWSKI: Wpływ aktywności wody i temperatury na wzrost oraz aktywność lipolityczną szczepów <i>Penicillium chrysogenum</i> w pożywkach płynnych z olejami roślinnymi.....	88
JOLANTA TOMASZEWSKA-GRAS: Wpływ prędkości schładzania tłuszczu mlecznego na proces krystalizacji zawartych w nim triacylogliceroli.....	97
ZYGMUNT LITWIŃCZUK, MONIKA KOWAL, JOANNA BARŁOWSKA: Podstawowy skład chemiczny oraz udział kwasów tłuszczowych i zawartość cholesterolu w mleku krów czterech ras użytkowanych w intensywnych technologiach chowu.....	108
IWONA CHWASTOWSKA-SIWIECKA, JOANNA KALINIEWICZ, JACEK KONDRATOWICZ, NATALIA SKIEPKO: Wpływ czasu zamrażalniczego przechowywania i metody rozmrażania na profil kwasów tłuszczowych tłuszczu śródmięśniowego mięsa króliczego .....	122
STANISŁAW WAJDA, JACEK KONDRATOWICZ, EWA BURCZYK, RAFAŁ WINARSKI: Wydajność rzeźna i jakość mięsa tusz buhajków zakwalifikowanych w systemie EUROP do różnych klas uformowania ...	136
PIOTR SZYMAŃSKI, DANUTA KOŁOŻYŃ-KRAJEWSKA: Efektywność szczepu bakterii <i>Staphylococcus carnosus</i> ATCC51365 w zakresie redukcji azotanów(V) w środowisku mięsny.....	148
JUSTYNA LIBERA, ZBIGNIEW J. DOLATOWSKI: Wpływ bakterii probiotycznych <i>Lactobacillus acidophilus</i> (Bauer) i <i>Bifidobacterium bifidum</i> na zmiany tłuszczu w mięsnych wyrobach surowo dojrzewających podczas przechowywania .....	160
ANNA BAGNOWSKA, LUCJAN KRALA, AGNIESZKA NOWAK, JOANNA ORACZ: Właściwości przeciwutleniające chitozanu w kielbasach bez dodatku azotanu(III) .....	173
WIESŁAWA GRZEŚIŃSKA, MARZENA TOMASZEWSKA, BEATA BILSKA, JOANNA TRAFIAŁEK: Optymalizacja uwarunkowań wyboru systemu dystrybucji posiłków w żywieniu szpitalnym .....	188
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA: Interakcje składników żywności .....	201
GRAŻYNA MORKIS: Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym .....	204
MAGDALENA NIEWCZAS: Nowe książki.....	206
<b>Technolog Żywności.....</b>	<b>208</b>

*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, PILA CrossRef*

# FOOD. Science. Technology. Quality

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

No 4 (95)

Kraków 2014

Vol. 21

## CONTENTS

From the Editor.....	3
BARBARA SOKOŁOWSKA: <i>Alicyclobacillus</i> – thermophilic acidophilic spore-forming bacteria – profile and prevalence .....	5
IWONA SZOT, TOMASZ LIPA, BOŻENA SOSNOWSKA: Blue honeysuckle – healthful properties of fruits and possibilities of their applications .....	18
DOROTA KLUSZCZYŃSKA, WANDA SOWIŃSKA: Effect of technological processes on content of bioactive substances in bilberry fruits .....	30
LUBOMIRA BRONIARZ-PRESS, JACEK RÓŻAŃSKI, SYLWIA RÓŻAŃSKA, JOANNA KMIECIK: Rheological properties of liquid surface layer in selected commercial beers.....	43
URSZULA K. RAFALSKA, ANNA KAMIŃSKA-DWÓRZNIKA: Effect of adding selected biopolymers on freezing parameters of model sucrose solution.....	53
ANNA CHLEBOWSKA-ŚMIGIEL, MAŁGORZATA GNIEWOSZ, JACEK WILCZAK, DARIUSZ KAMOLA: Effect of pullulan additive on growth and fermentation capacity of some selected bacteria of genus <i>Lactobacillus</i> .....	63
KAROL MIŃKOWSKI, ARTUR KALINOWSKI, ANNA KRUPSKA: Effect of seed preparation method and seed mass choking in expeller press on pressing parameters and quality characteristics of flax oil .....	75
KATARZYNA JANDA, AGATA MARKOWSKA-SZCZUPAK, ANTONI W. MORAWSKI: Effect of water activity and temperature on growth and lipolytic activity of <i>Penicillium chrysogenum</i> strains in liquid culture media with plant oils .....	88
JOLANTA TOMASZEWSKA-GRAS: Effect of milk fat cooling rate on crystallization process of triacylglycerols therein .....	97
ZYGMUNT LITWIŃCZUK, MONIKA KOWAL, JOANNA BARŁOWSKA: Basic chemical composition, proportion of fatty acids, and cholesterol content in milk of four breeds of cows used in the intensive husbandry technologies .....	108
IWONA CHWASTOWSKA-SIWIECKA, JOANNA KALINIEWICZ, JACEK KONDRATOWICZ, NATALIA SKIEPKO: Effect of deep-freeze storage time and thawing method on profile of fatty acids in intramuscular fat of rabbit meat.....	122
STANISŁAW WAJDA, JACEK KONDRATOWICZ, EWA BURCZYK, RAFAŁ WINARSKI: Slaughter value and quality of meat from beef carcasses classified to different conformation classes in EUROP system .....	136
PIOTR SZYMAŃSKI, DANUTA KOŁOŻYŃ-KRAJEWSKA: Effectiveness of bacterial strain of <i>Staphylococcus carnosus</i> ATCC-51365 in respect of reduction of nitrates(V) in meat.....	148
JUSTYNA LIBERA, ZBIGNIEW J. DOLATOWSKI: Effect of <i>Lactobacillus acidophilus</i> (Bauer) and <i>Bifidobacterium bifidum</i> on probiotic bacteria on changes in fat in dry-fermented meat products during storage .....	160
ANNA BAGNOWSKA, LUCJAN KRALA, AGNIESZKA NOWAK, JOANNA ORACZ: Antioxidant properties of chitosan in sausages without nitrate(III) added .....	173
WIESŁAWA GRZESIŃSKA, MARZENA TOMASZEWSKA, BEATA BILSKA, JOANNA TRAFIAŁEK: Optimizing determinants in selecting distribution system for hospital catering.....	188
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA: Interactions among food components.....	201
GRAŻYNA MORKIS: Food problems in Polish and EU legislation .....	204
MAGDALENA NIEWCZAS: Book reviews .....	206
<b>The Food Technologist.....</b>	<b>208</b>

*Only reviewed papers are published*

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

**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 Baryłko-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 Sośnicki (USA), prof. dr hab. Zdzisław Targoński, prof. dr hab. Tadeusz Trziszka, prof. dr hab. Stanisław Tyszkiewicz, prof. dr hab. Erwin Wąsowicz, prof. dr hab. Dorota Witrowa-Rajchert, dr John Wojciak (Kanada), prof. dr hab. Maria Wojtatowicz

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

**WYDAWCA:** POLSKIE TOWARZYSTWO TECHNOLOGÓW ŻYWNOSCI, WYDAWNICTWO NAUKOWE PTTŻ

W latach 1994 - 1999 wydawcą kwartalnika był Oddział Małopolski PTTŻ

© Copyright by Polskie Towarzystwo Technologów Żywności, Kraków 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 **4 (95)** 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.

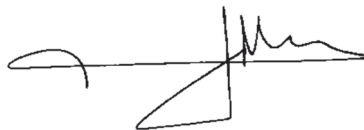
Miło nam poinformować, że Thomson Reuters opublikował w lipcu nowe wartości Impact Factors ocenianych czasopism. **Nowa wartość IF naszego dwumiesięcznika to 0,311, a IF<sub>5</sub> = 0,295.**

W ramach ułatwienia 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.

Kraków, sierpień 2014 r.

Redaktor Naczelny



*Tadeusz Sikora*

**Prof. dr hab. dr h.c. Mieczysław Pałasiński**  
**- członek Redakcji naszego dwumiesięcznika -**  
**ukończył 90 lat życia!**

Nasza Redakcja jest szczególnie zaszczycona tym, że od powstania czasopisma Pan Profesor obdarzył nasze czasopismo ogromnym zaufaniem i wspierał nasze działania swoim wielkim autorytetem.

**Z okazji Jubileuszu życzymy Panu Profesorowi zdrowia i wielu lat życia, aby mógł realizować wiele swoich pomysłów.**

*Ad multum annos!*

*Redakcja*

BARBARA SOKOŁOWSKA

## ***ALICYCLOBACILLUS* – TERMOFILNE KWASOLUBNE BAKTERIE PRZETRWAJNIKUJĄCE – CHARAKTERYSTYKA I WYSTĘPOWANIE**

### Streszczenie

W latach 80. XX w. po raz pierwszy zaobserwowano, że termofilne kwasolubne bakterie przetrwalnikujące powodują psucie się soków owocowych, dlatego *Alicyclobacillus* spp. zostały uznane za drobnoustroje niepożądane w przemyśle sokowniczym, mogące generować straty ekonomiczne. Wymienione bakterie powodują wady pochodzenia mikrobiologicznego. Psucie się soków przejawia się głównie w powstawaniu przykrego zapachu i smaku, wynikających z obecności wytwarzanych przez bakterie związków chemicznych, takich jak gwajakol czy halofenole. Przetrwalniki *Alicyclobacillus* spp. przeżywają przez długi czas w koncentratkach owocowych i w podobnych środowiskach, jednak do wzrostu wymagają środowiska o większej zawartości wody.

Trudność związana z inaktywacją *Alicyclobacillus* spp. w sokach owocowych polega na tym, że przetrwalniki tych bakterii przeżywają w wysokiej temperaturze, a po pasteryzacji są w stanie wykiełkować i namnażać się w sprzyjających warunkach. Najpowszechniej występującym gatunkiem odpowiedzialnym za psucie soków i produktów pokrewnych jest *A. acidoterrestris*. Szczepy tego gatunku rosną w środowisku o pH od 2,5 do 6,0 i w temperaturze powyżej 20 °C.

**Słowa kluczowe:** *Alicyclobacillus* spp., *Alicyclobacillus acidoterrestris*, soki, gwajakol, ciepłooporność przetrwalników

### **Wprowadzenie**

Zanieczyszczenie soków bakteriami z rodzaju *Alicyclobacillus* spp. jest jednym z ważniejszych problemów w branży sokowniczej. Niekorzystne zmiany sensoryczne soków, nektarów i napojów spowodowane wytwarzanymi przez bakterie *Alicyclobacillus* spp. metabolitami, nadającymi tym produktom zapach określany jako medyczny, dezynfekcyjny, dymny, są przyczyną wycofania z rynku gotowych produktów, a tym samym znacznych strat ekonomicznych.

Polska jest znaczącym producentem soków i nektarów owocowych, których roczna produkcja wynosi ponad 700 tys. ton. W produkcji zagęszczonego soku jabłkowego Polska przoduje, zajmując drugie miejsce na świecie (po Chinach) z produkcją wynoszącą ok. 200 tys. ton rocznie.

Na podstawie wieloletnich badań, prowadzonych od 2002 roku przez Zakład Technologii Przetworów Owocowych i Warzywnych IBPRS, obecność przetrwalników *Alicyclobacillus* spp. stwierdzono w ponad 66,8 % przebadanych próbek zagęszczonego soku jabłkowego (n = 996).

### Rodzaj *Alicyclobacillus*

Kwasolubne, termofilne bakterie przetrwalnikujące zostały po raz pierwszy wyizolowane w 1967 r. z gorących źródeł w okolicach jeziora Tazawa w Japonii [57]. Bakterie te nazwano *Bacillus acidocaldarius* (z łac. *bacillus* – laseczka, pałeczka, *acidum* – kwas, *caldarius* – odnoszący się do gorącej wody) z powodu ich wzrostu w środowisku o wysokiej temperaturze i niskim pH. Kolejne doniesienie o wyizolowaniu kwasolubnych, termofilnych bakterii przetrwalnikujących, tym razem z gleby (ogrodowej, z lasu dębowego, z lasu jodłowego i wrzosowiska) pochodzą z 1981 r. [25]. W 1982 r. kwasolubne, termofilne bakterie przetrwalnikujące zostały wyizolowane z zepsutego, aseptycznie pakowanego soku jabłkowego [8]. Bakterie te charakteryzowały się podobnymi cechami biochemicznymi jak bakterie wyizolowane z gleby [25]. Sklasyfikowano je jako *Bacillus acidoterrestris* [11] (łac. *terra* – ziemia).

Nazwę systematyczną bakterii zaproponowali w 1992 r. Wisotzkey, Jurtshuk, Fox, Deinhard i Poralla [62], którzy na podstawie analizy sekwencji 16S rRNA dokonali reklasyfikacji bakterii *Bacillus acidoterrestris*, *Bacillus acidocaldarius* i *Bacillus cycloheptanicus* na *Alicyclobacillus acidoterrestris*, *Alicyclobacillus acidocaldarius* i *Alicyclobacillus cycloheptanicus*. Nazwę rodzaju *Alicyclobacillus* zaproponowano ze względu na obecność ω-alicyklicznych kwasów tłuszczowych w ścianach komórkowych tych bakterii, przy czym dwa pierwsze gatunki zawierają w swojej ścianie komórkowej kwasy ω-cykloheksylowe, natomiast trzeci kwasy ω-cykloheptylowe.

Aktualnie znanych jest dwadzieścia gatunków z rodzaju *Alicyclobacillus*: *Alicyclobacillus acidiphilus*, *Alicyclobacillus acidocaldarius*, *Alicyclobacillus acidoterrestris*, *Alicyclobacillus aeris*, *Alicyclobacillus contaminans*, *Alicyclobacillus cycloheptanicus*, *Alicyclobacillus disulfidooxydans*, *Alicyclobacillus fastidiosus*, *Alicyclobacillus ferrooxydans*, *Alicyclobacillus herbarius*, *Alicyclobacillus hesperidum*, *Alicyclobacillus kakegawensis*, *Alicyclobacillus macrosporangioides*, *Alicyclobacillus pohliae*, *Alicyclobacillus pomorum*, *Alicyclobacillus sacchari*, *Alicyclobacillus sendaiensis*, *Alicyclobacillus shizuokensis*, *Alicyclobacillus tolerans*, *Alicyclobacillus vulcanalis* oraz dwa podgatunki *Alicyclobacillus acidocaldarius* subsp. *acidocaldarius* i *Alicyclobacillus*



*acidocaldarius* subsp. *rittmannii* [2, 18, 19, 20, 26, 28, 30, 33, 36, 48, 56, 62, 65]. Gatunki te wyizolowano głównie z gleby, zepsutych soków owocowych lub ze źródeł geotermalnych. Gatunkiem najczęściej izolowanym z zepsutych soków jest *Alicyclobacillus acidoterrestris*.

### Gatunek *Alicyclobacillus acidoterrestris*

*Alicyclobacillus acidoterrestris* to Gram dodatnie, katalazo (+) i oksydazo (-) tlenowe laseczki o długości od 2,9 do 4,3  $\mu\text{m}$  i szerokości od 0,6 do 0,8  $\mu\text{m}$ , wytwarzające owalne przetrwalniki o długości od 1,5 do 1,8  $\mu\text{m}$  i szerokości od 0,9 do 1,0  $\mu\text{m}$ , ułożone terminalnie lub subterminalnie [11].

Szczepy *A. acidoterrestris* wykazują zdolność do wzrostu w zakresie pH od 2,5 do 6,0, z optimum 3,5 ÷ 4,5 i w temp. od 20 do 55 °C, z optimum w zakresie 40 ÷ 53 °C [5, 11, 22, 43, 53]. Najniższa temperatura, w której obserwowano wzrost *A. acidoterrestris*, wynosiła 19,5 °C [27], a najwyższa – 60 °C [4]. *A. acidoterrestris* po sześciu dniach inkubacji w temp. 50 °C, na pożywce BAM rosną w postaci okrągłych, kremowych lub białych kolonii, półprzezroczystych lub nieprzezroczystych, o średnicy 3 do 5 mm [11]. Starsze hodowle bakterii wykazują nieco ciemniejszą barwę niż młode [22, 53].

Trzecim czynnikiem warunkującym wzrost *A. acidoterrestris* jest zawartość ekstraktu. Maksymalna zawartość ekstraktu w soku jabłkowym, przy której obserwowano wzrost przetrwalników wynosiła 20 °Brix [60]. W badaniach modelowych [49] stwierdzono, że największy wzrost *A. acidoterrestris* następuje przy zawartości ekstraktu 12,5 °Brix ( $a_w = 0,992$ ), w temp. 43 °C i przy pH 4,5.

### Występowanie *Alicyclobacillus* spp. w środowisku naturalnym i produkcyjnym

Bakterie z rodzaju *Alicyclobacillus* spp. występują we wszystkich regionach świata. Izolowano je z gorących źródeł w Japonii [57], z gleby wulkanicznej i z gorących źródeł na Hawajach, w Parku Yellowstone [10], z geotermalnych basenów na pustyni Mojave w Kaliforni [48], z gleby geotermalnej na Antarktydzie [26, 36], z gleby wulkanicznej na Azorach [2], z gleby sadów w Południowej Afryce [24] oraz w Japonii [21] i w Chinach [61].

Obecność *Alicyclobacillus* spp. oznaczano w sokach i napojach otrzymywanych z różnych surowców: w pomarańczowym, jabłkowym, grejpfrutowym, gruszkowym, z białych winogron, aloesowym, bananowym, morelowym, śliwkowym, ananasowym, pomidorowym, cytrynowym, brzoskwiniowym, mandarynkowym, marchwiowym, z mango, w mleczku kokosowym, soku z marakuji, czarnych jagód, granatów i kiwi [5, 8, 9, 15, 23, 34, 35, 40, 42, 43, 50, 55, 60, 63]. Laseczki izolowano także z zagęszczonych soków: wiśniowego, z czarnych porzeczek, truskawkowego, malinowego, z czerwonych buraków [55] oraz z innych napojów [55, 66], a także z „Ice tea” [5, 12].

Pionierskie badania dotyczące metod oznaczania występowania *Alicyclobacillus* na różnych etapach produkcji zagęszczonego soku pomarańczowego oraz wpływu na jakość soków gotowych przeprowadziła w latach 1995-1999 grupa brazylijskich naukowców finansowana przez Brazilian Association of Citrus Processors (ABECitrus) [14, 15, 16]. Przebadano próbki ziemi ogrodowej, liści i pomarańcz różnych odmian, z różnych rejonów kraju oraz próbki z poszczególnych etapów produkcji zagęszczonego soku. Obecność bakterii z rodzaju *Alicyclobacillus* spp. stwierdzono we wszystkich próbkach gleby ( $10^4 \div 10^7$  jtk/kg), na liściach (od  $<10$  jtk/kg do  $4,3 \times 10^2$  jtk/kg) oraz na owocach. W próbkach pomarańcz zbieranych po deszczu lub w deszczowym sezonie stwierdzono mniejszą liczbę komórek *Alicyclobacillus* spp. Badania procesu produkcyjnego wykazały obecność *Alicyclobacillus* spp. na owocach przed i po myciu, w pulpach, w sokach świeżych i zagęszczonych, w wodzie kondensacyjnej, a nawet w esencji cytrusowej. W wyrobach końcowych (zagęszczony sok pomarańczowy, 66 °Brix) pochodzących z trzech różnych zakładów stwierdzono obecność *Alicyclobacillus* spp. na poziomie  $70 \div 3,4 \times 10^3$  jtk/cm<sup>3</sup> [14, 15, 16].

Przeprowadzono także badania dotyczące wpływu różnych technologii na występowanie *Alicyclobacillus* spp. na różnych etapach cyklu produkcyjnego soku jabłkowego [3]. Tradycyjny proces otrzymywania soku z etapami depektynizacji, klarowania i zagęszczania nie pozwala na całkowitą eliminację bakterii *A. acidoterrestris*. Możliwa jest redukcja od 2 log jtk/cm<sup>3</sup> do 3 log jtk/cm<sup>3</sup> w stosunku do wyjściowego zanieczyszczenia soku surowego. Ponadto podwyższenie temperatury depektynizacji soku surowego z 25 do 50 °C (optymalna temperatura procesu) skutkowało podwyższeniem liczby *A. acidoterrestris* w soku. Zastosowanie ultrafiltracji (graniczna rozdzielczość membrany  $20 \cdot 10^3$  Da i  $50 \cdot 10^3$  Da) przy małym zanieczyszczeniu wyjściowego soku surowego ( $10^3$  jtk/cm<sup>3</sup>) umożliwiało uzyskanie soku pozbawionego *A. acidoterrestris* ( $< 1$  jtk/100 cm<sup>3</sup>). Przy zanieczyszczeniu soku surowego na poziomie  $10^6$  jtk/cm<sup>3</sup>, po depektynizacji i ultrafiltracji stwierdzono obecność *A. acidoterrestris* w produkcie końcowym w ilości od 3 jtk/100 cm<sup>3</sup> do 300 jtk/100 cm<sup>3</sup> w zależności od temperatury, w jakiej prowadzono depektynizację i od rozdzielczości membrany. Również przy ocenie płyt lub modułów filtracyjnych stosowanych na skalę przemysłową [29] stwierdzono zależność skuteczności filtracji od poziomu zanieczyszczenia filtrowanego koncentratu lub półkoncentratu.

W badaniach oceniających częstotliwość występowania *Alicyclobacillus* spp. na powierzchni pomarańcz z Florydy [41] stwierdzono, że 48 % owoców przeznaczonych do produkcji niepasteryzowanych surowych soków jest zanieczyszczonych *Alicyclobacillus* spp. (zgodnie z wymaganiami HACCP w USA do produkcji soków niepasteryzowanych nie wolno przeznaczać owoców zbieranych z ziemi). Proces mycia redukował ilość zanieczyszczonych pomarańcz do 5 %. Obecność *Alicyclobacillus* spp. stwierdzono na 84 % owoców przeznaczonych do produkcji zagęszczonego soku pomarańczowe-

go. Proces mycia nie wpływał na obniżenie zanieczyszczenia, ponieważ do mycia stosowano wodę kondensacyjną odzyskiwaną w czasie zagęszczania soku, która była zanieczyszczona bakteriami *Alicyclobacillus* spp.

W 2008 r. AIJN European Fruit Juice Association [1] wydała *Alicyclobacillus* Best Practice Guideline – wytyczne dotyczące obniżania i kontrolowania termofilnych bakterii przetrwalnikujących z rodzaju *Alicyclobacillus* w procesach produkcji, pakowania i dystrybucji soków owocowych, zagęszczonych soków, przecierów i nektarów. W przewodniku przedstawiono 12 krytycznych punktów kontrolnych mających na celu ograniczenie występowania bakterii z rodzaju *Alicyclobacillus* w produkcji końcowym poprzez nadzorowanie jakości wody, warunków transportu, przyjęcia i składowania, mycia i sortowania owoców, filtracji soku, jakości środków pomocniczych i opakowań, rozlewu (temperatura napełniania i chłodzenia, przechowywania i dystrybucji, mycia i dezynfekcji linii rozlewniczej).

### Wytwarzanie związków zapachowych przez szczepy z rodzaju *Alicyclobacillus*

Spośród aktualnie znanych 20 gatunków z rodzaju *Alicyclobacillus* cztery: *Alicyclobacillus acidoterrestris* [37, 39, 42], *Alicyclobacillus herbarius*, *Alicyclobacillus acidiphilus* oraz niektóre szczepy z gatunku *Alicyclobacillus hesperidum* [37], są zdolne do syntezy gwajakolu. W literaturze opisano wytwarzanie 2,6-dibromofenolu przez szczepy *Alicyclobacillus acidoterrestris* [5, 7, 17, 27] i *Alicyclobacillus cycloheptanicus* [17] oraz 2,6-dichlorofenolu przez *Alicyclobacillus acidoterrestris* [27], *Alicyclobacillus hesperidum* i *Alicyclobacillus cycloheptanicus* [17].

Związki te charakteryzują się zapachem określanym jako "medyczny", "środka odkażającego", zapach gwajakolu określany jest również jako "dymny". Są to związki o stosunkowo silnym zapachu i smaku. W soku jabłkowym próg wyczuwalności węchowej gwajakolu, według różnych źródeł, wynosił 0,57  $\mu\text{g}/\text{dm}^3$  [45] i 0,91  $\mu\text{g}/\text{dm}^3$  [13], a próg rozpoznania: 2  $\mu\text{g}/\text{dm}^3$  [45] lub 2,23  $\mu\text{g}/\text{dm}^3$  [39]. Próg wykrywalności smakowej gwajakolu wynosił 0,24  $\mu\text{g}/\text{dm}^3$  [13] i 2  $\mu\text{g}/\text{dm}^3$  [42]. Próg wyczuwalności smakowej halogenowanych węglowodorów był wielokrotnie niższy i wynosił: 0,5  $\text{ng}/\text{dm}^3$  dla 2,6-dibromofenolu i 6,2  $\text{ng}/\text{dm}^3$  dla 2,6-dichlorofenolu, zapach obu związków w tym stężeniu był wyczuwalny i rozpoznawalny jako dezynfekcyjny [27]. Spośród trzech omawianych związków gwajakol jest głównym metabolitem związanym z zepsuciem soków owocowych przez *Alicyclobacillus* spp. i był wykrywany we wszystkich produktach wykazujących specyficzny, dezynfekcyjny zapach (tab. 1).

Tabela 1. Związki zapachowe wytwarzane przez *Alicyclobacillus acidoterrestris* w zepsutych sokach owocowychTable 1. Aromatic compounds produced by *Alicyclobacillus acidoterrestris* in spoilage fruit juice

Rodzaj soku Kind of juice	Warunki inkubacji [°C/dni] Incubation conditions [°C/days]	Liczba bakterii [jtk/cm <sup>3</sup> ] Count of bacteria [cfu/cm <sup>3</sup> ]	Składnik zapachowy – ilość Odour-active compound – amount	Źródło Source	
Sok pomarańczowy Orange juice	25 °C/6 dni	$6,0 \times 10^5$	gwajakol – 14,1 µg/dm <sup>3</sup>	[42]	
	35 °C/6 dni	$1,0 \times 10^6$	gwajakol – 13,3 µg/dm <sup>3</sup>		
	44 °C/6 dni	$6,0 \times 10^6$	gwajakol – 1,2 µg/dm <sup>3</sup>		
Sok jabłkowy Apple juice	25 °C/10 dni	$2,0 \times 10^7$	gwajakol – 11,6 µg/dm <sup>3</sup>		
	35 °C/6 dni	$3,0 \times 10^6$	gwajakol – 17,3 µg/dm <sup>3</sup>		
	44 °C/6 dni	$2,0 \times 10^7$	gwajakol – 33,7 µg/dm <sup>3</sup>		
Napój owocowy Fruit drink	35 °C/3 dni	$1,0 \times 10^5$	gwajakol – 32,3 µg/dm <sup>3</sup>		
	44 °C/3 dni	$1,0 \times 10^6$	gwajakol – 100,8 µg/dm <sup>3</sup>		
Ice tea Ice tea	-	$4,1 \times 10^5$	2,6-dibromofenol – 5 ng/dm <sup>3</sup>		[5]
Zepsuty mieszany sok owocowy Spoiled mixed fruit juice	-	$3,0 \times 10^1$ - $8,0 \times 10^1$	2,6-dibromofenol – 2 ng/dm <sup>3</sup> do 4 ng/dm <sup>3</sup>		[27]
	-	$3,0 \times 10^1$ - $8,0 \times 10^1$	2,6-dichlorofenol – 16 ng/dm <sup>3</sup> do 20 ng/dm <sup>3</sup>		
Mieszany sok owocowy Mixed fruit juice	1 dzień	$1,0 \times 10^5$	2,6-dibromofenol – 20 ng/dm <sup>3</sup>		
			2,6-dichlorofenol – 20 ng/dm <sup>3</sup>		
Sok jabłkowy Apple juice	21 °C/8 dni	$7,5 \times 10^2$	gwajakol – 8,1 µg/dm <sup>3</sup>	[39]	
	37 °C/8 dni	$1,8 \times 10^2$	gwajakol – 11,4 µg/dm <sup>3</sup>		

Gwajakol powstaje z kwasu ferulowego poprzez wanilinę i kwas wanilinowy [38]. Związki te występują naturalnie w sokach owocowych. Reakcja przebiega pod wpływem dekarboksylazy kwasu wanilinowego, enzymu którego indukcja następuje w obecności kwasu wanilinowego. Witthuhn i wsp. [64] wykazali, że szczep *A. acidoterrestris* FB2 wytwarzał gwajakol z waniliny i kwasu wanilinowego, natomiast nie wytwarzał gwajakolu z kwasu ferulowego. Minimalna zawartość w soku – 10 mg/l waniliny lub kwasu wanilinowego była niezbędna do wytworzenia takich ilości gwajakolu, które wyczuwano węchowo.

Danyluk i wsp. [9] wskazują, że szczepy *A. acidoterrestris* mogą mieć system enzymów umożliwiający wytwarzanie związków zapachowych innych niż gwajakol i halogenowane fenole. W sokach ananasowym i mango po 14 dniach inkubacji próbek zaszczerpionych *A. acidoterrestris* stwierdzono zapach „serowy”. Związki, które zidentyfikowano jako odpowiedzialne za ten zapach, to kwasy 2-metylomasłowy i 3-metylomasłowy oraz metyl-3(metyltio)-propionian i etyl-3(metyltio)-propionian. Zapach „serowy” stwierdzono także w soku jabłkowym zaszczerpionym szczepami *A. acidoterrestris* [54].

### Ciepłooporność przetrwalników *Alicyclobacillus acidoterrestris*

Przetrwalniki *A. acidoterrestris* charakteryzują się zdolnością przeżywania w temperaturze stosowanej do pasteryzacji soków owocowych [5, 47, 50]. Temperatura powoduje szok termiczny przetrwalników, który jest niezbędny do kiełkowania. W pasteryzowanych sokach, nektarach i napojach owocowych, w handlowych opakowaniach, przechowywanych w temperaturze otoczenia, bakterie mają dogodne warunki do namnażania. Przetrwalniki *A. acidoterrestris* wykazują wysoką ciepłooporność zależną od rodzaju soku, zawartości ekstraktu oraz pH. Przykładowe, cytowane w literaturze wartości parametrów D i z przedstawiono w tab. 2. Wartość D to czas w minutach, niezbędny do dziesięciokrotnego zmniejszenia liczby żywych komórek drobnoustrojów, a wartość z jest stałą wskazującą o ile stopni Celsjusza należy zwiększyć temperaturę ogrzewania, aby czas ogrzewania skrócić dziesięciokrotnie.

Skuteczną redukcję liczby przetrwalników *A. acidoterrestris* osiągnięto w procesie prowadzonym w temp. 115 °C przez 8 s [58].

Tabela 2. Ciepłooporność przetrwalników *Alicyclobacillus acidoterrestris* w różnych sokach owocowych.

Table 2. Heat resistance of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores in various fruit juices.

Rodzaj medium Kind of medium	pH	Zawartość ekstraktu [%] Content of extract [%]	T [°C]	D [min]	z [°C]	Źródło Source
Sok jabłkowy Apple juice	3,5	11,4	85 95	56 2,8	7,7	[50]
Sok winogronowy Grape juice	3,3	15,8	85 95	57 2,4	7,2	
Napój pomarańczowy Orange drink	4,1	5,3	95	5,3	9,5	[5]
Ice Tea jabłkowa Apple Ice Tea	3,5	4,8	95	5,2	10,8	
Nektar owocowo witaminowy Fruit and vitamin nectar	3,5	6,1	95	5,1	9,6	

Ekstrakt z owoców cupuaçu Cupuaçu fruit extract	3,6	11,3	85 97	17,5 0,57	9,0	[46]
Sok pomarańczowy Orange juice	3,5	11,7	85 91	65,6 11,9	7,8	
Zagęszczony sok z czarnych porzeczek Concentrated blackcurrant juice	2,5	26,1 58,5	91 91	3,84 24,1	-	
Sok jabłkowy Apple juice	3,5	-	80 95	41,2 2,30	12,2	[31]
Sok pomarańczowy Orange juice	3,9	-	80 95	54,3 3,59	12,9	
Sok grejpfrutowy Grapefruit juice	3,4	-	80 90 95	37,9 5,95 1,85	11,6	
Sok jabłkowy Apple juice	3,68	12,2	90 96 100	11,1 2,1 0,7	8,5	[4]
Nektar jabłkowy Apple nectar	2,97	14,0	90 96 100	14,4 3,3 1,2	9,2	
Nektar jabłkowy z kwasem askorbinowym - 250 mg/dm <sup>3</sup> Apple nectar with ascorbic acid - 250 mg/dm <sup>3</sup>	2,95	14,0	90 96 100	14,1 3,1 1,0	8,8	
Zagęszczony sok cytrynowy Concentrated lemon juice	2,28 ÷ 4,0	50,0 (klarowany clarified)	82 86 92 95	17,36 ÷ 33,66 18,06 ÷ 68,95 7,60 ÷ 23,19 6,2 ÷ 12,63	-	[32]
	2,28 ÷ 4,0	68,0 (nieklarowny non-clarified)	82 86 92 95	15,50 ÷ 50,50 14,54 ÷ 95,15 8,81 ÷ 85,29 8,55 ÷ 23,33		
Sok jagodowy Berry juice	3,5	-	88 95	11 1	7,2	[59]
Sok jabłkowy Apple juice	3,40	11,2	95	3,4 ÷ 15,1	5,4 ÷ 12,8	[52]
Zagęszczony sok jabłkowy Concentrated apple juice	3,12	70,0	95	5,3 ÷ 29,8	4,9 ÷ 14,2	
Sok pomidorowy Tomato juice	4,4	12,0	85 90 95	40,65 9,47 1,5	7,0	[6]

### Podsumowanie

Przetrwalnikujące bakterie z rodzaju Alicyclobacillus spp. pochodzą z gleby, skąd łatwo są przenoszone na owoce. Proces pasteryzacji stosowany do utrwalania soków nie

powoduje inaktywacji ich przetrwalników. W sprzyjających warunkach przetrwalniki mogą kiełkować i rozwijać się, powodując zepsucie soku, polegające na wytwarzaniu związków o charakterystycznym zapachu, określanym jako medyczny, dezynfekcyjny, dymny. Metabolity odpowiedzialne za te zmiany to gwajakol, 2,6-dibromofenol i 2,6-dichlorofenol. Gatunkiem najczęściej izolowanym z zepsutych soków jest *Alicyclobacillus acidoterrestris*. Jak dotąd nie stwierdzono żadnego związku pomiędzy spożywaniem soków i innych produktów spożywczych zanieczyszczonych bakteriami z rodzaju *Alicyclobacillus* spp. a zagrożeniem zdrowia ludzkiego.

Wykazana w wielu badaniach wysoka ciepłooporność przetrwalników *A. acidoterrestris* oraz stwierdzone przypadki zepsucia handlowych soków pasteryzowanych wskazują na nieskuteczność procesu pasteryzacji, a tym samym na konieczność poszukiwania innych metod ograniczenia wzrostu tych bakterii.

### Literatura

- [1] AIJN, Association of the Industries of Juices and Nectars from Fruits and Vegetables of the European Union, *Alicyclobacillus* Best Practice Guideline, Rue de la Loi 221 box 5, B-1040 Brussels 2008.
- [2] Albuquerque L., Rainey F.A., Chung A.P., Sunna A., Nobre M.F., Grote R., Antranikian G., Costa M.S.: *Alicyclobacillus hesperidum* sp. nov. and a related genomic species from solfataric soils of São Miguel in the Azores. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2000, **50**, 451-457.
- [3] Bahçeci K.S., Gökmen V., Serpen A., Acar J.: The effect of different technologies on *Alicyclobacillus acidoterrestris* during apple juice production. *Eur. Food Res. Technol.*, 2003, **217**, 249-252.
- [4] Bahçeci K.S., Acar J.: Modeling the combined effects of pH, temperature and ascorbic acid concentration on the heat resistance of *Alicyclobacillus acidoterrestris*. *Int. J. Food Microbiol.*, 2007, **120** (3), 266-273.
- [5] Baumgart J., Husemann M., Schmidt C.: *Alicyclobacillus acidoterrestris*: Vorkommen, Bedeutung und Nachweis in Getränken und Getränkegrundstoffen. *Fluss. Obst*, 1997, **64**, 178-180.
- [6] Bevilacqua A., Corbo M.R.: Characterization of a wild strain of *Alicyclobacillus acidoterrestris*: heat resistance and implications for tomato juice. *J. Food Sci.*, 2011, **76** (2), M130-M136.
- [7] Borlinghaus A., Engel R.: *Alicyclobacillus* incidence in commercial apple juice concentrate (AJC) supplies and validation. *Fruit Process.*, 1997, **7** (7), 262-266.
- [8] Cerny G., Hennlich W., Poralla K.: Fruchtsaftverderb durch Bacillen: Isolierung und Charakterisierung des Verderberregers. *Z. Lebensmitt. Untersuch. Forsch.*, 1984, **179**, 224-227.
- [9] Danyluk M.D., Friedrich L.M., Jouquand C., Goodrich-Schneider R., Parish M.E., Rouseff R.: Prevalence, concentration, spoilage, and mitigation of *Alicyclobacillus* spp. in tropical and subtropical fruit juice concentrates. *Food Microbiol.*, 2011, **28**, 472-477.
- [10] Darland G., Brock T.D.: *Bacillus acidocaldarius* sp. nov., an thermophilic spore-forming bacterium. *J. Gen. Microbiol.*, 1971, **67**, 9-15.
- [11] Deinhard G., Blanz P., Poralla K., Altan E.: *Bacillus acidoterrestris* sp. nov., a new thermotolerant acidophile isolated from different soils. *Syst. Appl. Microbiol.*, 1987, **10**, 47-53.
- [12] Duong H.A., Jensen N.: Spoilage of iced tea by *Alicyclobacillus*. *Food Australia*, 2000, **52** (7), 292.
- [13] Eisle T.A., Semon M.J.: Best estimated aroma and taste detection threshold for guaiacol in water and apple juice. *J. Food Sci.*, 2005, **70**, 267-269.



- [14] Eguchi S.Y., Manfio G.P., Pinhatti M.E., Azuma E., Variane S.F.: Acido-thermophilic sporeforming bacteria (ATSB) in orange juices: ecology, and involvement in the deterioration of fruit juices – Report of the Research Project, Part I. *Fruit Process.*, 2001, **11 (1)**, 12-18.
- [15] Eguchi S.Y., Manfio G.P., Pinhatti M.E., Azuma E., Variane S.F.: Acido-thermophilic sporeforming bacteria (ATSB) in orange juices: ecology, and involvement in the deterioration of fruit juices – Report of the Research Project, Part II. *Fruit Process.*, 2001, **11 (2)**, 55-62.
- [16] Eguchi S.Y., Manfio G.P., Pinhatti M.E., Azuma E., Variane S.F.: Acido-thermophilic sporeforming bacteria (ATSB) in orange juices: ecology, and involvement in the deterioration of fruit juices – Report of the Research Project, Part III. *Fruit Process.*, 2001, **11 (3)**, 95-101.
- [17] Gocmen D., Elston A., Williams T., Parish M., Housett R.L.: Identification of medicinal off-flavours generated by *Alicyclobacillus* species in orange juice using GC-olfactometry and GC-MS. *Lett. Appl. Microbiol.*, 2005, **40**, 172-177.
- [18] Goto K., Matsubara H., Mochida K., Matsumura T., Hara Y., Niwa M., Yamasato K.: *Alicyclobacillus herbarius* sp. nov., a novel bacterium containing  $\omega$ -cycloheptane fatty acids, isolated from herbal tea. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2002, **52**, 109-113.
- [19] Goto K., Mochida K., Asahara M., Suzuki M., Kasai H., Yokota A.: *Alicyclobacillus pomorum* sp. nov., a novel thermo-acidophilic, endospore-forming bacterium that does not possess  $\omega$ -alicyclic fatty acids, and emended description of the genus *Alicyclobacillus*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2003, **53**, 1537-1544.
- [20] Goto K., Mochida K., Kato Y., Asahara M., Fujita R., An S.Y., Kasai H., Yokota A.: Proposal of six species of moderately thermophilic, acidophilic, endospore-forming bacteria: *Alicyclobacillus contaminans* sp. nov., *Alicyclobacillus fastidiosus* sp. nov., *Alicyclobacillus kakegawensis* sp. nov., *Alicyclobacillus macrosporangiidus* sp. nov., *Alicyclobacillus sacchari* sp. nov., and *Alicyclobacillus shizuokensis* sp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2007, **57**, 1276-1285.
- [21] Goto K., Nishibori A., Wasada Y., Furuhashi K., Fukuyama M., Hara M.: Identification of thermo-acidophilic bacteria isolated from the soil of several Japanese fruit orchards. *Lett. Applied. Microbiol.*, 2008, **46**, 289-294.
- [22] Goto K., Tanaka T., Yamamoto R., Tokuda H.: Characteristics of *Alicyclobacillus*. In: *Alicyclobacillus Thermophilic Acidophilic Bacilli*. Ed. by Yokota A., Fujii T., Goto K. Springer, 2007, pp. 9-48.
- [23] Gouws P.A., Gie L., Pretorius A., Dhansay N.: Isolation and identification of *Alicyclobacillus acidocaldarius* by 16S rDNA from mango juice and concentrate. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2005, **40**, 789-792.
- [24] Groenewald W.H., Gouws P.A., Witthuhn R.C.: Isolation and identification of species of *Alicyclobacillus* from orchard soil in the Western Cape, South Africa. *Extremophiles*, 2008, **12**, 159-163.
- [25] Hippchen B., Roll A., Poralla K.: Occurrence in soil of thermo-acidophilic bacilli processing  $\omega$ -cyclohexane fatty acids and hopanoids. *Arch. Microbiol.*, 1981, **129**, 53-55.
- [26] Imperio T., Viti C., Marri L.: *Alicyclobacillus pohliae* sp. nov., a thermophilic, endospore-forming bacterium isolated from geothermal soil of the north-west slope of Mount Melbourne (Antarctica). *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2008, **58**, 221-225.
- [27] Jensen N., Whitfield F.B.: Role of *Alicyclobacillus acidoterrestris* in the development of a disinfectant taint in shelf-stable fruit juice. *Lett. Appl. Microbiol.*, 2003, **36**, 9-14.
- [28] Jiang C.Y., Liu Y., Liu Y.Y., You X.Y., Guo X., Liu S.J.: *Alicyclobacillus ferrooxydans* sp. nov., a ferrous-oxidizing bacterium from solfataric soil. *Int. J. Syst. Microbiol.*, 2008, **58**, 2898-2903.
- [29] Junker R.: Termofilny "szkodnik" soku owocowego – pełne oddzielenie przez filtrację sterylą. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2002, **46 (7 - 8)**, 12-13.
- [30] Karavaiko G.I., Bogdanova T.I., Tourova T.P., Kondrateva T.F., Tsaplina I.A., Egorova M.A., Krasilnikova E.N., Zakharchuk L.M.: Reclassification of *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* subsp. *thermotolerans* strain K1 as *Alicyclobacillus tolerans* sp. nov. and *Sulfobacillus disulfidooxidans* Du-



- fresne et al. 1996 as *Alicyclobacillus disulfooxidans* comb. nov., and emended description of the genus. Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 2005, **55**, 941-947.
- [31] Komitopoulou E., Boziaris I.S., Davies E.A. Delves-Broughton J., Adams M. R.: *Alicyclobacillus acidoterrestris* in fruit juices and its control by nisin. Int. J. Food Sci. Technol., 1999, **34**, 81-85.
- [32] Maldonado M.C., Belifiore C., Navarro A.R.: Temperature, soluble solids and pH effect on *Alicyclobacillus acidoterrestris* viability in lemon juice concentrate. J. Ind Microbiol. Biotechnol., 2008, **35**, 141-144.
- [33] Matsubara H., Goto K., Matsumura T., Yamasato K.: *Alicyclobacillus acidiphilus* sp. nov., a novel thermo-acidophilic,  $\omega$ -alicyclic fatty acid-containing bacterium isolated from acidic beverages. Int. J. System. Evol. Microbiol., 2002, **52**, 1681-1685.
- [34] McKnight I.C., Eiroa M.N.U., Sant'Ana A.S., Massaguier P.R.: *Alicyclobacillus acidoterrestris* in pasteurized exotic Brazilian fruit juices: Isolation, genotypic characterization and heat resistance, Food Microbiol., 2010, **27**, 1016-1022.
- [35] McNamara C.J., Wiebe D., Gomez M.: Recovery of *Alicyclobacillus* from inhibitory fruit juices concentrates. J. Food Prot., 2011, **74** (8), 1370-1373.
- [36] Nicolaus B., Improta R., Manca M.C., Lama L., Esposito E., Gambacorta A.: Alicyclobacilli from unexplored geothermal soil in Antarctica: Mount Rittmann. Polar. Biol., 1998, **19**, 133-141.
- [37] Niwa M.: Control of hazardous bacteria in acidic beverages by using a guaiacol detection kit (peroxidase method). Fruit Process., 2005, **15** (6), 388-392.
- [38] Niwa M., Kawamoto A.: Development of a rapid detection method of *A. acidoterrestris*, hazardous bacteria to acidic beverage. Fruit Process., 2003, **13** (2), 102-107.
- [39] Orr R.V., Shewfelt R.L., Huang C.J., Tefera S., Beuchat L.R.: Detection of guaiacol produced by *Alicyclobacillus acidoterrestris* in apple juice by sensory and chromatographic analyses, and comparison with spore and vegetative cell populations. J. Food Protect., 2000, **11**, 1517-1522.
- [40] Oteiza J.M., Ares G., Sant'Ana A.S., Soto S., Giannuzzi L.: Use a multivariate approach to assess the incidence of *Alicyclobacillus* spp. In concentrate fruit juices marketed in Argentina: Results of a 14-year survey. Int. J. Food Microbiol., 2011, **151**, 229-234.
- [41] Parish M.E., Goodrich R.M.: Recovery of presumptive *Alicyclobacillus* strains from orange fruit surfaces. J. Food Protect., 2005, **68** (10), 2196-2200.
- [42] Pettipher G.L., Osmundson M.E., Murphy J.M.: Methods for the detection and enumeration of *Alicyclobacillus acidoterrestris* and investigation of growth and production of taint in fruit juice and fruit juice-containing drinks. Lett. Appl. Microbiol., 1997, **24**, 185-189.
- [43] Pinhatti M.E.M.C., Variante S., Eguchi S.Y., Manfio G.P.: Detection of acidotermophilic bacilli in industrialized fruit juices. Fruit Process., 1997, **7** (9), 350-353.
- [44] Previdi M.P., Colla F., Vicini E.: Characterization of *Alicyclobacillus*, a spore forming thermophilic acidophilic bacterium. Industria Conserve, 1995, **70**, 128-132.
- [45] Siegmund B., Pöellinger-Zierler B.: Odor thresholds of microbially induced off-flavor compounds in apple juice. J. Agric. Food Chem., 2006, **54**, 5984-5989.
- [46] Silva F.V.M., Gibbs P., Vieira M.C., Silva C.L.M.: Thermal inactivation of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores under temperature, soluble solids and pH conditions for the design of fruit processes. Int. J. Food Microbiol., 1999, **51** (2/3), 95-103.
- [47] Silva F.V.M., Gibbs P., Silva C.L.M.: Establishing a new pasteurization criterion based on *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores for shelf-stable high – acidic fruit products. Fruit Process., 2000, **10** (4), 138-141.
- [48] Simbahan J., Drijber R., Blum P.: *Alicyclobacillus vulcanalis* sp. nov., a thermophilic, acidophilic bacterium isolated from Coso Hot Spring, California, USA. Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 2004, **54**, 1703-1707.

- [49] Sinigaglia M., Corbo M.R., Altieri C., Campaniello D.D, Amato D., Bevilacqua A.: Combined effect of temperature, water activity, and pH on *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores. J. Food Protect., 2003, **12**, 2216-2221.
- [50] Splittstoesser D.F., Churey J.J., Lee C.Y.: Growth characteristic of aciduric sporeforming bacilli isolated from fruit juices. J. Food Protect., 1994, **57**, 1080-1083.
- [51] Sokołowska B.: Charakterystyka szczepów *Alicyclobacillus acidoterrestris* izolowanych z różnych źródeł i regionów. Praca doktorska. Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie. Wydział Nauki o Żywności, Olsztyn 2009.
- [52] Sokołowska B., Łaniewska-Trokenheim Ł., Niezgoda J., Bytońska M.: Ciepłoporność przetrwalników *Alicyclobacillus acidoterrestris*. Przem. Ferm. Owoc. Warz., 2008, **12**, 22-27.
- [53] Sokołowska B., Niezgoda J., Bytońska M., Frankiel A.: Bioróżnorodność szczepów *Alicyclobacillus acidoterrestris*, Pr. Inst. Lab. Bad. Przem. Spoż., 2010, **65**, 29-32.
- [54] Sokołowska B., Skąpska S., Sionek B., Niezgoda J., Chotkiewicz M.: *Alicyclobacillus acidoterrestris* – wzrost i wytwarzanie związków zapachowych w soku jabłkowym. Post. Nauki Technol. Przem. Rol.-Spoż., 2013, **68** (1), 19-37.
- [55] Sokołowska B., Niezgoda J., Chotkiewicz M., Dekowska A.: Prevalence of *Alicyclobacillus* spp. in Polish concentrated apple and berry juices and the susceptibility of these juices to spoilage. Food Microbiol. (złożony do opublikowania)
- [56] Tsuruoka N., Isono Y., Shida O., Hemmi H., Nakayama T., Nishino T.: *Alicyclobacillus sendaiensis* sp. nov., a novel acidophilic, slightly thermophilic species isolated from soil in Sendai, Japan. Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 2003, **53**, 1081-1084.
- [57] Uchino F., Doi S.: Acido-thermophilic bacteria from thermal waters. J. Agric. Biol. Chem., 1967, **31**, 817-822.
- [58] Vieira M.C., Teixeira A.A., Silva F.V.M., Gaspar N., Silva C.L.M.: *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores as a target for cupuacu (*Theobroma grandiflorum*) nectar thermal processing: kinetic parameters and experimental methods. Int. J. Food Microbiol., 2002, **77**, 71-81.
- [59] Walls I.: *Alicyclobacillus* – an overview, Session 36-1 presented at 1997 Institute of Food Technologists Annual Meeting in Orlando, FL, 14–18 June 1997.
- [60] Walls I., Chuyate R.: Spoilage of fruit juices by *Alicyclobacillus acidoterrestris*. Food Australia, 2000, **52** (7), 286-288.
- [61] Wang Y., Yue T., Yuan Y., Gao Z.: Isolation and identification of thermo-acidophilic bacteria from orchards in China. J. Food Protect., 2010, **73** (2), 390-394.
- [62] Wisotzkey J.D., Jurtshuk P., Fox G.E., Deinhard G., Poralla K.: Comparative sequence analysis on the 16S rRNA (rDNA) of *Bacillus acidocaldarius*, *Bacillus acidoterrestris* and *Bacillus cycloheptanicus* and proposal for creation of a new genus, *Alicyclobacillus* gen. nov. Int. J. Syst. Bacteriol., 1992, **42** (2), 263-269.
- [63] Witthuhn R.C., Duvange W., Gouws P.A.: Isolation and identification of species of *Alicyclobacillus* from South African fruit juices and concentrates. In: Food Micro, 29.08 - 2.09.2006, Bologna 2006, pp. 390.
- [64] Witthuhn R.C., van der Merwe E., Venter P., Cameron M.: Guaiacol production from ferulic acid, vanillin and vanilic acid by *Alicyclobacillus acidoterrestris*. Inter. J. Food Microbiol., 2012, **157**, 113-117.
- [65] Euzeby J.P.: List of Procaryotic names with Standing in Nomenclature - Genus *Alicyclobacillus* [online]. Dostęp w Internecie: [14.02.2013], [www.bacterio.cict.fr/a/alicyclobacillus.html](http://www.bacterio.cict.fr/a/alicyclobacillus.html)
- [66] Yamazaki K., Teduka H., Shinano H.: Isolation and identification of *Alicyclobacillus acidoterrestris* from Acidic Beverages Biosci. Biotech. Biochem., 1996, **60** (3), 543-545.

---

**ALICYCLOBACILLUS – THERMOPHILIC ACIDOPHILIC SPORE-FORMING  
BACTERIA – PROFILE AND PREVALENCE****S u m m a r y**

In the 1980s, it was found for the first time that thermophilic, acidophilic spore-forming bacteria caused the fruits to spoil; therefore, *Alicyclobacillus* bacteria were regarded to be adverse micro-organisms unwanted in the fruit juice industry, since they might incur economic losses. Those bacteria cause defects of microbiological origin. The spoilage of juices is mainly manifested through the formation of off flavours and odours resulting from the occurrence of chemical compounds, such as guaiacol and halophenols, produced by those bacteria. The spores of *Alicyclobacillus* spp. survive for long periods of time in fruit concentrates and similar environments; however, for their growth, environments containing more water are required.

It is difficult to inactivate *Alicyclobacillus* spp. in fruit juices, because the spores thereof survive high temperatures and, after pasteurization, can germinate and grow under fitting conditions. *A. acidoterrestris* is the most commonly occurring species responsible for the spoilage of juices and similar products. Those strains grow in an environment showing pH between 2.5 and 6.0 and at a temperature above 20 °C.

**Key words:** *Alicyclobacillus* spp., *Alicyclobacillus acidoterrestris*, juices, guaiacol, heat resistance of spores



IWONA SZOT, TOMASZ LIPA, BOŻENA SOSNOWSKA

## JAGODA KAMCZACKA – WŁAŚCIWOŚCI PROZDROWOTNE OWOCÓW I MOŻLIWOŚCI ICH ZASTOSOWANIA

### Streszczenie

W pracy omówiono właściwości prozdrowotne jagody kamczackiej. Zwrócono uwagę na właściwości przeciwutleniające owoców. Scharakteryzowano substancje bioaktywne o właściwościach antyoksydacyjnych obecne w jagodach, zwłaszcza fenolokwasy, flawonoidy i witaminę C. Omówiono zależność składu chemicznego owoców od czynników genetycznych, klimatycznych i zastosowanych zabiegów uprawowych. Podkreślono łatwość uprawy jagody kamczackiej ze względu na małe wymagania siedliskowe, nieskomplikowaną pielęgnację, niezawodność w plonowaniu oraz odporność na patogeny. Celowość szerszej jej uprawy uzasadniono różnorodnymi możliwościami zastosowania owoców w żywieniu człowieka.

**Słowa kluczowe:** właściwości przeciwutleniające owoców, mało znane rośliny sadownicze, substancje bioaktywne

### Wprowadzenie

Jagoda kamczacka to nazwa rośliny owocodajnej, pochodzącej przede wszystkim od gatunków *Lonicera kamtschatica* oraz *Lonicera caerulea* (syn. *Lonicera caerulea* var. *edulis*), *Lonicera altaica* pochodzących z Rosji oraz *Lonicera caerulea* var. *emphylocalyx* z Hokkaido w Japonii [1, 54]. Polska nazwa gatunku – jagoda kamczacka – ma wiele synonimów (wiciokrzew siny, suchodrzew jadalny, suchodrzew siny, suchodrzew błękitny, lonicera, borówka kamczacka) [14, 22].

Owoce jest mięsista, wydłużona, wielonasienna niby-jagoda o fioletowoczarnej barwie, pokryta niebieskim, woskowym nalotem. Ma kształt kubkowaty, owalny lub walcowato-elipsoidalny. Osiąga długość 1,5 ÷ 2,5 cm i szerokość do 1 cm. Tylko od

---

Dr I. Szot, dr T. Lipa, Katedra Sadownictwa, Wydz. Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu, Uniwersytet Przyrodniczy, ul. Leszczyńskiego 58, 20-068 Lublin, dr B. Sosnowska, Katedra Biotechnologii, Żywności Człowieka i Towaroznawstwa Żywności, Wydz. Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Skromna 8, 20-704 Lublin. Kontakt: szoti@autograf.pl

gatunków *Lonicera kamtschatica* i *Lonicera edulis* pochodzą odmiany o smacznych owocach w typie borówki amerykańskiej czy borówki czernicy. Są soczyste, mają słodko-kwaśny smak. Natomiast owoce z krzewów odmian mających w swym rodowodzie *Lonicera altaica* mogą charakteryzować się wyraźną cierpkością i goryczką. Średnia masa 100 owoców wynosi 115,57 g, jędrność – 198 G/mm, zawartość suchej masy w owocach – 14,64 %, a ekstrakt ogólny – 10,67 %. Kwasowość owoców (w przeliczeniu na kwas cytrynowy) wynosi 2,98 g/100 g, a zawartość cukrów ogółem – 5,50 g/100 g [50].

Celem pracy było przedstawienie aktualnego stanu wiedzy na temat właściwości prozdrowotnych owoców jagody kamczackiej oraz możliwości zastosowania owoców.

### **Składniki owoców jagody kamczackiej o właściwościach prozdrowotnych**

Obserwuje się zainteresowanie owocami gatunków rzadko dotychczas uprawianych lub pozyskiwanych ze środowisk naturalnych, zwłaszcza o ciemnej skórce, charakteryzującymi się działaniem przeciwutleniającym [20; 56]. Szczególnie podkreśla się zdolność naturalnie występujących związków przeciwutleniających do neutralizowania aktywności wolnych rodników. W szerokim znaczeniu przeciwutleniacze obejmują wszystkie rodzaje substancji hamujących reakcje z tlenem lub ozonem, względnie działających pośrednio poprzez wiązanie niektórych prooksydantów [9]. Wśród antyoksydantów występujących w roślinach szczególną rolę przypisuje się związkom fenolowym. Polifenole są to wtórne metabolity roślinne o bardzo zróżnicowanej strukturze, masie cząsteczkowej i właściwościach fizycznych, biologicznych i chemicznych. Ze względu na strukturę podstawowego szkieletu węglowego wyróżniono cztery grupy związków fenolowych: fenolokwasy, flawonoidy, stilbeny i lignany [36]. Fenolokwasy w roślinach występują głównie w formie związanej, jako składowe lignin i tanin hydrolizujących, w postaci estrów oraz glikozydów. Kwasy hydroksycynamonowe występują najczęściej w połączeniach estrowych, podczas gdy kwasy hydroksybenzoesowe są obecne w roślinach głównie jako glikozydy. Zdolność grupy karboksylowej do odbierania elektronu ma niekorzystny wpływ na właściwości donorowe hydroksybenzoesanu, dlatego też pochodne kwasu cynamonowego są bardziej efektywnymi przeciwutleniaczami niż pochodne kwasu benzoesowego [25]. Wśród różnych gatunków owoców o ciemnej skórce dużą aktywnością przeciwutleniającą i jednocześnie wysoką koncentracją polifenoli, w tym antocyjanów, wyróżniają się owoce jagody kamczackiej. Chaovanalikit i wsp. [4] podają, że owoce jagody kamczackiej są doskonałym źródłem polifenoli, porównywalnym do owoców *Vaccinium*, *Rubus* i *Ribes*. W jagodach stwierdzono dużą ilość polifenoli ogółem (429,8 mg kwasu galusowego w 100 g). W owocach jagody kamczackiej, wśród frakcji fenolowej, wyodrębniono kwas chlorogenowy (0,42 %), kawowy (0,14 %) i ferulowy (0,10 %) [29, 30, 38, 48, 53]. Największą i najbardziej zróżnicowaną grupę związków fenolowych znajdujących się w roślinach

nach stanowią flawonoidy [19, 44]. Występują one jako wolne cząsteczki – aglikony lub w formie związanej z cukrami – glikozydy. W zależności od położenia pierścienia fenolowego i stopnia utleniania pierścienia piranowego flawonoidy podzielono na następujące klasy: flawony, flawanony, flawan-3-ole (katechiny i proantocyjanidyny), izoflawony, antocyjany oraz chalkony [16]. Jusev i Plekhanova [13] dowiedli, że zawartość kwasu chlorogenowego i jego izomerów w dużym stopniu zależy od gatunku i zawiera się w przedziale od 33,10 (*Lonicera caerulea*) do 99,30 mg/100 g (*Lonicera boczkarnikowae*). Natomiast Jurikova i wsp. [12] stwierdzili, że frakcja fenolowa w owocach *Lonicera kamschatica* stanowi około 3,5 % świeżej masy, natomiast w przypadku *Lonicera edulis* – 0,4 ÷ 1,5 %. Pokorna-Jurikova i Matuskovic [39] określili, że jagody *Lonicera edulis* mają więcej antocyjanów (w skórce 9,25 ÷ 17,7 g/kg i w miąższu 1,71 ÷ 9,68 g/l) w stosunku do *Lonicera kamschatica* (w pulpie 8,72 ÷ 15,99 g/kg i soku 0,61 ÷ 6,32 g/l). Plekhanova i wsp. [37] wśród flawonoidów oznaczonych w owocach jagody kamczackiej wyodrębnili: 3-*O*-rutynozyd kwercetyny, 3-*O*-ramnoglukozyd kwercetyny, 7-*O*-rutynozyd luteoliny, 7-*O*-glukozyd luteoliny, diosminy, proantocyjanidyny i katechiny. W owocach jagody kamczackiej Petrova [35] wyodrębniła 47 mg/100 g glikozydów flawonowych, takich jak: luteino-glukozyd (8,2 ÷ 10,3 mg/100 g), luteino-7-*O*-ramnoglukozyd i 5,3 dioksy-4 metoksyrutynozyd. Dużą zawartością rutyny (27 ÷ 48 mg/100 g) charakteryzowały się owoce *Lonicera iliensis* i *Lonicera boczkarnikowae*, jak też różnych form pochodzących od *Lonicera kamschatica*. Kwercetyna w ilościach powyżej 10 mg/100 g występowała tylko w owocach *Lonicera edulis*, a w śladowych ilościach (1,3 ÷ 7,0 mg/100 g) – w różnych formach pochodzących od *Lonicera caerulea* [28]. Flawan-3-ole występują w postaci monomerów (katechin), jak i polimerów (proantocyjanidyn). W owocach jagody kamczackiej przeważają proantocyjanidyny, które występują w ilościach 195 ÷ 772 mg/100 g [38], natomiast katechiny – 122 ÷ 625 mg/100 g [13]. Aczkolwiek w owocach pochodzących od tetraploidalnej *Lonicera caerulea* występuje więcej katechin niż w diploidalnych *Lonicera edulis* i *Lonicera iliensis*. Zawartość flawonoidów w owocach zależy od gatunku i naturalnego miejsca występowania roślin (tab. 1).

Wśród flawonoidów ważną klasę stanowią antocyjany, które są pochodnymi kationu flawyliowego – 2-fenylobenzopiryliowego, który może występować w formie karbonowej lub bardziej rozpowszechnionej – oksoniowej [45]. W produktach naturalnych antocyjany występują najczęściej w postaci mono-, di- lub triglikozydów [46]. Owoce jagody kamczackiej są bogatym źródłem antocyjanów [26], głównie cyjanidyno-3-*O*-glukozydu (79 ÷ 88 %). W znacznie mniejszych proporcjach występują też: cyjanidyno-3-*O*-rutynozyd (1 ÷ 11 %), cyjanidyno-3,5-*O*-diglikozyd (2,2 ÷ 6,4%), peonidyno-3-*O*-glukozyd (2,8 ÷ 4,4 %), peonidyno-3-*O*-rutynozyd (0,3 ÷ 1,3 %) i pelargonidyno 3-*O*-glukozyd (0,2 ÷ 1,0 %) [4]. Mariassyova i wsp. [24] zbadali

Tabela 1. Zawartość flawonoidów w jagodach różnych gatunków z rodzaju *Lonicera*.Table 1. Flavonoids content in berries of different *Lonicera* species.

Gatunek Species	Stanowisko naturalnego wy- stępowania Geographic origin	Zawartość [mg/100 g] / Content [mg/100 g]					
		Wolne katechiny Free catechins	Procyanidyny Procyanidins	Rutyna Rutin	Izokwercetyna Isoquercetin	Kwercetyna Quercetin	7-o Glikozyd luteoliny 7-o Luteolin glucoside
<i>L. caerulea</i>	Kamczatka Kamtschatka	244	400	7,2	9,1	2,8	11,6
	Wyspy Kurylskie Kuril Islands	225	252	8,8	8,8	0	10,0
	Rejon Primorski Primorsky District	625	694	16,6	7,2	0	9,5
	Wschodnie Góry Syan Eastern Sayan Mountains	528	664	0	7	1,0	10,2
	Kirgistan Kyrgyzstan	322	536	8,0	11,1	2,8	6
	Karelia Karelia	302	423	11,0	4,1	0	6,5
<i>L. edulis</i>	Zabajkale Transbaikalia	182	436	11,6	11,9	10,5	0
<i>L. boczkarni- kowae</i>	Rejon Primorski Primorsky District	429	772	27,4	10,8	0	0
<i>L. iliensis</i>	Kazachstan Kazakhstan	122	195	48,6	8,9	0	13,6
<i>L. villosa</i>	Kanada Canada	240	232	7,7	6,2	0	4,7

Źródło: / Source: [12]

owoce *Lonicera edulis* i określili udział poszczególnych antocyjanów: cyjanidyno-3-glikozydu, cyjanidyno-3,5-diglikozydu i peonidyno-3-diglikozydu odpowiednio jako 89 : 4 : 7. Badacze wskazują, że głównymi antocyjanami występującymi w jagodzie kamczackiej są glikozydy i rutynozydy cyjanidyny, peonidyny, delfidyny i pelargonidyny [5]. Antocyjany występują przeważnie w zewnętrznej części owoców i w przypadku jagody kamczackiej stwierdzono, znacznie większą ich zawartość



w skórce (12,28 g/kg) niż w miąższu z sokiem (4,34 g/l). Zawartość antocyjanów w owocach jagody kamczackiej jest porównywalna do zawartości w bzie czarnym odmiany 'Hasberg', aronii odmiany 'Nero' [42], przez co stanowi najbogatsze źródło tych składników wśród owoców gatunków sadowniczych mniej znanych, takich jak: morwa, dereń jadalny i jarzębina [34].

Owoce jagody kamczackiej są też dobrym źródłem witaminy C. Jej zawartość w owocach waha się od 48,4 do 66,1 mg/100 g, w zależności od odmiany i sezonu badań [50].

Miarą właściwości przeciwutleniających owoców jest ich potencjał przeciwutleniający, który zależy od stężenia wszystkich związków przeciwdziałających procesom utleniania oraz aktywność enzymów antyoksydacyjnych [42, 58]. Mechanizm przeciwutleniający jest wielokierunkowy, przy czym podkreśla się zwłaszcza zdolność przeciwutleniaczy do wygaszania wolnych rodników i reaktywnych form tlenu (ROS), które działają niszcząco na struktury komórkowe i tkankowe. Porównanie właściwości przeciwutleniających roślin jest trudne, gdyż badacze stosują różne metody ich oznaczania. Owoce roślin z rodzaju *Lonicera* charakteryzują się wysoką pojemnością przeciwutleniającą przede wszystkim ze względu na dużą zawartość polifenoli, w tym antocyjanów. Owoce jagody kamczackiej (*Lonicera kamtschatica*), wśród owoców z roślin sadowniczych mniej znanych (morwa czarna *Morus nigra*, dereń jadalny (*Cornus mas*), jeżyna (*Rubus fruticosus*), tarnina (*Prunus spinosa*) i jarzębina (*Sorbus aucuparia*), charakteryzują się największą zawartością antocyjanów (8,58 ÷ 19,8 mg/kg) [34]. Gazdik i wsp. [7] potwierdzili, że kwasy fenolowe i flawonoidy decydują o właściwościach przeciwutleniających jagody kamczackiej. Thompson i Chaovanalikit [55] określili, że pojemność wiązania rodników tlenowych (ORAC) owoców jagody kamczackiej (*Lonicera caerulea*) mieści się w zakresie 18 ÷ 104 μmol Troloxu na gram świeżej masy, natomiast aktywność redukcyjna FRAP wynosi 37 ÷ 113 μmol Troloxu na gram świeżej masy, podczas gdy aktywność redukcyjna FRAP owoców takich roślin, jak: borówka brusznica (*Vaccinium vitis-idaea*), borówka czernica (*Vaccinium myrtillus*), malina właściwa (*Rubus idaeus*), poziomka pospolita (*Fragaria vesca*) i żurawina błotna (*Oxycoccus palustris*) zawiera się w przedziale 3,14 ÷ 9,88 mmol na 100 gramów świeżej masy [57].

Skład chemiczny owoców jest uzależniony od cech genetycznych roślin. Zaobserwowano, że owoce odmiany 'Duet' w stosunku do 'Atut' charakteryzują się większą masą i zawartością cukrów, natomiast mniejszą zawartością suchej masy, antocyjanów, witaminy C i kwasowością [51].

### **Czynniki wpływające na zmienność składu chemicznego owoców**

Skład chemiczny owoców może zależeć od terminu zbioru [27], co wykazano w doświadczeniu przeprowadzonym przez Skupień i wsp. [48] na jagodzie kamczac-



kiej odmiany ‘Czarna’ oraz odmianie N o nieustalonym filogenetycznie pochodzeniu. Owoce zbierano kilkakrotnie w miarę dojrzewania, określano masę 100 owoców, mierzono ich jędrność oraz oznaczano zawartość ekstraktu, kwasów, polifenoli i witaminy C. Owoce zbierane później były większe, charakteryzowały się innym składem chemicznym w porównaniu z owocami zbieranymi na początku owocowania. W owocach z późniejszych zbiorów zawartość ekstraktu była większa, natomiast o około 20 % zmniejszyła się kwasowość ogólna. Zaobserwowano też znaczny wzrost zawartości polifenoli w owocach z późniejszych zbiorów. Większa zawartość antocyjanów w owocach dojrzewających na drzewach i bezpośrednio naświetlanych promieniami słonecznymi w porównaniu z owocami zerwanymi wcześniej i dojrzewającymi w magazynach wynika z fotochemicznej natury procesu syntezy antocyjanów. Manach i wsp. [23] zaobserwowali, że zawartość antocyjanów w owocach *Lonicera kamschatica* w ciągu dwóch tygodni dojrzewania wzrosła z 1,08 do 10,38 g/kg.

Na skład chemiczny mogą też wpływać zabiegi uprawowe, takie jak nawadnianie i nawożenie. Chociaż jagoda kamczacka nie jest wymagająca pod względem warunków glebowych, jednak nawożenie dogłębowe lub dolistne wpływa na poprawę wielkości i jakości plonów [50]. Jakość owoców może być ponadto modyfikowana warunkami klimatycznymi panującymi w danym sezonie wegetacyjnym [51]. Badając wpływ temperatury i wielkości opadów na rozwój owoców jagody kamczackiej dowiedziono, że temperatura jest najistotniejszym czynnikiem wpływającym na zawartość składników odżywczych w owocach, ich wzrost, dojrzewanie, a potem trwałość po zbiorze [37]. Skupień i wsp. [47] zauważyli, że wzrost masy, jak też średnicy owoców najintensywniej występowały tuż przed ich zbiorem, gdy temperatura powietrza była wyższa. Ponadto zawartość antocyjanów zależy od cech genetycznych poszczególnych odmian jagody kamczackiej [43].

### **Prozdrowotne właściwości owoców jagody kamczackiej**

Na uwagę zasługuje duża zawartość wspomnianych polifenoli, w tym antocyjanów, które są wchłaniane w żołądku oraz w jelicie cienkim i mają działanie przeciwmiażdżycowe. Wykazano, że produkty bogate w antocyjany korzystnie wpływają na profil lipidowy i zmniejszają stres oksydacyjny [40, 49, 32]. Ponadto antocyjany z owoców jagody kamczackiej mogą wspomagać leczenie chorób oczu, gdyż zmniejszają kruchość naczyń włosowatych, polepszają przepuszczalność śródbłonna, normalizują niektóre dolegliwości wzroku, poprawiają adaptację oka do widzenia po zapadnięciu zmroku. Frakcja antocyjanowa owoców wykazuje specyficzną aktywność w obszarze relacji mikrokrążenie – tkanka. W schorzeniach ocznych, takich jak choroby siatkówki typu wirusowego, jaskra prosta oraz toksyczne niedowidzenie wyciąg z antocyjanów może łagodzić zmiany na poziomie naczyń siatkówki lub zapobiegać zmianom w polu widzenia [52].

Zawarte w jagodzie kamiczackiej antocyjany mają protekcyjne działanie w chorobach nowotworowych, gdyż są bardzo dobrymi czynnikami powodującymi wygaszanie wolnych rodników tlenowych, m.in. tlenu singletowego, anionorodnika ponadtlenowego, rodnika hydroksylogowego [8]. Związane to jest z ich budową chemiczną charakteryzującą się obecnością grup hydroksylogowych w pozycji 3 pierścienia C i w pozycji 3', 4' i 5' w pierścieniu B [41]. Ekstrakty antocyjanów uzyskane z owoców wykazują dużą aktywność antyproliferacyjną w komórkach nowotworowych różnych typów badań *in vitro*. Proliferacja komórkowa jest hamowana dzięki zdolności blokowania przez antocyjany różnych etapów cyklu komórkowego poprzez wpływ na białka regulatorowe (p53, p21, cyklina A), a także przez blokowanie szlaku przekazu sygnału kinazy białkowej aktywowanej mitogenem [59, 10].

Jagoda kamiczacka znajduje szerokie zastosowanie w leczeniu infekcji wirusowych i bakteryjnych. Ponadto, ze względu na właściwości odtruwające, owoce stosuje się przy zatruciach metalami ciężkimi, lekarswami oraz przy leczeniu schorzeń układu krwionośnego. Sokiem owoców można leczyć wrzody i liszaje, natomiast wywar poleca się do płukania jamy ustnej i gardła przy chorobach dziąseł, nieżytach, anginie [15]. Na Syberii i Dalekim Wschodzie dojrzałymi owocami leczy się opuchliny wodne. Jagody są bogate w związki wzmacniające naczynia krwionośne, działają przeciwzapalnie i przeciwsklerotycznie. W najnowszych badaniach potwierdzono także właściwości antyzapalne jagód [33, 11], a także łagodzące przy pokarmowych dolegliwościach alergicznych [21].

### Możliwości wykorzystania owoców jagody kamiczackiej

Dojrzałe owoce można spożywać w stanie świeżym lub też wykorzystywać do produkcji soków, dżemów, nalewek, suszu i mrozonek. Mrożone mogą stanowić dodatek do deserów lodowych. Ze względu na zawartość cennych składników prozdrowotnych owoce jagody kamiczackiej mogą, podobnie jak borówka czernica (*Vaccinium myrtillus*) czy bez czarna (*Sambucus nigra*), stanowić składnik suplementów diety lub produktów leczniczych [17, 18].

Uzyskuje się z nich także naturalny, czerwony barwnik spożywczy. Jest to bardzo cenne, gdyż wzrosło zainteresowanie konsumentów żywnością barwioną jedynie naturalnymi barwnikami. Zmusza to producentów do rezygnowania z barwników syntetycznych i stosowania do barwienia żywności naturalnych barwników, m.in. antocyjanowych. Pewnym utrudnieniem jest niestabilność tego typu barwników. Barwniki wyekstrahowane z *Lonicera caerulea* mogą ulegać rozkładowi pod wpływem światła słonecznego, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Sn<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup> i Cu<sup>2+</sup> [6]. Bąkowska i wsp. [2] dowiedli jednak, że istnieje możliwość stabilizacji antocyjanów za pomocą kopigmentacji z flawonoidami. Przy czym barwnik cyjanidyno-3-*O*-glukozyd, pochodzący z jagody kamiczackiej (*Lonicera kamtschatica*) tworzy bardziej spontanicznie stabilniejsze kompleksy,

w porównaniu z kompleksami tworzonymi z cyjanidyno-3-*O*-rutynozydem z szakłaka (*Rhamnus catharticus* L.) lub z malwidyno-3-*O*-glukozydem z winogron. Różnice te można przypisać innym podstawnikom cukrowym w cząsteczce cyjanidyny. Porównanie kopigmentacji obu cyjanidyn z malwidyno-3-*O*-glukozydem wskazuje, że aglikon silniej wpływa na stabilność kompleksów antocyjan – kopigment niż podstawnik cukrowy. Obecność podstawników metylowych wpływa na większy efekt stabilizujący malwidyny niż cząsteczka glukozy. Bardzo dobre wyniki w stabilizacji barwnika antocyjanowego uzyskano przez kopigmentację flawonów tarczycy bajkalskiej, która wpływa ochronnie na antocyjany w wyłokach i umożliwia uzyskanie barwnika nawet o 1,5-krotnie większej zawartości antocyjanów. Flawony tarczycy bajkalskiej działają ochronnie w miazdze owocowej nie tylko na antocyjany, ale też fenolokwasy. Dodatek flawonów tarczycy wpływa na lepsze zachowanie barwy napojów po przechowywaniu [31]. Dowiedziono, że dodatek cukru, NaCl, kwasu cytrynowego i benzoianu sodu nie wpływa na barwniki występujące w *Lonicera edulis*, dzięki czemu mogą być one wykorzystywane do produkcji artykułów żywnościowych medycznych i w przemyśle kosmetycznym jako naturalny barwnik [6].

### Podsumowanie

Jagoda kamczacka zasługuje na uwagę przede wszystkim ze względu na właściwości prozdrowotne. Owoce o silnym granatowym zabarwieniu charakteryzują się większą zawartością związków fenolowych niż owoce popularnych truskawek i malin. Także przetwory z tych owoców charakteryzują się większą aktywnością przeciwutleniającą w porównaniu z produktami z owoców o mniej intensywnym zabarwieniu skórki i miąższu.

Ze względu na przedstawione zalety jagody kamczackiej, m.in. łatwość jej uprawy, wytrzymałość na mróz zimą i przymrozki wiosną oraz bardzo wczesne dojrzewanie, ma szansę stać się wartościowym surowcem obok innych, np. róży [3] czy cennych roślin sadowniczych mało znanych. Nie bez znaczenia są także walory smakowe jagód i różnorodność ich wykorzystania w przetwórstwie.

### Literatura

- [1] Baranec T., Poláčíková M., Košťál J.: Systematicka botanika 1 vyd. SPU, Nitra 1988, p. 206.
- [2] Bąkowska A., Oszmiański J., Kucharska A.Z.: Charakterystyka parametrów termodynamicznych reakcji kopigmentacji antocyjanów z flawonoidami. Acta Sci. Pol., Technol. Aliment., 2003, **2** (2), 57-65.
- [3] Buchwald W., Zieliński J., Mścisz A., Adamczak A., Mroziakiewicz P.M.: Aktualny stan i perspektywy badań róż owocowych. Herba Polon., 2007, **53** (1), 85-92.
- [4] Chaovanalikit A., Thompson M.M., Wrolstad R.E.: Characterization and quantification of anthocyanins and polyphenolics in blue honeysuckle (*Lonicera caerulea* L.). J. Agric. Food Chem., 2004, **52**, 848-852.

- [5] Cyganova I.: The genus *Lonicera* L. – a valuable genus resource for new crop. Plant Genetic Resources, 1<sup>st</sup> ed.: SPU, Nitra 1993, pp. 99-102.
- [6] Fu L.S., Okamoto H., Kataoka T., Shibata Y.: Color based classification for berries of Japanese Blue Honeysuckles. Int. J. Food Eng., 2011, **7**, 131-135.
- [7] Gazdik Z., Reznicek V., Adam V., Zitka O., Jurikova T., Krska B., Matuskovic J. Plsek J., Saloun J., Horna A., Kizek R.: Use of liquid chromatography with electrochemical detection for the determination of antioxidants in less common fruits. Molecules, 2008, **13**, 2823-2836.
- [8] Grajek W.: Rola przeciwutleniaczy w zmniejszeniu ryzyka wystąpienia nowotworów i chorób układu krążenia. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2004, **1 (38)**, 3-11.
- [9] Gruia M.I., Opera E., Gruia I., Negoita V., Farcasanu I.C.: The antioxidant response induced by *Lonicera caerulea* berry extracts in animals bearing experimental solid tumors. Molecules, 2008, **13**, 1195-1206.
- [10] Hou D.X., Kai K., Li J.J., Lin S., Terahara N., Wakamatsu M., Fuji M., Young M.R., Colbum N.: Anthocyanidins inhibit activator protein 1 activity and cell transformation: structure-activity relationship and molecular mechanisms. Carcinogenesis, 2004, **25**, 29-36.
- [11] Jin X.H., Ohgami K., Shiratori K., Suzui Y., Koyama Y., Yoshida K., Ilieva T., Tanaka T., Onoe K., Ohno S.: Effect of blue honeysuckle (*Lonicera caerulea* L.) extract on lipopolysaccharide-induced inflammation *in vitro* and *in vivo*. Exp. Eye Res., 2005, **82 (5)**, 860-867.
- [12] Jurikova T., Rop O., Mlcek J., Balla S., Szekeres L., Hegedusova A., Hubalek J., Adam V., Kizek R.: Phenolic profile of edible honeysuckle berries (genus *Lonicera*) and their biological effects. Molecules, 2012, **17**, 61-79.
- [13] Jusev A.A., Plekhanova M.N.: Samyje lučšije, 1<sup>st</sup> ed. Vserossijskij Naučno-issledovatel'skij Institute Rastenijevodstva. I. Vavilova: Sankt Peterburg 1997, pp. 120-122.
- [14] Kawecki Z.: Owocodajne drzewa i krzewy chłodniejszych stref klimatycznych. Wyd. UWM, Olsztyn 2005.
- [15] Kawecki Z., Łojko R., Pilarek B.: Mało znane rośliny sadownicze. Wyd. UWM, Olsztyn 2001, pp. 60-65.
- [16] King A., Young G.: Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. J. Am. Diet. Assoc., 1999, **99 (2)** 213-218.
- [17] Kozłowska H., Troszyńska A.: Rola naturalnych substancji nieodżywczych pochodzenia roślinnego jako składników żywności funkcjonalnej. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 1999, **4 (21)** Supl. 63-73.
- [18] Krasnowska G., Sikora T.: Suplementy diety a bezpieczeństwo konsumenta. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2011, **4 (77)**, 5-23.
- [19] Kusznierevich B., Piekarska A., Mrugalska B., Konieczka P., Namiesnik J., Bartoszek A.: Phenolic composition and antioxidant properties of polish blue-berried honeysuckle genotypes by HPLC/DAD- MS, HPLC postcolumn derivatization with ABTS or FC, and TLC with DPPH visualization. J. Agric. Food Chem., 2012, **60**, 1755- 1763.
- [20] Leja M., Mareczek A., Nanaszko B.: Antyoksydacyjne właściwości owoców wybranych gatunków dziko rosnących drzew i krzewów. Rocz. AR Poznań, Ogrodnictwo, 2007, **41**, 327-331.
- [21] Li F., Li H.Q.: Immunoregulatory effects of the *Lonicera aquatic* extract in the ovalbumin-sensitized BALB/c mice. Zhonghua Er. Ke. Za. Zhi., 2005, **43 (11)**, 852-857.
- [22] Lipecki J., Libik A.: Niektóre składniki warzyw i owoców o wysokiej wartości biologicznej. Folia Hort., 2003, **1**, 16-22.
- [23] Manach C., Scalbert A., Morand Ch., Rémésy Ch., Jurnémez L.: Polyphenols: Food resources and bioavailability. Am. J. Clin. Nutr., 2004, **74**, 727-747.

- [24] Mariassyova M., Silhar S., Kovac M.: New sources of anthocyanins. Finland: Agri-Food Quality Management of Fruits and Vegetables, 1<sup>st</sup> ed.; Royal Society of Chemistry-Agricultural Research Centre of Finland, Helsinki 1999, pp. 311-313.
- [25] Mitek M., Gasik A.: Polifenole w żywności. Wpływ na cechy organoleptyczne. Przem. Spoż. 2009, **5**, 34-39.
- [26] Myjavcova R., Marhol P., Kren V., Simanek V., Ulrichova J., Palikova I., Papouskova B., Lemr K., Bednar P.: Analysis of anthocyanin pigments in *Lonicera (caerulea)* extracts using chromatographic fractionation followed by microcolumn liquid chromatography-mass spectrometry. J. Chromatogr. A, 2010, **1217**, 7932-7941.
- [27] Ochmian I., Skupień K., Grajkowski J., Smolik M., Ostrowska K.: Chemical composition and physical characteristics of fruits of two cultivars of blue honeysuckle (*Lonicera caerulea* L.) in relation to their degree of maturity and harvest date. Not. Bot. Hort. Agrobiol., 2012, **40 (1)**, 155-162.
- [28] Orincak J., Matuskovic J., Jurcak S.: Possibilities of species *Lonicera caerulea* in utilization secondary metabolism in food and pharmaceutical processing, 1<sup>st</sup> ed.; SPU, Nitra 2003, pp. 210-219.
- [29] Oszmiański J., Kucharska A., Gasiewicz E.: Usefulness of honeysuckle fruit for juice production. In: Fruit and Vegetable Juices and Drinks – Today and in the XXI Century, Research Institute of Pomology and Floriculture, Skierniewice, Poland, 1999, pp. 252-260.
- [30] Oszmiański J., Souquet J.M., Moutounet M.: Antocyjany owoców borówki kamczackiej. Zesz. Nauk. AR Wrocław, Technol. Żywn., 1995, **8 (273)**, 67-72.
- [31] Oszmiański J.: Stabilizacja i zastosowanie barwnika antocyjanowego aronii do barwienia napojów. Acta Sci. Pol. Technol. Aliment., 2002, **1 (1)**, 37-45.
- [32] Palikova I., Valentova K., Oborna I., Ulrichova J.: Protectivity of blue honeysuckle extract against oxidative human endothelial cells and rat hepatocyte damage. J. Agric. Food Chem., 2009, **57**, 6584-6589.
- [33] Park E., Kum S., Wang C., Park S.Y., Kim B.S., Schuller-Lewis G.: Anti-inflammatory activity of herbal medicines: inhibition of nitric oxide production and tumor necrosis factor-alpha secretion in an activated macrophage-like cell line. Am. J. Chin. Med., 2005, **33 (3)**, 415-424.
- [34] Paulovicová B., Turianica I., Jurikova T., Baloghová M., Matušková.: Antioxidant properties of selected less common fruit species. Lacrari Stiifce Zootehnie Biotech., 2009, **42 (1)**, 608-614.
- [35] Petrova V.P.: Biochimija dikorastuščich plodovo-jagodnych rastenij. 1<sup>st</sup> ed. Golovnoe izdatelstvo objedenija: Kijev, Ukraine, 1986, pp. 260-266.
- [36] Pietta P.G.: Flavonoids as antioxidants. J. Nat. Prod. (Lloydia), 2000, **63**, 1035-1042.
- [37] Plekhanova M.N.: Blue honeysuckle: a new berry crop in Russia. Balsgaard Annual Rep. for 1992-1994. Dept. Hort. Plant Breeding., 1995, pp. 180-182.
- [38] Plekhanova M.N., Streltsina S.A., Rostova N.S.: Phenolic compounds in berries of *Lonicera* subsect. *Caeruleae* (*Caprifoliaceae*) species. Plant Resources, 1993, **29**, 16-25.
- [39] Pokorna-Jurikova T., Matuskovic J.: The study of irrigational value of *Lonicera kamtschatica* – cultivar Gerda 25 and *Lonicera edulis* berries under the Nitra conditions during 2001-2003. Hortic. Sci., 2007, **34 (1)**, 11-16.
- [40] Rassmussen S.E., Fredriksen H., Struntze Krogholm K., Poulsen L.: Dietary pro-anthocyanidins: occurrence, dietary intake, bioavailability and protection against cardiovascular disease. Mol. Nutr. Food. Res., 2005, **49**, 159-174.
- [41] Renis M., Calandara L. Scifo C., Tomasello B., Cardile V., Vanella L., Bei R., Fauci L.L., Galvano F.: Response of cell cycle/stress-related protein expression and DNA damage upon treatment of CaCO<sub>2</sub> cells with anthocyanins. Br. J. Nutr., 2007, **100 (1)**, 1-9.
- [42] Rop O., Mlcek J., Jurikova T., Valsikova M., Sochor J., Reznicek V., Kramarova D.: Phenolic content, antioxidant capacity, radical oxygen species scavenging and lipid peroxidation inhibiting activi-

- ties of extracts of five black chokeberry (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot) cultivars. J. Med. Plants Res., 2010, **4**, 2431-2437.
- [43] Rop O., Reznicek V., Mlcek J., Jurikova T., Balik J., Sochor J., Kramarova D.: Antioxidant and radical oxygen species scavenging activities of 12 cultivars of blue honeysuckle fruits. Hort. Sci., (Prague) 2011, **38** (2), 63-70.
- [44] Seo O.N., Kim G., Park S., Lee J.H., Kim Y., Lee W.S., Lee S.Y., Kim C.Y., Jin J.S., Choi S.K., Shin S.C.: Determination of polyphenol components of *Lonicera japonica* Thunb. using liquid chromatography – tandem mass spectrometry: contribution to the overall antioxidant activity. Food Chem., 2012, **134**, 572-577.
- [45] Sikorski Z. (Red.): Chemia żywności. Składniki żywności. WNT, Warszawa 2002, ss. 401-420.
- [46] Sikorski Z.: Barwniki. Chemiczne i funkcjonalne właściwości składników żywności. WNT, 1996, ss. 414-422.
- [47] Skupień K., Ochmian I., Grajkowski J.: Influence of ripening time on fruit chemical composition of two blue honeysuckle cultigens. J. Fruit Orn. Plant Res., 2009, **17** (1), 101-111.
- [48] Skupień K., Oszmiański J., Ochmian I., Grajkowski J.: Characterization of selected physico-chemical features of blue honeysuckle fruit cultivar Zielona. Pol. J. Nat. Sci., 2007, **4**, 101-107.
- [49] Szajdek A., Borowska J.: Właściwości przeciwutleniające żywności pochodzenia roślinnego. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2004, **4** (41) S, 5-28.
- [50] Szot I., Lipa T.: Influence of betokson super and fertilizers on chemical composition of fruits and leaves of blue honeysuckle. Acta Sci. Pol., Hort. Cult., 2012, **11** (5), 113-126.
- [51] Szot I., Wieniarska J.: Effect of foliar applications of Goëmar® BM 86 and soil applied calcium nitrate on yield and berry quality of two blue honeysuckle cultivars. Acta Sci. Pol., Hort. Cult., 2012, **11** (1), 133-144.
- [52] Svarcova I., Heinrich J., Valentova K.: Berry fruits as a source of biologically active compounds: the case of *Lonicera caerulea*. Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc Repub., 2007, **151** (2), 163-174.
- [53] Terahara N., Sakanashi T., Tsukui A.: Anthocyanins from the berries of Haskaap, *Lonicera caerulea* L. J. Home Econ. Jpn., 1993, **44**, 197-200.
- [54] Thompson M.M., Barney D.L.: Evaluation and breeding of haskap in North America. J. Am. Pomol. Soc., 2007, **61**, 25-33.
- [55] Thompson M.M., Chaovanalikit A.: Preliminary observations on adaptation and nutraceutical values of blue honeysuckle (*Lonicera caerulea*) in Oregon. Acta Horticulturae, 2003, **625**, 65-72.
- [56] Wojdyło A., Jáuregui P.N.N., Carbonell-Barrachina A.A., Oszmiański J., Golis T.: Variability of phytochemical properties and content of bioactive compounds in *Lonicera caerulea* L. var. *kamtschatica* berries. J. Agric. Food Chem., 2013, **61** (49), 12072-12084.
- [57] Witkowska A., Zujko M.E.: Aktywność antyoksydacyjna owoców leśnych. Bromat. Chem. Toksykol., 2009, **3**, 900-903.
- [58] Yen G.G., Chen H.Y.: Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. J. Agric. Food. Chem., 1995, **43**, 27-32.
- [59] Zhang Y., Vareed S.K., Nair M.G.: Human tumor cell growth inhibition by nontoxic anthocyanidins, the pigments in fruits and vegetables. Life Sci., 2005, **76**, 1465-1472.

**BLUE HONEYSUCKLE – HEALTHFUL PROPERTIES OF FRUITS  
AND POSSIBILITIES OF THEIR APPLICATIONS****S u m m a r y**

In the paper, healthful properties of fruits of blue honeysuckle were discussed. Antioxidant properties of those fruits were pointed out. Bioactive substances in the fruits were characterized that show antioxidant properties, especially the phenolic acid, flavonoids, and vitamin C. Correlations between the chemical composition of fruits and their genetic features, climatic factors, and cultivation measures were discussed. It was emphasized that growing edible honeysuckle is easy because of minor habitat requirements, uncomplicated management, steady yielding, and its resistance to pathogens and pests. The advisability of increasing the cultivation of blue honeysuckle plants was justified by showing various possibilities of applying those fruits in the human diet.

**Key words:** antioxidant properties of fruits, little-known fruit plants, bioactive substances 



DOROTA KLUSZCZYŃSKA, WANDA SOWIŃSKA

## WPŁYW PROCESÓW TECHNOLOGICZNYCH NA ZAWARTOŚĆ SUBSTANCJI BIOAKTYWNYCH W OWOCACH BORÓWKI CZERNICY

### Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu procesów technologicznych, takich jak: mrożenie, pasteryzacja, liofilizacja oraz produkcja soku i konfitury na zawartość substancji bioaktywnych w owocach borówki czernicy. Surowe owoce charakteryzowały się zawartością polifenoli średnio na poziomie 543 mg GAE/100 g, co warunkowało ich aktywność przeciwutleniającą (7,7 mmol Troloxu/100 g owoców). Równocześnie surowe owoce w 100 g zawierały 43,7 mg kwasu askorbinowego. Procesy technologiczne wpłynęły na zmniejszenie zawartości związków bioaktywnych w badanych owocach. Najmniejsze straty polifenoli ogółem i witaminy C stwierdzono po procesie mrożenia (odpowiednio: 18 i 11 %), natomiast największe ubytki tych związków wystąpiły podczas produkcji soków (odpowiednio: 64 i 58 %). Także soki charakteryzowały się niską aktywnością przeciwutleniającą (1,94 mmola Troloxu/100 g produktu). Najniższą aktywnością przeciwutleniającą w stosunku do surowca świeżego (po uwzględnieniu wydajności procesu) charakteryzowały się owoce liofilizowane. Z tego względu proces liofilizacji nie jest odpowiednią metodą utrwalania owoców borówki czernicy. Mimo znacznych strat składników bioaktywnych podczas utrwalania i przetwarzania, przetwory z borówki czernicy są dobrym ich źródłem, zwłaszcza gdy uwzględni się sezonowość pozyskiwania owoców.

**Słowa kluczowe:** borówka czernica, związki polifenolowe, kwas askorbinowy, potencjał antyoksydacyjny

### Wprowadzenie

Owoce jagodowe są bogatym źródłem związków bioaktywnych, które wykazują dobroczynne działanie na organizm. Wyniki wielu badań wskazują, że najlepszym źródłem związków o działaniu przeciwutleniającym są owoce roślin dziko rosnących, czego przykładem jest borówka czernica (*Vaccinium myrtillus*). Najważniejszym składnikiem przeciwutleniającym borówki są związki fenolowe, których całkowita

---

*Dr inż. D. Kluszczyńska, mgr inż. W. Sowińska, Katedra Żywności Funkcjonalnej, Ekologicznej i Towaroznawstwa, Wydz. Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa. Kontakt: dorota\_kluszczyńska@sggw.pl*



zawartość w owocach wynosi nawet ok. 30 % suchej masy, z czego 70 % stanowią antocyjany, a w dalszej kolejności (10 %) – pochodne kwasu hydroksycynamonowego. Wśród antocyjanów przeważają takie związki, jak delfinidyna i malwidyna, a spośród fenolokwasów w największej ilości występują: kwas p-kumarowy, hydroksykawowy i 3,4-dimetoksycynamonowy [12]. Badania chemiczne i farmakologiczne przeprowadzone z różnymi frakcjami borówki czernicy wykazały, że dzięki obecności antocyjanów surowiec ten może odgrywać pozytywną rolę w oftalmologii i chorobach pochodzenia naczyniowego. Znaczenie borówki czernicy w schorzeniach związanych z osłabioną fotowrażliwością lub ze zmianami mikrokrążenia w siatkówce udowodniono w wielu badaniach [15]. Występującym w borówce garbnikom przypisuje się działanie zapierające, ściągające i bakteriobójcze. Antybakteryjne działanie owoców jagodowych w głównej mierze związane jest z występowaniem w ich składzie polifenoli. Wykazano, że ekstrakt polifenoli z owoców jagodowych hamuje wzrost takich bakterii, jak: *Salmonella*, *Escherichia*, *Staphylococcus* i *Listeria*. Te właściwości wykazują zarówno owoce świeże, jak i przetworzone [18]. Ze względu na wysoką wartość odżywczą owoce borówki czernicy wykorzystywane są jako środek spożywczy w postaci świeżych owoców, konfitur, marmolad, dżemów, syropów, soków, mrożonek, suszu i wielu innych. Mimo że właściwości smakowe i odżywcze owoców jagodowych należących do rodzaju *Vaccinium* są dobrze poznane i doceniane od wielu lat, to nadal prowadzone są badania mające na celu szczegółowe poznanie składu chemicznego poszczególnych odmian tych owoców, a zwłaszcza zawartości związków polifenolowych, kwasu askorbinowego i ich korzystnego oddziaływania na organizm, wynikającego z ich aktywności przeciwutleniającej [6]. Dostępne dane literaturowe nie wyczerpują tematu wpływu procesu technologicznego na zawartość substancji bioaktywnych i aktywność przeciwutleniającą owoców borówki czernicy.

Celem pracy była ocena wpływu procesów technologicznych, takich jak: liofilizacja, pasteryzacja, mrożenie oraz proces produkcji soku i konfitury na zawartość związków polifenolowych ogółem, witaminy C oraz na aktywność przeciwutleniającą owoców borówki czernicy.

### **Material i metody badań**

Material doświadczalny stanowiły świeże owoce borówki czernicy, zakupione na targowisku w Warszawie. Część owoców mrożono w temp.  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ , w zamrażarce domowej i przechowywano 4 tygodnie, kolejną część po zamrożeniu suszono metodą liofilizacji. Liofilizację prowadzono w temp.  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ , przez 24 h, przy stałym ciśnieniu 63 Pa, stosując urządzenie typu ALPHA 1-4 LSC. Następną próbę stanowiły konfitury otrzymane w warunkach laboratoryjnych, poprzez smażenie w garnku 0,5 kg owoców surowych z cukrem w stosunku wagowym 1 : 1 przez około 25 min. Przygotowano także sok surowy – uzyskany w sokowirówce (Clatronic AE 3465) z wydajnością 76 %

oraz sok pasteryzowany – otrzymany w wyniku pasteryzacji soku surowego w temp. 75 °C w ciągu 15 min (sok pasteryzowano w szklanych zlewkach w łaźni wodnej, a następnie schładzano do oznaczeń). Wszystkie procesy wykonano w 3 powtórzeniach.

W otrzymanych produktach oznaczano zawartość związków polifenolowych ogółem i kwasu askorbinowego oraz określano aktywność przeciwutleniającą.

Związki polifenolowe oznaczano metodą kolorymetryczną, polegającą na przeprowadzeniu reakcji barwnej związków o charakterze polifenoli z odczynnikiem Folina-Ciocalteu'a, a intensywność powstającego zabarwienia mierzono za pomocą spektrofotometru UV-Vis Helios Gamma przy długości fali  $\lambda = 720$  nm. Zawartość związków polifenolowych ogółem wyrażano jako ilość (w mg) kwasu galusowego (GAE) w 100 g badanego produktu [20]. Polifenole ekstrahowano z liofilizatu wodą dejonizowaną.

Oznaczanie zawartości kwasu askorbinowego wykonywano metodą kalorymetryczną, polegającą na odbarwieniu związku: 2,6-dichlorofenoloindofenolu podczas reakcji utleniania kwasu askorbinowego zawartego w materiale badanym do kwasu dehydroaskorbinowego. Następnie spektrofotometrycznie przy użyciu UV-Vis Helios Gamma oznaczano nadmiar barwnika ekstrahowanego ksylenem, przy długości fali  $\lambda = 500$  nm. Ekstrakcję kwasu askorbinowego z badanej próbki prowadzono kwasem szczawiowym i lodowatym kwasem octowym, zgodnie z normą PN-90-A-75101/11 [16].

Aktywność przeciwutleniającą oznaczano metodą kolorymetryczną, polegającą na wygaszaniu syntetycznych kationorodników ABTS+• przez związki o charakterze przeciwutleniaczy, które znajdują się w badanej próbce. Odbarwienie roztworu będące wynikiem reakcji oznaczano za pomocą spektrofotometru UV-Vis Helios Gamma przy długości fali  $\lambda = 734$  nm. Aktywność przeciwutleniającą wyrażano jako mmol Troloxu w 100 g badanego produktu [19].

Analizę statystyczną wyników przeprowadzono przy użyciu pakietu Microsoft Office Excel 2003 i programu komputerowego Statistica v. 8. Za wynik badania przyjmowano średnią wartość oznaczeń. Do oszacowania różnic pomiędzy średnimi zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji. Weryfikacji hipotez dokonywano testem t-Studenta na poziomie istotności  $p < 0,05$ .

## **Wyniki i dyskusja**

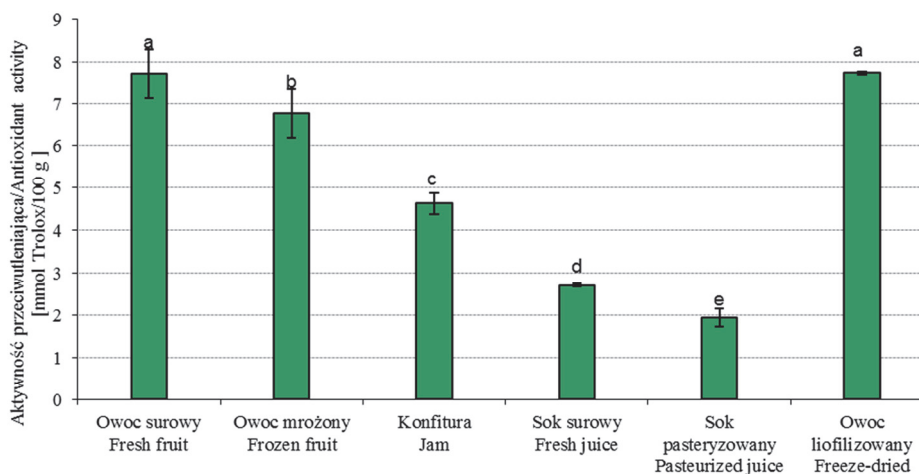
### *Wpływ procesu technologicznego na zawartość związków polifenolowych ogółem w owocach i przetworach z borówki czernicy*

Zawartość związków polifenolowych ogółem w przeliczeniu na kwas galusowy (GAE) w owocach borówki czernicy i w przetworach z niej charakteryzowała się

znacznym zróżnicowaniem (rys. 1). Świeże owoce zawierały polifenole ogółem na średnim poziomie 543 mg GAE/100 g, podczas gdy Giovanelli i Buratti [4] oznaczyli 577 mg tych związków, Prior i wsp. [17] – 525 mg, a Suchorska-Tropiło [22] – 367 ÷ 578 mg. Mniej polifenoli w owocach borówki czernicy oznaczyli Borowska i wsp. [1] – 460 mg kwasu galusowego/100 g owoców surowych, a znacznie więcej – Witkowska i Zujko [30] – 614 mg/100 g oraz Michalczyk i Kuczewski [13] – ok. 680 mg/100 g.

Najwięcej polifenoli ogółem oznaczono w owocach liofilizowanych: 1638,5 mg GAE/100 g produktu. W procesie liofilizacji owoców borówki czernicy uzyskano wydajność 14,4 %. Jest to wartość o ponad 56 % niższa od wartości uzyskanej w owocach niepoddanych żadnej obróbce technologicznej.

Wykazano statystycznie istotne różnice ( $p < 0,05$ ) pod względem zawartości związków polifenolowych ogółem pomiędzy wszystkimi produktami otrzymanymi z borówki czernicy. Polifenole występujące w owocach jagodowych to głównie antocyjany, które są związkami bardzo nietrwałymi. Na ich zawartość w roślinie wpływa wiele czynników, takich jak: sposób uprawy, odmiana, warunki klimatyczne, nasłonecznienie, termin zbioru oraz faza dojrzałości owoców w trakcie zbioru [17]. Różnice w składzie chemicznym borówki czernicy występują nie tylko wśród owoców pochodzących z różnych regionów kraju, ale także w owocach zebranych na jednym jagodniku [23]. Antocyjany znajdują się w zewnętrznych warstwach hipodermu



Objaśnienia: / Explanatory notes:

a - e – 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. Zawartość związków polifenolowych ogółem w owocach i przetworach z borówki czernicy.  
Fig. 1. The total content of polyphenolic compounds.

– magazynowane są w wakuolach w postaci drobnych granulek. Z miąższu owocu można je wydobyć metodami mechanicznymi, np. podczas rozcierania w młynku [25]. Poziom polifenoli ogółem w owocach borówki czernicy mrożonej, oznaczony w badaniach własnych, był o około 18 % niższy w odniesieniu do owoców surowych i wyniósł średnio 448,75 mg GAE/100 g produktu. Potwierdza to obserwację, że w procesie mrożenia odnotowuje się najmniejsze straty antocyjanów. Podobnie Mazur i Borowska [12] w badaniach wpływu mrożenia owoców żurawiny na zawartość polifenoli określiły straty tych związków na poziomie ok. 10 %, w przeliczeniu na suchą masę, natomiast po procesie liofilizacji ich zawartość była o połowę mniejsza. W badaniach własnych proces liofilizacji (po uwzględnieniu wydajności tego procesu, wynoszącej 14,4%) spowodował 56-procentowy ubytek polifenoli w owocach borówki czernicy, można więc przyjąć, że w wyniku tego procesu straty polifenoli są znaczne i kształtują się na poziomie ok. 50 %. Wskazuje to na małą stabilność związków fenolowych w owocach poddanych liofilizacji. Także Mazur i Borowska [12] potwierdziły ponad 50-procentowe straty polifenoli po poddaniu owoców żurawiny procesowi liofilizacji.

Konfitura borówkowa wyprodukowana w warunkach laboratoryjnych zawierała 347,60 mg związków polifenolowych w przeliczeniu na kwas galusowy w 100 g produktu, wobec czego straty związków polifenolowych ogółem wyniosły 36 % w odniesieniu do owoców surowych (z uwzględnieniem rozcieńczenia produktu dodatkiem cukru). Podobne obserwacje dotyczą borówki czernicy w badaniach Witkowskiej i Zujko [27] – zawartość polifenoli w świeżych owocach wynosiła 614 mg/100 g, natomiast w dżemach jagodowych było ich niemal o połowę mniej – 323 mg/100 g. Taką samą zawartość polifenoli – 323 mg/100 g – oznaczyli Mirończuk-Chodakowska i wsp. [14] w dżemie borówkowym niskosłodzonym.

Stosunkowo niski wynik otrzymano w przypadku soku surowego z borówki czernicy – 193,8 mg GAE/100 g produktu. Jest to o 64 % mniej od zawartości polifenoli w owocach surowych. Malik i wsp. [11] otrzymali wynik ponad dwukrotnie wyższy – 478 mg GAE/100 g soku surowego. Tak duże rozbieżności mogą wynikać ze sposobu otrzymywania soku. W badaniach własnych sok otrzymywano w sokowirówce, bez żadnej dodatkowej obróbki owoców, co spowodowało powstanie znacznej ilości wycieków z miąższu i skórek, a tym samym straty polifenoli. Należy zaznaczyć, że polifenole gromadzą się w zewnętrznej części owoców jagodowych, a w szczególności w ich skórce [5], dlatego w przypadku soku pozyskanego sokowirówką większość tych cennych związków pozostała w wyciekach. Oprócz związków fenolowych pozostałych w wyciekach, może też zachodzić ich degradacja w trakcie procesu otrzymywania soku przez działanie enzymów endogennych tj. oksydazy polifenolowej oraz peroksydazy. Stosunkowo mała zawartość tych związków w produkcie, w porównaniu z surowcem, mogłaby być zwiększona poprzez modyfikację metod uzyskiwania soku [21].

Sok pasteryzowany z borówki czernicy zawierał jedynie 122,65 mg GAE/100 g produktu. Ścibisz i wsp. [26] wykazali, że zawartość polifenoli w pasteryzowanym soku z owoców borówki wysokiej zmniejszyła się o 30 % w stosunku do soku świeżego. Z uwagi na dużą labilność, związki polifenolowe ulegają znacznej degradacji pod wpływem podwyższonej temperatury [11]. Po przeliczeniu zawartości polifenoli ogółem na porcję produktu zwyczajowo spożywano przez konsumentów (tab. 1) stwierdzono, że najwięcej polifenoli dostarczała organizmowi porcja owoców surowych, następnie mrożonych i kolejno w postaci soków surowych. Porcja soku surowego z borówki czernicy dostarczała 71 % związków polifenolowych ogółem w stosunku do owoców surowych. Najmniej polifenoli było w porcjach konfitur oraz owoców liofilizowanych.

Tabela 1. Zawartość polifenoli ogółem w zwyczajowo spożywanej porcji owoców i przetworów z borówki czernicy.

Table 1. Content of total polyphenols in commonly consumed servings of bilberry fruits and preserves.

Borówka czernica / Bilberry	Porcja / Serving [g]	Polifenole ogółem Total polyphenols [mg GAE/porcję produktu] [mg GAE / product serving]
Surowa / Fresh	100	543,65
Mrożona / Frozen	100	441,94
Konfitura / Jam	30 <sup>1</sup>	104,28
Sok surowy / Fresh Juice	250 <sup>2</sup>	387,56
Sok pasteryzowany / Pasteurized Juice	250 <sup>2</sup>	245,3
Liofilizowana / Freeze-dried	10 <sup>3</sup>	163,85

Objaśnienia: / Explanatory notes:

<sup>1</sup> porcja konfitury zużyta na dwie kromki chleba / jam serving consumed on two slices of bread;

<sup>2</sup> 1 szklanka soku / glass of juice;

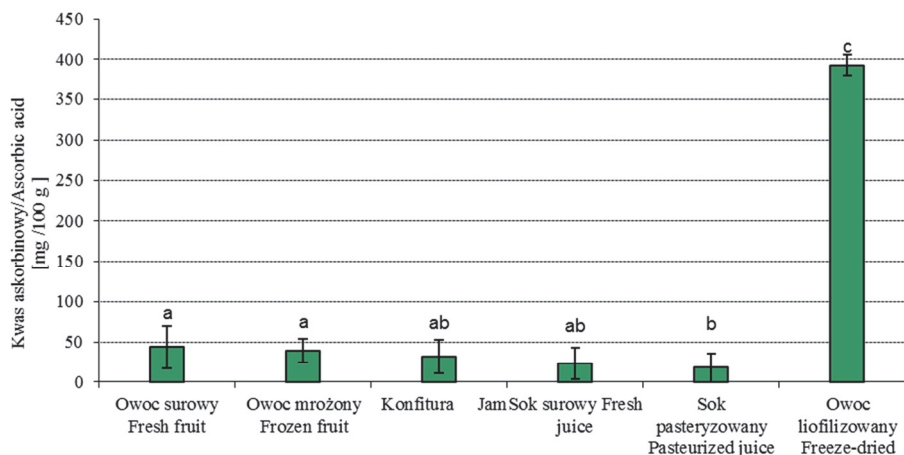
<sup>3</sup> przykładowa ilość owoców liofilizowanych spożywana w porcji musli / model amount of freeze-dried fruits consumed in one muesli serving

#### *Wpływ procesu technologicznego na zawartość kwasu askorbinowego w owocach i przetworach z borówki czernicy*

W przypadku zawartości kwasu askorbinowego w owocach borówki czernicy wystąpiły znaczne różnice między wynikami badań własnych i danymi literaturowymi. Surowe owoce zawierały 43,7 mg tego kwasu w 100 g produktu. W Tabelach składu i wartości odżywczej żywności [9] podana zawartość tego składnika w borówkach to

14,7 mg/100 g. Różnice wyników spowodowane mogą być zastosowaniem odmiennych metod analitycznych.

Najwięcej kwasu askorbinowego zawierały owoce liofilizowane – 392,1 mg/100 g produktu, a mrożone – 38,9 mg/100 g. Zawartość kwasu askorbinowego w konfiturze z borówki czernicy wynosiła: 31,9 mg/100 g. Najmniejszą zawartością kwasu askorbinowego cechowały się soki surowy i pasteryzowany, odpowiednio: 23,1 i 18,1 mg/100 g przetworu.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

a,b,c – 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. Zawartość kwasu askorbinowego w owocach i przetworach z borówki czernicy.

Fig. 2. Content of ascorbic acid in bilberry fruits and preserves.

Pod względem zawartości kwasu askorbinowego istotne różnice wystąpiły pomiędzy owocami mrożonymi a sokiem pasteryzowanym oraz pomiędzy owocami liofilizowanymi a innymi przetworami z borówki czernicy. Zawartość kwasu askorbinowego w mrożonych borówkach była o 11 % mniejsza od jej zawartości w owocach surowych. Powszechnie uważa się, że proces zamrażania (temp.  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) prowadzi do strat witaminy C od 10 do 50 % w stosunku do jej zawartości w owocu surowym. Witamina C jest bardzo nietrwała w roztworach wodnych, łatwo ulega rozkładowi pod wpływem pH, temperatury (termolabilność witaminy C rośnie wraz ze wzrostem temperatury), a także obecności tlenu i niektórych metali. Kwas askorbinowy wykazuje pewną odporność na wysoką temperaturę w warunkach beztlenowych, natomiast w takich warunkach kwas dehydroaskorbinowy jest mniej trwały, co tłumaczy straty witaminy C w czasie ogrzewania [7]. Według Cendrowskiego i wsp. [2] zawartość kwasu askorbinowego w dżemie z borówki wysokiej bezpośrednio po wyprodukowa-



niu wynosiła 8,9 mg/100 g, co stanowiło ok. 30-procentowe zmniejszenie zawartości tej witaminy w stosunku do surowca świeżego. W badaniach własnych straty kwasu askorbinowego, rzędu 26 %, zaobserwowano w konfiturze w stosunku do surowca. Największe jednak ubytki kwasu askorbinowego wystąpiły w soku pasteryzowanym (58 %) w stosunku do owocu surowego. Mniejsze straty dotyczyły soku surowego z borówki czernicy (47 %).

Po przeliczeniu zawartości kwasu askorbinowego na przykładową porcję produktu spożywaną przez konsumentów (tab. 2), najkorzystniejszą zawartością tego związku charakteryzowały się soki surowe. Wartości otrzymane w porcjach soków surowych zdecydowanie przewyższały ilości kwasu askorbinowego zawarte w porcji owoców surowych i mrożonych. Owoce liofilizowane, mimo małej porcji spożywanej zwyczajowo, dostarczały dużo witaminy C. Najmniej istotnym źródłem omawianego związku były konfitury.

Tabela 2. Zawartość kwasu askorbinowego w zwyczajowo spożywanej porcji owoców i przetworów z borówki czernicy.

Table 2. Content of ascorbic acid in commonly consumed serving of bilberry fruits and preserves.

Borówka czernica / Bilberry	Porcja Serving [g]	Kwas askorbinowy Ascorbic acid [mg/porcję produktu] [mg/product serving]
Surowa / Fresh	100	43,68
Mrożona / Frozen	100	38,96
Konfitura / Jam	30	9,58
Sok surowy / Fresh Juice	250	57,8
Sok pasteryzowany/ Pasteurized Juice	250	45,32
Liofilizowana / Freeze-dried	10	39,21

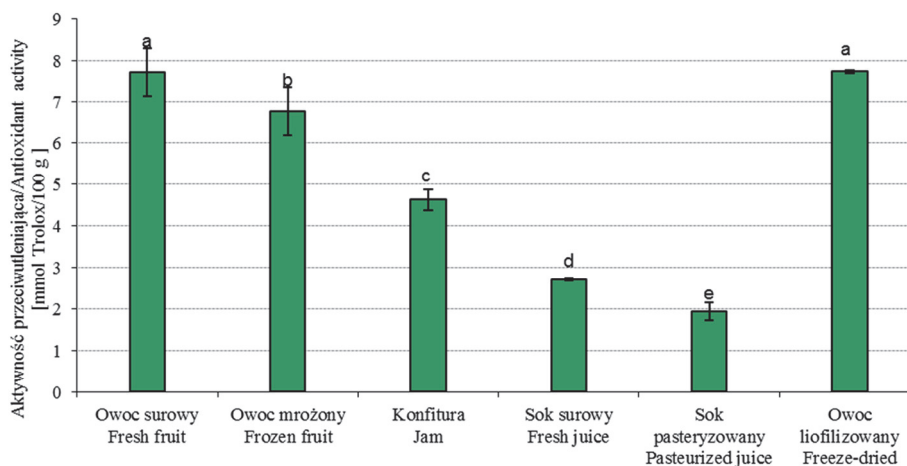
Objaśnienia jak pod tab. 1. / Explanatory notes as in Tab. 1.

#### *Wpływ procesu technologicznego na aktywność przeciwutleniającą owoców i przetworów z borówki czernicy*

Owoce borówki czernicy są bogatym źródłem polifenoli, a szczególnie antocyjanów. Tym samym charakteryzują się wysoką aktywnością przeciwutleniającą. Aktywność świeżych owoców borówki czernicy może wynosić od 3,8 do 5,5 mmol Troloxu/100 g produktu [8]. Według danych literaturowych aktywność przeciwutleniająca różnych odmian borówek może wynosić od 1,9 do 13,1 mmol Troloxu/100 g produktu [7]. Szajdek i wsp. [25] podają aktywność przeciwutleniającą świeżych owoców borówki czernicy na średnim poziomie 4,46 mmol Troloxu/100 g, a Giovanelli i Buratti [4] – 10,79 mmol Troloxu/100 g produktu.

Właściwości przeciwutleniające świeżych owoców mogą ulec znacznemu zmniejszeniu podczas ich przetwarzania. Jest to związane z niestabilnością związków polifenolowych, zwłaszcza antocyjanów, wynikającą z destrukcyjnego wpływu na nie procesów technologicznych prowadzonych zwłaszcza w podwyższonej temperaturze [10].

Zbliżone wartości aktywności przeciwutleniającej (różnice nieistotne statystycznie,  $p > 0,05$ ) oznaczono w owocach borówki czernicy surowej i liofilizowanej, odpowiednio: 7,7 i 7,73 mmol Troloxu/100 g. Aktywność przeciwutleniająca borówki czernicy mrożonej była niższa od wartości uzyskanych w owocach surowych i liofilizowanych, osiągnęła bowiem 6,76 mmola Troloxu/100 g produktu. Aktywność przeciwutleniająca konfitury wyniosła 4,63, natomiast soku surowego – 2,71 mmola Troloxu/100 g badanego produktu. Najniższą aktywnością charakteryzował się sok pasteryzowany (1,94 mmola Troloxu/100 g). Wykazano różnice statystycznie istotne ( $p < 0,05$ ) aktywności przeciwutleniającej pomiędzy wszystkimi produktami otrzymanymi z borówki czernicy, z wyjątkiem wymienionego wcześniej liofilizatu, co przedstawiono na rys. 3.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

a - e – 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. Aktywność przeciwutleniająca owoców i przetworów z borówki czernicy.

Fig. 3. Antioxidation activity of bilberry fruits and preserves.

Najniższą aktywnością przeciwutleniającą, w przeliczeniu na surowe owoce borówki czernicy, charakteryzował się liofilizat. W stosunku do owoców surowych straty aktywności przeciwutleniającej wyniosły 85,7 %, co zapewne związane jest z wysokim ubytkiem (56 %) związków polifenolowych w przeliczeniu na surowiec świeży



(z uwzględnieniem wydajności procesu). Podobny poziom zmian aktywności przeciwutleniającej owoców liofilizowanych względem świeżych uzyskano w badaniach żurawiny [12]. Obliczona zależność między zawartością związków polifenolowych a zdolnością wygaszania wolnych rodników pozwala przypuszczać, że istotne znaczenie miały niekorzystne przemiany omawianych związków, zwłaszcza w procesie liofilizacji.

Aktywność przeciwutleniająca konfitury przygotowanej z borówki czernicy była niższa o 39,8 % w stosunku do owocu surowego. Jeszcze mniejszą aktywność przeciwutleniającą stwierdzono w sokach pasteryzowanych – była ona aż o 74,8 % niższa w porównaniu z surowcem. Podczas produkcji soków znaczna część owoców pozostała w wytlókach. Były to głównie pestki i skórki, a te części owoców jagodowych kumulują najwięcej związków polifenolowych, które decydują o poziomie potencjału przeciwutleniającego [5].

Na aktywność przeciwutleniającą w najmniejszym stopniu wpłynęło mrożenie. Po tym procesie aktywność borówki czernicy mrożonej była mniejsza o 12 % w stosunku do owoców surowych.

Tabela 3. Aktywność przeciwutleniająca porcji owoców i przetworów z borówki czernicy.  
Table 3. Antioxidant activity of one serving of bilberry fruits and preserves.

Borówka czernica / Bilberry	Porcja Serving [g]	Aktywność przeciwutleniająca Antioxidation activity [mmol Troloxu/porcję produktu] [mmol Trolox /product serving]
Surowa / Fresh	100	7,70
Mrożona / Frozen	100	6,76
Konfitura / Jam	30	1,39
Sok surowy / Fresh Juice	250	6,75
Sok pasteryzowany / Pasteurized Juice	250	4,85
Liofilizowana / Freeze-dried	10	0,77

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

Otrzymane wyniki przeliczono na ilości produktu spożywanego w zwyczajowych porcjach (tab. 3). Aktywność przeciwutleniająca w przeliczeniu na porcję produktu była najwyższa w owocach surowych i mrożonych oraz w soku niepasteryzowanym. Najniższa aktywność przeciwutleniająca porcji produktu odnosiła się do owoców liofilizowanych.

Aktywność przeciwutleniająca w głównym stopniu uzależniona jest od masy owoców w produkcie oraz od parametrów jednostkowych procesów przetwarzania [24]. Mimo wykazanych strat, przetwory z owoców borówki czernicy są dobrym nośnikiem związków fenolowych o walorach prozdrowotnych w diecie, gdy ze względu na sezonowość świeże owoce borówki czernicy są niedostępne.

### Wnioski

1. Produkty z borówki czernicy charakteryzowały się zróżnicowaną zawartością związków polifenolowych ogółem i kwasu askorbinowego oraz różną aktywnością przeciwutleniającą.
2. Najwyższą aktywnością przeciwutleniającą oraz zawartością polifenoli ogółem i kwasu askorbinowego odznaczały się owoce świeże i mrożone.
3. Zdecydowanie najniższą aktywnością przeciwutleniającą względem surowca świeżego (po uwzględnieniu wydajności procesu) charakteryzowały się owoce liofilizowane, co związane było z największymi stratami związków polifenolowych w tym produkcie. Z tego względu proces liofilizacji nie jest odpowiednią metodą utrwalania owoców borówki czernicy.
4. Mimo znacznych strat składników bioaktywnych, związanych z oddziaływaniem różnych metod utrwalania i przetwarzania, przetwory z owoców borówki czernicy są dobrym ich źródłem, zwłaszcza gdy uwzględni się sezonowość występowania tych owoców.

### Literatura

- [1] Borowska J., Szajdek E., Szajdek A.: Składniki dietetyczne i substancje bioaktywne w owocach aronii, borówki czernicy i porzeczki czarnej. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2005, Supl., 181-184.
- [2] Cendrowski A., Ścibisz I., Mitek M.: Wpływ warunków przechowywania na zawartość hydroksymetylofurfuralu, furfuralu i kwasu askorbinowego w dżemach z owoców jagodowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, **6 (79)**, 155-166.
- [3] Czapski J.: Czynniki wpływające na zawartość przeciwutleniaczy w surowcach roślinnych. W: *Przeciwutleniacze w żywności, aspekty zdrowotne, technologiczne i analityczne*. Red. W. Grajek. WNT, Warszawa 2007, ss. 78-82.
- [4] Giovanelli G., Buratti S. Comparison of polyphenolic composition and antioxidant activity of wild Italian blueberries and some cultivated varieties. *Food Chem.*, 2009, **112**, 903-908.
- [5] Garcia A., Pascual-Teresa S., Santos-Buelga C., Rivas-Gonzalo J.: Evaluation of the antioxidant properties of fruits. *Food Chem.*, 2004, **84**, 13-18.
- [6] Gryszczyńska B., Iskra M., Gryszczyńska A., Budzyń M., Aktywność przeciwutleniająca wybranych owoców jagodowych. *Postępy w Fitoterapii*, 2011, **4**, 265-274.
- [7] Guranowski M., Mitek M. : Pojemność przeciwutleniająca oraz zawartość polifenoli, antocyjanów i kwasu askorbinowego w przechowywanych produktach z czarnej jagody. *Żyw. Czł. Met.*, 2004, **31**, Supl. 2, cz. II.
- [8] Kahkonen M.P., Hopia A.I., Heinonen M.: Berry phenolics and their antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, **49**, 4076-4082.
- [9] Kunachowicz H., Nadolna I., Przygoda B., Iwanow K.: *Tabele składu i wartości odżywczej żywności*. Wyd. Lek. PZWL, Warszawa 2005.

- [10] Lohachoompol V., Szrednicki G., Craske J.: The change of total anthocyanins in blueberries and their antioxidant effect after drying and freezing. *J. Biomed. Biotechnol.*, 2004, **5**, 248-52.
- [11] Malik A., Targoński Z., Stój A.: Aktywność przeciwutleniająca soków z owoców jagodowych w odniesieniu do ogólnej zawartości związków fenolowych. *Żyw. Czł. Met.*, 2004, **31**, Supl. 2, cz. II.
- [12] Mazur B., Borowska E.J.: Produkty z owoców żurawiny błotnej – zawartość związków fenolowych i właściwości przeciwutleniające. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2007, **3**, 239-243.
- [13] Michalczyk M., Kuczewski D.: Zmiany zawartości składników o charakterze prozdrowotnym w przechowywanych sorbetach z owoców jagodowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **4 (83)**, 66-74.
- [14] Mironczuk-Chodakowska I., Zujko M.E., Witkowska A.: Zawartość polifenoli oraz aktywność antyoksydacyjna niektórych przetworów owocowych o znacznym stopniu przetworzenia. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2011, **3**, 905-910.
- [15] Piątkowska E., Kopeć A., Leszczyńska T.: Antocyjany – charakterystyka, występowanie i oddziaływanie na organizm człowieka. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, **4 (77)**, 24-35.
- [16] PN-90-A-75101/11:2009. Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. Oznaczenie zawartości witaminy C.
- [17] Prior R.L., Cao G., Martin A., Sofic E., McEwen J., O'Brien C., Lischner N., Ehlenfeldt M., Kalt W., Krewer G., Mainland C.M.: Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity, and variety of *Vaccinium* species. *J. Agric. Food Chem.*, 1998, **46**, 2686-2693.
- [18] Puupponen-Pimia R., Nohynek L., Alakomi H., Oksman-Caldentey K.: Bioactive berry compounds – novel tools against human pathogens. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2005, **67**, 8-18.
- [19] Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C.: Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.*, 1999, **9-10**, **26**, 1231-1237.
- [20] Roura E., Andres-Lacueva C., Estruch R., Lamuela-Raventos R.M.: Total polyphenol intake estimated by a modified Folin-Ciocalteu assay of urine. *Clinical Chemistry*, 2006, **4**, **53**, 749-752.
- [21] Skrede G., Wrolstad R.E., Durst R.W.: Changes in anthocyanins and polyphenolics during juice processing of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). *J. Food Sci.*, 2000, **65 (2)**, 357-364.
- [22] Suchorksa-Tropiło K., Pióro-Jabrucka E., Brodowska M.: Rośliny z rodziny wrzosowatych jako źródło związków polifenolowych. *Folia Universitatis Agriculturae Stetinensis, Agricultura*, 2004, **240**, **96**, 185-188.
- [23] Szajdek A., Borowska E.: Bioactive compounds and health-promoting properties of berry fruits: a review. *Plant Foods Hum Nutr.* 2008 Dec; **63(4)**, 147-56.
- [24] Szajdek A., Borowska J.: Właściwości przeciwutleniające żywności pochodzenia roślinnego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **4 (41)**, 5-28.
- [25] Szajdek A., Borowska E.J., Czaplicki S.: Effect of bilberry mash treatment on the content of some biologically active compounds and the antioxidant activity of juices. *Acta Aliment.*, 2009, **38 (3)**, 281-292.
- [26] Ścibisz I., Mitek M., Serwinowska K.: Aktywność przeciwutleniająca soków i półkoncentratów otrzymanych z owoców borówki wysokiej (*Vaccinium corymbosum* L.). *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **3 (40)** Supl., 196-203.
- [27] Witkowska A., Zujko M.E.: Aktywność antyoksydacyjna owoców leśnych. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2009, **42**, 900-903.

---

**EFFECT OF TECHNOLOGICAL PROCESSES ON CONTENT OF BIOACTIVE SUBSTANCES IN BILBERRY FRUITS****S u m m a r y**

The objective of the research study was to determine the effect of technological processes, such as freezing, pasteurization, lyophilisation, production of juice and preserve, on the content of bioactive substances in bilberry fruits. The fresh bilberry fruits were characterized by a content of polyphenols amounting to 543 mg GAE/100 g on average, and this content determined their antioxidant activity (7.7 mmol of Trolox / 100 g of fruits). At the same time, the amount of ascorbic acid was 43.7 mg per 100 g of fresh fruits. The technological processes caused the content of bioactive compounds in the fruits analyzed to decrease. The lowest losses in total polyphenolic compounds and vitamin C were reported after the freezing process (18 and 11 %, respectively), whereas the highest losses in those compounds were determined during the production of juices (64 and 58 %, respectively). Moreover, the juices were characterized by a low antioxidant activity (1.94 mmol of Trolox / 100 g of product). The lyophilized fruits were characterized by the lowest antioxidant activity compared to the fresh fruits (with the process efficiency included). Therefore, the lyophilisation process is not a suitable method for the preservation of bilberry fruits. Despite considerable losses in bioactive compounds during the preservation and processing, the bilberry products are a good source of those compounds, especially from the point of view of the seasonality of supply thereof.

**Key words:** bilberry, polyphenolic compounds, ascorbic acid, antioxidant potential 

LUBOMIRA BRONIARZ-PRESS, JACEK RÓŻAŃSKI, SYLWIA RÓŻAŃSKA,  
JOANNA KMIECIK

## WŁAŚCIWOŚCI REOLOGICZNE WARSTWY POWIERZCHNIOWEJ CIECZY WYBRANYCH PIW KOMERCYJNYCH

### Streszczenie

W pracy przedstawiono wyniki badań reologicznych warstw powierzchniowych piw: Dębowe Mocne, Tyskie Gronie, Żywiec oraz Warka Strong w przepływie oscylacyjnym. Uzyskane zależności międzyfazowego modułu zachowawczego  $G_s'$  i międzyfazowego modułu stratności  $G_s''$  w funkcji czasu miały przebieg charakterystyczny dla rozcieńczonych wodnych roztworów białek. We wszystkich użytych w badaniach piwach wartości obu modułów wzrastały, a po pewnym charakterystycznym dla danego rodzaju piwa czasie dochodziło do ich przecięcia na wykresie. Wyniki pomiarów oscylacyjnych świadczą o tym, że w warstwach powierzchniowych piw dochodziło do uformowania się struktury sieciowej. Bardzo długi czas formowania się tej struktury jest dowodem, że w jej tworzeniu ważną rolę odgrywały zawarte w piwach białka. Zaobserwowano także, że najbardziej stabilna piana występowała na powierzchni piwa Żywiec. Zmierzone wartości międzyfazowych modułów  $G_s'$  i  $G_s''$  tego piwa były najwyższe. Wyniki te wskazują, że istnieje związek między właściwościami reologicznymi warstwy powierzchniowej piwa a stabilnością piany.

**Słowa kluczowe:** piwo, właściwości reologiczne, powierzchnia międzyfazowa, warstwa powierzchniowa, piana

### Wprowadzenie

Wśród cech sensorycznych piwa bardzo ważne znaczenie dla konsumentów ma, poza smakiem i zapachem, również wygląd. Cechę tę kształtują przede wszystkim trwałość i stabilność piany na powierzchni napoju, związane w pewnym stopniu z właściwościami reologicznymi cieczy, z której zbudowane zostały ścianki pęcherzyków. Wzrost lepkości błonek spowalnia proces opadania piany.

Zarówno surowce wykorzystywane do produkcji piwa, jak i stosowana technologia, wpływają na stabilność piany w piwie. Największe znaczenie ma sód, ponieważ zawiera wiele związków, które decydują o pienistości piwa, m.in. białka, polifenole, melanoidy, węglowodany oraz oddziałujące niekorzystnie lipidy [11]. Na jakość sładu w znacznym stopniu wpływa jakość stosowanego ziarna jęczmienia, a także proces słodowania. Odpowiednie parametry fizykochemiczne sładu zależą przede wszystkim od odmiany jęczmienia browarnego [22].

Piana w piwie jest stabilizowana głównie przez polipeptydy, które powstają podczas rozkładu białek ziarna jęczmienia w trakcie procesu słodowania oraz podczas procesu produkcji piwa. Zagadnienie związane z rodzajem polipeptydów, które w największym stopniu wpływają na stabilność piany, jest do tej pory tematem spornym [11]. Niektórzy uważają [23], że najważniejszą rolę odgrywają polipeptydy hydrofobowe. Według innych autorów zasadniczą rolę pełnią związki azotowe (białko Z czy LTP1) [8]. Zdaniem Bamfortha [1] oraz Bamfortha i Milani [2] istotna jest proporcja między polipeptydami, które są produktami rozkładu dwóch odrębnych grup białek: albumin i hordein. Do albumin należą białka typu Z oraz LTP1. Białka typu Z to suma białek Z4 oraz Z7. Białka te występują oddzielnie, ale pochodzą z tej samej rodziny. W ziarnie jęczmienia i w słodzie dominuje białko Z4 (około 80 % białka typu Z), stąd najbardziej powszechnym rodzajem białka występującym w piwie jest typ Z. Najprawdopodobniej to właśnie ten typ białka przyczynia się w największym stopniu do modyfikacji właściwości powierzchniowych piwa i stabilności jego piany [3, 8].

Dodatkowo na stabilność piany znaczny wpływ mają związki zawarte w chmielu, przede wszystkim kwasy goryczkowe, zwłaszcza izo- $\alpha$ -kwasy. Wzmocnienie piany następuje poprzez reakcję tych związków z polipeptydami. Im większa ilość zastosowanego chmielu czy produktu chmielowego przeliczonego na zawartość  $\alpha$ -kwasów, tym trwałość piany produkowanego piwa jest większa [11, 16]. Ponadto, istotne są również surowce niesłodowane dodawane do piwa, m.in. ziarno pszenicy, ryżu, owsa czy kukurydzy oraz szczepy drożdży. Stosowana woda nieznacznie wpływa na stabilność piany, jednak wnosi ona do piwa jony metali, które są w pewnym stopniu odpowiedzialne za wzmocnienie wiązań pomiędzy polipeptydami i kwasami goryczkowymi [11].

Kordialik-Bogacka i Antczak [12] podjęły próbę analizy wpływu polipeptydów, polifenoli i  $\beta$ -glukanów na stabilność piany. Autorki nie uzyskały jednoznacznej odpowiedzi, który z tych składników może stabilizować pianę na powierzchni piwa. Czynniki fizykochemiczne odpowiadające za tworzenie i stabilność piany w piwie nie są więc do końca poznane. W przypadku piany powstającej na powierzchni międzyfazowej największy problem sprawia nietrwałość układu, przez co jego właściwości reologicznych nie da się zmierzyć. Z tego powodu analiza jest ograniczona do obserwacji układu dynamicznego. Można jednak założyć, że stężenie substancji determinu-

jącej powstanie piany w błonkach pęcherzyków i na powierzchni międzyfazowej są zbliżone, dlatego do analizy czynników wpływających na jej stabilność wykorzystywane są właściwości reologiczne warstw tuż przy powierzchni międzyfazowej gaz-ciecz.

W literaturze przedmiotu znajdują się informacje dotyczące właściwości reologicznych warstw powierzchniowych kaw rozpuszczalnych, w których pianka powstająca podczas parzenia odgrywa istotną rolę ze względu na walory smakowe [19]. Kilka prac poświęcono właściwościom reologicznym powierzchni międzyfazowej roztworów białek [5, 13, 15]. Z przedstawionych w nich danych wynika, że nawet niewielka ilość białek w roztworze prowadzi do znacznych zmian zachowania się powierzchni międzyfazowej w przepływie ścinającym.

Celem pracy było porównanie właściwości reologicznych ciekłych warstw powierzchniowych czterech wybranych piw komercyjnych produkowanych przez Kompanię Piwowarską S.A. (Dębowe Mocne, Tyskie Gronie) oraz Grupę Żywiec S.A. (Żywiec, Warka Strong Dwusłodowy).

### Material i metody badań

W przypadku badań reologicznych powierzchni międzyfazowej najczęściej wykonywane są pomiary oscylacyjne [21]. Ich zaletą jest jednoczesna możliwość pomiaru właściwości lepkich i sprężystych płynu na granicy faz [7]. Dodatkowo podczas tego typu pomiarów powierzchnia międzyfazowa podlega jedynie nieznacznym zakłóceniom. W przypadku przepływu ścinającego zależność opisująca odkształcenie oscylacyjne powierzchni międzyfazowej przybiera postać [15]:

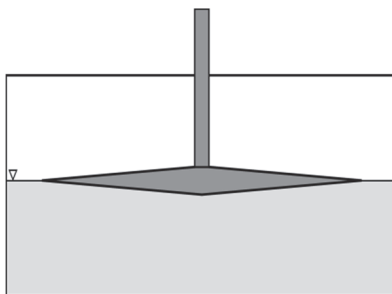
$$G_s^* = G_s' + iG_s'' \quad (1)$$

gdzie:  $G_s^*$  – międzyfazowy moduł zespolony,  $G_s'$  – międzyfazowy moduł zachowawczy i  $G_s''$  – międzyfazowy moduł stratności. Ze względu na to, że odkształcenie powierzchni międzyfazowej odbywa się w dwóch wymiarach, jednostką modułów występujących w równaniu (1) jest Pa·m.

Badania reologiczne powierzchni międzyfazowej prowadzono przy użyciu przystawki Interfacial Rheology System (IRS), przedstawionej schematycznie na rys. 1., współpracującej z reometrem rotacyjnym Physica MCR 501 firmy Anton Paar (Graz, Austria). Pomiar właściwości reologicznych powierzchni międzyfazowej przy użyciu przystawki IRS odbywał się bezpośrednio za pomocą zaostrej krawędzi podwójnego stożka ustawionego na powierzchni międzyfazowej. Stożkowy kształt górnej i dolnej powierzchni elementu pomiarowego umożliwiał korygowanie wpływu lepkości dynamicznej na wyniki pomiarowe. Górna część stożka jest wykorzystywana jedynie w przypadku pomiarów prowadzonych na granicy faz ciecz-ciecz. Badania reologiczne



warstwy powierzchniowej piw prowadzono w przepływie oscylacyjnym. Rejestrowano zmiany międzyfazowego modułu zachowawczego i stratności w funkcji czasu, amplitudy odkształcenia i prędkości kątowej. Pomiarzy międzyfazowego modułu zachowawczego i stratności w funkcji prędkości kątowej ( $\omega \in \langle 0,06 ; 40 \rangle$  rad/s) prowadzono w zakresie lepkości liniowej przy amplitudzie odkształcenia  $e_0 = 1\%$ . Zakres lepkości liniowej ustalono na podstawie testu, w którym rejestrowano zmianę modułów  $G_s'$  i  $G_s''$  przy stałej częstotliwości wynoszącej 1 Hz i zmiennej amplitudzie odkształcenia  $e_0$ . Pomiarzy modułów  $G_s'$  i  $G_s''$  w funkcji czasu prowadzono przy częstotliwości  $f = 1$  Hz i amplitudzie odkształcenia  $e_0 = 1\%$ . Lepkość dynamiczną wyznaczano przy użyciu układu współosiowych cylindrów z podwójną szczeliną dla piętnastu różnych wartości szybkości ścinania w zakresie jej zmienności od  $1 \text{ s}^{-1}$  do  $1000 \text{ s}^{-1}$ . Punkty doświadczalne rejestrowano dla każdej wartości  $\dot{\gamma}$  przez 600 s z częstotliwością 60 s. Do pomiaru równowagowego napięcia powierzchniowego płynu zastosowano tensjometr K9 produkcji Krüss GmbH (Hamburg, Niemcy). W pomiarach zastosowano metodę pierścieniową.



Rys. 1. Schemat układu IRS.

Fig. 1. Schematic diagram of IRS system.

Badaniom poddano piwa: Dębowe Mocne, Tyskie Gronie, Żywiec oraz Warka Strong zakupione w sieci handlu detalicznego na terenie Poznania w 2013 roku. Piwa odgazowywano w sposób mechaniczny przez 20-minutowe przelewanie w zlewkach [20]. Następnie przez 12 h, tj. do czasu rozpoczęcia pomiarów, przetrzymywano je w chłodziarce. Tuż przed badaniem piwa doprowadzano do temp.  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , w której prowadzono pomiary.

Aby określić stabilność piany powstającej na powierzchni piw przeprowadzono eksperyment, w którym analizowano wygląd zewnętrzny powierzchni międzyfazowej. W tym celu stworzono stanowisko pomiarowe składające się ze styropianowego panelu z czterema otworami o średnicy butelek, w których znajdowały się badane piwa w porcjach o objętości 300 ml. Panel przymocowano do dwóch ruchomych desek, za

pomocą których można było dokonywać równomiernego pochylenia czterech butelek. Piwo wypływało z butelek do zlewek. Pianę fotografowano w różnych odstępach czasu.

## Wyniki i dyskusja

W celu skorygowania wyników pomiarów uzyskanych za pomocą przystawki IRS zmierzono lepkość dynamiczną badanych piw. Wykazano, że jej wartość nie zależała od szybkości ścinania i była stała w zastosowanym przedziale czasu ścinania (600 s). Taki przebieg krzywej lepkości wskazuje, że piwa są płynami newtonowskimi [10]. Piwa o większej zawartości ekstraktu i alkoholu (Dębowe Mocne i Warka Strong) charakteryzowały się większą lepkością (tab. 1).

Tabela 1. Lepkość dynamiczna, zawartość ekstraktu i alkoholu w badanych piwach.

Table 1. Dynamic viscosity, contents of extract and alcohol in commercial beers tested.

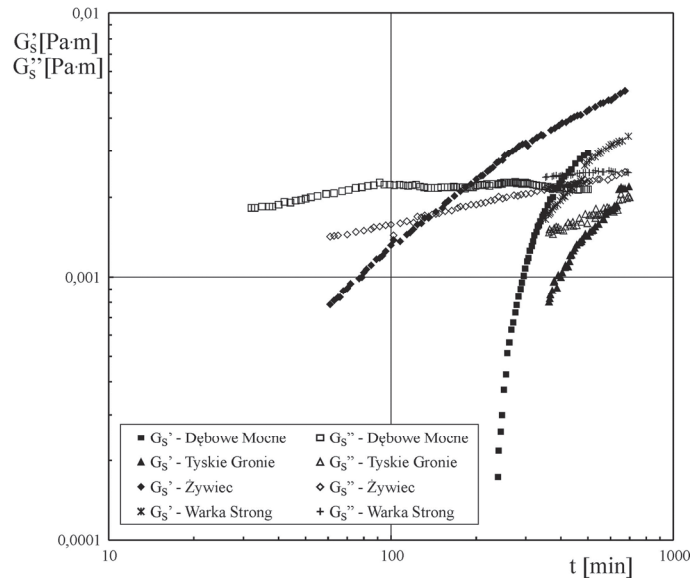
Gatunek piwa Beer styles	Lepkość dynamiczna Dynamic viscosity [mPa·s]	Zawartość ekstraktu Content of extract [° Blg]	Zawartość alkoholu Content of alcohol [% v/v]
Dębowe Mocne	1,696	14,5	7
Tyskie Gronie	1,543	11,7	5,6
Żywiec	1,487	12,5	5,6
Warka Strong	1,575	13,8	6,5

Na rys. 2. przedstawiono zależność międzyfazowego modułu zachowawczego  $G_s'$  i międzyfazowego modułu stratności  $G_s''$  badanych piw w funkcji czasu. Badania przeprowadzono przy zadanej częstotliwości oscylacji 1 Hz i amplitudzie odkształcenia wynoszącej 1 %.

Wartości modułów  $G_s''$  były zdecydowanie wyższe niż  $G_s'$  na początku pomiarów, co świadczy o przewadze właściwości lepkich nad sprężystymi na powierzchni międzyfazowej. Z upływem czasu właściwości te ulegały zmianie i wyższy niż  $G_s''$  był moduł  $G_s'$ , co wskazuje na przewagę właściwości sprężystych nad lepkiemi. O ile jakościowy przebieg omawianej zależności w odniesieniu do wszystkich piw był podobny, to wystąpiły między nimi różnice ilościowe. W przypadku piwa Żywiec zależności  $G_s'$  i  $G_s''$  przecięły się już w 142. min pomiaru, a w przypadku piwa Tyskie Gronie punkt przecięcia krzywych wystąpił najpóźniej, tj. w 606. min pomiaru). Ponadto wyniki pomiarów piwa Tyskie Gronie charakteryzowały się dużym rozrzutem.

Różnice ilościowe w zmierzonych wartościach międzyfazowych modułów  $G_s'$  i  $G_s''$  wynikają z różnic w składzie użytych w badaniach piw. Skład ten nie jest znany, dlatego nie jest możliwe wyjaśnienie zaobserwowanych zmian. Uzyskane wyniki

wskazują jednak, że piwo, które jest płynem newtonowskim, charakteryzuje się powierzchnią międzyfazową o właściwościach lepkosprężystych.



Rys. 2. Zależność  $G_s'$  i  $G_s''$  badanych piw w funkcji czasu  $t$ .

Fig. 2. Correlation between  $G_s'$  and  $G_s''$  in tested beers as a  $t$  function of time.

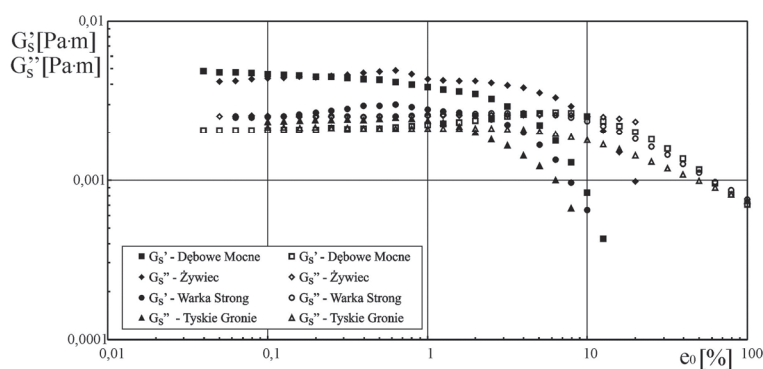
Przebieg zależności  $G_s' = f(t)$  i  $G_s'' = f(t)$  jest analogiczny do przedstawionych w literaturze [4, 5], a odnoszących się do rozcieńczonych wodnych roztworów białek. Jest oczywiste, że wraz z upływem czasu na powierzchni międzyfazowej piwa dochodzi do formowania się struktury sieciowej. Bardzo długi czas formowania się tej struktury jest dowodem na to, że w jej tworzeniu ważną rolę odgrywają białka. Nie do końca wyjaśnione są przyczyny tak długiego czasu formowania się struktury na powierzchni międzyfazowej w roztworze białek. W literaturze [4] podawane są dwa czynniki. Pierwszy to wzrost liczby zaadsorbowanych cząsteczek protein na powierzchni międzyfazowej wraz z upływem czasu, drugim jest liczba powstających między nimi wiązań. Oba wymienione czynniki są zależne od czasu i powiązane ze sobą, gdyż do uformowania się struktury na powierzchni międzyfazowej w wyniku oddziaływań między proteinami konieczne jest osiągnięcie na niej odpowiednio wysokiego stężenia [17]. Pomiary piw przerywano po około 650 min. W zastosowanym przedziale czasu wartości modułów  $G_s'$  i  $G_s''$  nie osiągnęły stabilnej wartości, co świadczy o tym, że struktura powierzchni międzyfazowej nie została w pełni uformowana. Z danych literaturowych [14] wynika, że czas formowania takiej struktury, w zależności od rodzaju białka, może trwać nawet ponad 20 h. Długi czas formowania

się struktury sieciowej na powierzchni międzyfazowej piw wskazuje jednoznacznie, że ważną rolę w tym procesie odgrywają białka, jednak wartości modułów  $G_s'$  i  $G_s''$  będą zależały także od innych składników zawartych w piwie, takich jak polisacharydy czy naturalne surfaktanty, które również mogą oddziaływać z białkami [18].

Więcej informacji na temat mechanicznych właściwości warstw powierzchniowych przy granicy faz można uzyskać z pomiarów zmian międzyfazowych modułów stratności i sprężystości w funkcji częstotliwości oscylacji. Pomiarów takich przeprowadzono na piwach, które uprzednio były poddane ścinaniu oscylacyjnemu przez 10 h przy stałej częstotliwości 1 Hz i amplitudzie odkształcenia  $e_0 = 1\%$ . W celu ustalenia zakresu lepkości sprężystości liniowej przeprowadzono pomiary zmian modułów  $G_s'$  i  $G_s''$  w funkcji amplitudy odkształcenia.

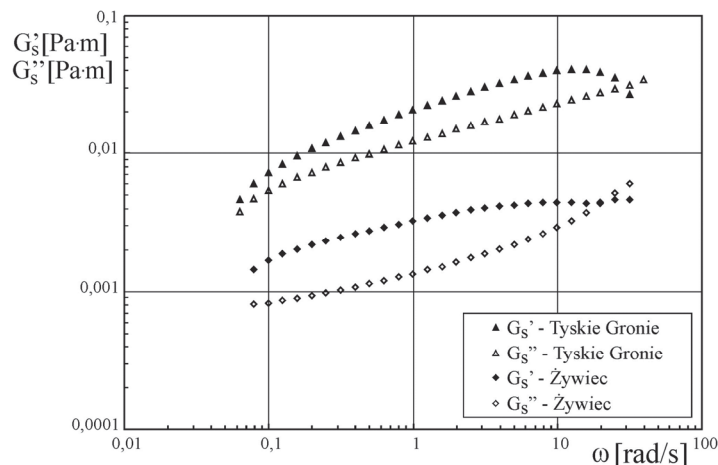
Wyniki tego testu (rys. 3) dowiodły, że moduły  $G_s'$  i  $G_s''$  były w przybliżeniu stałe do wartości amplitudy odkształcenia  $e = 1\%$ . Dla tej wartości amplitudy odkształcenia przeprowadzono pomiary zmian modułów  $G_s'$  i  $G_s''$  w funkcji prędkości kątowej piw Żywiec oraz Tyskie Gronie (rys. 4) W przypadku obu napojów, w szerokim zakresie zmian prędkości kątowej, wartości modułów  $G_s'$  były większe od modułów  $G_s''$ .

Dodatkowo w układzie podwójnie logarymicznym zależności  $G_s' = f(\omega)$  i  $G_s'' = f(\omega)$  w przybliżeniu przebiegają równoległe. Zgodnie z klasyfikacją zaproponowaną przez Clarka i Ross-Murphy'ego [6], taki przebieg może świadczyć o tym, że uformowana struktura na powierzchni międzyfazowej ma właściwości reologiczne zbliżone do słabego żelu fizycznego. Przecięcie na wykresie obu zależności przy stosunkowo wysokich wartościach prędkości kątowej (około 25 rad/s) było najprawdopodobniej wynikiem niszczenia tej struktury.



Rys. 3. Zależność  $G_s' = f(e_0)$  i  $G_s'' = f(e_0)$  w odniesieniu do użytych w badaniach piw.

Fig. 3. Correlation between  $G_s' = f(e_0)$  and  $G_s'' = f(e_0)$  referred to beers in examinations.



Rys. 4. Spektre mechaniczne piw Żywiec i Tyskie Gronie.

Fig. 4. Mechanical spectra of Żywiec and Tyskie Gronie beers.

Pod względem praktycznym istotne jest, czy istnieje zależność pomiędzy właściwościami reologicznymi powierzchni międzyfazowej a stabilnością piany. Analizowane wzrokowo napoje w różnym czasie charakteryzowały się bardziej lub mniej stabilną pianą. Po nalaniu piwa do zlewki najszybciej podnosił się poziom klarownej cieczy w przypadku piwa Warka Strong, a najwolniej – w przypadku piwa Żywiec. Po 10 s piwo Żywiec nadal miało najmniej klarownej cieczy, a zatem najwięcej piany. W pozostałych przypadkach ilość piany na powierzchni cieczy była bardzo podobna. Po 6 min stwierdzono, że najwięcej piany utrzymywało się na powierzchni piwa Żywiec, a pozostałe próbki miały zbliżoną jej ilość. Zmierzone wartości międzyfazowych modułów  $G'$  piwa Żywiec, które charakteryzowało się najbardziej stabilną pianą, były najwyższe, dodatkowo zależności  $G'_s = f(t)$  i  $G''_s = f(t)$  ulegały najszybciej przecięciu na wykresie. Wyniki te mogą wskazywać, że istnieje związek między właściwościami reologicznymi powierzchni międzyfazowej a stabilnością piany.

W tab. 2. przedstawiono wartości równowagowego napięcia powierzchniowego wybranych piw komercyjnych. Piwo Dębowe Mocne i Warka Strong, zawierające większą ilość ekstraktu i alkoholu, charakteryzowały się niższą wartością napięcia powierzchniowego niż piwa Tyskie Gronie i Żywiec, w których zawartość ekstraktu była mniejsza.

Na temat trwałości piany na powierzchni piw znacznie więcej informacji dostarczają pomiary właściwości lepko-sprężystych warstw powierzchniowych cieczy przy granicy faz niż badania napięcia powierzchniowego i wzrokowa ocena piany.

Tabela 2. Napięcie powierzchniowe badanych piw.

Table 2. Surface tension of beers analyzed.

Badane piwo / Analyzed beer	Napięcie powierzchniowe / Surface tension [mN·m]
Dębowe Mocne	43,1
Tyskie Gronie	46,6
Żywiec	45,7
Warka Strong	43,8

### Wnioski

1. Badane piwa komercyjne są płynami newtonowskimi, natomiast warstwy powierzchniowe cieczy przy granicy faz gaz - ciecz mają właściwości lepkosprężyste, co jest wynikiem różnicy stężeń substancji aktywnych na powierzchni piwa i w jego objętości.
2. Istnieje zależność pomiędzy trwałością piany a wartościami modułów  $G_s'$  i  $G_s''$ . W przypadku piwa Żywiec moduły te najszybciej wyrównują się w czasie, co może być związane z największą stabilnością piany.
3. Piwa o większej zawartości ekstraktu i alkoholu charakteryzują się mniejszym napięciem powierzchniowym.

*Praca wykonana w ramach badań statutowych prowadzonych w Politechnice Poznańskiej (nr 32/442/2014 DS-PB.).*

### Literatura

- [1] Bamforth C.W.: The relative significance of physics and chemistry for beer foam excellence: theory and practice. J. Inst. Brew., 2004, **110**, 259-266.
- [2] Bamforth C.W., Milani C.: The foaming of mixtures of albumin and hordein protein hydrolysates in model systems. J. Sci. Food Agric., 2004, **84**, 1001-1004.
- [3] Bamforth C.W., Russell I., Stewart G.C.: Handbook of Alcoholic Beverages Series. Beer: A Quality Perspective. Academic Press, Elsevier, United States 2009.
- [4] Benjamins J., Lucassen-Reynder E.H.: Interfacial rheology of adsorbed protein layers. In: Interfacial Rheology. Eds. by: Miller R., Liggieri L. BRILL, Leiden, 2009, pp. 253-302.
- [5] Bos M.A., Vliet T.: Interfacial rheological properties of adsorbed protein layers and surfactants: a review. Adv. Colloid Interface Sci., 2001, **3 (91)**, 437-471.
- [6] Clark A.H., Ross-Murphy S.B.: Structural and mechanical properties of biopolymer gels. Adv. Polym. Sci., 1987, **83**, 57-192.
- [7] Dziubiński M., Kiljański T., Sęk J.: Podstawy reologii i reometrii płynów. Wyd. Politechniki Łódzkiej, Łódź 2009, pp. 211-215.
- [8] Evans D.E., Bamforth C.W.: Beer foam: achieving a suitable head. Academic Press, Elsevier, United States 2009, pp. 1-60.
- [9] Evens D.E., Hejgaard J.: The impact of malt derived proteins on beer foam quality. Part I. The effect of generation and kilning on the level of protein Z4, protein Z7 and LTP1. J. Am. Soc. Brewing Chem., 1997, **60**, 47-57.

- [10] Khattab I.S., Bandarkar F, Fakhree M.A.A., Jouyban A.: Density, viscosity, and surface tension of water + ethanol mixtures from 293 to 323K. *Korean J. Chem. Eng.*, 2012, **29** (6), 812-817.
- [11] Kordialik-Bogacka E.: Surowce a stabilność piany piwa. *BMP Agro Przemysł*, 2005, **3**, 33-35.
- [12] Kordialik-Bogacka E., Antczak N.: Prediction of beer foam stability from malt components. *Czech J. Food Sci.*, 2011, **29** (3), 243-249.
- [13] Krägel J., Derkatch S.R.: Interfacial shear rheology. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, 2010, **4** (15), 246-255.
- [14] Krägel J., Derkatch S.R.: Interfacial shear rheology – an overview of measuring techniques and their applications. In: *Interfacial Rheology*. Eds. by: Miller R., Liggieri L. BRILL, Leiden, 2009, pp. 373-420.
- [15] Krägel J., Derkatch S.R., Miller R.: Interfacial shear rheology of protein – surfactant layers, *Adv. Colloid Interface Sci.*, 2008, **1-2** (144), 38-53.
- [16] Lusk L., Ting P., Goldstein H., Ryder D., Navarro A.: Foam tower fractionation of beer proteins and bittering acid. *Proc. Eur. Brew. Conv. Symp. Beer Foam Quality*, Amsterdam 1988, pp. 166-187.
- [17] Murray B.S., Dickinson E.: Interfacial Rheology and the Dynamic Properties of Adsorbed Films of Food Proteins and Surfactants. *Food Sci. Technol. Int.*, 1996, **2** (3), 131-145.
- [18] Patino J.M.R., Pilosof A.M.R.: Protein-polysaccharide interactions at fluid interfaces. *Food Hydrocoll.*, 2011, **25**, 1925-1937.
- [19] Piazza L., Gigli J., Bulbarello A.: Interfacial rheology study of espresso coffee foam structure and properties. *J. Food Eng.*, 2008, **3** (84), 420-429.
- [20] Smith P.A., Marinelli L.J.: Evaluation of Established Methods of Decarbonating Beer. *American Society of Brewing Chemists*, 1992, pp. 102-105.
- [21] Sosnowski T.: Analiza reologiczna procesów dynamicznych na powierzchni międzyfazowej ciecz-gaz, I. Część teoretyczna. *Inż. Chem. Proc.*, 2003, **1** (24), 93-101.
- [22] Szwed Ł., Błazewicz J., Zembold-Guła A., Pelak M., Dawidowicz A.: Wpływ frakcjonowania i czasu słodowania ziarna jęczmienia na liczbę Kolbacha słodów oraz zawartość wolnego azotu alfa-aminokwasowego w brzezczkach. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, **6** (67), 119-128.
- [23] Yokoi S., Yamashita K., Kunitake N., Koshino S.: Hydrophobic beer proteins and their function in beer foam *J. Am. Soc. Brewing Chem.*, 1994, **52** (3), 123.

## RHEOLOGICAL PROPERTIES OF LIQUID SURFACE LAYER IN SELECTED COMMERCIAL BEERS

### S u m m a r y

In the paper, the results are presented of a rheological examination of surface layers of the Dębowe Moczne, Tyskie Gronie, Żywiec, and Warka Strong beers in an oscillatory flow. The obtained interfacial correlations between the interfacial storage modulus  $G_s'$  and interfacial loss modulus  $G_s''$ , expressed as a function of time, had a form characteristic for diluted aqueous protein solutions. For all the beers examined, the values of the two moduli increased and, after some time, that was characteristic for the given type of beer, intersected at one point on the graph. The results of oscillatory measurements prove that a network structure was formed in the surface layers of the beers examined. A very long time necessary for that structure to form proves that the proteins in beer played an important role in forming the structure. Furthermore, it was found that the most stable froth foam occurred on the surface of the Żywiec beer. The values of the measured values of the  $G_s'$  and  $G_s''$  interfacial moduli were the highest. Those results show that there is a correlation between the rheological properties of the liquid surface layer and the stability of the beer froth foam.

**Key words:** beer, rheological properties, interfacial surface, liquid surface layer, froth foam 



URSZULA K. RAFALSKA, ANNA KAMIŃSKA-DWÓRZNICKA

## WPLYW DODATKU WYBRANYCH BIOPOLIMERÓW NA PARAMETRY PROCESU ZAMRAŻANIA MODELOWEGO ROZTWORU SACHAROZY

### Streszczenie

Celem pracy było porównanie wpływu dodatku  $\kappa$ -karagenu i jego hydrolizatów oraz białka typu AFP III, ograniczającego krystalizację lodu, na przebieg procesu zamrażania modelowych roztworów sacharozy.

Badaniom poddano próbki 30-procentowych roztworów sacharozy bez i z dodatkiem wymienionych substancji ochronnych, zamrożone w temperaturze  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  za pomocą kriostatu. Wykazano, że najdłużej zamrażały się próbki z dodatkiem białka AFP III. W porównaniu z próbkami bez dodatków wydłużeniu uległa faza ich domrażania, natomiast czas przemiany fazowej uległ skróceniu o 12 min. Próbki z dodatkiem hydrolizatów  $\kappa$ -karagenu zamrażały się krócej niż próbki z dodatkiem samego  $\kappa$ -karagenu. Czas ten był jednak identyczny jak podczas zamrażania próbek bez dodatku biopolimerów. Jednocześnie drugi etap, czyli czas domrażania próbek zawierających hydrolizaty, uległ wydłużeniu o 30 min w stosunku do czasu domrażania próbek bez dodatku biopolimerów oraz o 20 min w stosunku do próbek z dodatkiem karagenu. Dodatek hydrolizatów, podobnie jak dodatek samego  $\kappa$ -karagenu, wpłynął na skrócenie czasu przemiany fazowej o ok. 80 %. Każda z użytych substancji wpłynęła na podwyższenie temperatury krioskopowej o ponad  $1\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

**Słowa kluczowe:** czas zamrażania,  $\kappa$ -karagen, hydrolizaty  $\kappa$ -karagenu, białko typu AFP III, temperatura krioskopowa, krzywe mrożenia

### Wprowadzenie

Powszechną metodą utrwalania żywności jest zamrażanie, będące procesem obniżania temperatury produktu poniżej temperatury krioskopowej (początkowa temperatura przemiany fazowej wody w lód). Interpretacją graficzną tego procesu są tzw. krzywe

---

*Mgr inż. U. K. Rafalska, Samodzielny Zakład Techniki w Żywieniu, Wydz. Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, dr inż. A. Kamińska-Dwórznička, Katedra Inżynierii Żywności i Organizacji Produkcji, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa. Kontakt: urszula\_ulanicka@sggw.pl*

mrożenia, których kształt zależy nie tylko od wybranej metody zamrażania, ale także od właściwości zamrażanego produktu (skład chemiczny, kształt i wielkość cząsteczek). Na ich podstawie proces zamrażania można podzielić na trzy etapy: schładzanie, w trakcie którego dochodzi do przechłodzenia układu, właściwe zamrażanie, podczas którego powstają zarodki kryształów lodu oraz dalsze formowanie się struktury kryształów lodu zachodzące w czasie domrażania [9, 21].

Tworzenie się struktury krystalicznej spowodowane jest oddawaniem przez zamrażany układ dużej ilości energii (ok. 335,2 kJ/kg), w wyniku którego dochodzi do zminimalizowania ruchów molekularnych cząsteczek wody lub roztworu. Woda, zmieniając swój stan skupienia, tworzy kryształy w formie heksagonalnej, co jest charakterystyczne dla powolnego procesu zamrażania. Z kolei szybkie zamrażanie wpływa na tworzenie się kryształów o nieregularnym kształcie, np. dendrytów lub form kulistych [9, 23]. Z tworzeniem się kryształów lodu oraz przechowywaniem produktów mrożonych związane jest występowanie niekorzystnego dla jakości mrozonek zjawiska rekrytalizacji. Zachodzi ono w warunkach powodujących wahania temperatury, w wyniku których dochodzi do częściowego rozmrożenia i ponownego zamrożenia produktu. Powstająca w ten sposób frakcja wody przemieszcza się do istniejących kryształów lodu, powodując ich wzrost. Poprzez zmiany w strukturze zamrożonego produktu wpływa na pogorszenie jego cech sensorycznych [1, 11, 13, 18, 20, 25].

Sposobem na zmniejszenie skutków rekrytalizacji jest zastosowanie substancji ochronnych. Mechanizm ich działania opisują: hipoteza „lodowego moderatora” oraz „wody strukturalnej” Karrowa i Webba [16, 20]. Do substancji ochronnych należą hydrokoloidy polisacharydowe oraz białka typu AFP (ang. *Antifreeze proteins*). Karageny są substancjami wielkocząsteczkowymi pozyskiwanymi w procesie ekstrakcji z wodorostów. Związki te charakteryzują się właściwościami funkcjonalnymi, jak: rozpuszczalność w wodzie, zdolność żelowania oraz emulgowania i właściwości stabilizujące, które kształtują cechy reologiczne oraz teksturalne żywności [2, 3, 24]. AFP jest białkiem wyizolowanym ze skóry, surowicy krwi lub wątroby ryb arktycznych. Nietypowe źródło pochodzenia oraz sposób pozyskania jest przyczyną bardzo wysokiej ceny tej substancji. Wyróżniono cztery rodzaje nieglikoproteinowych białek AFP: I, II, III i IV [4, 5, 6, 9, 12, 22]. Białkiem zapobiegającym krystalizacji lodu jest AFP III. Związek ten charakteryzuje się bardzo małą masą cząsteczkową, lecz pomimo tego wykazuje działanie krioprotekcyjne przy bardzo małym stężeniu. Model hamowania wzrostu kryształów lodu, opisany przez Wena i Laursena [23], przebiega w dwóch etapach. Pierwszy obejmuje łączenie się cząsteczek AFP z powierzchnią powstających zarodków kryształów, wpływając tym samym na tworzenie się kryształów lodu jedynie w przestrzeniach ograniczonych przez cząsteczki AFP. Działanie takie w znaczący sposób przyczynia się do osłabienia struktury kryształów lodu i w konsekwencji do ich rozpadu. Kolejnym etapem blokowania wzrostu kryształów lodu jest izolacja przez

cząsteczki AFP cząsteczek wody od istniejących kryształów, co skutkuje dalszym uniemożliwianiem tworzenia się struktury krystalicznej [15, 23].

Celem pracy było porównanie wpływu dodatku  $\kappa$ -karagenu i produktów jego hydrolizy oraz białka ochronnego AFP III na przebieg krzywej mrożenia roztworu sacharozy w ustalonych warunkach.

### Material i metody badań

Materiałem użytym do badań był 30-procentowy roztwór sacharozy, sporządzony na bazie krystalicznego cukru białego oraz wody destylowanej, bez lub z dodatkiem substancji ochronnych. Kontrolę stężenia roztworów wykonywano przy użyciu refraktometru Pocket Refractometer PAL-3 firmy Atago (Japonia). Roztwory sacharozy w ilości 400 ml zamrażano w aluminiowym, cylindrycznym pojemniku o średnicy 6 cm i wysokości 16 cm. Jako substancji ochronnych, tj. ograniczających nadmierny wzrost kryształów lodu, użyto  $\kappa$ -karagenu, (Fluka; Sigma-Aldrich; USA) w ilości  $7,5 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  roztworu (KK), trzech rodzajów hydrolizatów  $\kappa$ -karagenu w ilości  $7,5 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  roztworu oraz AFP III (Waltham; MA; USA) dodanego w ilości  $0,156 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  roztworu. Karagen i jego pochodne były stosowane w tym samym stężeniu, które wynikało bezpośrednio ze sposobu przygotowania próbek hydrolizatów. Nie należy porównywać stężeń  $\kappa$ -karagenu i jego pochodnych (poli- i oligosacharydów) ze stężeniem białka ochronnego AFP, którego działanie przy takim właśnie stężeniu potwierdzono wcześniejszymi badaniami [15,16, 17].

Hydrolizę  $\kappa$ -karagenu prowadzono przy użyciu HCl lub  $\text{H}_2\text{SO}_4$  przy  $\text{pH} = 3,0$  i w temp.  $60^\circ\text{C}$ . Po upływie określonego czasu ( $\text{H}_2\text{SO}_4$  – 1 i 1,5 h; HCl – 3 h) próbki neutralizowano za pomocą NaOH. Masę molową otrzymanych hydrolizatów wyznaczano przy użyciu chromatografii żelowej SEC (ang. *Size Exclusion Chromatography*). Masa molowa zdegradowanego  $\kappa$ -karagenu po 3-godzinnej hydrolizie kwasem solnym wyniosła  $2,7\cdot 10^6\text{Da}$ , a po 1- i 1,5-godzinnej hydrolizie kwasem siarkowym(VI) odpowiednio:  $7,4\cdot 10^6$  oraz  $3,2\cdot 10^6\text{Da}$ . Wszystkie użyte odczynniki chemiczne pochodziły z firmy Chempur (Polska).

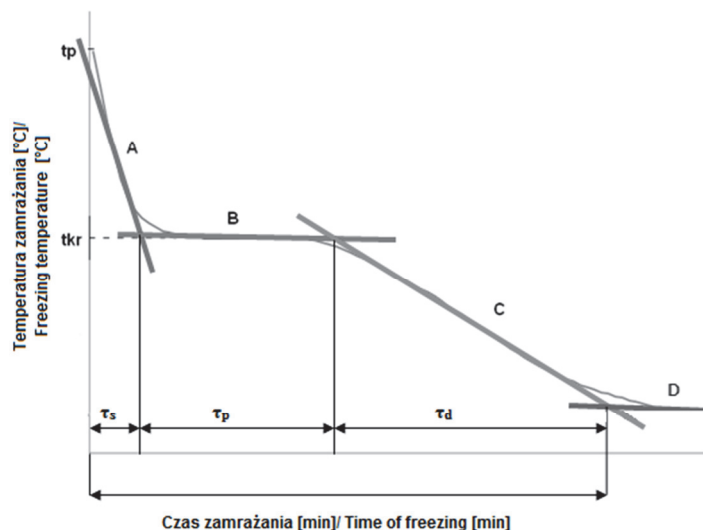
Odpowiednio przygotowane roztwory zamrażano w temp.  $-20^\circ\text{C}$  przy użyciu kriogenicznego aparatu zamrażalniczego HUBER model CC 505 (Niemcy). Proces prowadzono do czasu uzyskania w środku geometrycznym próbek temp.  $-15^\circ\text{C}$ . Temperaturę roztworów rejestrowano co 30 s przy użyciu wielokanałowego termometru cyfrowego (MPI-LAB; Metronic Instruments, Polska) wraz z termoparami firmy Czaki TP-201 (Czaki Termoproducts, Polska) podłączonego do komputera z programem rejestrującym LabVIEW firmy Metronic. Wszystkie pomiary wykonywano w trzech powtórzeniach.

Na podstawie zarejestrowanych zmian temperatury w czasie, w środku geometrycznym próbek, wyznaczano krzywe mrożenia każdego roztworu przy użyciu pro-

gramu Microsoft Office Excel 2007. Na wykresach przeprowadzono cztery linie styczne A, B, C i D do każdego prostoliniowego odcinka (rys. 1). Miejsca przecięcia stycznych, odczytane ze sporządzonych krzywych mrożenia, wyznaczały przybliżony początek i koniec poszczególnych etapów zamrażania. Ponadto od punktów przecięcia się stycznych prowadzono proste prostopadłe do osi odciętych i odczytywano czas trwania każdego z etapów zamrażania. Właściwy całkowity czas zamrażania obliczano z równania [8]:

$$\tau_c = \tau_s + \tau_p + \tau_d \quad (1)$$

gdzie:  $\tau_c$  – właściwy całkowity czas zamrażania [min],  $\tau_s$  – czas trwania schładzania [min],  $\tau_p$  – czas trwania przemiany fazowej [min],  $\tau_d$  – czas trwania etapu domrażania [min].



Objaśnienia: / Explanatory notes:

$t_p$  – temperatura początkowa zamrażanego roztworu / initial temperature of frozen solution;  $t_{kr}$  – temperatura krioskopowa / cryoscopic temperature.

Rys. 1. Sposób wyznaczania poszczególnych czasów trwania etapów zamrażania oraz temperatury krioskopowej.

Fig. 1. Method to determine individual duration times of freezing stages and cryoscopic temperature.

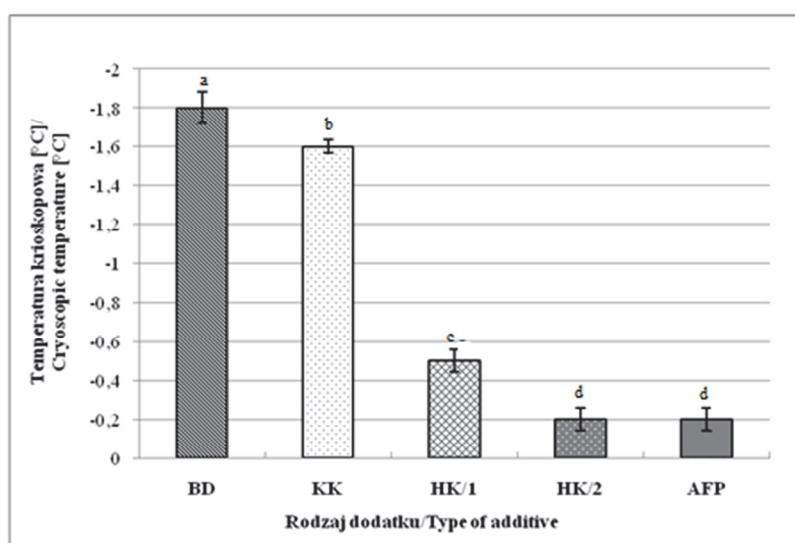
Punkt przecięcia stycznych A i B oraz poprowadzona od niego prosta prostopadła do osi rzędnych wyznaczała wartość temperatury krioskopowej zamrażanego roztworu [°C].

W celu określenia wpływu dodatku substancji krioprotekcyjnych na osiągnięte wartości temperatury krioskopowej, czas trwania poszczególnych etapów zamrażania

oraz całkowity czas zamrażania wykonano jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA ( $p \leq 0,01$ ) oraz analizę post-hoc z testem NIR Fishera ( $p \leq 0,01$ ). Analizę statystyczną wykonano przy użyciu oprogramowania Statistica 10.0.

## Wyniki i dyskusja

Stwierdzono, że dodatek substancji ochronnych do roztworów sacharozy wpłynął na podwyższenie ich temperatury krioskopowej o ok. 1 °C (rys. 2). Wśród próbek z dodatkiem substancji ochronnych najniższą temperaturą krioskopową, równą -1,6 °C,



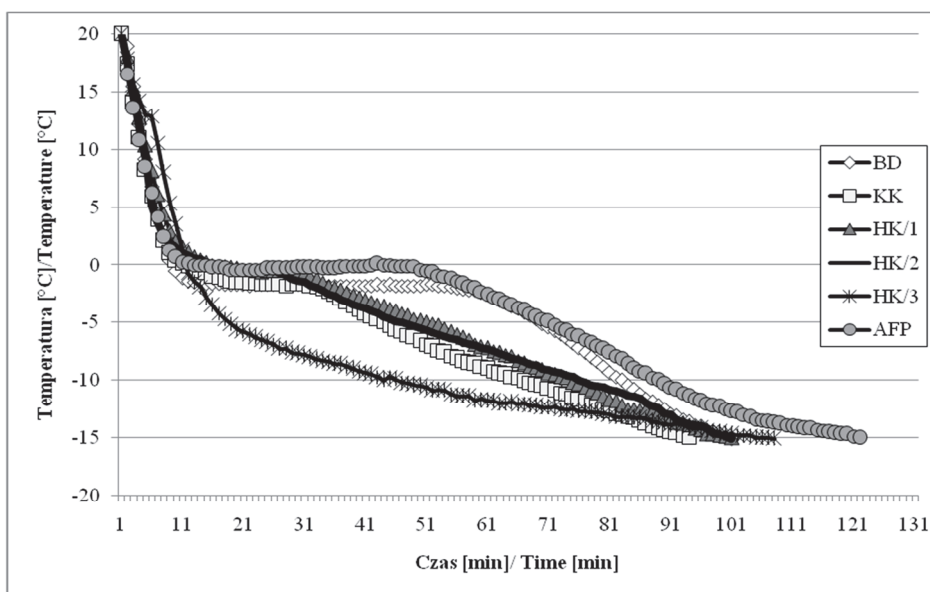
Objaśnienia: / Explanatory notes:

BD – roztwór sacharozy bez dodatku substancji kriochronnych / sucrose solution with no cryo-protective substances added; KK – roztwór sacharozy z dodatkiem  $\kappa$ -karagenu / sucrose solution with  $\kappa$ -carrageenan added; HK/1 – roztwór sacharozy z dodatkiem hydrolizatu otrzymanego po 3-godzinnej hydrolizie  $\kappa$ -karagenu kwasem solnym / sucrose solution with added hydrolysate obtained through 3-hr hydrolysis of  $\kappa$ -carrageenan using hydrochloric acid; HK/2 – roztwór sacharozy z dodatkiem hydrolizatu otrzymanego po 1-godzinnej hydrolizie  $\kappa$ -karagenu kwasem siarkowym(VI) / sucrose solution with added hydrolysate obtained through 1-hr hydrolysis of  $\kappa$ -carrageenan using sulphuric acid(VI); AFP – roztwór sacharozy z dodatkiem białka AFP III / sucrose solution with AFP III protein added; a-d – wartości średnie oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie na poziomie istotności  $p \leq 0,01$  / a-d – mean values denoted using the same letter do not differ statistically significantly at  $p \leq 0.01$ .

Rys. 2. Zmiany temperatury krioskopowej [°C] 30-procentowych roztworów sacharozy w zależności od zastosowanego dodatku substancji kriochronnych.

Fig. 2. Changes in cryoscopic temperature [°C] of 30 % sucrose solutions depending on type of cryoprotective substances added.

charakteryzowały się roztwory z dodatkiem  $\kappa$ -karagenu (KK). Z kolei najwyższą temperaturę krioskopową osiągnęły roztwory z dodatkami AFP III i hydrolizatu  $\kappa$ -karagenu (HK/2), otrzymanego w wyniku godzinnej hydrolizy kwasem siarkowym (VI) (-0,2 °C). Różnice średnich wartości temperatury krioskopowej tych dwóch roztworów były statystycznie nieistotne ( $p \leq 0,01$ ). Zbliżoną wartością temperatury krioskopowej charakteryzowały się próbki roztworu sacharozy z dodatkiem hydrolizatu  $\kappa$ -karagenu (HK/1) otrzymanego w wyniku 3-godzinnej hydrolizy przy użyciu kwasu solnego (-0,5 °C). W przypadku dodatku hydrolizatu  $\kappa$ -karagenu otrzymanego w wyniku 1,5-godzinnej hydrolizy kwasem siarkowym(VI) (HK/3) przebieg krzywej mrożenia uniemożliwiał wyznaczenie zarówno temperatury krioskopowej, jak i czasu trwania poszczególnych etapów zamrażania (rys. 3).



Objaśnienia: / Explanatory notes:

HK/3 – roztwór sacharozy z dodatkiem hydrolizatu otrzymanego po 1,5-godzinnej hydrolizie kwasem siarkowym(VI) / sucrose solution with hydrolysate / sucrose solution with added hydrolysates obtained after 1.5-hr hydrolysis using sulphuric acid (VI); Objasnienia pozostałych symboli próbek jak pod rys. 2 / Explanation of all other symbols for samples as in Fig. 2.

Rys. 3. Krzywe mrożenia modelowych 30-procentowych roztworów sacharozy bez i z dodatkiem substancji kriochronnych.

Fig. 3. Freezing curves of model 30 % sucrose solutions with and without cryo-protective substances added.

Prawdopodobnie w tych próbkach wszystkie trzy fazy zamrażania przebiegały równolegle, stąd też wynikało systematyczne obniżanie się temperatury bez widocznej

fazy właściwego zamrażania. W roztworach sacharozy z dodatkiem hydrolizatu  $\kappa$ -karagenu (HK/3) całkowity czas zamrażania nie różnił się znacząco od czasu zamrażania roztworu sacharozy bez dodatku substancji kriochronnych (BD) (tab. 1).

Tabela 1. Charakterystyka procesu zamrażania 30-procentowych roztworów sacharozy bez i z dodatkiem substancji kriochronnych.

Table 1. Process characteristics of freezing of 30% sucrose solution with and without cryo-protective substances added.

Rodzaj dodatku Type of additive	Czasy trwania poszczególnych etapów zamrażania [min] Time of individual freezing stages [min] $\bar{x} \pm s / SD$			
	Schładzanie Cooling	Przemiana fazowa Phase transition	Domrażanie Refreezing	Całkowity czas Total time
	BD	11,6 <sup>a</sup> ± 0,6	47,5 <sup>d</sup> ± 0,8	41,7 <sup>a</sup> ± 1,3
KK	16,9 <sup>c</sup> ± 1,5	10,5 <sup>a</sup> ± 2,7	88,9 <sup>d</sup> ± 4,7	116,3 <sup>c</sup> ± 0,5
HK/1	16,1 <sup>c</sup> ± 0,01	15,3 <sup>b</sup> ± 0,6	70,0 <sup>b</sup> ± 2,1	101,4 <sup>a</sup> ± 2,5
HK/2	16,2 <sup>c</sup> ± 0,6	11,6 <sup>a</sup> ± 0,6	73,6 <sup>c</sup> ± 2,5	101,4 <sup>a</sup> ± 2,9
HK/3	nd	nd	nd	106,7 <sup>b</sup> ± ,5
AFP	12,7 <sup>b</sup> ± 1,9	36,0 <sup>c</sup> ± 0,6	72,0 <sup>c</sup> ± 2,0	120,7 <sup>d</sup> ± 0,6

Objaśnienia:/Explanatory notes:

Objaśnienia symboli dodatków jak pod rys. 2. i 3. / Explanation of symbols for additives as in Fig. 2 and 3;

$\bar{x} \pm s / SD$  – wartość średnia ± odchylenie standardowe / mean values ± standard deviation; n = 3; a-d – wartości średnie oznaczone różnymi literami są istotne statystycznie w kolumnach na poziomie istotności  $p \leq 0,01$ / mean values denoted by different letter differ statistically significantly in columns at  $p \leq 0.01$ ; nd – brak możliwości odczytania czasu trwania poszczególnych etapów zamrażania / it was impossible to read the duration time of individual freezing phases.

Analogiczne wyniki otrzymały Kamińska i Olejnik [16] po zamrożeniu soku jabłkowego i buraczanego z dodatkiem substancji ochronnych, takich jak: kwas L-askorbinowy, alkohol etylowy oraz glikoproteina AFGP. Autorki wykazały, że dodatek kwasu L-askorbinowego oraz alkoholu etylowego wpływa na podwyższenie temperatury krioskopowej soku jabłkowego, natomiast dodatek AFGP nie wpływa znacząco na zmianę tej temperatury. W przypadku zamrażania soku buraczanego dodatek kwasu askorbinowego oraz AFGP powoduje obniżenie temperatury krioskopowej. Kamińska i Ulanicka [18] badały roztwory sacharozy o różnym stężeniu z dodatkiem  $\kappa$ -karagenu, AFP oraz alginianu sodu i wykazały, że temperatura krioskopowa tych roztworów jest istotnie zależna od rodzaju oraz ilości użytego dodatku substancji ochronnej. Autorki



stwierdziły, że dodatek wymienionych substancji ochronnych powoduje w większości przypadków podwyższenie temperatury krioskopowej [16, 18].

W tab. 1. przedstawiono czas trwania poszczególnych etapów zamrażania wyznaczonych przy użyciu krzywych mrożenia przedstawionych na rys. 3. Najdłuższym całkowitym czasem zamrażania charakteryzowały się próbki z dodatkiem białka AFP III – ok. 121 min, zaś najkrótszym – próbki roztworów sacharozy bez dodatku substancji ochronnych oraz z dodatkiem  $\kappa$ -karagenu (KK) i jego hydrolizatów HK/1 i HK/2. Całkowity czas trwania zamrażania tych próbek wyniósł ok. 101 min. Co więcej, różnica pomiędzy próbkami osiągającymi najkrótszy czas zamrażania była statystycznie nieistotna ( $p \leq 0,01$ ). Dowodzi to, że hydrolizaty otrzymane przy użyciu kwasu solnego (3-godzinna hydroliza) oraz kwasu siarkowego(VI) (1-godzinna hydroliza) nie miały wpływu na całkowity czas trwania procesu. Ponadto, wydłużenie czasu hydrolizy  $\kappa$ -karagenu nie spowodowało oczekiwanego rezultatu w postaci wydłużenia czasu zamrażania roztworów sacharozy. Znacznie lepszy efekt w tym zakresie uzyskano w przypadku dodatku hydrolizatu HK/3 ( $p \leq 0,01$ ). Analiza czasu zamrażania 30-procentowego roztworu sacharozy z dodatkiem  $\kappa$ -karagenu bądź jego hydrolizatów pozwala stwierdzić, że w wyniku procesu hydrolizy nie otrzymuje się substancji ochronnych o działaniu znacząco wpływającym na wydłużenie czasu zamrażania.

Dodatek substancji kriochronnych wpłynął, we wszystkich roztworach, na wydłużenie czasu ich schładzania – o ok. 1 min w przypadku dodatku białka AFP III oraz o ok. 6 min w próbkach z dodatkiem  $\kappa$ -karagenu oraz jego hydrolizatów ( $p \leq 0,01$ ). Analogiczną zależność (tj. wydłużenie czasu trwania analizowanej fazy) uzyskano w przypadku domrażania próbek. Z kolei czas trwania przemiany fazowej uległ skróceniu o ok. 30 min w próbkach z dodatkiem  $\kappa$ -karagenu i jego hydrolizatów. Najmniejsze skrócenie czasu trwania etapu przemiany fazowej osiągnięto w roztworach sacharozy z dodatkiem białka AFP III (ok. 12 min).

Odnosząc uzyskane wyniki do danych literaturowych można stwierdzić, że dodatek substancji ochronnych lub też zwiększanie stężenia zamrażanego roztworu wpływa na wydłużenie czasu schładzania, a także w większości przypadków na wydłużenie czasu przemiany fazowej oraz całkowitego czasu zamrażania [13, 16].

## Wnioski

1. Dodatek substancji ochronnych ( $\kappa$ -karagenu i jego hydrolizatów oraz białka AFP III) wpłynął na podwyższenie temperatury krioskopowej o ok. 1 °C.
2. Dodatek substancji ochronnych wpłynął równocześnie na skrócenie czasu trwania etapu przemiany fazowej, odpowiednio o 30 i 12 min w przypadku  $\kappa$ -karagenu i jego hydrolizatów oraz białka AFP III.
3. Użyte w doświadczeniu substancje ochronne wpłynęły zarówno na wartości temperatury krioskopowej, jak i na całkowity czas trwania procesu zamrażania. Naj-

- dłuższym czasem zamrażania charakteryzowały się roztwory z dodatkiem białka AFP III (ok. 121 min), a najkrótszym – roztwory z dodatkiem hydrolizatu  $\kappa$ -karagenu HK/1 i HK/2 oraz roztwór bez dodatku substancji kriochronnych (ok. 101 min).
4. Całkowity czas zamrażania 30-procentowych roztworów sacharozy z dodatkiem hydrolizatów  $\kappa$ -karagenu (HK/1 i HK/2) był zbliżony do czasu zamrażania roztworów sacharozy bez dodatku substancji kriochronnych. Spośród zastosowanych hydrolizatów  $\kappa$ -karagenu najlepsze działanie miał hydrolizat HK/3, jednak jego wpływ był słabszy niż niezhydrolizowanego  $\kappa$ -karagenu. Dodatek substancji ochronnych ( $\kappa$ -karagenu lub AFP III) wpłynął na wydłużenie czasu trwania procesu zamrażania średnio o ok. 20 min.

*Praca naukowa sfinansowana ze środków Narodowego Centrum Nauki na lata 2010 - 2014.*

### Literatura

- [1] Ablett S., Clarke Ch.J., Izzard M.J., Martin D.R.: Relationship between ice recrystallisation rates and the glass transition in frozen sugar solutions. *J. Sci. Food Agric.*, 2002, **82**, 1855-1859.
- [2] Borowski J., Borowska E.J.: Hydrokoloidy roślinne i mikrobiologiczne – technologiczne i żywieniowe aspekty ich stosowania. *Cz. I. Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2005, **1**, 23-26.
- [3] Borowski J., Borowska E.J.: Hydrokoloidy roślinne i mikrobiologiczne – technologiczne i żywieniowe aspekty ich stosowania. *Cz. II. Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2005, **3**, 38-40.
- [4] Crevel R.W.R., Fedyk J.K., Spurgeon M.J.: Antifreeze proteins: characteristics, occurrence and human exposure. *Food Chem. Tox.*, 2002, **40**, 899-903.
- [5] Davies P.L., Sykes B.D.: Antifreeze proteins. *Curr. Opin. Struct. Biology*, 1997, **7**, 828-834.
- [6] Feeney R.E., Yeh Y.: Antifreeze proteins: Current status and possible food uses. *Trends. Food Sci. Technol.*, 1998, **9**, 102-106.
- [7] Griffith M., Ewart K.V.: Antifreeze proteins and their potential use in frozen foods. *Biotech. Adv.*, 1995, **13** (3), 375-402.
- [8] Griffith M., Yaish M.W.F.: Antifreeze proteins in overwintering plants: a tale of two activities. *Trends. Plant.Sci.*, 2004, **9** (8), 399-405.
- [9] Gruda Z., Postolski J.: Zamrażanie żywności. *Wyd. 3. WNT, Warszawa 1999*, ss. 73-137.
- [10] Hagiwara T., Hartel R.W., Matsukawa S.: Relationship between recrystallization rate of ice crystals in sugar solutions and water mobility In freeze-concentrated mix. *FOBI*, 2006, **1**, 74-82.
- [11] Harding M.M., Ward L.G., Haymet A.D.: Type I “Antifreeze” proteins. Structure-activity studies and mechanisms of ice growth inhibition. *Eur. J. Biochem.*, 1999, **264**, 653-665.
- [12] Hassas-Roudsari M., Goff H.D.: Ice structuring proteins from plants: Mechanism of action and food application. *Food Res. Int.*, 2012, **46**, 425-436.
- [13] Janiszewska E., Sakowski P.: Wpływ stopnia zagęszczenia soku marchwiowego oraz metody zamrażania na parametry procesu zamrażania. *Zesz. Probl. Postępów Nauk Rol.*, 2012, **571**, 49-58.
- [14] Kamińska A., Lewicki P.P.: Metoda dehydrofreezing (D-F) – znaczenie i przyszłość. *Przem. Spoż.*, 2005, **9** (54), 12-15.
- [15] Kamińska A., Lewicki P.P.: Metody ograniczania krystalizacji lodu w procesie zamrażania. *Przem. Spoż.*, 2008, **9** (62), 24-28.


- [16] Kamińska A., Olejnik B.H.: Wpływ dodatku substancji ochronnych na przebieg procesu zamrażania soków owocowych i warzywnych. *Zesz. Probl. Postępów Nauk Rol.*, 2010, **553**, 129-137.
- [17] Kamińska A., Gaükel V.: Kontrola wzrostu kryształów w lodach spożywczych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, **1 (62)**, 57-64.
- [18] Kamińska-Dwórznička A., Ulanicka U.K.: Badanie udziału wody wymrożonej i niewymrożonej po zamrożeniu roztworów modelowych sacharozy bez dodatku i z dodatkiem substancji ochronnych. *Zesz. Probl. Postępów Nauk Rol.*, 2012, **571**, 59-66.
- [19] Kozłowicz K., Kluza F.: Wpływ dodatków napojów alkoholowych na proces zamrażania sorbetów owocowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, **1 (62)**, 65-72.
- [20] Kozłowicz K.: Charakterystyka wykorzystania wybranych substancji kriochronnych w zamrażaniu i przechowywaniu żywności. *Acta Sci. Pol.*, 2012, **11 (3-4)**, 13-24.
- [21] Lillford P.J., Holt C.B.: Antifreeze proteins. *J. Food Eng.*, 1994, **22**, 475-482.
- [22] Petzold G., Aguilera J.M.: Ice morphology: Fundamentals and technological application in food. *Food Biophys.*, 2009, **4 (4)**, 378-396.
- [23] Wen D., Laursen R.A.: A model for binding of an antifreeze polypeptide to ice. *Biophys. J.*, 1992, **63**, 1659-1662.
- [24] Zięć G., Gambuś H., Kowalski S., Achrem-Achremowicz B.: Wybrane właściwości fizyczne mąki owsianej oraz jej interakcje z hydrokoloidami w porównaniu z mąkami chlebowymi. *Acta Agrophysica*, 2011, **17 (2)**, 433-447.
- [25] Grabowski T., Kijowski J.: *Żywność. Jakość. Technologia – Mięso i przetwory drobiowe – technologia, higiena, jakość*. WNT, Warszawa 2004, ss. 427-432.

#### EFFECT OF ADDING SELECTED BIOPOLYMERS ON FREEZING PARAMETERS OF MODEL SUCROSE SOLUTION

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

The objective of the research study was to compare the effect of adding a kappa carrageenan and its hydrolysates, and a protein type AFP III, which limits the ice crystallization, on the freezing process of model sucrose solutions.

There were studied samples of 30 % sucrose solutions without and with those cryo-protective substances added; the samples were frozen at -20 °C using a cryostat. It was proved that the freezing time of the samples with AFP protein added was the longest. Compared to the samples with no additives, the refreezing phase thereof was extended, whereas the time duration of the transition phase was shorter by 12 minutes. The samples with the hydrolyzed kappa carrageenan added got frozen quicker than the samples containing only the kappa carrageenan. On the other hand, that time was similar to the time of freezing the samples without the biopolymers added. At the same time, the second phase, i.e. the time of refreezing the samples with the hydrolysates was extended by 30 minutes compared to the time of refreezing the samples without the polymers added, and it was by 20 minutes longer than the refreezing time of the samples with the carrageenan added. The addition of the hydrolysates and of the kappa carrageenan reduced the time of the transition phase by about 80 %. Each of the substances used caused the cryoscopic temperature to increase by more than 1 °C.

**Key words:** freezing time, kappa carrageenan, hydrolysates of kappa carrageenan, protein type AFP III, cryoscopic temperature, freezing curves 

ANNA CHLEBOWSKA-ŚMIGIEL, MAŁGORZATA GNIEWOSZ,  
JACEK WILCZAK, DARIUSZ KAMOLA

## WPLYW DODATKU PULLULANU NA WZROST I ZDOLNOŚCI FERMENTACYJNE WYBRANYCH BAKTERII Z RODZAJU *LACTOBACILLUS*

### Streszczenie

Badano wpływ dodatku pullulanu na wzrost i zdolności fermentacyjne dziewięciu szczepów bakterii kwasu mlekowego z rodzaju *Lactobacillus*. Hodowle wgłębne prowadzono przez 24 h, w podłożu kontrolnym MRS oraz doświadczalnym MRS z dodatkiem 2 % pullulanu. W ciągu 24 h obserwowano wzrost bakterii, z początkowej liczby  $10^4$  jtk/cm<sup>3</sup> do  $10^7 \div 10^9$  jtk/cm<sup>3</sup>, w zależności od badanego szczepu. Nie stwierdzono istotnych różnic między liczbami bakterii hodowanych w podłożu kontrolnym a doświadczalnym z pullulanem. W celu porównania zdolności fermentacyjnych szczepów w czasie „0” i po zakończeniu ich hodowli w podłożach oznaczono zawartości krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (SCFA) metodą HPLC. Stwierdzono obecność kwasu mrówkowego, mlekowego, octowego, hydroksymaślowego i propionowego. W podłożu kontrolnym MRS uzyskano większą zawartość SCFA ogółem niż w podłożu doświadczalnym MRS. Dodatek pullulanu do podłoża MRS przyczynił się do większego wytworzenia kwasu mlekowego przez 2 szczepy LAB oraz kwasu octowego przez 5 z 9 badanych szczepów.

**Słowa kluczowe:** LAB, pullulan, SCFA, fermentacja mlekowa, liczba bakterii

### Wprowadzenie

Bakterie kwasu mlekowego (LAB) mają szerokie zastosowanie w wielu dziedzinach przemysłu spożywczego i są od lat wykorzystywane przez ludzi do produkcji żywności. Powszechnie stosowane są w przemyśle mleczarskim. Dzięki ich właściwościom fermentacyjnym wytwarzane są jogurty, kefir, sery czy masło. LAB odgrywają także znaczącą rolę w produkcji fermentowanych przetworów mięsnych, sojowych,

---

*Dr inż. A. Chlebowska-Śmigiel, prof. dr hab. M. Gniewosz, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności, Wydz. Nauk o Żywności, dr J. Wilczak, mgr inż. D. Kamola, Katedra Nauk Fizjologicznych, Wydz. Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa. Kontakt: anna\_chlebowska\_smigiel@sggw.pl*

ryb, zbóż, żywności orientalnej oraz w produkcji pieczywa żytniego. Ważną rolę organizmy te odgrywają również w przetwórstwie warzyw, szczególnie w produkcji kiszonych ogórków czy kapusty [17]. Jednocześnie stanowią one naturalną mikroflorę układu pokarmowego ludzi. Mają zdolność do tworzenia witamin z grupy B, które odgrywają istotną rolę w procesach metabolicznych organizmu [1]. LAB przeprowadzają fermentację sacharydów, w wyniku której powstaje głównie kwas mlekowy, ale także kwas octowy, aldehyd octowy, ditlenek węgla, diacetyl, acetoina czy butanodiol [11]. Powstające podczas fermentacji produkty przemiany materii, szczególnie kwasy organiczne oraz niskocząsteczkowe kwasy tłuszczowe, pełnią rolę konserwującą i zapobiegają wielu chorobom [10]. Ich korzystny wpływ na zdrowie człowieka powoduje, że zarówno bakterie kwasu mlekowego, jak też produkty powstałe z ich udziałem są chętnie spożywane przez konsumentów.

Wzrost popytu na żywność prozdrowotną jest przyczyną pojawiania się na rynku nowych produktów spożywczych o takich właściwościach [12]. Zastosowanie probiotyków nie jest nową koncepcją. Zostały one odkryte i po raz pierwszy zastosowane przez Miecznikowa [7]. Żywność fermentowana, zarówno pochodzenia roślinnego, jak i zwierzęcego, zawierająca bakterie probiotyczne określana jest mianem żywności funkcjonalnej [17]. Mikroorganizmy wykorzystywane jako probiotyki muszą spełniać wiele kryteriów, ale przede wszystkim muszą być bezpieczne dla zdrowia konsumenta oraz występować w odpowiednio dużej liczbie. Według Międzynarodowej Federacji Mleczarskiej liczba bakterii probiotycznych w produkcie powinna wynosić min.  $10^7$  jtk/cm<sup>3</sup> [20]. Inni autorzy podają, że korzystny wpływ na organizm człowieka wywierają bakterie obecne w liczbie od  $10^8$  do  $10^{10}$  komórek/g produktu, którego codzienne spożycie to min. 100 g lub 100 cm<sup>3</sup> [5].

Odpowiednio zbilansowana dieta jest głównym czynnikiem zapobiegającym wielu chorobom przewlekłym, np. osteoporozie czy chorobom układu krążenia, a dobrze poznany związek między składnikami diety a ogólnym stanem zdrowia człowieka pozwala wykorzystywać w sposób racjonalny składniki żywności [4]. Dodawane do wyrobów składniki bioaktywne, m.in. błonnik, laktuloza, inulina czy fruktooligosacharydy, prowadzą do zmian zarówno w składzie, jak i aktywności mikroflory przewodu pokarmowego, co przynosi korzyści dla zdrowia i samopoczucia konsumenta [2]. Obok znanych i stosowanych już związków o udokumentowanych właściwościach prebiotycznych wciąż poszukuje się nowych substancji, które mogą odpowiadać kryteriom stawianym prebiotykom. Jednym z nich jest pullulan [19].

Pullulan jest zewnątrzkomórkowym polisacharydem wytwarzanym wyłącznie na drodze mikrobiologicznej w hodowli wglębnej grzyba *Aureobasidium pullulans* [3]. Podstawową jednostkę struktury pullulanu stanowią trzy cząsteczki glukozy połączone wiązaniem  $\alpha$ -1,4-glikozydowym w maltotriozy, które z kolei połączone są między sobą

wiązaniami  $\alpha$ -1,6-glikozydowymi [9, 13]. Przeprowadzone dotychczas badania wykazały, że pullulan m.in. stymuluje wzrost szczepów z rodzaju *Bifidobacterium* [19, 21].

Celem pracy było określenie wpływu dodatku pullulanu do podłoża na wzrost i aktywność fermentacyjną bakterii z rodzaju *Lactobacillus*.

### Material i metody badań

Material do badań stanowiło 9 szczepów bakterii z rodzaju *Lactobacillus*: *Lactobacillus brevis* ZBM 11, *Lactobacillus plantarum* 44, *Lactobacillus plantarum* NCAIM B. 01149, *Lactobacillus plantarum* NCAIM B.01834, *Lactobacillus plantarum* ATCC 4080, *Lactobacillus acidophilus* CH- 2, *Lactobacillus acidophilus* CH-5, *Lactobacillus casei* ATCC 393 i *Lactobacillus arabinosus* ATCC 8014. Szczepy pochodziły z kolekcji Instytutu Technologii Fermentacji i Mikrobiologii Politechniki Łódzkiej, kolekcji Zakładu Biotechnologii i Mikrobiologii oraz Zakładu Biotechnologii Mleka SGGW w Warszawie. Szczepy przechowywano w 25-procentowym glicerolu w temp.  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ . W badaniach użyto także pullulanu firmy Focubase (Chiny).

Inokulum do badań przygotowywano przenosząc jałowo zamrożone kultury do płynnego podłoża MRS (Biolacta, Polska). Inkubację prowadzono w zależności od preferencji temperaturowych szczepu: w temp.  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  (wszystkie szczepy z gatunku *L. plantarum* i szczep *L. arabinosus*) lub w temp.  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  (szczepy z gatunku *L. acidophilus* i *L. casei*) przez 24 h. Po tym czasie komórki odwirowywano w wirówce laboratoryjnej (Eppendorf, Francja) przy  $11\ 000 \times g$  przez 1 min. Po zlanii supernatantu biomasę komórkową przemywano jałowym roztworem soli fizjologicznej i powtórnie odwirowywano. Biomasę komórkową zawieszano w roztworze soli fizjologicznej, aby uzyskać zawiesinę o gęstości optycznej  $0,5\text{ }^{\circ}\text{McF}$  (Densimat firmy bioMérieux, Włochy), co odpowiada liczbie komórek  $10^8\text{ jtk/cm}^3$ . Następnie wykonywano rozcieńczenia dziesiętne tak, aby liczba komórek bakterii wynosiła  $10^5\text{ jtk/cm}^3$ . Uzyskane zawiesiny szczepów przenoszono w objętości  $5\text{ cm}^3$  do uprzednio przygotowanych podłoży kontrolnych i doświadczalnych.

Podłożem kontrolnym było płynne podłoże MRS [ $\text{g}/100\text{ cm}^3$ ]: glukoza 2,0; ekstrakt drożdżowy 0,5; ekstrakt mięsny 1,0; pepton 1,0; fosforan potasu 0,2; cytrynian amonu 0,2; Tween 80 0,11; fosforan potasu 0,2; octan sodowy 0,50; siarczan magnezu 0,02; siarczan manganu 0,005 [18]. Podłożem doświadczalnym było płynne podłoże MRS, do którego dodano 2,0 % pullulanu.

Podłoża kontrolne oraz doświadczalne (bez dodatku pullulanu) poddawano sterylizacji w autoklawie w temp.  $121\text{ }^{\circ}\text{C}$  przez 20 min. Wodny roztwór pullulanu wyjąłwano metodą filtracji przy użyciu jałowych krążków bibuły filtracyjnej o średnicy porów  $0,47\text{ }\mu\text{m}$  (Whatman, Niemcy) i dodawano do podłoży ostudzonych po sterylizacji. Hodowle badanych bakterii w podłożach kontrolnych i doświadczalnych prowa-



dzono w kolbach o pojemności 150 cm<sup>3</sup> wypełnionych 50 cm<sup>3</sup> podłoża, z zachowaniem takich samych warunków temperatury, jak przy przygotowaniu inokulum.

Liczbę komórek bakterii w czasie „0” i po 24 h hodowli sprawdzano metodą płytkową. W tym celu pobierano 1 cm<sup>3</sup> hodowli, wykonywano dziesięciokrotne rozcieńczenia używając jałowej soli fizjologicznej i wykonywano posiew wgłębnny, zalewając materiał biologiczny odpowiednio stałym podłożem MRS lub MRS z dodatkiem 2 % pullulanu. Badania przeprowadzano w dwóch seriach. Po okresie inkubacji liczone wyrosłe kolonie, zgodnie z PN-ISO 4833-1998 [15]. Liczbę bakterii wyrażano w postaci jednostek tworzących kolonie w 1 cm<sup>3</sup> podłoża [jtk/cm<sup>3</sup>].

W celu przygotowania materiału do oznaczenia ilościowego i jakościowego krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (SCFA) komórki bakterii odwirowywano w wirówce laboratoryjnej (Eppendorf, Francja) przy 11 000 × g przez 1 min. Oznaczenie SCFA wykonywano techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzęgniętej z detektorem UV (HPLC-UV). Stosowano chromatograf cieczowy firmy Dionex (USA) sprzęgnięty z detektorem UV (Beckman Coulter, USA). Próbkę przygotowywano poprzez filtrację badanego medium przez filtr strzykawkowy. Rozdział związków prowadzono w kolumnie Hypersil BDS 150 × 4,6 mm, 5 μm (Sigma-Aldrich), w warunkach izokratycznych przy użyciu fazy woda : metanol (v/v 98 : 2) przy długości fali 254 nm. Chromatogramy opracowywano identyfikując badane związki na podstawie posiadanych wzorców i powierzchni pików chromatograficznych na podstawie czasu retencji.

Z uzyskanych wyników obliczono wartości średnie i odchylenia standardowe. Wyniki opracowano statystycznie w programie Statgraphics 4.1 plus. Zastosowano test t-Studenta i jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA). Istotność różnic pomiędzy wartościami średnimi weryfikowano testem Tukeya, na poziomie istotności  $p = 0,05$ .

## Wyniki i dyskusja

Po 24 h hodowli w podłożu doświadczalnym z dodatkiem pullulanu oraz w podłożu kontrolnym MRS (tab. 1) zaobserwowano wzrost badanych szczepów LAB. Liczba bakterii wzrosła z 10<sup>4</sup> jtk/cm<sup>3</sup> do 10<sup>7</sup> ÷ 10<sup>9</sup> jtk/cm<sup>3</sup>, w zależności od szczepu bakterii.

Nie zaobserwowano istotnych ( $p = 0,05$ ) różnic między liczbami większości bakterii hodowanych w podłożu kontrolnym i doświadczalnym z pullulanem. Nieznacznie wyższą liczbę bakterii w podłożu doświadczalnym stwierdzono w przypadku dwóch szczepów: *L. acidophilus* (CH-5 i CH-2) oraz *L. plantarum* NCAIM B. 01149. Różnice wynosiły odpowiednio 0,11, 0,09 i 0,08 jednostki logarytmicznej. Ramnani i wsp. [16] uważają, że w obecności prebiotyku liczba bakterii zwiększa się o około 1 cykl logarytmiczny w porównaniu z warunkami hodowli bez prebiotyku. Wyniki własne wskazują, że pullulan nie wpłynął stymulująco na wzrost populacji badanych szczepów



*Lactobacillus*. Do podobnych wniosków doszły Szydłowska i Kołożyn-Krajewska [22], które do fermentacji przecieru z dyni z dodatkiem 1,5, 3 i 4,5 % inuliny stosowały szczep *L. casei* KN 291. Liczba komórek w inokulum wynosiła 7,93 log jtk/g, a po 26 h hodowli autorki wykazały wzrost liczby bakterii do 9,55 ÷ 9,90 log jtk/g. Dodatek inuliny do przecieru przyczynił się, zdaniem autorek, do zwiększenia liczby bakterii w fermentowanych przecierach. Gustaw i wsp. [8] do fermentacji jogurtu z 1-, 2- i 3-procentowym dodatkiem fruktooligosacharydów (FOS) oraz inuliny użyli szczepów *Str. thermophilus*, *Lb. acidophilus* i *Bifidobacterium sp.* Przy 1-procentowym dodatku FOS liczba badanych bakterii wzrosła odpowiednio do 9,0 log jtk/g, 7,8 log jtk/g i 7,7 log jtk/g. Dodatek 1 % inuliny spowodował wzrost tylko paciorkowców i bifidobakterii, odpowiednio do poziomu: 8,8 log jtk/g i 7,5 log jtk/g, ale nie przyczynił się do

Tabela 1. Zmiany liczby komórek bakterii kwasu mlekowego podczas hodowli w podłożu kontrolnym MRS i MRS z dodatkiem pullulanu [log jtk/cm<sup>3</sup>].

Table 1. Changes in the number of LAB cells grown in the MRS control medium and MRS medium with pullulan additive [log CFU/ cm<sup>3</sup>].

Szczep bakterii LAB strain	MRS MRS medium ( $\bar{x} \pm s / SD$ )		MRS + 2 % pullulanu MRS medium + 2 % of pullulan added ( $\bar{x} \pm s / SD$ )	
	Czas [h] / Time [h]			
	0	24	0	24
<i>L. acidophilus</i> CH-2	4,04 <sup>a</sup> ± 0,1	9,08 <sup>b</sup> ± 0,1	4,04 <sup>a</sup> ± 0,1	9,17 <sup>c</sup> ± 0,1
<i>L. acidophilus</i> CH-5	4,12 <sup>a</sup> ± 0,3	9,29 <sup>b</sup> ± 0,8	4,09 <sup>a</sup> ± 0,3	9,40 <sup>b</sup> ± 0,6
<i>L. brevis</i> ZBM 11	4,08 <sup>a</sup> ± 0,2	9,11 <sup>b</sup> ± 0,5	4,06 <sup>a</sup> ± 0,2	9,10 <sup>b</sup> ± 0,4
<i>L. casei</i> ATCC 393	4,14 <sup>a</sup> ± 0,6	7,74 <sup>b</sup> ± 0,4	4,11 <sup>a</sup> ± 0,5	7,79 <sup>b</sup> ± 0,4
<i>L. plantarum</i> NCAIM B. 01149	4,02 <sup>a</sup> ± 0,3	9,51 <sup>b</sup> ± 0,1	4,09 <sup>a</sup> ± 0,6	9,59 <sup>c</sup> ± 0,2
<i>L. plantarum</i> NCAIM B. 01834	4,16 <sup>a</sup> ± 0,4	8,66 <sup>b</sup> ± 0,9	4,05 <sup>a</sup> ± 0,8	8,65 <sup>b</sup> ± 0,7
<i>L. plantarum</i> ATCC 4080	4,28 <sup>a</sup> ± 0,4	9,21 <sup>c</sup> ± 0,6	4,21 <sup>a</sup> ± 0,3	8,41 <sup>b</sup> ± 0,5
<i>L. plantarum</i> 44	4,31 <sup>a</sup> ± 0,3	9,53 <sup>c</sup> ± 0,4	4,25 <sup>a</sup> ± 0,2	8,46 <sup>b</sup> ± 0,7
<i>L. arabinosus</i> ATCC 8014	4,15 <sup>a</sup> ± 0,6	9,42 <sup>b</sup> ± 0,4	4,07 <sup>a</sup> ± 0,3	9,49 <sup>b</sup> ± 0,5

Objaśnienia: / Explanatory notes:

$\bar{x}$  – wartość średnia / mean value; s – odchylenie standardowe / SD – standard deviation; n = 6;  
a, b – wartości średnie oznaczone tymi samymi literami w wierszach nie różnią się statystycznie istotnie (p = 0,05) / mean values denoted by the same letters in the rows do not differ statistically significantly (p = 0.05).

zwiększenia liczby komórek szczepu *L. acidophilus*. Na podstawie wyników cytowanych autorów można wnioskować, że poszczególne prebiotyki mają bardzo zróżnicowany wpływ na szczepy LAB i stymulują wzrost tylko wybranych. Do podobnych wniosków doszli Pan i wsp. [14], którzy badali wpływ fruktooligosacharydów (FOS), chitooligosacharydów (COS), mannanoligosacharydów (MOS) i galaktooligosacharydów (GOS) na zmiany mikroflory jelita ślepego myszy. Po 14 dniach stosowania diety autorzy stwierdzili, że badane oligosacharydy mają różny wpływ na skład mikroflory jelitowej. Spośród nich tylko FOS przyczynił się do zwiększenia liczby bakterii z rodzaju *Lactobacillus*, która wynosiła  $9,3 \pm 0,21 \log \text{ jtk/g}$ .

Do jeszcze innych konkluzji doszli Ramnani i wsp. [16], którzy badali wpływ zdegradowanych polisacharydów o niskiej masie molekularnej, uzyskanych z wodorostów, na liczbę pałeczek z rodzaju *Lactobacillus* sp. wśród mikroflory kałowej ludzi. Zdaniem autorów, związki o małych masach cząsteczkowych mają większą zdolność modulującą liczbę bakterii jelitowych. Na tej podstawie można przypuszczać, że na poprawę stymulacji wzrostu badanych bakterii w niniejszej pracy mógłby lepiej wpłynąć pullulan zhydrolizowany do mniejszych molekuł. Badania na temat możliwości hydrolizy cząsteczek pullulanu przez LAB są nieliczne. Zidentyfikowano pięć typów enzymów z grupy pullulanaz, pochodzących z różnych drobnoustrojów, które są w stanie rozłożyć cząsteczkę pullulanu [6]. Ryan i wsp. [19] scharakteryzowali zaledwie kilka szczepów z rodzaju *Bifidobacterium* wytwarzających pullulanazy rozkładające ten polisacharyd do mniejszych fragmentów, które mogą być metabolizowane przez komórki.

W tab. 2. przedstawiono zmiany zawartości krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (SCFA) podczas hodowli w podłożu MRS i MRS wzbogaconym pullulanem. Całkowita suma SCFA wytworzonych podczas hodowli przez badane szczepy LAB w podłożu MRS była statystycznie istotnie większa ( $p \leq 0,05$ ) niż uzyskana w podłożu z dodatkiem pullulanu (tab. 2). Jedynie *L. casei* ATCC 393 wytworzył istotnie więcej SCFA w hodowli w podłożu z pullulanem. W badanych hodowlach stwierdzono obecność kwasu mrówkowego, mlekowego, octowego, hydroksymasłowego i propionowego. Otrzymane wyniki wskazują, że wszystkie badane szczepy LAB w większych ilościach wytworzyły kwas mlekowy i octowy, a w mniejszych – kwas mrówkowy, propionowy i hydroksymasłowy (tab. 2). W podłożu MRS stwierdzono zawartość kwasu mlekowego w zakresie od  $32,30 \pm 0,43$  do  $53,08 \pm 0,61 \text{ mM}$ , a kwasu octowego w zakresie od  $8,78 \pm 0,49$  do  $90,55 \pm 3,46 \text{ mM}$ . Na podłożu z dodatkiem pullulanu większość badanych szczepów wytworzyła statystycznie istotnie mniejszą ( $p \leq 0,05$ ) zawartość kwasu mlekowego. Otrzymane wartości mieściły się w granicach od  $33,28 \pm 0,39$  do  $52,56 \pm 1,35 \text{ mM}$ . Tylko dwa szczepy, tj. *L. casei* ATCC 393 i *L. acidophilus* CH-5 w badanym podłożu zsyntetyzowały statystycznie istotnie większe ( $p \leq 0,05$ ) zawartości kwasu mlekowego niż w podłożu MRS.

Najbardziej korzystny efekt wzbogacenia podłoża MRS pullulanem był widoczny w przypadku kwasu octowego. W podłożu tym aż 5 spośród badanych szczepów: *L. brevis* ZBM 11 i *L. arabinosus* ATCC 8014 oraz trzy szczepy *L. plantarum* (NCAIM B. 01834, ATCC 4080 i 44) wytworzyło statystycznie istotnie więcej ( $p \leq 0,05$ ) tego kwasu. Zawartość kwasu octowego w hodowli *L. plantarum* 44 i *L. arabinosus* ATCC 8014 była dwukrotnie większa niż w hodowli kontrolnej. Z kolei różnice pod względem zawartości tego kwasu w hodowlach szczepów *L. plantarum* NCAIM B.01149 i *L. plantarum* ATCC 4080 wynosiły ok. 10 mM, a *L. brevis* – ok. 5mM.

Wzbogacenie podłoża pullulanem nie wpłynęło na statystycznie istotne zwiększenie ( $p \leq 0,05$ ) zawartości kwasu mrówkowego. Najmniej tego kwasu w podłożu MRS wytworzył *L. acidophilus* CH-2 ( $9,68 \pm 1,45$  mM), a najwięcej – *L. plantarum* ATCC 4080 ( $21,38 \pm 0,54$  mM). W podłożu z dodatkiem pullulanu wartości te były istotnie niższe i mieściły się w granicach od  $0,75 \pm 0,14$  do  $9,83 \pm 0,09$  mM. Kwas propionowy był obecny w hodowlach szczepów LAB w jeszcze mniejszych ilościach. W podłożu MRS jego zawartość wynosiła od  $3,24 \pm 0,02$  do  $8,84 \pm 0,09$  mM. W podłożu wzbogaconym pullulanem dwa szczepy: *L. acidophilus* CH-2 i *L. arabinosus* ATCC 8014 wytworzyły istotnie więcej ( $p = 0,05$ ) kwasu propionowego niż w podłożu MRS i było to odpowiednio:  $11,40 \pm 0,03$  i  $5,48 \pm 0,21$  mM. Z kolei *L. brevis* ZBM 11 w podłożu z dodatkiem pullulanu w ogóle nie wytworzył kwasu propionowego. Po 24 h hodowli LAB, zarówno w podłożu MRS, jak też MRS wzbogaconym pullulanem najmniej było kwasu hydroksymasłowego, odpowiednio od  $2,53 \pm 0,07$  do  $6,09 \pm 0,08$  mM i od  $1,17 \pm 0,14$  do  $5,38 \pm 0,15$  mM (tab. 2).

Analizując otrzymane wyniki zawartości SCFA wytworzonych w podłożu MRS z dodatkiem pullulanu można zauważyć, że jego dodatek miał korzystny wpływ na 8 z 9 badanych szczepów bakterii. *L. acidophilus* CH-5 i *L. casei* ATCC 393 charakteryzowały się zwiększonym wytwarzaniem kwasu mlekowego, a *L. brevis* ZBM 11, *L. arabinosus* ATCC 8014 oraz trzy szczepy *L. plantarum* (NCAIM B. 01834, ATCC 4080, 44) wytworzyły więcej kwasu octowego niż w podłożu MRS. Z kolei w hodowli *L. acidophilus* CH-2 otrzymano najwięcej kwasu propionowego. Podobnie, więcej kwasu propionowego wytworzył szczep *L. arabinosus* ATCC 8014. Jedynie szczep *L. plantarum* NCAIM B. 01149 wykazywał zdecydowanie słabsze właściwości fermentacyjne w hodowli z dodatkiem pullulanu niż w podłożu kontrolnym MRS.

Otrzymane różnice zawartości wytworzonych kwasów w dwóch badanych podłożach mogą być wynikiem odmiennego metabolizmu fermentacyjnego badanych szczepów LAB [11], choć można zauważyć pewne tendencje. Wśród testowych szczepów były zarówno bakterie homo- jak i heterofermentatywne. Bakterie, takie jak *L. acidophilus* i *L. casei*, prowadzące proces homofermentacji glukozy, której produktem jest przede wszystkim kwas mlekowy [11], w podłożu z dodatkiem pullulanu

Tabela 2. Zmiany zawartości krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (SCFA) podczas hodowli w podłożu kontrolnym MRS i w podłożu MRS z dodatkiem pullulanu [mM].

Table 2. Changes in the content of SCFA during batch culture in MRS control medium and in MRS medium with pullulan added [mM].

Szczepy / Strains	Suma SCFA Total of SCFA ( $\bar{x} \pm s / SD$ )		Kwas mrówkowy Formic acid ( $\bar{x} \pm s / SD$ )		Kwas mlekowy Lactic acid ( $\bar{x} \pm s / SD$ )		Kwas octowy Acetic acid ( $\bar{x} \pm s / SD$ )		Kwas hydroksymasłowy Hydroxybutyric acid ( $\bar{x} \pm s / SD$ )		Kwas propionowy Propionic acid ( $\bar{x} \pm s / SD$ )	
	MRS	MRS+P	MRS	MRS+P	MRS	MRS+P	MRS	MRS+P	MRS	MRS+P	MRS	MRS+P
	[0 h]											
	27,57 <sup>a</sup> ± 1,09	27,51 <sup>a</sup> ± 1,09	0,79 <sup>A</sup> ± 0,17	0,73 <sup>A</sup> ± 0,05	1,32 <sup>x</sup> ± 0,09	1,66 <sup>x</sup> ± 0,31	23,94 <sup>x</sup> ± 1,03	23,67 <sup>x</sup> ± 0,42	1,52 <sup>z</sup> ± 0,32	1,45 <sup>z</sup> ± 0,31	0 <sup>v</sup>	0 <sup>v</sup>
[24 h]												
<i>L. acidophilus</i> CH-2	85,78 <sup>b</sup> ± 0,24	82,26 <sup>a</sup> ± 0,57	9,68 <sup>B</sup> ± 1,45	5,63 <sup>A</sup> ± 0,02	53,08 <sup>x</sup> ± 0,61	52,56 <sup>x</sup> ± 1,35	11,12 <sup>y</sup> ±0,01	8,89 <sup>x</sup> ± 0,17	4,42 <sup>z</sup> ± 0,09	3,78 <sup>v</sup> ± 0,01	6,23 <sup>v</sup> ± 0,12	11,40 <sup>z</sup> ± 0,03
<i>L. acidophilus</i> CH-5	78,65 <sup>b</sup> ±0,91	71,79 <sup>a</sup> ± 2,16	10,67 <sup>B</sup> ± 0,26	4,90 <sup>A</sup> ± 0,15	42,00 <sup>x</sup> ± 0,43	43,81 <sup>y</sup> ± 1,37	13,25 <sup>y</sup> ± 0,62	9,80 <sup>x</sup> ± 0,01	6,09 <sup>z</sup> ± 0,08	5,38 <sup>v</sup> ± 0,15	6,65 <sup>v</sup> ± 0,05	6,30 <sup>v</sup> ± 0,73
<i>L. brevis</i> ZBM 11	163,12 <sup>b</sup> ± 1,47	149,34 <sup>a</sup> ± 1,75	13,46 <sup>B</sup> ± 0,59	4,90 <sup>A</sup> ± 0,15	46,78 <sup>y</sup> ± 0,71	43,98 <sup>x</sup> ± 0,56	90,31 <sup>x</sup> ± 0,18	95,83 <sup>y</sup> ± 1,97	4,04 <sup>z</sup> ± 0,01	3,08 <sup>v</sup> ± 0,18	8,53 <sup>z</sup> ± 0,03	0 <sup>v</sup>
<i>L. casei</i> ATCC 393	63,27 <sup>a</sup> ± 0,21	67,13 <sup>b</sup> ± 1,53	9,80 <sup>B</sup> ± 0,37	0,75 <sup>A</sup> ± 0,14	32,30 <sup>y</sup> ± 0,43	51,62 <sup>x</sup> ± 1,22	13,08 <sup>x</sup> ± 0,11	12,39 <sup>x</sup> ± 0,76	2,99 <sup>z</sup> ± 0,05	1,17 <sup>v</sup> ± 0,14	5,1 <sup>z</sup> ± 0,09	1,26 <sup>v</sup> ± 0,18
<i>L. plantarum</i> NCAIM B. 01149	162,11 <sup>b</sup> ± 3,51	143,43 <sup>a</sup> ± 3,39	17,28 <sup>B</sup> ± 0,55	8,83 <sup>A</sup> ± 0,35	42,92 <sup>x</sup> ± 0,93	42,54 <sup>x</sup> ± 1,77	90,55 <sup>x</sup> ± 3,46	86,92 <sup>x</sup> ± 1,53	2,57 <sup>z</sup> ± 0,02	1,86 <sup>v</sup> ± 0,02	8,79 <sup>z</sup> ± 0,35	3,29 <sup>v</sup> ± 0,24
<i>L. plantarum</i> NCAIM B. 01834	136,93 <sup>a</sup> ± 0,81	134,25 <sup>a</sup> ± 1,81	17,29 <sup>B</sup> ± 0,39	8,14 <sup>A</sup> ± 1,04	42,94 <sup>y</sup> ± 1,21	41,44 <sup>x</sup> ± 0,13	65,48 <sup>x</sup> ± 1,48	80,67 <sup>y</sup> ± 0,95	2,53 <sup>z</sup> ± 0,07	1,85 <sup>v</sup> ± 0,15	8,68 <sup>z</sup> ± 0,08	2,15 <sup>v</sup> ± 0,11

<i>L. plantarum</i> ATCC 4080	162,33 <sup>b</sup> ± 0,05	146,92 <sup>a</sup> ± 1,21	21,38 <sup>B</sup> ± 0,54	9,83 <sup>A</sup> ± 0,09	43,48 <sup>y</sup> ± 0,28	38,37 <sup>x</sup> ± 0,13	83,40 <sup>x</sup> ± 1,04	93,25 <sup>Y</sup> ± 0,72	5,24 <sup>z</sup> ± 0,26	1,92 <sup>v</sup> ± 0,05	8,84 <sup>Z</sup> ± 0,09	3,55 <sup>V</sup> ± 0,49
<i>L. plantarum</i> 44	86,11 <sup>b</sup> ± 0,27	65,05 <sup>a</sup> ± 0,18	14,43 <sup>B</sup> ± 1,02	8,00 <sup>A</sup> ± 0,23	50,47 <sup>y</sup> ± 0,83	33,28 <sup>x</sup> ± 0,39	8,78 <sup>x</sup> ± 0,49	17,42 <sup>Y</sup> ± 0,02	3,69 <sup>z</sup> ± 0,01	1,69 <sup>v</sup> ± 0,06	8,74 <sup>Z</sup> ± 0,56	4,67 <sup>V</sup> ± 0,02
<i>L. arabinosus</i> ATCC 8014	76,29 <sup>b</sup> ± 1,84	66,23 <sup>a</sup> ± 0,4	17,12 <sup>B</sup> ± 1,43	5,04 <sup>A</sup> ± 0,46	41,67 <sup>y</sup> ± 0,01	34,65 <sup>x</sup> ± 0,25	9,70 <sup>x</sup> ± 0,01	18,71 <sup>Y</sup> ± 0,20	4,56 <sup>z</sup> ± 0,40	1,99 <sup>v</sup> ± 0,18	3,24 <sup>V</sup> ± 0,02	5,48 <sup>Z</sup> ± 0,21

Objaśnienia: / Explanatory notes:

MRS / MRS medium; (MRS+P): MRS + 2 % pullulanu / MRS medium + 2 % of pullulan added;

$\bar{x}$  – wartość średnia / mean value; s – odchylenie standardowe / SD – standard deviation ; n = 6; a, b, A, B, x, y, X, Y, v, z, V, Z – wartości średnie oznaczone tymi samymi literami w wierszach nie różnią się statystycznie istotnie (p = 0,05) / mean values denoted by the same letters in the rows do not differ statistically significantly (p = 0.05).

zwiększyły wytwarzanie tego kwasu. Z kolei bakterie bezwzględnie heterofermentatywne, jak *L. brevis* czy względnie heterofermentatywne, jak *L. plantarum*, fermentujące glukozę do kwasu mlekowego i octowego, zwiększyły syntezę obu tych rodzajów kwasów.

Analizując sumę SCFA można zauważyć dużą rozpiętość wyników, w zależności od użytego szczepu oraz podłoża (tab. 2). W podłożu MRS najniższą wartość sumy SCFA po 24-godzinnej hodowli uzyskano w przypadku szczepu *L. casei* ATCC 393, która wynosiła tylko 63,08 mM, a najwyższą – szczepu *L. brevis* ZBM 11, tj. 163,95 mM. Równie dużo SCFA wytworzyły szczepy *L. plantarum* ATCC 4080 (162,33 mM) i *L. plantarum* NCAIM B. 01149 (162,11 mM). Sumy SCFA w podłożu z dodatkiem pullulanu otrzymane po 24-godzinnej hodowli poszczególnych szczepów były mniejsze i wynosiły od 65,05 mM – *L. plantarum* 44 do 149,34 mM w przypadku *L. brevis* ZBM 11. Większą niż w podłożu MRS wartość sumy SCFA uzyskano tylko w przypadku szczepu *L. casei* ATCC 393 (67,47 mM).

Pan i wsp. [14] sprawdzili poziom SCFA wytworzony przez myszy karmione przez 2 tygodnie paszą zawierającą frukto-, chito-, mannano- i galaktooligosacharydy. Suma wytworzonych SCFA zawierała się w granicach od  $49,59 \pm 3,67$  do  $63,58 \pm 4,70$  mM. Najkorzystniejszy wynik uzyskano przy zastosowaniu frukto- i galaktoligosacharydów, odpowiednio:  $63,58 \pm 4,70$  i  $61,54 \pm 3,82$ . Z kolei Ramnani i wsp. [16] badali wytwarzanie SCFA przez mikroflorę kałową osób dorosłych, stosując jako potencjalne prebiotyki zdegradowane polisacharydy o niskiej masie molekularnej, otrzymane z wodorostów. Uzyskane w badaniach tych autorów sumy SCFA po 24-godzinnej hodowli mikroflory kałowej były bardzo zróżnicowane i wynosiły od  $2,0 \pm 0,06$  mM do  $73,46 \pm 6,44$  mM. Autorzy stwierdzili, że tylko w obecności zdegradowanych polisacharydów pozyskanych z *Gelidium sesquipedale* istotnie wzrosło wytwarzanie SCFA, a w szczególności kwasu octowego i propionowego.

Reasumując, można stwierdzić, że w wyniku zastosowania dodatku pullulanu jako substancji potencjalnie prebiotycznej uzyskano zadowalający efekt tylko w przypadku zwiększenia zawartości poszczególnych SCFA, wytwarzanych przez badane szczepy *Lactobacillus*.

## Wnioski

1. Wszystkie badane szczepy LAB po 24-godzinnej hodowli wykazywały wzrost i zdolności fermentacyjne na podłożu wzbogaconym pullulanem.
2. Dodatek pullulanu w ilości 2 % do podłoża MRS nie wpłynął stymulująco na zwiększenie liczby komórek badanych szczepów bakterii *Lactobacillus*, natomiast wpłynął na zwiększenie zawartości niektórych krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych.

3. Kwas octowy został wytworzony w większych ilościach w podłożu MRS z dodatkiem pullulanu niż w podłożu MRS przez 5 z 9 badanych szczepów: *L. brevis* ZBM 11, *L. plantarum* NCAIM B. 01834, *L. plantarum* ATCC 4080, *L. plantarum* 44 i *L. arabinosus* ATCC 8014.
4. Zwiększoną wydajnością wytwarzania kwasu mlekowego charakteryzowały się, *L. acidophilus* CH-5 i *L. casei* ATCC 393, a w hodowli *L. acidophilus* CH-2 i *L. arabinosus* ATCC 8014 otrzymano więcej kwasu propionowego.

### Literatura

- [1] Arnoldi A.: Functional Foods. Cardiovascular Disease and Diabetes. Woodhead Publishing in Food Science and Technology, 2004, pp. 450-451.
- [2] Charalampopoulos D., Rastall R.A.: Prebiotics in foods. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 2012, **23**, 187-191.
- [3] Cheng K-Ch., Demirci A., Catchmark J.M.: Pullulan: biosynthesis, production and applications. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2011, **92**, 29-44.
- [4] Cieślak E., Gębusia A.: Żywność funkcjonalna z dodatkiem fruktanów. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, **2 (75)**, 27-37.
- [5] Dolatowski Z.J., Kołożyn-Krajewska D.: Bakterie probiotyczne w produktach mięsnych. *Przem Spoż.*, 2010, **64**, 21-24.
- [6] Doman-Pytka M., Bardowski J.: Pullulan degrading enzymes of bacterial origin. *Crit. Rev. Microbiol.*, 2004, **30**, 107-121.
- [7] Fric P.: Probiotics and prebiotics – renaissance of a therapeutic principle. *Cent. Eur. J. Med.*, 2007, **2 (3)**, 237-270.
- [8] Gustaw W., Kordowska-Wiater M., Kozioł J.: The influence of selected prebiotics on the growth of lactic acid bacteria for bio-yogurt production. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.*, 2011, **10 (4)**, 455-466.
- [9] Karim M.R., Lee H.W., Hyun M.J., Park J.H., Yeum J.H.: Electrospinning preparation and characterization of pullulan/montmorillonite nanofiber mats in aqueous solution. *Carbohydr. Polym.*, 2009, **78 (2)**, 336-342.
- [10] Klewicka E., Libudzisz Z., Czajka D., Kuc K.: Antagonistyczna aktywność bakterii fermentacji mlekowej *Lactobacillus acidophilus*. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 1999, **4 (21)**, 168-175.
- [11] Libudzisz Z., Kowal K., Żakowska Z. (Red.): *Mikrobiologia techniczna tom II*. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2008, ss. 25-59.
- [12] Mattila-Sandholm T., Myllärinen P., Crittenden R., Mogensen G., Fondén R., Saarela M.: Technological challenges for future probiotic foods. *Int. Dairy J.*, 2002, **12**, 173-182.
- [13] Myszka K., Czaczyk K.: Rola egzopolisacharydów mikrobiologicznych w technologii żywności. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **4 (41)**, 18-29.
- [14] Pan X., Chen F., Wu T., Tang H., Zhao Z.: Prebiotic oligosaccharides change the concentrations of short-chain fatty acids and the microbial population of mouse bowel. *J. Zhejiang Univ. Sci. B*, 2009, **10 (4)**, 258-263.
- [15] PN-ISO 4833:1998. Ogólne zasady oznaczania liczby drobnoustrojów. Metoda płytkowa w 30 °C.
- [16] Ramnani P., Chitarrari R., Tuohy K., Grant J., Hotchkiss S., Philp K., Campbell R., Gill Ch., Rowland I.: *In vitro* fermentation and prebiotic potential of low molecular weight polysaccharides derived from agar and alginate seaweeds. *Anaerobe*, 2012, **18**, 1-6.
- [17] Rivera-Espinoza Y., Gallardo-Navarro Y.: Non-dairy probiotic products. *Food Microbiol.*, 2010, **27**, 1-11.
- [18] Rousseau V., Lepargneur J.P., Roques C., Remaud-Simeon M., Paul F.: Prebiotic effect of oligosaccharides on selected vaginal lactobacilli and pathogenic microorganisms. *Anaerobe*, 2005, **11**, 145-153.



- [19] Ryan S.M., Fitzgerald G.F., van Sinderen D.: Screening for and identification of starch-, amylopectin-, and pullulan-degrading activities in *Bifidobacterial* strains. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2006, 5289-5296.
- [20] Sadaghdar Y., Mortazavian M., Ehsani M.R.: Survival and activity of 5 probiotic lactobacilli strains in 2 types of flavored fermented milk. *Food Sci. Technol.*, 2012, **21** (1), 151-157.
- [21] Singh R.S., Saini G.K., Kennedy J.F.: Pullulan: Microbial sources, production and applications. *Carb. Pol.*, 2008, **73**, 515-531.
- [22] Szydłowska A., Kołożyn-Krajewska D.: Zastosowanie bakterii potencjalnie probiotycznych do fermentacji przecieru z dyni. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **6** (73), 109-119.

#### EFFECT OF PULLULAN ADDITIVE ON GROWTH AND FERMENTATION CAPACITY OF SOME SELECTED BACTERIA OF GENUS *LACTOBACILLUS*

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

The effect was studied of pullulan additive on the growth and fermentation capacity of nine strains of lactic acid bacteria of the genus *Lactobacillus*. Deep batch cultures were grown during a period of 24 h in an MRS control and experimental medium with 2.0 % of pullulan added. During that 24 h period, it was reported that the bacteria grew from the initial number of  $10^4$  cfu/cm<sup>3</sup> to the count of  $10^7 \div 10^9$  cfu/cm<sup>3</sup> depending on the strain studied. No significant differences were reported between the count of bacteria cultured in the control medium and in the experimental medium with pullulan added. In order to compare the fermentation capacity of strains at time "0" and at the end of growing those bacteria in the two media, a content of short chain fatty acids (SCFA) was determined using an HPLC method. The following acids were found: formic acid, lactic acid, acetic acid, propionic acid, and hydroxybutyric acid. A higher total content of SCFA was reported in the MRS control medium compared to the MRS experimental medium. The pullulan additive added to the MRS medium contributed to an increased production of lactic acid by the two strains of LAB and of acetic acid by 5 of the 9 LAB strains analyzed.

**Key words:** LAB, pullulan, SCFA, lactic fermentation, count of bacteria 

KAROL MIŃKOWSKI, ARTUR KALINOWSKI, ANNA KRUPSKA

## WPLYW SPOSOBU PRZYGOTOWANIA NASION ORAZ DŁAWIENIA MASY NASIENNEJ W PRASIE ŚLIMAKOWEJ NA PARAMETRY PROCESU TŁOCZENIA I CECHY JAKOŚCIOWE OLEJU LNIANEGO

### Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu wilgotności i rozdrobnienia nasion oraz stopnia dławienia masy nasiennej w prasie ślimakowej na wybrane parametry procesu tłoczenia i cechy jakościowe oleju lnianego. Badaniom poddano nasiona lnu wysokolinolenowej odmiany 'Bukoz'. Rozdrabnianie nasion wykonywano metodą płatkowania w dwuwalcowym młynie laboratoryjnym z gładkimi walcami. Oleje tłoczono w prasie ślimakowej UNO firmy Farmet. Stwierdzono, że wilgotność nasion, wielkość średnicy dyszy wylotowej prasy oraz płatkowanie nasion przed tłoczeniem wywierały istotny wpływ na parametry procesu tłoczenia i jakość oleju. Wzrost wilgotności nasion z 6,7 do 8,6 % skutkował wzrostem przelotowości prasy z 7,8 do 8,8 kg/h, zmniejszeniem wydajności tłoczenia z 81,6 do 71,9 %, obniżeniem temperatury oleju od 51 do 47 °C i wylotku od 69 do 66 °C, wzrostem zawartości wody w oleju z 0,39 do 0,43 % oraz zmniejszeniem zawartości zanieczyszczeń nierozpuszczalnych z 4,4 do 3,2 %. Odpowiedni poziom wilgotności nasion zawierał się pomiędzy 7,5 a 9 %. Zmniejszenie średnicy dyszy z 10 do 6 mm skutkowało obniżeniem przelotowości prasy z 11,8 do 8 kg/h, zwiększeniem wydajności tłoczenia z 69,5 do 77,6 %, wzrostem temperatury oleju od 45 do 51 °C i wylotków od 65 do 69 °C oraz zwiększeniem zawartości zanieczyszczeń nierozpuszczalnych z 3 do 3,3 %. Przy przerobieniu całych nasion korzystne było stosowanie dyszy o średnicy 8 mm. Płatkowanie nasion skutkowało wzrostem przelotowości prasy z 8 do 9,8 kg/h, wzrostem wydajności tłoczenia z 77,6 do 80,7 %, obniżeniem temperatury oleju od 51 do 44 °C a wylotków od 66 do 65 °C oraz wzrostem zawartości zanieczyszczeń nierozpuszczalnych z 3,3 do 4,6 %. Przy przerobieniu płatków korzystne było stosowanie dyszy o średnicy 6 mm.

**Słowa kluczowe:** nasiona lnu, olej lniany, tłoczenie na zimno, prasa ślimakowa, jakość oleju

### Wprowadzenie

Len zwyczajny (*Linum usitatissimum* L.) jest rośliną jednoroczną należącą do rodziny lnowatych (*Linaceae*). Ze względu na sposób użytkowania wyróżnia się dwie formy uprawne lnu: włóknisty i oleisty [2]. Nasiona lnu (siemię lniane) są błyszczące,

---

*Dr hab. K. Mińkowski, prof. nadzw., mgr inż. A. Kalinowski, mgr inż. A. Krupska, Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego, Oddział Technologii Mięsa i Tłuszczu, ul. Jubilerska 4, 04-190 Warszawa. Kontakt: Karol.Minkowski@jpmt.waw.pl*

o barwie od brązowej do jasnożółtej, cechuje je przyjemny zapach i orzechowy smak. Nasiona zawierają około: 38 ÷ 45 % tłuszczu, 24 ÷ 25 % białka, 20 ÷ 28 % błonnika i 3,5 ÷ 4 % związków mineralnych [5]. Siemię lniane, całe lub w postaci mielonej, wykorzystywane jest na cele spożywcze, jako dodatek do wielu produktów, głównie w piekarnictwie [23]. Nasiona są źródłem cennego oleju, będącego w tej strefie klimatycznej najbogatszym roślinnym źródłem kwasu  $\alpha$ -linolenowego [5, 8].

Technologia pozyskiwania oleju lnianego zależy od kierunków jego wykorzystania. Klasyczna technologia wstępnego tłoczenia na gorąco i ekstrakcji rozpuszczalnikowej, po których często następuje etap rafinacji, z uwagi na niską trwałość oksydacyjną oleju nie jest możliwa do stosowania w przypadku jego wykorzystywania do celów spożywczych. Olej lniany spożywczy pozyskiwany jest zwykle poprzez tłoczenie na zimno, to znaczy, że temperatura oleju na wyjściu z prasy nie powinna przekraczać 50 °C [11]. Do tego celu stosuje się przede wszystkim prasy ślimakowe o ruchu ciągłym, a niekiedy prasy hydrauliczne [24]. W zależności od rodzaju i typu prasy konieczne są różne optymalne wartości wilgotności przerabianych nasion [9]. Alternatywne technologie to ekstrakcja wodna lub za pomocą ditlenku węgla w stanie nadkrytycznym [10].

Jadalne oleje tłoczone na zimno mogą być wartościowe pod warunkiem, że nie zawierają niebezpiecznych dla zdrowia zanieczyszczeń chemicznych i mikrobiologicznych, w tym mikotoksyn oraz substancji przyspieszających proces utleniania tłuszczów, takich jak proutleniająco działające metale (żelazo, miedź) czy barwniki chlorofilowe [24]. Dlatego też podstawowym warunkiem uzyskania dobrego oleju jest odpowiednia jakość nasion kierowanych do tłoczenia.

Nasiona przed tłoczeniem można poddawać procesom rozdrabniania oraz podgrzewania. Etap rozdrabniania wpływa na wydajność procesu tłoczenia, gdyż ułatwia wydobycie tłuszczu dzięki zniszczeniu struktury tkankowej nasion i łupiny, otwarciu części komórek, powiększeniu powierzchni wypływu oleju i zmniejszeniu oporu tkanki [9]. Szczególnie jest to ważne w przypadku nasion tłoczonych na zimno, gdy nie występuje drugi czynnik ułatwiający wydobycie tłuszczu, jakim jest wysoka temperatura [6]. Rozdrobnienie nasion aktywuje jednak enzymy komórkowe miazgi, szczególnie lipazę, peroksydazę i fosfolipazę. Zwiększenie powierzchni wypływu i częściowe uwolnienie oleju z komórek sprzyja również procesom oksydacji tłuszczu. Dlatego też rozdrobnione nasiona powinny być poddane jak najszybciej dalszemu przerobowi [9]. Obróbka termiczna nasion przed tłoczeniem zwiększa wydajność procesu tłoczenia, ale jednocześnie ma wpływ na cechy jakościowe i stabilność oksydacyjną uzyskiwanego oleju [6]. Z oczywistych względów zabieg ten nie jest możliwy do zastosowania przy otrzymywaniu olejów roślinnych metodą tłoczenia na zimno.

Celem pracy było określenie wpływu wilgotności i rozdrobnienia nasion oraz stopnia dławienia masy nasiennej w prasie ślimakowej na wybrane parametry procesu tłoczenia i cechy jakościowe oleju lnianego.

### Material i metody badań

Materiałem do badań były nasiona lnu nowej polskiej odmiany 'Bukoz', pochodzące z upraw ekologicznych, ze zbiorów 2011 r., dostarczone przez Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich z Poznania [2]. Stosowano nasiona całe oraz po ich rozdrobnieniu. Do rozdrabniania (płatkowania) stosowano dwuwalcowy młyn laboratoryjny o walcach gładkich i stałej szczelinie międzywalcowej 0,2 mm, firmy Gosmet, Bydgoszcz. Próbkę nasion o podwyższonej wilgotności uzyskano w wyniku nawilżenia nasion wyjściowych za pomocą wody destylowanej, starannego ich ręcznego wymieszania i przetrzymania w szczelnie zamkniętych torbach polietylenowych w temp. 8 °C przez 5 dni. Oleje tłoczono za pomocą prasy ślimakowej UNO-SE firmy Farnet a.s., Česká Skalice (Czechy) do tłoczenia na zimno, o nominalnej przelotowości  $9 \div 12$  kg/h. Tłoczenie prowadzono w zróżnicowanym ciśnieniu uzyskanym po zastosowaniu dysz wylotowych o średnicy 10, 8 i 6 mm. Temperaturę oleju oraz wycieku opuszczających prasę mierzono za pomocą bezdotykowego termometru laserowego Ray Temp 3, firmy ETI Ltd., Worthing, Wielka Brytania. Po tłoczeniu wszystkie oleje poddawano naturalnej dekantacji w ciągu 3 dni, a następnie analizowano w ciągu 7 dni od tłoczenia. Zawartość zanieczyszczeń oznaczano w olejach otrzymanych bezpośrednio po tłoczeniu. Doświadczenie przeprowadzono w dwóch seriach, a oznaczenia wykonywano w trzech powtórzeniach ( $n = 2 \times 3$ ).

W poszczególnych wariantach doświadczenia wagowo określano przelotowość prasy [kg/h], a także wydajność tłoczenia. Wydajność tłoczenia (W) obliczano na podstawie masy uzyskanego oleju, masy próbki nasion i oznaczonej procentowej zawartości oleju w nasionach.

$$W [\%] = \frac{\text{masa oleju} \times 100 \times 100}{\text{zawartość oleju} \times \text{masa nasion}} \quad (1)$$

W nasionach oznaczano zawartość: wody - metodą suszarkową [16] i tłuszczu - metodą Soxhleta [12]. W olejach po tłoczeniu oznaczano zawartość: zanieczyszczeń nierozpuszczalnych [15], wody i substancji lotnych [14] oraz liczbę kwasową [13], liczbę nadtlenkową [17], liczbę anizydynową [19], skład i zawartość kwasów tłuszczowych [18], zawartość karotenoidów [1], zawartość żelaza [21] i miedzi [22] oraz badano stabilność oksydacyjną w teście Rancimat [20]. Wskaźnik oksydacji Totox wyliczano z równania:

$$\text{Totox} = 2\text{LOO} + \text{LA} \quad (2)$$

gdzie: LOO – liczba nadtlenkowa (wyrażona w milirównoważnikach O<sub>2</sub>/kg, ang. meq/kg), LA – liczba anizydynowa.

Oznaczanie składu kwasów tłuszczowych wykonywano przy użyciu chromatografu gazowego firmy Hewlett-Packard, model 6890 II z oprogramowaniem ChemStation, wyposażony w detektor płomieniowo-jonizacyjny. Do rozdzielania estrów zastosowano wysokopolarną kolumnę kapilarną firmy SGE o symbolu BPX 70, długości 60 m, średnicy 0,25 mm i grubości fazy 0,25 µm. Analizy wykonywano w programowanej temperaturze: temp. kolumny wynosiła 140 °C (1 min), 10 °C/min do 165 °C (1 min), 0,5 °C/min do 180 °C (2 min), 1 °C/min do 210 °C (2 min), temp. dozownika: 210 °C; temperatura detektora wynosiła 250 °C, zastosowano dzielnikowe dozowanie próbki (50 : 1), gazem nośnym był hel.

Oznaczanie zawartości karotenoidów, w przeliczeniu na β-karoten, wykonywano metodą spektrofotometryczną poprzez pomiar absorbancji przy długości fali λ = 445 nm. Pomiar prowadzono za pomocą tintometru Lovibonda PFX 990 firmy Tintometer Ltd Anglia. Oznaczanie zawartości żelaza i miedzi wykonywano za pomocą spektrometru firmy Jobin Yvon, type 138 Ultrace, techniką emisyjnej spektrometrii atomowej z plazmą wzbudzoną indukcyjnie (ICP-AES). Próbki do badań poddawano wysokociśnieniowej mineralizacji w mineralizatorze Milestone 1200. Do mineralizacji stosowano stężony kwas azotowy(V). Stabilność oksydacyjną olejów oznaczano przy użyciu aparatu Rancimat firmy Methrom, typ 679, w temp. 100 °C.

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej za pomocą programu Statgraphic Plus 5.1. Do szacowania różnic między wartościami średnimi zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA, test Duncana przy  $p \leq 0,05$ ). Do oceny zależności pomiędzy zmiennymi wykorzystano analizę regresji prostej liniowej.

## Wyniki i dyskusja

Nasiona lnu zawierały 41,9 % tłuszczu, ich wilgotność wynosiła 6,0 % i były praktycznie pozbawione zanieczyszczeń. Wyniki badań dotyczące wpływu wilgotności nasion na parametry procesu tłoczenia zamieszczono w tab. 1., a na jakość uzyskiwanego oleju – w tab. 2.

Przelotowość prasy była istotnie ( $p \leq 0,05$ ) zależna od wilgotności nasion poddawanych tłoczeniu. Była ona tym większa, im wyższa była ich wilgotność. Przy wzroście wilgotności z 6,7 do 8,6 % przelotowość prasy wzrastała o 12,8 % (tab. 1). Wydajność tłoczenia była także istotnie ( $p \leq 0,05$ ) zależna od wilgotności nasion i malała, gdy wilgotność wzrastała. W omawianym zakresie wilgotności nastąpiło zmniejszenie wydajności tłoczenia o 9,7 punktów procentowych. Niewiadomski [9] podaje, że wilgotność nasion oleistych wpływa na ich strukturę, sprężystość i opory tarcia występujące podczas działania sił mechanicznych w procesie tłoczenia i ma wpływ na przelotowość prasy i wydajność tłoczenia. W trakcie tłoczenia nasion o wilgotności 10,2 %

zaobserwowano wyraźne odstępstwa w przebiegu procesu tłoczenia. Ich skutkiem było znaczne zmniejszenie wydajności tłoczenia o 44,7 punktu procentowego przy równoczesnym wzroście przelotowości prasy o 43,8 % (tab. 1).

Tabela 1. Parametry tłoczenia nasion lnu w zależności od ich wilgotności.

Table 1. Flax seeds pressing parameters depending on moisture of seeds.

Wyszczególnienie Specification	Wilgotność nasion / Moisture of seeds [%]			
	6,7	7,7	8,6	10,2
	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$
Przelotowość prasy Capacity of press [kg/h]	7,8 <sup>a</sup> ± 0,1	8,2 <sup>b</sup> ± 0,1	8,8 <sup>c</sup> ± 0,1	12,0 <sup>d</sup> ± 0,3
Wydajność tłoczenia Pressing yield [%]	81,6 <sup>a</sup> ± 2,0	74,3 <sup>b</sup> ± 1,8	71,9 <sup>c</sup> ± 1,6	36,9 <sup>d</sup> ± 1,5
Temperatura oleju Oil temperature [°C]	51 <sup>a</sup> ± 1	48 <sup>b</sup> ± 1	47 <sup>b</sup> ± 1	43 ÷ 38
Temperatura wytlóków Cake temperature [°C]	69 <sup>a</sup> ± 1	68 <sup>a</sup> ± 1	66 <sup>b</sup> ± 1	66 ÷ 55

Objaśnienia: / Explanatory notes:

$\bar{x}$  – wartość średnia / mean value, s – odchylenie standardowe / SD – standard deviation, a - c wartości średnie oznaczone różnymi indeksami literowymi w rzędach różnią się statystycznie istotnie ( $p \leq 0,05$ ) / mean values denoted by different letter indicates in rows differ statistically significantly ( $p \leq 0.05$ ).

Stwierdzono istnienie wysokiej dodatniej korelacji ( $r = 0,94$ ) pomiędzy przelotowością prasy a wilgotnością nasion. Zależność przelotowości prasy (y) od wilgotności nasion (x) obrazuje równanie prostej regresji:

$$y = - 0,88 + 1,2145 x \quad (1)$$

Wysoka, ale ujemna korelacja ( $r = - 0,92$ ) zachodzi pomiędzy wydajnością tłoczenia a wilgotnością nasion. Zależność pomiędzy wydajnością tłoczenia (y) a wilgotnością nasion (x) obrazuje równanie prostej regresji:

$$y = 167,70 - 12,1588 x \quad (2)$$

Head i wsp. [7] podają, że przy tłoczeniu oleju w prasach ślimakowych w warunkach przemysłowych możliwe jest uzyskanie wydajności tłoczenia wynoszącej około 90 %, natomiast na niedużych urządzeniach i w małej skali wynosi ona zazwyczaj 60 ÷ 65 %, rzadko przekracza 80 %, i jest związana z wyjściową zawartością oleju w surowcu. Tłocząc olej z nasion lnu w prasie typu Komet, Zheng i wsp. [26] uzyskali wydajność od 70,1 do 85,7 % w zależności od wilgotności surowca. Z kolei Wroniak i wsp. [25] uzyskali znacznie mniejsze wydajności podczas tłoczenia oleju z nasion rzepaku – od 45 do 50 %. W porównaniu z wymienionymi wynikami można uznać, że tłoczenie nasion lnu za pomocą prasy typu Farnet było skuteczne, a wydajność tłocze-

nia duża i istotnie ( $p \leq 0,05$ ) zależna od wilgotności nasion. Temperatura oleju także była istotnie ( $p \leq 0,05$ ) zależna od wilgotności nasion. Przy wzroście wilgotności z 6,7 do 8,6 % zmniejszała się z 51 do 47 °C. Żeby olej zakwalifikować do tłoczonych na zimno, jego temperatura nie powinna przekraczać 50 °C [11]. Taki olej uzyskano przy przerobieniu nasion o wilgotności 7,7 oraz 8,6 %. Temperatura oleju wahała się wtedy w granicach 47 ÷ 48 °C, a temp. wytlóków od 66 do 68°C. Temperatura oleju tłoczonego z nasion o wilgotności 6,7 % w nieznaczny sposób przekroczyła dopuszczalny poziom, natomiast przy wilgotności nasion wynoszącej 10,2 % była ona najniższa (tab. 1). Pomimo korzystnych reżimów temperaturowych tłoczenie oleju z nasion o największej wilgotności byłoby nieracjonalne z uwagi na znaczne zmniejszenie wydajności tłoczenia – aż o 44,7 punktów procentowych.

Tabela 2. Wybrane cechy oleju w zależności od wilgotności nasion lnu.

Table 2. Selected characteristics of oil depending on moisture of flax seeds.

Wyszczególnienie Specification	Wilgotność nasion / Moisture of seeds [%]		
	6,7	7,7	8,6
	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$
Zawartość zanieczyszczeń nierozpuszczalnych Content of insoluble impurities [%]	4,4 <sup>a</sup> ± 0,1	3,3 <sup>b</sup> ± 0,1	3,2 <sup>b</sup> ± 0,1
Zawartość wody i substancji lotnych Content of water and volatile compounds [%]	0,39 <sup>a</sup> ± 0,02	0,41 <sup>a,b</sup> ± 0,02	0,43 <sup>c</sup> ± 0,02
Liczba kwasowa Acid value [mg KOH/g]	2,12 <sup>a</sup> ± 0,04	2,21 <sup>b</sup> ± 0,05	2,24 <sup>b</sup> ± 0,05
Liczba nadtlenkowa Peroxide value [meq/kg]	0,72 <sup>a</sup> ± 0,07	0,71 <sup>a</sup> ± 0,08	0,70 <sup>a</sup> ± 0,06
Liczba anizydynowa Anisidine value [-]	0,32 <sup>a</sup> ± 0,04	0,32 <sup>a</sup> ± 0,03	0,30 <sup>a</sup> ± 0,05
Wskaźnik Totox Totox value [-]	1,76 <sup>a</sup> ± 0,09	1,74 <sup>a</sup> ± 0,09	1,70 <sup>a</sup> ± 0,08
Zawartość karotenoidów Content of carotenoids [mg/kg]	143,5 <sup>a</sup> ± 8,1	137,1 <sup>a</sup> ± 9,8	139,4 <sup>a</sup> ± 7,5
Zawartość żelaza Content of iron [mg/kg]	0,23 <sup>a</sup> ± 0,03	0,24 <sup>a</sup> ± 0,04	0,22 <sup>a</sup> ± 0,03
Zawartość miedzi Content of cuprum [mg/kg]	< 0,04	< 0,04	< 0,04
Czas indukcji / Induction time [h] Test Rancimat at 100 [°C]	4,9 <sup>a</sup> ± 0,2	5,0 <sup>a</sup> ± 0,2	4,8 <sup>a</sup> ± 0,2

Objaśnienia jak pod tab. 1. / Explanatory notes as under tab. 1.



Wilgotność nasion w sposób istotny wpłynęła na takie cechy tłoczonego oleju, jak: zawartość zanieczyszczeń nierozpuszczalnych, zawartość wody i substancji lotnych oraz liczbę kwasową (tab. 2). Zawartość zanieczyszczeń nierozpuszczalnych jest ważnym parametrem jakościowym olejów tłoczonych na zimno. Zanieczyszczenia te to przede wszystkim drobne fragmenty nasion przechodzące przez otwory cedzidła do oleju w trakcie tłoczenia. Stanowią one zbędny balast i podlegają usunięciu, zwykle na drodze sedymentacji i filtracji lub wirowania. Zwiększona ilość zanieczyszczeń wymaga większej powierzchni filtracyjnej i wpływa na podwyższenie strat oleju na etapie filtracji. Zmniejszenie wilgotności nasion sprzyja przechodzeniu zanieczyszczeń nierozpuszczalnych do oleju. Olej tłoczony z nasion o najmniejszej wilgotności (6,7 %) zawierał o 25 % więcej zanieczyszczeń niż olej pozyskany z nasion o wilgotności 7,7 %. Zawartość zanieczyszczeń nierozpuszczalnych w tłoczonych na zimno olejach konsumpcyjnych powinna wynosić poniżej 0,05 % [4].

W miarę wzrostu wilgotności nasion w sposób istotnie ( $p \leq 0,05$ ) zależny wzrosła zawartość wody i substancji lotnych w olejach. Duża zawartość wody jest niepożądana, ponieważ przyczynia się przede wszystkim do hydrolizy triacylogliceroli [9]. W badanych olejach nie przekraczała ona poziomu 0,5 % i była mniejsza niż podają Choo i wsp. [3]. Liczba kwasowa olejów wahała się od 2,12 do 2,24 KOH/g (tab. 2), przy dopuszczalnym dla olejów tłoczonych na zimno poziomie 4 mg KOH/g [4]. Wzrost wilgotności nasion z 6,7 do 7,7 % skutkował niewielkim, ale istotnie ( $p \leq 0,05$ ) zależnym podwyższeniem liczby kwasowej tłoczonego oleju. Wszystkie oleje charakteryzowały się niskim stopniem utlenienia, a ich liczba nadtlenkowa (LOO), informująca o zawartości pierwotnych produktów utlenienia, praktycznie była stała (tab. 2). Były to wartości zdecydowanie poniżej dopuszczalnego dla olejów tłoczonych na zimno poziomu 15 meq  $O_2$ /kg [4]. Zawartość wtórnych produktów utlenienia mierzonych za pomocą liczby anizydynowej (LA) także była na bardzo niskim poziomie (od 0,30 do 0,32) i w związku z tym wskaźnik Totox przyjmował niskie wartości.

W olejach oznaczono również zawartość karotenoidów, związków o działaniu przeciwutleniającym, a także metali o cechach proutleniających, a mianowicie Fe i Cu. Wilgotność nasion nie miała istotnego ( $p \leq 0,05$ ) wpływu na ich zawartość w badanych olejach. Zawartość karotenoidów kształtowała się na poziomie 140 mg/kg, porównywalnym z danymi literaturowymi [8]. Zawartość żelaza (od 0,22 do 0,24 mg/kg) była zdecydowanie mniejsza od danych literaturowych [3, 8], a zawartość miedzi poniżej progu wykrywalności metody. Świadczy to o dużej czystości nasion i starannym obchodzeniu się z nimi od zbioru do momentu przerobu. Wilgotność nasion nie miała istotnego ( $p \leq 0,05$ ) wpływu na stabilność oksydacyjną oleju mierzoną za pomocą testu Rancimat. Czas indukcji w temp. 100 °C wynosił od 4,8 do 5,0 h.

Wykorzystywana w badaniach prasa typu Farnet wyposażona jest w 3 wymienne dysze o różnej średnicy, dzięki czemu poprzez jej dławienie na wylocie możliwe było

uzyskanie zróżnicowanych ciśnień wewnętrznych i zmiennych warunków tłoczenia oleju. W tab. 3. przedstawiono wyniki badań prowadzonych w tym zakresie na nasionach o dwóch poziomach wilgotności – 7,7 i 8,6 %. W miarę zmniejszania się średnicy dyszy (z 10 do 6 mm) w sposób istotnie ( $p \leq 0,05$ ) zależny malała przelotowość prasy. Przy przerobie nasion o wilgotności 7,7 % spadek wynosił 14,6 %, a o wilgotności 8,6 % – aż 32,2 % (tab. 3). Równocześnie istotnie wzrastała wydajność tłoczenia, odpowiednio o 7,6 i 8,1 punktu procentowego. Stwierdzono istnienie dodatniej korelacji ( $r = 0,73$ ) pomiędzy przelotowością prasy ( $y$ ) a średnicą dyszy wylotowej ( $x$ ), a równanie regresji miało postać:

$$y = 3,73 + 0,6375x \quad (3)$$

Bardzo wysoka, ale ujemna korelacja ( $r = -0,98$ ) wystąpiła pomiędzy wydajnością tłoczenia ( $y$ ) a średnicą dyszy ( $x$ ). Zależność pomiędzy tymi wielkościami opisuje równanie regresji:

$$y = 167,70 - 12,1588x \quad (4)$$

Temperatura pozyskiwanego oleju w sposób istotny ( $p \leq 0,05$ ) zależała od średnicy dyszy. Przy zastosowaniu dyszy 6 mm temperatura oleju przekroczyła maksymalną dopuszczalną temperaturę 50 °C przy obu poziomach wilgotności nasion. Wyklucza to jej stosowanie przy tłoczeniu całych nasion lnu.

Temperatura wytlóków także wzrastała w sposób statystycznie istotny w przypadku obu poziomów wilgotności nasion, odpowiednio z 60 do 74 °C oraz z 65 do 69 °C (tab. 3). W miarę zmniejszania się średnicy dyszy (z 10 do 6 mm) w sposób istotnie ( $p \leq 0,05$ ) zależny wzrastała zawartość zanieczyszczeń nierozpuszczalnych w oleju. Najwięcej było ich przy zastosowaniu dyszy o średnicy 6 mm i przerobie nasion o wilgotności 7,7 %. Zawartość wody i substancji lotnych ulegała niewielkim zmianom. Skład kwasów tłuszczowych badanych olejów i ich udział był typowy i charakterystyczny dla wysokolinolenowego oleju lnianego [5]. Oleje uzyskane w różnych warunkach tłoczenia nie różniły się pod tym względem pomiędzy sobą. Zmiana średnicy dyszy oraz nawilżanie nasion nie wpłynęły na skład kwasów tłuszczowych analizowanych olejów (tab. 4). Udział głównych kwasów był następujący: oleinowy (C18:1) – od 13,8 do 14,0 %, linolowy (C18:2) – od 14,4 do 14,6 %, linolenowy (C18:3) – od 62,0 do 62,3 %. W analizowanych olejach nie stwierdzono obecności izomerów trans kwasów tłuszczowych.

Olej lniany tłoczony na zimno otrzymywany jest zwykle z całych nasion, które dopiero w prasie ślimakowej podlegają rozdrabnianiu poprzez ich ścinanie, skręcanie i przesuwanie. Nowe technologie, proponujące obróbkę enzymatyczną nasion oleistych przed tłoczeniem, wymagają wcześniejszego ich rozdrobnienia [10]. Proces ten najczęściej odbywa się poprzez płatkowanie. W tab.5. zamieszczono wyniki dotyczące

wplywu platkowania nasion na parametry procesu tloczenia oraz jakosci pozyskiwanego oleju, przy zastosowaniu dysz o srednicy 6 oraz 8 mm. Nasiona platkowano bezposrednio przed ich tloczeniem w prasie slimakowej.

Tabela 3. Parametry procesu tloczenia i cechy oleju lnianego w zalezności od srednicy dyszy wylotowej.  
Table 3. Pressing parameters and flax oil characteristics depending on outlet nozzle diameter.

Wyszczególnienie Specifications	Średnica dyszy / Wilgotność nasion Diameter of nozzle [mm] / Moisture of seeds [%]					
	Ø 10	Ø 8	Ø 6	Ø 10	Ø 8	Ø 6
	7,7			8,6		
	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$
Przelotowość prasy Capacity of press [kg/h]	8,9 <sup>a</sup> ± 0,1	7,8 <sup>b</sup> ± 0,1	7,6 <sup>c</sup> ± 0,1	11,8 <sup>A</sup> ± 0,2	8,9 <sup>B</sup> ± 0,2	8,0 <sup>C</sup> ± 0,1
Wydajność tloczenia Pressing yield [%]	69,5 <sup>a</sup> ± 1,8	74,5 <sup>b</sup> ± 1,9	77,1 <sup>a</sup> ± 1,9	69,5 <sup>A</sup> ± 1,7	72,1 <sup>B</sup> ± 1,8	77,6 <sup>C</sup> ± 2,0
Temperatura oleju Oil temperature [°C]	45 <sup>a</sup> ± 1	48 <sup>b</sup> ± 1	52 <sup>c</sup> ± 1	45 <sup>A</sup> ± 1	47 <sup>B</sup> ± 1	51 <sup>C</sup> ± 1
Temperatura wytloków Cake temperature [°C]	60 <sup>a</sup> ± 1	68 <sup>b</sup> ± 1	74 <sup>c</sup> ± 1	65 <sup>A</sup> ± 1	66 <sup>B</sup> ± 1	69 <sup>C</sup> ± 1
Zawartość zanieczyszczeń nierozpuszczalnych / Content of insoluble impurities [%]	3,2 <sup>a</sup> ± 0,1	3,2 <sup>a</sup> ± 0,1	3,7 <sup>b</sup> ± 0,1	3,0 <sup>A</sup> ± 0,1	3,2 <sup>B</sup> ± 0,1	3,3 <sup>B</sup> ± 0,1
Zawartość wody i substancji lotnych / Content of water and volatile compounds [%]	0,38 <sup>a</sup> ± 0,01	0,41 <sup>b</sup> ± 0,02	0,40 <sup>b</sup> ± 0,02	0,39 <sup>A</sup> ± 0,02	0,41 <sup>B</sup> ± 0,03	0,40 <sup>AB</sup> ± 0,02

Objaśnienia: / Explanatory notes:

$\bar{x}$  – wartość średnia / meanvalue, s – odchylenie standardowe / SD – standard deviation, a - c, A - C – wartości średnie oznaczone różnymi indeksami literowymi w rzędach, dla poszczególnych poziomów wilgotności, różnią się statystycznie istotnie ( $p \leq 0,05$ ) / mean values denoted by different letter indices in rows differ statistically significantly ( $p \leq 0.05$ ).

Dzięki wcześniejszemu splatkowaniu nasion uzyskano istotny ( $p \leq 0,05$ ) wzrost przelotowości prasy, średnio o 20 %. Dzięki otwarciu większości komórek nasiennych platkowanie przyczyniło się do uzyskania statystycznie istotnie większej wydajności tloczenia – przy zastosowaniu dyszy o średnicy 6 mm o 3,0 % a przy Ø 8 mm – o 1,4 %. Największą wydajność tloczenia, wynoszącą 80,7 %, osiągnięto przy zastosowaniu dyszy o średnicy 6 mm. Temperatura oleju otrzymanego w wyniku tloczenia platków była istotnie ( $p \leq 0,05$ ) niższa od temperatury oleju otrzymanego poprzez tloczenie całych nasion. Przy zastosowaniu dyszy o Ø 6 mm obniżenie wynosiło aż 7 °C, a przy dyszy o Ø 8 mm - 4 °C. W przypadku wytloków ich temperatura także uległa

Tabela 4. Skład kwasów tłuszczowych analizowanego oleju lnianego.

Table 4. Fatty acids composition of flax oil analyzed.

Średnica dyszy / Wilgotność nasion Nozzle diameter [mm] / Moisture of seeds [%]	Kwasy tłuszczowe / Fatty Acids [%]											
	14:0	16:0	16:1	17:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	22:0	24:0
Ø 10	0,1	5,9	0,1	0,1	2,5	13,9	14,5	62,1	0,1	0,2	0,1	0,1
Ø 8	0,1	5,8	0,1	0,1	2,5	13,9	14,4	62,3	0,1	0,2	0,1	0,1
Ø 6	0,1	5,9	0,1	0,1	2,5	14,0	14,5	62,0	0,1	0,2	0,1	0,1
6,7	0,1	5,9	0,1	0,1	2,6	14,0	14,5	62,1	0,1	0,2	0,1	0,1
7,7	0,1	5,9	0,1	0,1	2,4	13,8	14,4	62,4	0,1	0,2	0,1	0,1
8,6	0,1	5,9	0,1	0,1	2,5	13,8	14,6	62,1	0,1	0,2	0,1	0,1

Tabela 5. Parametry procesu tłoczenia i jakość olejów w zależności od płatkowania nasion lnu.

Table 5. Pressing parameters and oil quality depending on flaking of flax seeds.

Wyszczególnienie Specification	Rodzaj surowca / Kind of raw material – Średnica dyszy / Diameter of nozzle [mm]			
	Nasiona / Seeds		Płatki / Flakes	
	Ø 6		Ø 8	
	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$
Przelotowość prasy Capacity of press [kg/h]	8,0 <sup>a</sup> ± 0,1	9,8 <sup>b</sup> ± 0,2	8,9 <sup>A</sup> ± 0,1	10,6 <sup>B</sup> ± 0,2
Wydajność tłoczenia Pressing yield [%]	77,6 <sup>a</sup> ± 1,8	80,7 <sup>b</sup> ± 1,9	72,1 <sup>A</sup> ± 1,6	73,5 <sup>B</sup> ± 1,7
Temperatura oleju Oil temperature [°C]	51 <sup>a</sup> ± 1	44 <sup>b</sup> ± 1	47 <sup>A</sup> ± 1	43 <sup>B</sup> ± 1
Temperatura wyłoków Cake temperature [°C]	66 <sup>a</sup> ± 1	65 <sup>b</sup> ± 1	66 <sup>A</sup> ± 1	64 <sup>B</sup> ± 1
Zawartość zanieczyszczeń nierozpuszczalnych Content of insoluble impurities [%]	3,3 <sup>a</sup> ± 0,1	4,6 <sup>b</sup> ± 0,1	3,2 <sup>A</sup> ± 0,1	4,2 <sup>B</sup> ± 0,1
Liczba kwasowa Acid value [mg KOH/g]	2,20 <sup>a</sup> ± 0,04	2,25 <sup>a</sup> ± 0,05	2,21 <sup>A</sup> ± 0,05	2,24 <sup>A</sup> ± 0,05
Liczba nadtlenkowa Peroxide value [meq O/kg]	0,80 <sup>a</sup> ± 0,03	0,82 <sup>a</sup> ± 0,04	0,81 <sup>A</sup> ± 0,02	0,84 <sup>A</sup> ± 0,03

Objaśnienia: /Explanatory notes:

$\bar{x}$  – wartość średnia / mean value, s – odchylenie standardowe / SD – standard deviation, a - c, A - C – wartości średnie oznaczone różnymi indeksami literowymi w rzędach, dla poszczególnych dysz, różnią się statystycznie istotnie ( $p \leq 0,05$ ) / mean values denoted by different letter indices in rows differ statistically significantly ( $p \leq 0.05$ ).

obniżeniu, w obu wariantach o 2 °C. Było to możliwe dzięki rozdrobnieniu nasion w oddzielnej operacji i zmniejszeniu wydatku energetycznego na ten cel w prasie ślimakowej. Niekorzystnym zjawiskiem był istotny wzrost ilości zanieczyszczeń nierozpuszczalnych w olejach tłoczonych z płatków, przy zastosowaniu dyszy o  $\varnothing$  6 mm o 1,3 %, a o  $\varnothing$  8 mm o 1,0 %. Płatkowanie, oprócz otwarcia komórek nasiennych, może w niekorzystnych warunkach generować pewną ilość miazgi nasiennego. Powstaje ona także w prasie ślimakowej i w podwyższonych ilościach przechodzi do oleju. Płatkowanie nasion przed tłoczeniem nie miało istotnego wpływu na takie cechy jakościowe oleju, jak liczba kwasowa i liczba nadtlenkowa (tab. 5).

### Wnioski

1. Wilgotność nasion lnu odmiany ‘Bukoz’ ma istotny ( $p \leq 0,05$ ) wpływ na takie parametry procesu tłoczenia oleju lnianego, jak: przelotowość prasy, wydajność tłoczenia, temperatura oleju oraz wytloków i wymaga precyzyjnego ustalenia przed ich przerobem. Odpowiedni poziom wilgotności nasion wynosi  $7,5 \div 9$  %. Wilgotność nasion wywiera istotny ( $p \leq 0,05$ ) wpływ na niektóre cechy jakościowe pozyskiwanego oleju. W miarę wzrostu ich wilgotności w sposób istotny ( $p \leq 0,05$ ) wzrasta zawartość wody i substancji lotnych w oleju, a maleje zawartość zanieczyszczeń nierozpuszczalnych.
2. Wielkość średnicy dyszy wylotowej prasy ma istotny ( $p \leq 0,05$ ) wpływ na jej przelotowość, wydajność tłoczenia, temperaturę oleju i wytloków, zawartość zanieczyszczeń nierozpuszczalnych oraz wody i substancji lotnych w oleju. Najkorzystniejsze parametry procesu tłoczenia oleju z całych nasion lnu uzyskuje się przy zastosowaniu dyszy o średnicy 8 mm.
3. Płatkowanie nasion lnu przed tłoczeniem w prasie ślimakowej w sposób istotny ( $p \leq 0,05$ ) przyczynia się do podwyższenia przelotowości prasy i wydajności tłoczenia oraz obniżenia temperatury oleju i wytloków. Niekorzystnym zjawiskiem jest istotny ( $p \leq 0,05$ ) wzrost zanieczyszczeń nierozpuszczalnych w oleju. Płatkowanie nasion przed tłoczeniem powoduje, że najkorzystniejsze parametry procesu tłoczenia oleju uzyskuje się przy zastosowaniu dyszy wylotowej o średnicy 6 mm.

### Literatura

- [1] BS 684 -2.20.1977. Methods of analysis of fats and fatty acids. Determination of carotene in vegetable oils.

- [2] Burczyk H., Heller K., Praczyk M.: Hodowla i nasiennictwo lnu włóknistego i oleistego w Instytucie Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich w Poznaniu. *Hodowla Roślin i Nasiennictwo*, 2009, **4**, 33-37.
- [3] Choo W.S., Birch J., Dufour J.P.: Physicochemical and characteristics of cold-pressed flaxseed oils. *J. Food Comp. Anal.*, 2006, **20**, 202-211.
- [4] Codex Stan 210-1999. Codex standard for named vegetable oils. Codex Alimentarius. Amendment 2005, 2011, 2013.
- [5] Daun J.K., Barthet V.J., Chomick T.L., Duguid S.: Structure, composition, and variety development of flaxseed In: *Flaxseed in human nutrition*, 2<sup>nd</sup> ed. By L. U. Thompson and S.C. Cunnae, AOCS Press, Champaign, Illinois, USA, 2003, pp.1-40.
- [6] Górecka A., Wroniak M., Krygier K.: Wpływ ogrzewania nasion rzepaku na jakość wyłoczonego oleju. *Rośliny Oleiste*, 2003, **24**, 567-576.
- [7] Head S.W., Swetman A.A., Hammonds T.W., Gordon A., Southwell K.H., Harris R.V.: *Small Scale Vegetable Oil Extraction*, 1995, NRI, University of Greenwich, Chatham, Kent, Great Britain, p.105.
- [8] Mińkowski K., Grześkiewicz S., Jerzewska M., Ropelewska M.: Charakterystyka składu chemicznego olejów roślinnych o wysokiej zawartości kwasów linolenowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **6 (73)**, 146-157.
- [9] Niewiadomski H. *Technologia tłuszczów jadalnych*. WNT, Warszawa 1993, s. 464.
- [10] Oomah B.D.: Processing of flaxseed fiber, oil, protein and lignin [in]: *Flaxseed in human nutrition*, 2<sup>nd</sup> ed. By L. U. Thompson and S.C. Cunnae, AOCS Press, Champaign, Illinois, USA, 2003, pp. 1-40.
- [11] Panfilis F.D., Toschi T.G., Lercker G.: Quality control for cold-pressed oils, *Inform*, 1998, **9**, 212-221.
- [12] PN-EN ISO 659:1999. Nasiona oleiste. Oznaczanie zawartości oleju (Metoda odwoławcza).
- [13] PN-EN ISO 660:2010. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczenie liczby kwasowej i kwasowości.
- [14] PN EN ISO 662:2001. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie zawartość wody i substancji lotnych.
- [15] PN-EN ISO 663:2009. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie zawartości zanieczyszczeń nierozpuszczalnych.
- [16] PN-EN ISO 665:2004. Nasiona oleiste. Oznaczanie wilgotności i zawartości substancji lotnych.
- [17] PN-EN ISO 3960:2012. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby nadtlencowej. Jodometryczne (wizualne) oznaczanie punktu końcowego.
- [18] PN-EN ISO 5508:1996. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Analiza estrów metylowych kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej.
- [19] PN-EN-ISO 6885:2008. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby anizydynowej.
- [20] PN-ISO 6886:1997. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczenie stabilności oksydacyjnej. Test przyspieszonego utleniania.
- [21] PN-A-86939-2:1998. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie zawartości metali ciężkich metodą atomowej spektrometrii emisyjnej. Oznaczanie zawartości żelaza.
- [22] PN-A-86939-3:1998. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie zawartości metali ciężkich metodą atomowej spektrometrii emisyjnej. Oznaczanie zawartości miedzi.
- [23] Przybyła-Wilkes A.: Flax use up as health benefits better realized. *Prepared Foods*, 2007, **4 Suppl.**, 1-7.
- [24] Wroniak M., Krygier K.: Oleje tłoczone na zimno. *Przem. Spoż.*, 2006, **60 (7)**, 30-32, 34.
- [25] Wroniak M., Ptaszek A., Ratusz K.: Ocena wpływu warunków tłoczenia w prasie ślimakowej na jakość i skład chemiczny olejów rzepakowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, **1 (86)**, 92-104.

- [26] Zheng Y.L., Wiesenborn D.P., Tostenson K., Kangas N.: Screw pressing of whole and dehulled flaxseed for organic oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2003, **80** (10), 1039-1045.

### **EFFECT OF SEED PREPARATION METHOD AND SEED MASS CHOKING IN EXPELLER PRESS ON PRESSING PARAMETERS AND QUALITY CHARACTERISTICS OF FLAX OIL**

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

The objective of the research study was to determine the effect of moisture and comminution of seeds, and the degree of choking seeds mass in an expeller press on some selected pressing parameters and quality characteristics of flax oil. The research study comprised flax seeds of high linolenic "Bukoz" variety. The seeds tested were ground using a flaking method in a two roll laboratory mill with smooth rolls. The oils were pressed in an UNO expeller press, product of a Farmet company. It was found that the moisture of the seeds, the diameter of outlet nozzle of the press and the flaking of the seeds prior to pressing them had a significant effect on the pressing parameters and oil quality. The increase in the moisture of seeds from 6.7 % to 8.6 % caused the capacity of press to increase from 7.8 to 8.8 kg/h, the pressing yield to decrease from 81.6 % to 71.9 %, the oil temperature to decrease from 51 to 47 °C, the cake temperature to decrease from 69 to 66 °C, the content of water in oil to increase from 0.39 to 0.43 %, and the content of insoluble impurities to decrease from 4.4 to 3.2 %. The appropriate moisture level in seeds ranged between 7.5 and 9 %. Reducing the nozzle diameter from 10 mm to 6 mm caused the capacity of press to decrease from 11.8 to 8 kg/h, the pressing yield to increase from 69.5 to 77.6 %, the oil temperature to increase from 45 to 51 °C, the cake temperature to increase from 65 to 69 °C, and the content of insoluble impurities to increase from 3 to 3.3 %. The appropriate diameter size of nozzles used to process the whole seeds was 8 mm. The flaking of the seeds caused the capacity of press to increase from 8 to 9.8 kg/h, the yield of pressing to increase from 77.6 to 80.7 %, the temperature of oil to decrease from 51 to 44 °C and of cake to decrease from 66 to 65 °C, and the content of insoluble impurities to increase from 3.3 to 4.6 %. The suitable diameter of nozzle used to process flakes was 6 mm.

**Key words:** flax seeds, flax oil, cold pressing, expeller press, oil quality ☒



KATARZYNA JANDA, AGATA MARKOWSKA-SZCZUPAK,  
ANTONI W. MORAWSKI

**WPLYW AKTYWNOŚCI WODY I TEMPERATURY NA WZROST ORAZ  
AKTYWNOŚĆ LIPOLITYCZNĄ SZCZEPÓW *PENICILLIUM*  
*CHRYSOGENUM* W POŻYWKACH PŁYNNYCH Z OLEJAMI ROŚLINNYMI**

Streszczenie

Szczepy *P. chrysogenum* wyizolowane z nasion rzepaku, soi i słonecznika hodowano w pożywkach płynnych z dodatkiem oleju rzepakowego, sojowego i słonecznikowego. Zbadano wpływ aktywności wody ( $a_w$ ) pożywki (0,995, 0,950, 0,900 i 0,850) i temperatury (15 i 25 °C) na zawartość suchej masy grzybni i aktywność lipolityczną. Wzrost grzybni badanych szczepów był zróżnicowany w zależności od  $a_w$  i temperatury. Aktywność lipolityczna w temperaturze 15 °C była wyższa niż w 25 °C. Najwyższą aktywność *P. chrysogenum* stwierdzono w temperaturze 15 °C przy najniższej badanej aktywności wody pożywki. Otrzymane wyniki wskazują na możliwość inicjowania niekorzystnych zmian jakościowych olejów przez enzymy lipolityczne szczepów tego gatunku nawet wówczas, gdy nie ma widocznego (makroskopowo) wzrostu grzybni.

**Słowa kluczowe:** *Penicillium chrysogenum*, sucha masa grzybni, aktywność lipolityczna, pożywki płynne, oleje roślinne

## Wprowadzenie

Obecność grzybów pleśniowych w składowanym materiale roślinnym, w tym również w nasionach roślin oleistych jest ważnym zagadnieniem ekonomicznym, jak i zdrowotnym. Ze względu na zdolność do wzrostu i rozwoju w różnych, często skrajnych warunkach środowiska, grzyby te stanowią problem w wielu dziedzinach życia i gospodarki człowieka. Zasadniczą rolę w biodegradacji nasion roślin oleistych spełniają grzyby kserofilne i kserotolerancyjne, preferujące środowiska o niskiej wilgotno-

---

*Dr hab. K. Janda, Zakład Biochemii i Żywienia Człowieka, Wydz. Nauk o Zdrowiu, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, ul. Broniewskiego 24, 71-460 Szczecin, dr hab. inż. A. Markowska-Szczupak, prof. dr hab. A. W. Morawski, Instytut Technologii Chemicznej Nieorganicznej i Inżynierii Środowiska, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, ul. Pułaskiego 10, 70-322 Szczecin. Kontakt: Katarzyna.Janda@pum.edu.pl*

ści. Aktywność hydrolityczna, w tym także lipolityczna tych drobnoustrojów może obniżać jakość składowanych surowców roślinnych o dużej zawartości tłuszczu.

Szczepy *Penicillium chrysogenum* są zdolne do wzrostu w środowisku o aktywności wody  $a_w < 0,800$ . Optymalna temperatura wzrostu wynosi 25 °C, a minimalna – 4 °C [11, 28]. Gatunek ten występuje w produktach żywnościowych, takich jak: ziarna zbóż, mąka pszenna i ryżowa, warzywa, owoce, a także w powietrzu i w kurzu [1, 16, 20, 25]. Szczepy *P. chrysogenum* izolowane były również z przegród budowlanych, [6, 12, 22], z gleby [13], urządzeń wentylacyjnych i klimatyzacyjnych [15, 25] oraz z organizmu człowieka [5]. Szczepy tego gatunku zaliczane są do grupy BSL-1, do której należą saprofity lub patogeny roślin, natomiast u ludzi i zwierząt mogą powodować zakażenia powierzchniowe, nieinwazyjne [22]. Gatunek ten znany jest również z wytwarzania penicyliny oraz mikotoksyn: cytryniny, rokwefortyny C, patuliny, PR-toksyny, ksantocyliny X, kwasu cyklopiazonowego i penicylinowego, meleagryny, chryzogin oraz ochratoksyny A [1, 21, 23, 26, 29]. Szczepy *P. chrysogenum* syntetyzują wiele enzymów, m.in. lipolityczne, amylolityczne, proteolityczne i pektynolityczne [2, 3, 4, 29]. Wpływ aktywności wody w powiązaniu z czynnikami środowiskowymi, tj. temperaturą i wartością pH, na wzrost grzybni był przedmiotem badań wielu autorów [10, 14, 24, 26]. Tylko kilka prac odnosiło się do wpływu aktywności wody na aktywność lipolityczną grzybów [18, 19, 30], w tym jedna dotyczyła wpływu aktywności wody i temperatury na wzrost oraz aktywność lipolityczną grzybów *P. chrysogenum*, wyodrębnionych z zapleśniałych nasion rzepaku [21].

Celem pracy była ocena wpływu aktywności wody pożywki oraz temperatury na aktywność lipolityczną szczepów *Penicillium chrysogenum* wyizolowanych z nasion rzepaku, soi i słonecznika.

### Material i metody badań

W pracy wykorzystano 9 szczepów *Penicillium chrysogenum* pochodzących z kolekcji własnej. Trzy szczepy zostały wyizolowane z rzepaku (R1, R2 i R3), trzy z soi (S1, S2, S3) i trzy ze słonecznika (S11, S12, S13). W celu otrzymania zawiesiny zarodników szczepy hodowano 5 - 7 dni na skosach z podłożem Malt Extract Agar (MEA, Merck) w temp. 25 °C. Do skosów dodawano po 7 cm<sup>3</sup> jałowej soli fizjologicznej (0,85-procentowy roztwór NaCl) i wytrząsano w aparacie typu Vortex przez jedną minutę.

Przeprowadzono dwa doświadczenia (każde w trzech powtórzeniach):

– doświadczenie I: hodowle pleśni w pożywkach z olejami roślinnymi.

Do oznaczeń używano pożywki płynnej przygotowanej według Bancercz i wsp. [3] we własnej modyfikacji, o składzie: glukoza 10 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2 g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 1 g, mocznik 4 g, d-biotyna 8 µg, tiamina 200 µg, mio-inozytol 4 µg, woda destylowana

1000 cm<sup>3</sup>, pH 5,5. W doświadczeniu wykorzystano olej rzepakowy (Rapeseedoil, from *Brassica rapa*, Fluka), sojowy (Soybeanoil, Sigma, Aldrich) i słonecznikowy (Sunflowerseedoil, Fluka). Oleje dodawano do pożywki w postaci emulsji w 7-procentowym roztworze gumy arabskiej (4 % v/v) w ilości 5 cm<sup>3</sup> w 100 cm<sup>3</sup> pożywki. Stężenie oleju z pożywce wynosiło 2 %. W zależności od ilości dodawanego NaCl otrzymano pożywkę o  $a_w$  0,995, 0,950, 0,900 i 0,850. Aktywność wody ( $a_w$ ) pożywki weryfikowano miernikiem firmy Decagon: DE 202 AquaLab Lite. Pożywkę z olejem rzepakowym zaszczepiano zawiesiną zarodników 3 szczepów wyodrębnionych z nasion rzepaku, pożywkę z olejem sojowym – zawiesiną zarodników 3 szczepów pochodzących z nasion soi, a pożywkę z olejem słonecznikowym – zawiesiną zarodników 3 szczepów wyizolowanych ze słonecznika. Kolby o pojemności 300 cm<sup>3</sup>, zawierające po 100 cm<sup>3</sup> pożywki inokulowano 1 cm<sup>3</sup> zawiesiny zarodników o gęstości 10<sup>6</sup> do 10<sup>7</sup> jtk/ml [8]. Hodowle statyczne prowadzono 5 dni w temp. 15 i 25 °C. Temperatura 25 °C była optymalna do wzrostu *P. chrysogenum*, a 15°C było temperaturą pomieszczeń przechowalniczych nasion;

– doświadczenie II: Oznaczenie aktywności lipolitycznej płynu pochodowlanego.

Przygotowano mieszaninę reakcyjną o składzie: 2,5 cm<sup>3</sup> emulsji oleju (rzepakowego, sojowego lub słonecznikowego) w 7-procentowym roztworze gumy arabskiej (4 % v/v), 3,5 cm<sup>3</sup> buforu Tris-HCl o pH 8,0 oraz 5 cm<sup>3</sup> przesączu pochodowlanego. Mieszaninę wytrząsano w kolbach o pojemności 100 cm<sup>3</sup> w łaźni wodnej Julabo SW 22 w temp. 30 °C przez 60 min (150 obr./min). Po godzinie inkubacji reakcję przerywano, dodając 10 cm<sup>3</sup> 96-procentowego etanolu. Do próbek kontrolnych po inkubacji emulsji z buforem Tris-HCl w identycznych warunkach dodawano 10 cm<sup>3</sup> etanolu, a następnie 5 cm<sup>3</sup> przesączu pochodowlanego. W tak przygotowanych próbkach określano zawartość wolnych kwasów tłuszczowych uwolnionych przez egzolipazy obecne w przesączu pochodowlanym w warunkach doświadczenia. Do miareczkowania wobec fenoloftaleiny używano 0,05 N roztworu KOH. Jedna jednostka aktywności lipazy jest to ilość enzymu potrzebna do uwolnienia jednego milimola wolnych kwasów tłuszczowych w ciągu minuty, w warunkach doświadczenia [7, 29]. Wyniki przedstawiono w jednostkach aktywności lipolitycznej (U/ml).

W celu określenia zawartości suchej masy grzybnie oddzielano na sączkach z bi-łuły filtracyjnej Whatman 1. Aby dokładnie pozbyć się składników pożywki, przepłukiwano je najpierw ciepłą wodą (wypłukanie chlorku sodu), później heksanem (wymycie tłuszczu), następnie etanolem (trzykrotnie porcjami po 10 cm<sup>3</sup>) i wodą destylowaną. Pozostałą na sączku grzybnię poduszano wstępnie w powietrzu w temp. 20 ± 2 °C i dosuszano w suszarce KBC-125G w temp. 80 °C do stałej masy [9].

Wszystkie oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach. Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej przy użyciu arkusza kalkulacyjnego Excel oraz progra-

mu Statistica 8.0 (StatSoft). Statystyczną istotność różnic określano na poziomie istotności  $p \leq 0,05$ .

### Wyniki i dyskusja

W pożywkach z olejem rzepakowym najwyższą aktywność lipolityczną grzybów (0,108 U/ml) stwierdzono w hodowlach prowadzonych w temp. 15 °C w pożywce o  $a_w$  0,900 (tab. 1). Różniła się ona statystycznie istotnie ( $p \leq 0,05$ ) od aktywności lipolitycznej grzybów rosnących w tej temperaturze w pożywce o  $a_w$  0,850 (0,043 U/ml) oraz od aktywności lipolitycznej grzybów hodowanym w temp. 25 °C w pożywce z tym olejem przy  $a_w$  0,950 i 0,995 (odpowiednio 0,045 i 0,030 U/ml) (tab. 1). Zawartość suchej masy grzybni szczepów hodowanych w pożywkach z tym olejem wahała się od 1,366 mg/ml (25 °C,  $a_w$  0,850) do 5,087 mg/ml (25 °C,  $a_w$  0,995) i tylko te wartości różniły się między sobą statystycznie istotnie ( $p \leq 0,05$ ) (tab. 1).

Z kolei w pożywkach z olejem sojowym najwyższą aktywność lipolityczną grzybów (0,107 U/ml) stwierdzono w hodowlach prowadzonych w temp. 15 °C przy  $a_w$  0,850. Aktywność lipolityczna szczepów różniła się statystycznie istotnie ( $p \leq 0,05$ ) jedynie w pożywkach o  $a_w$  0,950, uzyskując w obu temperaturach taką samą wartość równą 0,037 U/ml (tab. 2). Zawartość suchej masy grzybni wahała się od 0,100 mg/ml (15 °C,  $a_w$  0,900) do 1,267 mg/ml (25 °C,  $a_w$  0,995), przy czym nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic ( $p \leq 0,05$ ) (tab.2).

Najwyższą aktywność lipolityczną grzybów w pożywkach z olejem słonecznikowym (0,122 U/ml) stwierdzono w temp. 25 °C w pożywce o  $a_w$  0,950 (tab. 3). Wykazano, że istotna ( $p \leq 0,05$ ) była różnica pomiędzy tą wartością a najniższą (0,014 U/ml), uzyskaną w hodowli w tej samej temperaturze w pożywce o  $a_w$  0,995 (tab. 3). Najwyższą zawartość suchej masy grzybni (3,974 mg/ml) stwierdzono po hodowli szczepów w temp. 25 °C w pożywce o  $a_w$  0,950, a najniższą (1,761 mg/ml) po hodowli w 15 °C w pożywce o  $a_w$  0,850 (tab. 3).

Niezależnie od rodzaju oleju dodanego do pożywki, szczepy hodowane w temp. 15 °C rosły słabiej niż w temp. 25 °C. Aktywność lipolityczna szczepów hodowanych w pożywkach z olejami roślinnymi w temp. 15 °C była wyższa niż rosnących w 25 °C. Dowiedziono, że w temp. 15 °C przy  $a_w$  0,950 aktywność lipolityczna szczepów rosnących w pożywce z olejem rzepakowym była 2,72 razy wyższa niż szczepów hodowanych w tych samych warunkach temperatury i  $a_w$ , ale w pożywce z olejem sojowym. Czynnikiowa analiza wariancji wykazała, że aktywność lipolityczna *Penicillium chrysogenum* była zależna zarówno od  $a_w$  pożywki, jak i rodzaju dodanego oleju.

Tabela 1. Aktywność lipolityczna i zawartość suchej masy grzybni szczepów *P. chrysogenum* po pięciu dobach hodowli w pożywce płynnej z olejem rzepakowym.Table 1. Lipolytic activity and dry mass content of mycelium of *P. chrysogenum* strains after 5-day incubation in liquid culture medium with rapeseed oil.

Olej Oil	Temp. Temp. [°C]	Aktywność wody Water activity [a <sub>w</sub> ]	Aktywność lipolityczna [U/ml] Lipolytic activity [U/ml]			Sucha masa [mg/ml] Dry mass [mg/ml]		
			$\bar{x} \pm s / SD$	x <sub>min.</sub>	x <sub>max.</sub>	$\bar{x} \pm s / SD$	x <sub>min.</sub>	x <sub>max.</sub>
			Rzepakowy / Rapeseed	15	0,850	0,043 <sup>ab</sup> ± 0,023	0,017	0,070
0,900	0,108 <sup>acd</sup> ± 0,021	0,087			0,133	2,570 ± 1,929	0,867	4,467
0,950	0,101 <sup>bc</sup> ± 0,031	0,058			0,133	2,937 ± 2,435	0,683	5,134
0,995	0,075 ± 0,067	0,010			0,133	2,867 ± 3,080	0,150	5,570
25	0,850	0,059 ± 0,030		0,033	0,098	1,366 <sup>A</sup> ± 0,833	0,383	2,181
	0,900	0,075 ± 0,041		0,037	0,133	2,051 ± 1,792	0,367	3,784
	0,950	0,045 <sup>c</sup> ± 0,010		0,033	0,055	2,179 ± 1,959	0,417	3,920
	0,995	0,030 <sup>dc</sup> ± 0,055		0,000	0,112	5,087 <sup>A</sup> ± 4,604	1,083	9,108

Objaśnienia: / Explanatory notes:

$\bar{x}$  – wartość średnia / mean value; s – odchylenie standardowe / SD – standard deviation; x<sub>min.</sub> – wartość minimalna / minimum value; x<sub>max.</sub> – wartość maksymalna / maximum value; wartości średnich oznaczonych tymi samymi literami (aa, AA, bb, cc, dd, ee) różnią się między sobą statystycznie istotnie (p < 0,05) / mean values denoted by the same letters vary statistically significantly (p < 0.05)

Tabela 2. Aktywność lipolityczna i zawartość suchej masy grzybni szczepów *P. chrysogenum* po pięciu dobach hodowli w pożywce płynnej z olejem sojowym.Table 2. Lipolytic activity and dry mass content of mycelium of *P. chrysogenum* strains after 5-day incubation in liquid culture medium with soybean oil.

Olej Oil	Temp. Temp. [°C]	Aktywność wody Water activity [a <sub>w</sub> ]	Aktywność lipolityczna [U/ml] Lipolytic activity [U/ml]			Sucha masa [mg/ml] Dry mass [mg/ml]		
			$\bar{x} \pm s / SD$	x <sub>min.</sub>	x <sub>max.</sub>	$\bar{x} \pm s / SD$	x <sub>min.</sub>	x <sub>max.</sub>
			Sojowy / Soybean	15	0,850	0,107 <sup>ab</sup> ± 0,029	0,065	0,133
0,900	0,063 ± 0,047	0,010			0,117	1,146 ± 1,027	0,100	2,109
0,950	0,037 <sup>a</sup> ± 0,034	0,003			0,083	1,159 ± 1,161	0,033	2,211
0,995	0,058 ± 0,070	0,000			0,142	2,594 ± 1,683	0,883	4,128
25	0,850	0,051 ± 0,032		0,017	0,083	2,547 ± 2,351	0,300	4,608
	0,900	0,061 ± 0,039		0,017	0,110	3,454 ± 3,064	0,517	6,112
	0,950	0,037 <sup>b</sup> ± 0,023		0,017	0,070	2,072 ± 1,848	0,267	3,826
	0,995	0,064 ± 0,074		0,000	0,130	3,957 ± 3,088	1,267	6,703

Objaśnienia: / Explanatory notes:

$\bar{x}$  – wartość średnia / mean value; s – odchylenie standardowe / SD – standard deviation; x<sub>min.</sub> – wartość minimalna / minimum value; x<sub>max.</sub> – wartość maksymalna / maximum value; wartości średnich oznaczonych tymi samymi literami (aa, bb) różnią się między sobą statystycznie istotnie (p < 0,05) / mean values denoted by the same letters vary statistically significantly (p < 0.05).

Tabela 3. Aktywność lipolityczna i zawartość suchej masy grzybni szczepów *P. chrysogenum* po pięciu dobach hodowli w pożywce płynnej z olejem słonecznikowym.Table 3. Lipolytic activity and dry mass content of mycelium of *P. chrysogenum* strains after 5-day incubation in liquid culture medium with sunflower oil.

Olej Oil	Temp. Temp. [°C]	Aktywność wody Water activity [a <sub>w</sub> ]	Aktywność lipolityczna [U/ml] Lipolytic activity [U/ml]			Sucha masa [mg/ml] Dry mass [mg/ml]		
			$\bar{x} \pm s / SD$	x <sub>min.</sub>	x <sub>max.</sub>	$\bar{x} \pm s / SD$	x <sub>min.</sub>	x <sub>max.</sub>
Słonecznikowy / sunflower	15	0,850	0,079 <sup>a</sup> ± 0,040	0,042	0,135	1,761 ± 0,870	0,733	2,540
		0,900	0,070 ± 0,037	0,017	0,098	2,181 ± 1,884	0,167	3,820
		0,950	0,062 <sup>b</sup> ± 0,036	0,008	0,085	2,459 ± 1,936	0,717	4,172
		0,995	0,014 <sup>a c</sup> ± 0,020	0,000	0,042	2,238 ± 2,499	0,000	4,419
	25	0,850	0,067 ± 0,014	0,050	0,083	2,663 ± 2,290	0,650	4,800
		0,900	0,070 ± 0,050	0,005	0,117	2,538 ± 2,566	0,050	4,852
		0,950	0,122 <sup>b c d</sup> ± 0,089	0,058	0,250	3,974 ± 3,887	0,583	7,350
		0,995	0,025 <sup>d</sup> ± 0,043	0,000	0,088	3,541 ± 3,549	0,100	6,967

Objaśnienia: / Explanatory notes:

$\bar{x}$  – wartość średnia / mean value; s – odchylenie standardowe / SD – standard deviation; x<sub>min.</sub> – wartość minimalna / minimum value; x<sub>max.</sub> – wartość maksymalna / maximum value; wartości średnich oznaczonych tymi samymi literami (aa, bb, cc, dd) różnią się między sobą statystycznie istotnie (p < 0,05) / mean values denoted by the same letters vary statistically significantly (p < 0.05).

Badaniem wpływu a<sub>w</sub> pożywki na wzrost grzybów zajmowali się Sautour i wsp. [26] oraz Rosso i Robinson [24]. Cuppers i wsp. [10] opracowali model wpływu temperatury i zawartości NaCl na wzrost wybranych grzybów (*Penicillium roqueforti*, *Trichoderma harzianum*, *Paecilomyces variotii*, *Aspergillus niger* i *Emericella nidulans*), powodujących psucie się produktów żywnościowych. Gock i wsp. [14] badali wpływ aktywności wody, temperatury i poziomu pH na wzrost grzybów kserofilnych (*Eurotium rubrum*, *Eurotium repens*, *Wallemia sebi*, *Aspergillus penicillioides*, *Penicillium roqueforti*, *Chrysosporium xerophilum*, *Xeromyces bisporus*). Zaledwie kilka prac odnosiło się do wpływu a<sub>w</sub> pożywki na aktywność lipolityczną grzybów. Wehtje i Adlercreutz [30] zaobserwowali, że wraz ze wzrostem a<sub>w</sub> pożywki większa była aktywność lipolityczna *Rhizopus arrhizus*. Larsen i Jensen [18] określili wpływ temperatury i wzrastających stężeń NaCl (w zakresie od 0,2 do 7 %) na skład wolnych kwasów tłuszczowych, powstających w wyniku aktywności lipolitycznej *Penicillium roqueforti*. Z kolei Ludemann i wsp. [19] stwierdzili, że a<sub>w</sub> (0,90, 0,95 i 1,00) i temperatura (14 i 25 °C) mają wpływ na wzrost oraz aktywność lipolityczną i proteolityczną wielu gatunków grzybów z rodzaju *Penicillium*. Dodatek NaCl wyraźnie stymulował aktywność proteolityczną wszystkich szczepów w temp. 25 °C. Nie zaobserwowano natomiast wyraźnego wpływu temperatury na aktywność lipolityczną.



Badania nad wpływem temperatury na aktywność lipolityczną (w teście z tributyriną i z olejem rzepakowym) wykazały, że większą aktywność lipolityczną zaobserwowano w temp. 25 °C w zakresie  $a_w$  od 0,995 do 0,90, natomiast na pożywce o  $a_w$  0,850 nie stwierdzono ani wzrostu grzybni, ani strefy przejaśnienia pożywki. Najwyższa aktywność lipolityczna charakteryzowała grzyby hodowane na pożywce o  $a_w$  0,995, zarówno w 15, jak i 25 °C [21]. Z kolei Bancercz i wsp. [3] badali wpływ składu pożywki płynnej, czasu hodowli i temperatury na aktywność lipolityczną *P. chrysogenum*. Hodowle prowadzono przez 5 dni w temp. 20 °C. W pożywce z olejem rzepakowym nie stwierdzono aktywności lipolitycznej, przy czym zawartość suchej masy grzybni wyniosła 9,2 mg/ml. W badaniach własnych wykazano natomiast, że szczepy *P. chrysogenum* hodowane w pożywce z olejem rzepakowym w temp. 15 °C charakteryzowała aktywność lipolityczna na poziomie od 0,043 do 0,108 U/ml, natomiast w temp. 25 °C od 0,030 do 0,075 U/ml. Zdecydowanie mniejsza, nieprzekraczająca wartości 5,09 mg/ml, była zawartość suchej masy grzybni. Podobnie tendencje zaobserwowano w przypadku szczepów rosnących w pożywkach z olejem sojowym. Według Bancercz i wsp. [3], aktywność lipolityczna szczepów *P. chrysogenum* osiągnęła wartość 0,0215 U/ml, podczas gdy w badaniach przeprowadzonych na potrzeby niniejszej pracy wartości aktywności lipolitycznej były wyraźnie wyższe i kształtowały się, w zależności od warunków hodowli, na poziomie od 0,037 do 0,107 U/ml. Uzyskane wyniki mogą być potwierdzeniem tezy, że biosynteza lipaz nie jest skorelowana z przyrostem masy grzybni [21].

### Wnioski

1. Grzyby *Penicillium chrysogenum* zdolne są do syntezy lipaz w środowisku o szerokim zakresie aktywności wody ( $0,995 \leq a_w \leq 0,850$ ) oraz w temp. 15 i 25 °C.
2. Na aktywność lipolityczną grzybów *Penicillium chrysogenum* największy wpływ ma synergistyczne oddziaływanie aktywności wody pożywki i rodzaju oleju.
3. Ryzyko inicjowania niekorzystnych zmian jakościowych olejów roślinnych przez enzymy lipolityczne grzybów *Penicillium chrysogenum* występuje nawet wówczas, gdy nie obserwuje się wzrostu grzybni.
4. Temperatura 15 °C i mała wilgotność środowiska ( $a_w = 0,850$ ) nie zabezpieczają nasion roślin oleistych przed rozwojem grzybów i syntezowaniem przez nie lipaz.

Praca finansowana z projektów MNiSW 2P06R 025 30, NCN numer UMO-2012/06/A/ST5/00226

### Literatura

- [1] Al-Julaifi M.Z., Al-Khaliel A.S., Elkhider K.A.: Patulin production by fungi isolated from barley locally grown in Saudi Arabia. J. King Saud Univ. Sci., 1996, **8** (1), 19-24.



- [2] Balkan B., Ertan F.: Production and properties of alpha-amylase from *Penicillium chrysogenum* and its application in starch hydrolysis. Prep. Biochem. Biotechnol., 2005, **35** (2), 169-178.
- [3] Bancercz R., Ginalska G., Fiedurek J., Gromada A.: Cultivation conditions and properties of extracellular crude lipase from the psychrotrophic fungus *Penicillium chrysogenum* 9. J. Ind. Microbiol. Biot., 2005, **32**, 253-260.
- [4] Banu A.R., Devi M.K., Gnanaprabhal G.R., Pradeep B.V., Palaniswamy M.: Production and characterization of pectinase from *Penicillium chrysogenum*. Ind. J. Sci. Technol., 2010, **3** (4), 377-381.
- [5] Biedunkiewicz A.: Grzyby pleśniowe izolowane z górnych odcinków układu oddechowego i pokarmowego zdrowych studentów medycyny weterynaryjnej. Med. Pr., 2011, **62** (3), 259-267.
- [6] Buczyńska A., Cyprowski M., Piotrowska M., Szadkowska-Stańczyk I.: Grzyby pleśniowe w powietrzu pomieszczeń biurowych – wyniki interwencji środowiskowej. Med. Pr., 2007, **58** (6), 521-525.
- [7] Cho H.Y., Bancercz R., Ginalska G., Leonowicz A., Cho N.S., Ohga S.: Culture conditions of psychrotrophic fungus *Penicillium chrysogenum* and its lipase characteristics. J. Faculty. Agr. Kyushu Univ., 2007, **52** (2), 281-286.
- [8] Chopra A.K., Chander H., Singh J.: Lipolytic activity of *Syncephalastrum racemosum*. J. Dairy Sci., 1982, **65**, 1890-1894.
- [9] Colen G., Junqueira G.R., Moraes-Santos T.: Isolation and screening of alkaline lipase-producing fungi from Brazilian savanna soil. World J. Microb. Biot., 2006, **22**, 881-885.
- [10] Cuppers H.G.A.M., Oomes S., Brul S.: A model for the combined effects of temperature and salt concentration on growth rate of food spoilage molds. Appl. Environ. Microbiol., 1997, **63**, 3764-3769.
- [11] Dantigny P., Guilmar A., Bensoussan M.: Basis of predictive mycology. Int. J. Food Microbiol., 2005, **100**, 187-196.
- [12] Ejdys E.: Fungi isolated in school buildings. Acta Mycol., 2007, **42** (2), 245-254.
- [13] Głowacka A., Przychodzień A., Szwedek A.: Grzyby glebowe potencjalnie chorobotwórcze dla człowieka i zwierząt z leśnych terenów rekreacyjnych Łodzi. Mikol. Lek., 2007, **14** (2), 89-94.
- [14] Gock M.A., Hocking A.D., Pitt J.I., Poulos P.G.: Influence of temperature, water activity and pH on growth of some xerophilic fungi. Int. J. Food Microbiol., 2003, **2481**, 11-19.
- [15] Gołofit-Szymczak M., Jeżewska A., Ławniczek-Wałczyk A., Górny R.L.: Narazenie pracowników konserwujących instalacje wentylacyjne na szkodliwe czynniki biologiczne i chemiczne. Med. Pr., 2012, **63** (6), 711-722.
- [16] Hell K., Gnonlonfin B.G.J., Kodjogbe G., Lamboni Y., Abdourhamane I.K.: Mycoflora and occurrence of aflatoxin in dried vegetables in Benin, Mali and Togo, West Africa. Int. J. Food Microbiol., 2009, **135** (2), 99-104.
- [17] Kumar V., Basu M.S., Rajendran T.P.: Mycotoxin research and mycoflora in some commercially important agriculture commodities. Crop Prot., 2008, **27**, 891-905.
- [18] Larsen M.D., Jensen K.: The effects of environmental conditions on the lipolytic activity of strains of *Penicillium roqueforti*. Int. J. Food Microbiol., 1999, **46**, 159-166.
- [19] Ludemann V., Pose G., Pollio M.L., Segura J.: Determination of growth characteristics and lipolytic and proteolytic activities of *Penicillium* strains isolated from Argentinean salami. Int. J. Food Microbiol., 2004, **96**, 13-18.
- [20] Lugauskas A., Raila A., Railiene M., Raudonienė V.: Toxic micromycetes in grain raw material during its processing. Ann. Agric. Environ. Med., 2006, **13**, 147-161.
- [21] Magan N., Jenkins N.E., Howarth J.: Lipolytic activity and degradation of rapeseed oil and rapeseed by spoilage fungi. Int. J. Food Microbiol., 1993, **19**, 217-227.
- [22] Miklaszewska B., Grajewski J.: Patogenne i alergogenne grzyby pleśniowe w otoczeniu człowieka. Alergia 2005, **2** (24), 45-50.

- [23] Płaskowska E., Korol M., Ogórek R.: Grzyby występujące w pomieszczeniach klimatyzowanych. Cz. I. Mikol. Lek., 2011, **18 (4)**, 178-186.
- [24] Rosso L., Robinson T.P.: A cardinal model to describe the effect of water activity on the growth of moulds. Int. J. Food Microbiol., 2001, **63**, 265-273.
- [25] Samson R.A., Hoekstra E.S., Frisvad J.C., Filtenborg O. (Eds): Introduction to food- and airborne fungi (revised 6th Edition), Centraal bureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands, 2002, p. 389.
- [26] Sautour M., Mensur S.C., Divies C., Bensoussan M., Dantigny P.: Comparision of the effects of temperature and water activity on growth rate of food spoilage moulds. Ind. Microbiol. Biotechnol., 2002, **28**, 311-315.
- [27] Shukla P., Gupta K., Kango N.: Production of lipase by typer-lipolytic *Rhizous oryzae* KG-10 on low-value oil emulsions. Res. J. Microbiol., 2007, **2 (9)**, 671-677.
- [28] Soroka P.M., Cyprowski M., Szadkowska-Stańczyk I.: Narażenie zawodowe na mykotoksyny w różnych gałęziach przemysłu. Med. Pr., 2008, **59 (4)**, 333-345.
- [29] Ul-Haq I., Muchtar H., Umber H.: Production of protease by *Penicillium chrysogenum* through optimization of environmental conditions. J. Agric. Soc. Sci., 2006, **2 (1)**, 23-25.
- [30] Wehtje E., Adlercreutz P.: Water activity and substrate effects on lipase activity. Biotechnol. Bioeng., 1997, **55**, 798-805.

#### EFFECT OF WATER ACTIVITY AND TEMPERATURE ON GROWTH AND LIPOLYTIC ACTIVITY OF *PENICILLIUM CHRYSOGENUM* STRAINS IN LIQUID CULTURE MEDIA WITH PLANT OILS

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

*Penicillium chrysogenum* strains, isolated from rapeseeds, soybean, and sunflower seeds, were incubated in a liquid medium with rapeseed oil, soybean oil, and sunflower oil added. The effects of water activity ( $a_w$ ) of the medium (0.995; 0.950; 0.900; 0.850) and temperature (15 and 25 °C) were studied on the dry mass content of mycelium and on the lipolytic activity. The growth of the mycelium of the strains analyzed varied depending on  $a_w$  and temperature. The lipolytic activity at a temperature of 15 °C was higher than that at a temperature of 25 °C. The highest lipolytic activity of *P. chrysogenum* strains was reported at a temperature of 15 °C at the lowest tested water activity of the culture medium ( $a_w = 0.850$ ). The results obtained prove that the lipolytic enzymes produced by the strains of that fungus can initiate disadvantageous quality changes in oils, and this is possible even where there is no visible growth of the mycelium.

**Key words:** *Penicillium chrysogenum*, dry mass of mycelium, lipolytic activity, liquid culture media, plant oils ☒

JOLANTA TOMASZEWSKA-GRAS

## WPLYW PRĘDKOŚCI SCHŁADZANIA TŁUSZCZU MLECZNEGO NA PROCES KRYSZALIZACJI ZAWARTYCH W NIM TRIACYLOGLICEROLI

### Streszczenie

Badano proces krystalizacji tłuszczu mlecznego techniką różnicowej kalorymetrii skaningowej DSC, przy różnych prędkościach schładzania (1, 5, 10, 20 °C/min). Uzyskano profile krystalizacji charakteryzujące się obecnością jednego lub dwóch pików egzotermicznych, odpowiadających dwóm frakcjom tłuszczu mlecznego o różnych temperaturach krystalizacji. Zaobserwowano, że wraz ze wzrostem prędkości schładzania od 1 do 20 °C/min zmniejszała się możliwość rozdziału tłuszczu na frakcje. Najbardziej wyraźny rozdział dwóch pików wystąpił przy prędkości 1 °C/min, natomiast w przypadku 20 °C/min widoczny był tylko jeden rozległy pik. Prędkość schładzania wpływała także na tworzenie się różnych form polimorficznych triacylogliceroli, charakteryzujących się różnymi wartościami temperatur i entalpii krystalizacji. Zmniejszanie prędkości schładzania skutkowało wyższymi temperaturami krystalizacji i wartościami bezwzględными entalpii, co świadczyło o tworzeniu się coraz bardziej stabilnych form, np. formy ortorombowej  $\beta'$ . W przypadku dużych prędkości (10, 20 °C/min) tworzyły się formy o niższych temperaturach krystalizacji i entalpii (wartość bezwzględna) odpowiadające formom najmniej stabilnym tj.  $\gamma$  i  $\alpha$ .

**Słowa kluczowe:** tłuszcz mleczny, prędkość schładzania, profile krystalizacji, frakcje tłuszczu, polimorfizm, różnicowa kalorymetria skaningowa DSC

### Wprowadzenie

Zdolność do krystalizacji jest cechą wielu składników żywności np. wody, cukrów, soli mineralnych, a także triacylogliceroli obecnych w tłuszczach. Poznanie tego procesu w przypadku tłuszczów jest ważne z dwóch względów praktycznych:

---

*Dr inż. J. Tomaszewska-Gras, Katedra Zarządzania Jakością Żywności, Wydz. Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 Poznań. Kontakt: gras@up.poznan.pl*

- a) uzyskiwania w wyniku krystalizacji końcowych produktów tłuszczowych o określonej konsystencji i strukturze, takich jak: czekolada, margaryna, tłuszcze cukiernicze;
- b) rozdzielania tłuszczów naturalnych na poszczególne frakcje o różnych temperaturach topnienia np. olej palmowy na tzw. oleinę i stearynę.

W przemyśle tłuszczowym istnieje zainteresowanie procesem frakcjonowania jako alternatywą dla produkcji uwodornionych tłuszczów roślinnych, zawierających niepożądane izomery trans kwasów tłuszczowych. Ze względu na wymagania rynku i prawo żywnościowe, w niektórych krajach tłuszcze te są coraz bardziej niepożądane. Dania była pierwszym krajem, który wprowadził w 2003 r. ograniczenie maksymalnej ilości tłuszczów zawierających kwasy trans do 2 % w stosunku do innych tłuszczów. Za pomocą procesu frakcjonowania uzyskuje się frakcje o różnych temperaturach topnienia, np. z oleju palmowego uzyskuje się wysokotopliwą tzw. stearynę i niskotopliwą tzw. oleinę. Drugim powodem celowości badań procesu krystalizacji jest możliwość kształtowania końcowej jakości tłuszczów stałych. Poprzez kontrolowanie przebiegu procesu krystalizacji i prowadzenie go w taki sposób, aby uzyskać pożądaną formę polimorficzną można wpływać na cechy funkcjonalne tłuszczów, szczególnie na konsystencję, odczucie gładkości w ustach, stabilność fizyczną takich produktów, jak czekolada czy margaryna. Nieprawidłowo prowadzony proces może być przyczyną występowania wad jakościowych, takich jak np. kwiat tłuszczowy na powierzchni czekolady.

Tłuszcze jadalne to wieloskładnikowe mieszaniny zawierające przede wszystkim różne triacyloglicerole. Rodzaj kwasów tłuszczowych (długość łańcucha oraz obecność wiązań podwójnych), wchodzących w skład triacylogliceroli wpływa bezpośrednio na zachowanie się tłuszczu podczas krystalizacji, której przebieg determinuje z kolei strukturę oraz właściwości fizyczne produktu końcowego. Jest to proces skomplikowany ze względu na złożony skład [1] oraz zdolność triacylogliceroli do polimorfizmu. Warto przy tym nadmienić, że tłuszcz mleczny to jeden z najbardziej złożonych tłuszczów jadalnych – składa się bowiem z około 400 kwasów tłuszczowych [8].

Krystalizacja to przejście fazowe pierwszego rodzaju według klasyfikacji Ehrenfesta, polegające na tworzeniu się z fazy ciekłej fazy stałej o uporządkowanej strukturze i niższej entalpii swobodnej. Jest to proces egzotermiczny, który może przebiegać ze stopu lub z roztworu. W przypadku mieszaniny triacylogliceroli zachodzi krystalizacja z roztworu, gdyż podczas topnienia frakcja wysokotopliwa rozpuszcza się we frakcji niskotopliwej [17]. W procesie krystalizacji można wyróżnić dwa etapy: nukleacji (pierwotnej i wtórnej) oraz wzrost kryształów, po których mogą następować procesy starzenia kryształów. Niezbędnym etapem krystalizacji jest zarodkowanie, gdyż żadna substancja nie może krystalizować bez wcześniejszego utworzenia zarodków krystalizacji. Muszą one być jednak na tyle duże, by uniknąć ponownego rozpuszczenia.

nia. Na etapie zarodkowania (nukleacji) warunkiem niezbędnym do wytworzenia zarodków krystalizacji jest pokonanie bariery energetycznej związanej z powstaniem uporządkowania oraz powierzchni zarodka [4].

Ta bariera energetyczna jest zdefiniowana przez krytyczny promień zarodka. Cząstki o promieniu mniejszym niż promień krytyczny to embriony, które są niestabilne i mogą ulegać ponownemu rozpuszczeniu. Natomiast powyżej wartości krytycznego promienia mogą powstawać zarodki stabilne, ze względu na obniżanie się entalpii swobodnej ( $\Delta G < 0$ ) [17]. Proces nukleacji pierwotnej może być homogeniczny, typowy dla czystej cieczy oraz heterogeniczny, który zachodzi w roztworach zawierających obce cząstki [13]. W przypadku tłuszczu mlecznego zachodzi najczęściej nukleacja heterogeniczna, w której różne cząstki mogą działać jak katalizatory obniżające energię aktywacji. Zarodkowanie jest procesem zależnym od temperatury, czasu oraz historii termicznej. Po powstaniu stabilnych zarodków krystalizacji (skala nanometryczna) tworzą się w procesie nukleacji wtórnej w skali makrometrycznej klastry kryształów w postaci sferolitów [11]. Kolejnym etapem jest faza wzrostu kryształów polegająca na tworzeniu siatki krystalicznej w wyniku ich aglomeracji. Po utworzeniu uporządkowanej struktury krystalicznej zachodzą dalej procesy starzenia kryształów (tzw. starzenie Ostwalda) polegające na rekrystalizacji i tworzeniu różnych form polimorficznych [7]. W tłuszczach podczas krystalizacji mogą tworzyć się cztery formy polimorficzne o wzrastającej temperaturze topnienia:  $\gamma$ ,  $\alpha$ ,  $\beta'$ ,  $\beta$ . Forma  $\gamma$ , nazwana tak przez Vaeck [15], określana jest także jako sub- $\alpha$ , z uwagi na niższą temperaturę topnienia niż forma  $\alpha$  albo jako  $\beta'_2$ , ze względu na podobieństwo strukturalne do formy  $\beta'$ . Sposób prowadzenia procesu krystalizacji, m.in. szybkość schładzania i temperatura końcowa, wpływa na ostateczną morfologię kryształów (ilość kryształów, ich wielkość, formę polimorficzną), decydującą o cechach sensorycznych produktów, takich jak: gładkość, plastyczność, smarowność. Ze względu na te cechy najbardziej pożądaną formą polimorficzną jest  $\beta'$ , nadająca produktom gładką i kremową konsystencję.

Celem pracy było określenie wpływu prędkości schładzania na proces krystalizacji triacylogliceroli tłuszczu mlecznego za pomocą różnicowej kalorymetrii skaningowej.

### **Material i metody badań**

Materiał do badań stanowił odwodniony tłuszcz mleczny (mleczarnia „Gostyń”). W badaniach użyto różnicowego kalorymetru skaningowego DSC 7 firmy Perkin Elmer sprzężonego z urządzeniem chłodzącym Intracooler II oraz oprogramowaniem Pyris, wersja 10.1. Za pomocą różnicowej kalorymetrii skaningowej badano proces krystalizacji tłuszczu mlecznego. Analizę prowadzono w atmosferze azotu o czystości 99,999 %. Kalorymetr kalibrowano dla każdej badanej prędkości (1, 5, 10, 20 °C/min) za pomocą dwóch wzorców, tj. indu (m.p. 156,6 °C,  $\Delta H_f = 28,45$  J/g) oraz n-dodekanu

(t.t.  $-9.65\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\Delta H_f = 216,73\text{ J/g}$ ). Próby o masie około  $10 \pm 0,5\text{ mg}$  odważano do naczynek o pojemności  $20\text{ }\mu\text{l}$  (Perkin Elmer, No. 0219-0062) i hermetycznie zamykano. Przed analizą procesu krystalizacji próbkę ogrzewano w temp.  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$  przez  $5\text{ min}$  w celu stopienia wszystkich kryształów. Proces krystalizacji badano, schładzając próbę od temp.  $50$  do  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  przy zastosowaniu różnych prędkości:  $1, 5, 10, 20\text{ }^{\circ}\text{C/min}$ .

Na podstawie uzyskanych termogramów analizowano następujące parametry:

- temperaturę początku krystalizacji, wyznaczoną jako styczną do pierwszego pików –  $T_{on}\text{ }[^{\circ}\text{C}]$ ,
- temperatury pików –  $T_1, T_2\text{ }[^{\circ}\text{C}]$ ,
- entalpię przemiany fazowej krystalizacji –  $\Delta H\text{ [J/g]}$ .

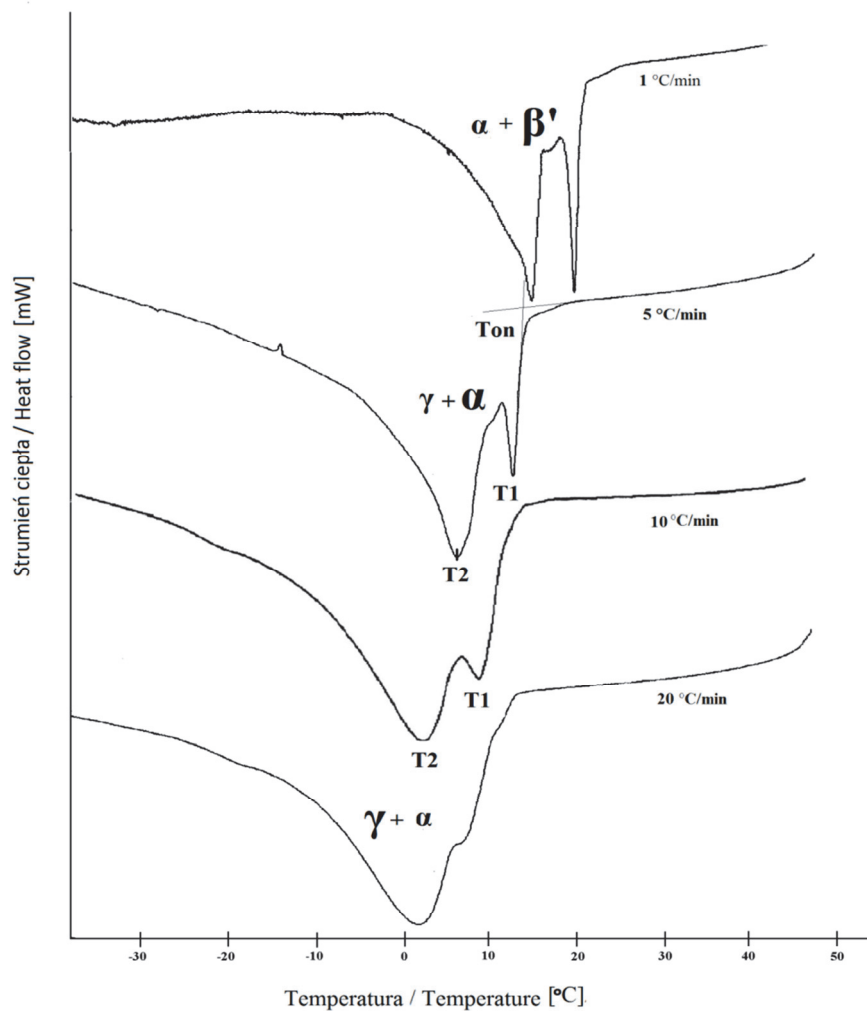
Wszystkie pomiary wykonano w trzech powtórzeniach.

Statystyczną analizę wyników wykonano w programie Statistica wersja 10. Istotność różnic pomiędzy wartościami średnimi weryfikowano za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji One-way ANOVA oraz testu post hoc, tj. testu Tukeya przy założonym poziomie istotności  $p = 0,05$ . Przeprowadzono również analizę regresji: liniowej, logarytmicznej i potęgowej oraz wyznaczono współczynniki determinacji  $R^2$ .

## Wyniki i dyskusja

Na rys. 1. przedstawiono krzywe krystalizacji odwodnionego tłuszczu mlecznego, uzyskane przy prędkościach schładzania:  $1, 5, 10, 20\text{ }^{\circ}\text{C/min}$ , natomiast w tab. 1. przedstawiono wyniki oznaczania parametrów termodynamicznych odnoszących się do powyższych prędkości chłodzenia. W przypadku krystalizacji był to proces egzotermiczny, dlatego wszystkie wartości entalpii są ujemne.

Pod wpływem zmian szybkości schładzania zmieniały się zarówno parametry termodynamiczne procesu krystalizacji (temperatura, entalpia), jak i kształt krzywych. Najbardziej zauważalną różnicą pomiędzy profilami krystalizacji był stopień rozdziału dwóch pików. Obecność dwóch pików egzotermicznych ( $T_1, T_2$ ), odpowiadających dwóm frakcjom triacylogliceroli, zaobserwowano w odniesieniu do prędkości:  $1, 5, 10\text{ }^{\circ}\text{C/min}$ , natomiast w przypadku prędkości  $20\text{ }^{\circ}\text{C/min}$  wystąpił już tylko jeden rozległy pik. Zmniejszanie się rozdziału pików  $T_1$  i  $T_2$  oznacza, że prędkość schładzania wpływała decydująco na możliwość rozdziału tłuszczu mlecznego na frakcje: wysokotopliwą i niskotopliwą. Najlepszy rozdział uzyskano przy prędkości  $1\text{ }^{\circ}\text{C/min}$ , przy której piki  $T_1$  i  $T_2$  były całkowicie rozdzielone. Wraz ze zwiększaniem prędkości chłodzenia, stopień rozdziału pików zmniejszał się, więc zmniejszała się także możliwość rozdziału tłuszczu na frakcje. Przy prędkości  $20\text{ }^{\circ}\text{C/min}$  rozdział na frakcje był już niemożliwy.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

$\gamma$ ,  $\alpha$ ,  $\beta'$ - identyfikacja form polimorficznych na podstawie ten Grotenhuisem i wsp. [5] / polymorphic forms were identified acc. to ten Grotenhuis et al. [5]; im większa litera, tym większy udział danej formy / the larger the letter, the larger the content of a given form.

Rys. 1. Profil krystalizacji tłuszczu mlecznego w zależności od prędkości schładzania (1, 5, 10, 20 °C/min) uzyskany za pomocą różnicowej kalorymetrii skaningowej DSC.

Fig. 1. Crystallization profile of milk fat depending on various cooling rates (1, 5, 10, 20 °C/min) obtained by differential scanning calorimetry DSC.



Tabela 1. Wartości temperatury oraz entalpii procesu krystalizacji tłuszczu mlecznego przy różnych prędkościach schładzania.

Table 1. Values of temperatures and enthalpies of crystallization process milk fat depending on various cooling rates.

Prędkość schładzania Cooling rate [°C/min]	Temperatura / Temperature [°C]			Entalpia / Enthalpy [ J/g]
	Ton	T1	T2	ΔH
1	21,35 <sup>a</sup> ± 0,14	20,69 <sup>a</sup> ± 0,06	15,77 <sup>a</sup> ± 0,06	-83,09 <sup>a</sup> ± 5,83
5	16,60 <sup>b</sup> ± 0,16	12,56 <sup>b</sup> ± 0,01	7,64 <sup>b</sup> ± 0,01	-74,21 <sup>b</sup> ± 0,39
10	15,14 <sup>c</sup> ± 0,51	9,81 <sup>c</sup> ± 0,20	3,47 <sup>c</sup> ± 0,26	-69,45 <sup>bc</sup> ± 0,10
20	11,12 <sup>d</sup> ± 0,04	4,08 <sup>d</sup> ± 0,04	-1,21 <sup>d</sup> ± 0,02	-65,09 <sup>c</sup> ± 0,29

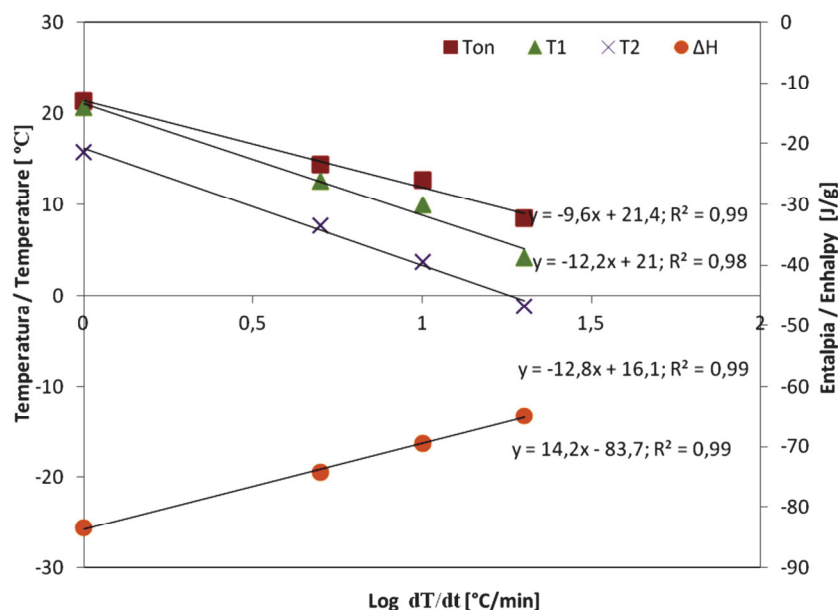
Objaśnienia: / Explanatory notes:

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

a, b, c, d - różne litery w kolumnie wskazują na różnice statystycznie istotne ( $p \leq 0,05$ ) / different superscripts in columns denote statistically significant differences ( $p \leq 0.05$ ).

Kolejną istotną różnicą zaobserwowaną w procesie krystalizacji tłuszczu mlecznego przy zastosowaniu różnych prędkości schładzania były różne temperatury zachodzenia przemiany fazowej. Na rys. 1. widoczne jest przesunięcie krzywych krystalizacji w kierunku niższych temperatur wraz ze zwiększaniem się prędkości schładzania. Temperatura, w której triacyloglicerole zaczynały krystalizować (Ton), obniżała się od 21,35 do 11,12 °C, wraz ze wzrostem prędkości schładzania od 1 do 20 °C/min (tab. 1). Obniżały się również wartości temperatur pików T1 i T2, odzwierciedlające temperaturę, w której krystalizacja zachodziła najintensywniej. W zakresie prędkości od 1 do 20 °C/min następowało zmniejszenie T1 i T2 o ok. 16 - 17 °C. Analogicznie malały wartości bezwzględne entalpii ΔH. Im większa była prędkość schładzania, tym mniej ciepła wydzielano się podczas krystalizacji. Różnice pomiędzy średnimi wartościami temperatur i entalpii w odniesieniu do poszczególnych prędkości były statystycznie istotne ( $p \leq 0,05$ ) (tab. 1). Zaobserwowano, że obniżenie parametrów termodynamicznych procesu krystalizacji, tj. temperatury i wartości bezwzględnych entalpii wraz ze zwiększaniem prędkości od 1 do 20 °C/min, miało charakter logarytmiczny, na który wpływały głównie wartości uzyskane przy prędkości 1 °C/min. W przypadku prędkości 1 °C/min wartości temperatur były nieproporcjonalnie wyższe niż przy pozostałych prędkościach (rys. 1, tab. 1). Może to świadczyć o innym przebiegu krystalizacji przy tej prędkości. Potwierdzają to badania XRD [5], w których wykazano, że przy tak małej prędkości tworzy się inna forma polimorficzna, tj. ortorombowa β'. Odmiana krystaliczna β' charakteryzuje się wyższymi temperaturami krystalizacji, co potwierdza przedstawiony na rys. 1. profil krystalizacji. Badana zależność była liniowa tylko w zakresie od 5 do 20 °C/min ( $R^2 = 0,99$ ). W celu uzyskania liniowej zależności w ca-

łym badanym zakresie (od 1 do 20 °C/min) zlogarytmowano wartości na osi X (rys. 2), dzięki czemu otrzymano wysokie współczynniki determinacji  $R^2$  – od 0,98 do 0,99.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

■ – Ton – temperatura początku krystalizacji / Ton – Onset temperature, ▲ – T1, x – T2 – temperatura pików / Peak temperature, ● – ΔH – entalpia / enthalpy

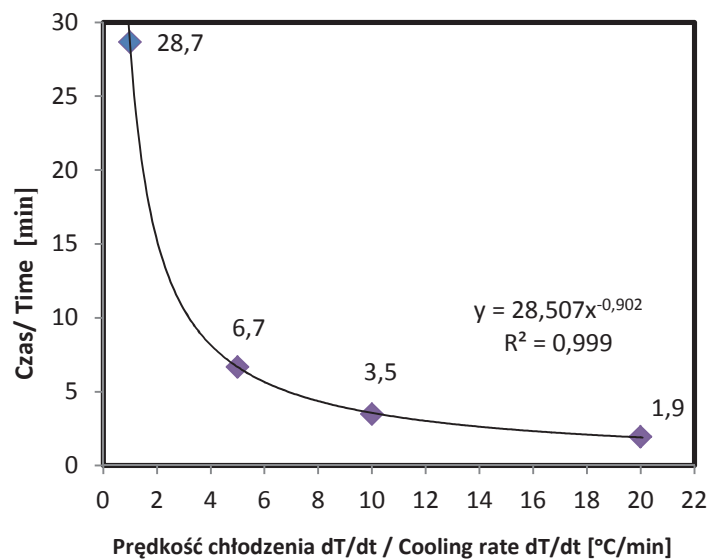
Rys. 2. Temperatura i entalpia krystalizacji tłuszczu mlecznego jako funkcja logarytmu prędkości schładzania dT/dt.

Fig. 2. Temperature and enthalpy of milk fat crystallization as function of (log) cooling rate dT/dt.

Przedstawione równania pozwalają na wyznaczenie temperatury, w jakiej będzie zachodziła krystalizacja w zależności od zastosowanej prędkości schładzania. Uzyskane wyniki analizy tłuszczu mlecznego są zbieżne z wynikami badań pojedynczych triacylogliceroli [3] oraz różnych olejów roślinnych [6, 10, 14].

Temperatura krystalizacji, a więc także początku zarodkowania, obniżała się wraz ze wzrostem szybkości chłodzenia, co może świadczyć o tym, że zarodkowanie prowadzące do krystalizacji wymaga określonego minimalnego czasu, by stabilne kryształy mogły powstać. Jest to zgodne z teorią Ziabickiego [12, 18], zakładającą model kinetyki krystalizacji zależnej od czasu, tzn. zarodki, które powstałyby w danej temperaturze przy bardzo wolnym schładzaniu, np. 1 °C/min, nie utworzą się w tej temperaturze podczas szybkiego schładzania np. 20 °C/min. Na rys. 1. widoczne jest, że przy prędkości 1 °C/min w temp. 21,35 °C rozpoczyna się krystalizacja, podczas

gdy przy pozostałych prędkościach jeszcze nie zachodzi. Na rys. 3. przedstawiono wykres obrazujący czas niezbędny do rozpoczęcia krystalizacji w temperaturze  $T_{on}$  przy zastosowaniu różnych prędkości schładzania. Czas krystalizacji zmniejsza się nieliniowo wraz ze wzrostem prędkości; w odniesieniu do 1 °C/min wynosi ok. 28,7 min, a w przypadku prędkości 10 °C/min – tylko 3,5 min.



Rys. 3. Zależność pomiędzy prędkością schładzania  $dT/dt$  a czasem potrzebnym do rozpoczęcia procesu krystalizacji ( $T_{on}$ ).

Fig. 3. Dependency between cooling rates and time needed to start crystallization process ( $T_{on}$ ).

W procesie krystalizacji tłuszczów mogą tworzyć się różne formy polimorficzne o różnej temperaturze krystalizacji. Jak podają ten Grotenhuis i wsp. [5] oraz Lopez i wsp. [9], w przypadku tłuszczu mlecznego mogą powstawać trzy formy polimorficzne tj.  $\beta'$ ,  $\alpha$ ,  $\gamma$ . Wyniki badań XRD dostarczają informacji dotyczących form polimorficznych triacylogliceroli, tworzących się przy stosowaniu różnych prędkości schładzania. Według badań ten Grotenhuisa i wsp. [5], duża prędkość schładzania (20 °C/min) sprzyja tworzeniu się głównie formy  $\gamma$ , z bardzo małą ilością kryształów  $\alpha$ . Przy pozostałych prędkościach (5, 10 °C/min) tworzy się przede wszystkim forma heksagonalna  $\alpha$ , z bardzo małą ilością kryształów w formie  $\gamma$ . Wymienieni autorzy wykazali także, że podczas schładzania z prędkością 5 °C/min w temp. ok. 16 °C tworzy się forma  $\alpha$ , która w temp. -12 °C ulega polimorficznej przemianie do formy  $\gamma$ , obecnej aż do temp. -30 °C. Porównując te wartości z wynikami własnymi, uzyskanymi za pomocą DSC, można stwierdzić, że temperatura początku krystalizacji  $T_{on}$  rów-

na 16,6 °C koreluje z początkiem tworzenia kryształów  $\alpha$ . Pojawianie się drugiej formy  $\gamma$  mogłoby odpowiadać pojawianiu się drugiego pików na termogramie, jednak oznaczona za pomocą XRD temperatura tworzenia tej postaci jest dużo niższa, o ok. 20 °C [5] od temperatury drugiego pików T2 na termogramie, równej 7,6 °C. Przy prędkości 1 °C/min zidentyfikowano tworzenie się głównie formy ortorombowej  $\beta'$ , z bardzo małą ilością formy heksagonalnej  $\alpha$  [5]. Początek krystalizacji następuje w temperaturze zdecydowanie wyższej niż przy pozostałych prędkościach, co może tłumaczyć inny mechanizm krystalizacji przy bardzo małych prędkościach i tworzenie bardziej stabilnej formy polimorficznej  $\beta'$  o wyższej temperaturze krystalizacji/topnienia. W innych badaniach przy użyciu techniki XRD [9] zaobserwowano, że w temperaturze odpowiadającej pojawieniu się pierwszego pików T1 na termogramie krystalizacji tworzy się forma  $\beta'$  o sposobie organizacji kryształów 2L, odpowiadającej dwóm długościom łańcucha kwasu tłuszczowego (41,5 Å, long spacing XRD), natomiast drugi pik odpowiada formie  $\alpha$  o organizacji 3L (62,2 Å long spacing XRD). Stwierdzono także, że pierwsza forma tworzy się szczególnie w przypadku triacylogliceroli o równej liczbie atomów węgla w łańcuchu kwasu tłuszczowego (głównie C16:0) i stopniu nasycenia (głównie nasycone i jednonienasycone), jak np. PPP czy PPO (P – kwas palmitynowy, O – kwas oleinowy). Triacyloglicerole złożone z jednego łańcucha acylowego, różniącego się od dwóch pozostałych o 4 lub więcej atomów węgla, dążą do tworzenia struktur o organizacji 3L. Takie struktury tworzą m.in. triacyloglicerole, zawierające krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe (poniżej 10 atomów węgla), jak np. BuPP (Bu – kwas masłowy, P – kwas palmitynowy), które krystalizują w niższych temperaturach.

Podsumowując, można stwierdzić, że zróżnicowane temperatury krystalizacji triacylogliceroli przy różnych prędkościach schładzania wynikają z tworzenia się ich różnych form polimorficznych. W badaniu profilu topnienia wykazują one także różne temperatury topnienia, co ma zasadnicze znaczenie w przypadku gotowych produktów, takich jak: masło, margaryna czy czekolada. Proces krystalizacji zależy nie tylko od temperatury, ale także od czasu krystalizacji. Wytworzenie stabilnych form o najwyższej temperaturze wymaga określonego czasu. Im bardziej stabilna forma polimorficzna, tym więcej czasu potrzeba na jej powstanie. Parametrem krytycznym w procesie krystalizacji jest czas indukcji (nukleacji i wzrostu kryształów), który w przypadku formy  $\alpha$  w warunkach izotermicznych (17 °C) wynosi ok. 2,5 min, natomiast  $\beta'$  – około 35 min w temp. 20 °C. Także porównanie wartości entalpii wskazuje na tworzenie się różnych form polimorficznych, gdyż przy prędkości 1 °C/min stwierdzono największą wartość bezwzględną entalpii, odpowiadającą tworzeniu się najbardziej stabilnej formy o największej entalpii przejścia fazowego. Im bardziej stabilna forma, tym entalpia przejścia fazowego ciecz – ciało stałe jest większa.

## Wnioski

1. Prędkość schładzania wpływa na proces krystalizacji tłuszczu mlecznego, a w szczególności na skuteczność jego rozdziału na frakcje, które były widoczne na profilu DSC w postaci dwóch pików egzotermicznych. Przy zwiększającej się prędkości schładzania tłuszczu malała rozdzielczość pików.
2. Wraz ze zwiększaniem prędkości schładzania tłuszczu obniżały się wartości temperatur krystalizacji oraz wartości bezwzględnej entalpii. W zakresie badanych prędkości od 1 do 20 °C/min obniżenie temperatury początku procesu krystalizacji wyniosło ok. 10 °C, natomiast temperatur pików ok. 16 - 17 °C.
3. Prędkość schładzania wpływa na tworzenie się różnych form polimorficznych podczas krystalizacji. Większa prędkość schładzania (10, 20 °C/min) sprzyja tworzeniu niestabilnych form polimorficznych typu  $\gamma$  i  $\alpha$  o niższych temperaturach i entalpii krystalizacji (wartość bezwzględna), natomiast przy zastosowaniu małej prędkości 1°C/min tworzy się stabilna forma polimorficzna  $\beta'$ .

*Praca wykonana w ramach projektu Nr NN312 260538 finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki.*

## Literatura

- [1] Adamska A., Rutkowska J.: Sezonowe zmiany składu triacylogliceroli w tłuszczu mleka krów rasy simentalskiej z regionu mazowieckiego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **5 (19)**, 145-154.
- [2] Campos R., Narine S.S., Marangoni A.G.: Effect of cooling rate on the structure and mechanical properties of milk fat and lard. *Food Res. Int.*, 2002, **35**, 971-981.
- [3] Cebula D.J., Smith K.W.: Differential scanning calorimetry of confectionery fats. Pure triglycerides: Effects of cooling and heating rate variation. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1991, **68**, 591-95.
- [4] Fisher J.C., Hollomon J.H., Turnbull D.: Nucleation. *J. App. Phys.*, 1948, **19**, 775-784.
- [5] ten Grotenhuis E., van Aken G.A., van Malssen K.F., Schenk H.: Polymorphism of milk fat studied by differential scanning calorimetry and real-time X-ray powder diffraction. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1999, **76**, 1031-1039.
- [6] Herrera M.L., Segura J.A., Rivarola G.J., Añón M.C.: Relationship between cooling rate and crystallization behavior of hydrogenated sunflower seed oil. *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, 1992, **69**, 898-905.
- [7] Himawan C., Starov V.M., Stapley A.G.F.: Thermodynamic and kinetic aspects of fat crystallization. *Adv. Coll. Inter. Sci.*, 2006, **122 (1-3)**, 3-33; DOI: 10.1016/j.cis.2006.06.016.
- [8] Jensen R.G., Ferris A.M., Lammi-Keefe C.J.: Symposium: Milk fat – composition, function, and potential for change. *J. Dairy Sci.*, 1991, **74**, 3228-3243.
- [9] Lopez C., Lesieur P., Bourgaux C., Ollivon M.: Thermal and structural behavior of anhydrous milk fat. 3. Influence of cooling rate. *J. Dairy Sci.*, 2005, **88**, 511-526.
- [10] Man Y.B.C., Tan C.P.: Comparative Differential Scanning Calorimetric Analysis of vegetable oils: II. Effects of cooling rate variation. *Phytochem. Anal.*, 2002, **13**, 142-151; doi: 10.1002/pca.634.
- [11] Narine S.S., Marangoni A.G.: Structure and properties of fat crystal networks. *Adv. Food Nutr. Res.*, 2002, **44**, 33-145.
- [12] Sajkiewicz P.: Kinetics of crystallization of polymers. *Polimery*, 2001, **46**, 768-776.

- [13] Synowiec P.M.: Krystalizacja przemysłowa z roztworu. WNT, Warszawa 2008.
- [14] Tan C.P., Che Man Y.B.: Differential scanning calorimetric analysis of palm oil, palm oil based products and coconut oil: effects of scanning rate variation. *Food Chem.*, 2002, **76**, 89-102.
- [15] Vaeck S.V.: Cacao butter and fat bloom. *Manuf. Confect.*, 1960, **40**, 35-46.
- [16] Walstra P., Jenness R.: Dairy chemistry and physics. John Wiley and Sons, New York 1984.
- [17] Walstra P.: Physical Chemistry of Foods. Marcel Dekker, New York 2003.
- [18] Ziabicki A., Alfonso C.G.: Memory effects in isothermal crystallization. I. Theory. *Colloid Polym. Sci.*, 1994, **272**, 1027-1042.

#### EFFECT OF MILK FAT COOLING RATE ON CRYSTALLIZATION PROCESS OF TRIACYLGLYCEROLS THEREIN

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

In the research study, the crystallization process of milk fat was studied using a differential scanning calorimetry DSC at different cooling rates (1, 5, 10, 20 °C/min). Crystallization profiles were obtained; they were characterized by the presence of one or two exothermic peaks corresponding to two milk fat fractions of different crystallization temperatures. It was found that along with the increase in the crystallization rate from 1 °C to 20 °C, the potential of fat to separate into fractions decreased. The clearest separation of the two peaks occurred at a rate of 1 °C/min while, at a rate of 20 °C/min, only one broad peak was visible. Additionally, the cooling rate impacted the formation of different polymorphic forms of triacylglycerols that were characterized by various values of temperatures and enthalpies of crystallization. Higher temperatures of crystallization and higher absolute values of enthalpy were obtained when the cooling rates decreased; this proved that more and more stable forms were formed, for example a  $\beta'$  orthorhombic form. In the case of high crystallization rates (10, 20 °C/min), polymorphic forms were formed that had lower crystallization temperatures and enthalpy (absolute values), which corresponded to the least stable forms, i.e.  $\alpha$  and  $\gamma$ .

**Key words:** milk fat, cooling rate, crystallization profiles, fat fractions, polymorphism, differential scanning calorimetry DSC 

ZYGMUNT LITWIŃCZUK, MONIKA KOWAL, JOANNA BARŁOWSKA

## PODSTAWOWY SKŁAD CHEMICZNY ORAZ UDZIAŁ KWASÓW TŁUSZCZOWYCH I ZAWARTOŚĆ CHOLESTEROLU W MLEKU KRÓW CZTERECH RAS UŻYTKOWANYCH W INTENSYWNYCH TECHNOLOGIACH CHOWU

### Streszczenie

Określono podstawowy skład chemiczny oraz udział kwasów tłuszczowych i zawartość cholesterolu w próbach mleka pobranych od krów 4 ras, tzn. polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej – PHF HO (269 prób) i czerwono-białej – PHF RW (302), simentalskiej – SM (240) oraz jersey – JE (335). Wykazano, że w intensywnej technologii chowu największą dobową wydajność mleka uzyskiwano od krów rasy PHF HO (średnio 25,8 kg). Niewiele mniejszą wydajność mleka (23,2 kg) uzyskiwano również od krów rasy SM (reprezentujące kombinowany typ użytkowy), zachowując jednocześnie bardzo korzystną proporcję białka do tłuszczu (0,86). Mleko krów rasy SM zawierało istotnie najwięcej ( $p \leq 0,05$ ) krótko- i średniołańcuchowych nasyconych kwasów tłuszczowych (SFAsmc), natomiast mleko od krów rasy PHF HO i JE charakteryzowało się istotnie wyższym ( $p \leq 0,01$ ) udziałem długołańcuchowych nasyconych kwasów tłuszczowych (SFAlc). Udział CLA w mleku wszystkich analizowanych ras krów był dość niski, przy czym istotnie najwyższy ( $p \leq 0,01$ ) – w mleku krów ras JE (0,35 %) i SM (0,33 %), a najniższy – PHF HO (0,23 %). Największą ( $p \leq 0,01$ ) zawartość cholesterolu stwierdzono w mleku krów rasy PHF RW (25,39 mg/100 ml), najmniejszą zaś w mleku krów rasy JE (15,71 mg/100 ml). Faza laktacji, w tym systemie użytkowania (intensywnym) nie miała istotnego wpływu na udział kwasów tłuszczowych i zawartość cholesterolu w mleku. Oceniając równoczesny wpływ rasy i fazy laktacji stwierdzono istotne interakcje ( $p \leq 0,01$ ) w przypadku wydajności dziennej, zawartości tłuszczu i suchej masy, a przy  $p \leq 0,05$  – zawartości białka i laktozy.

**Słowa kluczowe:** rasa krów, chów intensywny, wydajność mleka, skład chemiczny, kwasy tłuszczowe, cholesterol

---

*Prof. dr hab. inż. Z. Litwińczuk, dr inż. M. Kowal, Katedra Hodowli i Ochrony Zasobów Genetycznych Bydła, prof. dr hab. inż. J. Barłowska, Katedra Towaroznawstwa i Przetwórstwa Surowców Zwierzęcych, Wydz. Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin. Kontakt: zygmun.litwinczuk@up.lublin.pl*



## Wprowadzenie

Polska z produkcją około 12,3 mln ton mleka rocznie należy do grupy największych producentów w Unii Europejskiej i zajmuje czwarte miejsce po Niemczech, Francji i Wielkiej Brytanii [8]. Do produkcji mleka użytkuje się w Polsce krowy 12 ras, przy czym o wielkości produkcji decydują jedynie trzy, tj. polska holsztyńsko-fryzyjska odmiana czarno- i czerwono-białej oraz simentalska [17]. W przypadku gospodarstw utrzymujących krowy tych dwóch pierwszych ras, a także jersey ich właściciele coraz częściej decydują się na wprowadzanie intensywnych systemów produkcji mleka, tzn. budowę nowych lub modernizację starych obór (uwięziowych) na wolnostanowiskowe, w których stosowany jest pełnodawkowy system żywienia zwierząt (TMR lub PMR). Ze względu na prowadzoną od kilkadziesiąt lat intensywną selekcję na wysoką wydajność mleka i związane z tym cechy funkcjonalne zwierząt, krowy ras holsztyńsko-fryzyjskiej i jersey najlepiej sprawdzają się w tych systemach chowu. Niektóre gospodarstwa w Polsce decydują się na wprowadzanie takich systemów chowu także dla innych ras bydła użytkowanych mlecznie, m.in. simentalskiej. Rasa ta dostosowana jest do wypasu w surowych, górskich warunkach klimatycznych, gdzie osiąga wysoką wydajność, a jej mleko jest doskonałym surowcem do produkcji serów [13, 16]. W intensywnych systemach chowu krowy tej rasy osiągają wyższą wydajność, jednak dotychczas nie poznano, jaki to ma wpływ na jakość mleka.

Celem pracy była ocena wartości odżywczej mleka pozyskiwanego od krów 4 ras utrzymywanych w oborach wolnostanowiskowych i żywionych systemem TMR, uwzględniająca podstawowy skład chemiczny, zawartość cholesterolu i udział kwasów tłuszczowych.

## Material i metody badań

Badania prowadzono w 5 gospodarstwach regionu południowo-wschodniej Polski. Krowy w tych gospodarstwach utrzymywano w oborach wolnostanowiskowych i żywiono przez cały rok systemem TMR. W skład głównych komponentów dawki TMR wchodziły: kiszonka z kukurydzy, sianokiszonka, siano oraz śruty poekstrakcyjne i zbożowe. Obory objęte były oceną wartości użytkowej bydła mlecznego i spełniały wymagania niezbędne do produkcji mleka, które określa rozporządzenie Komisji (WE) nr 1662/2006 z dnia 6 listopada 2006 r., zmieniające rozporządzenie (WE) nr 853/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady ustanawiające szczególne przepisy dotyczące higieny w odniesieniu do żywności pochodzenia zwierzęcego.

Material badawczy stanowiło 1146 próbek mleka pobranych od krów 4 ras: polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej (269 próbek) i czerwono-białej (302), simentalskiej (240) oraz jersey (335). Probki mleka pobierano indywidualnie od krowy z całego doju do butelek plastikowych o pojemności 250 ml. Eliminowano

próbki, które pochodziły od krów z chorym wymieniem. Mleko przewożono w termotorbach z wkładami chłodzącymi do laboratorium Katedry Towaroznawstwa i Przetwórstwa Surowców Zwierzęcych UP w Lublinie.

W każdej próbce mleka oznaczano: podstawowy skład chemiczny, tj. zawartość tłuszczu, białka, laktozy i suchej masy aparatem Infrared Milk Analyzer firmy Bentley oraz liczbę komórek somatycznych (LKS) aparatem Somacount 150 firmy Bentley (w celu wyeliminowania próbek mleka o LKS powyżej 400 tys./ml). Dodatkowo na reprezentatywnej liczbie 193 próbek mleka oznaczano profil kwasów tłuszczowych i zawartość cholesterolu.

Skład kwasów tłuszczowych oznaczano metodą chromatografii gazowej aparatem Varian GC 3900 z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (FID) i kolumną kapilarną CP 7420 o długości 100 metrów. Analiza prowadzona była w warunkach zmiennej temperatury. Początkowa temperatura pieca kolumny wynosiła 50 °C, a końcowa – 260 °C, natomiast temperatura pracy dozownika i detektora – 270 °C. Przepływ wodoru wynosił 28 ml/min, powietrza – 300 ml/min, a make-up – 30 ml/min. Wielkość dozowanej próbki wynosiła 1 µl, split ratio – 50. Procentową zawartość kwasów tłuszczowych obliczano za pomocą programu Star GC Workstion Version 5.5 na podstawie czasów retencji wzorców estrów metylowych kwasów tłuszczowych. Próbki mleka do tych analiz zostały przygotowane zgodnie z normami AOAC [1, 2].

W ocenie profilu kwasów tłuszczowych wyodrębniono następujące grupy:

- nasycone kwasy tłuszczowe (SFA), w tym krótko- i średniołańcuchowe (SFAsmc), wśród których uwzględniono kwasy od C4:0 do C14:0 oraz długołańcuchowe (SFAlc) od C15:0 do C22:0;
- nienasycone kwasy tłuszczowe (UFA), w tym jednonienasycone (MUFA) i wielonienasycone (PUFA).

Wyliczano również proporcje między tymi kwasami, tzn. SFA/UFA, MUFA/SFA i PUFA/SFA.

Zawartość cholesterolu oznaczano według metodyki opracowanej przez Instytut Zootechniki w Balicach z własnymi modyfikacjami. Procedura oznaczania cholesterolu w mleku była następująca: do 5 ml mleka dodawano 35 ml mieszaniny chloroformu i metanolu. Po odwirowaniu pobierano z dolnej warstwy 4 ml mieszaniny do fiolek Supelco i poddawano odparowywaniu w strumieniu azotu. Uzyskaną pozostałość po odparowaniu poddawano zmydłaniu w zamkniętych fiolkach z 3 ml 0,5 N NaOH w temp. 80 °C. Po schłodzeniu dodawano 3 ml heksanu i ekstrahowano w szczelnie zamkniętych fiolkach. Następnie pobierano 1 ml warstwy heksanowej i odparowywano w 65 °C w strumieniu azotu. Do pozostałości dodawano 4 ml kwasu octowego lodowatego. Z tego pobierano 3,5 ml mieszaniny i dodawano 2,5 ml roztworu barwnego (10% r-r FeCl<sub>3</sub> x 10H<sub>2</sub>O w kwasie octowym rozcieńczonym kwasem siarkowym), mieszano

i chłodzono. Pomiar wykonywano w spektrofotometrze UV-VIS Varian Cary 300 Bio przy długości fali  $\lambda = 570$  nm.

Dane dotyczące wydajności dobowej analizowanych krów pochodziły z dokumentacji hodowlanej prowadzonej przez Polską Federację Hodowców Bydła i Producentów Mleka.

W analizie statystycznej uwzględniono rasę krów (polską holsztyńsko-fryzyjską odmiany czarno-białej – PHF HO i czerwono-białej – PHF RW, simentalską – SM i jersey – JE) oraz fazę laktacji (do 120. dnia, od 121. do 200. dnia i powyżej 200. dnia laktacji).

Do obliczeń statystycznych zastosowano program StatSoft Inc. Statistica ver. 6. Analizy dokonano na podstawie Ogólnego Modelu Liniowego (GLM – General Linear Model) – procedura ANOVA dla układów czynnikowych z interakcją. Istotność różnic pomiędzy wartościami średnimi wyznaczano testem Tukeya dla różnych liczebności, na poziomie  $p = 0,05$  i  $p = 0,01$ .

## Wyniki i dyskusja

Uzyskane wyniki wskazują na istotne różnice ( $p \leq 0,01$ ) w wydajności dobowej mleka między analizowanymi rasami krów (tab. 1). Najwyższą średnią dobową produktywnością charakteryzowały się krowy rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej (25,8 kg). Istotnie mniej mleka w ciągu doby produkowały krowy rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czerwono-białej i simentalskiej, odpowiednio: o 2,48 kg i o 2,6 kg. Najniższą dobową wydajność uzyskano natomiast od krów rasy jersey (21,65 kg). Podobne zależności w przypadku dobowej wydajności krów tych 4 ras uzyskali Brodziak i wsp. [7]. Wyższą wydajność dobową krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej (28,9 kg) wykazali Neja i wsp. [15].

Mleko krów rasy jersey wyróżniało się istotnie wyższą ( $p \leq 0,01$ ) zawartością podstawowych składników (tab. 1). Zawierało bowiem o 1,26 % więcej suchej masy, w tym o 0,74 % tłuszczu i o 0,48 % białka ogólnego w porównaniu ze średnimi wartościami tych składników, co zdaniem Feliusa i wsp. [9] związane jest z innym pochodzeniem filogenetycznym tej rasy. Wśród 3 pozostałych ras, największą zawartość białka miało mleko krów rasy SM (3,55 %), a najmniejszą – rasy PHF RW (3,40 %). Zawartość tłuszczu w mleku od wszystkich analizowanych ras krów (z wyjątkiem rasy jersey – 5,16 %) przekraczała 4 %, a różnice między rasami nie były istotne. Zawartość laktozy w mleku była na zbliżonym poziomie, jedynie w przypadku krów rasy simentalskiej była istotnie ( $p \leq 0,01$ ) mniejsza i wynosiła 4,62 %. Perišić i wsp. [16] podają, że zawartość tłuszczu w mleku krów rasy simentalskiej utrzymywanych w różnych krajach Europy waha się od 3,91 % (monbeliardy we Francji) do 4,18 % (Austria), a białka – od 3,29 % (Słowenia) do 3,48 % (Niemcy). Krowy rasy simentalskiej reprezentują kombinowany typ mleczno-mięsny, którego metabolizm różni się nieznacznie

od pozostałych 3 ras typowo mlecznych i przy dużej podaży pasz w dawce pokarmowej, bogatych we włókno mają tendencję do odkładania tłuszczu w postaci tkanki podskórnej. Dlatego zawartość tego składnika w mleku utrzymują na poziomie pośrednim. Duża natomiast jest zawartość białka w mleku krów tej rasy, co jest cechą uwarunkowaną genetycznie i wyróżnia ją jako produkującą bardzo dobry surowiec do produkcji serów [12, 18]. W intensywnej technologii chowu te korzystne relacje białka do tłuszczu (0,86) w mleku pozyskiwanym od krów tej rasy zostały również zachowane (tab. 1), a wykazane różnice były statystycznie istotne ( $p \leq 0,05$ ).

Tabela 1. Wydajność dobową [kg] i skład chemiczny [%] mleka.  
Table 1. Daily yield [kg] and chemical composition [%] of milk.

Wyszczególnienie Specification		Polska holsztyńsko-fryzyjska odmiany czarno-białej Polish Holstein-Friesian Black-White variety	Polska holsztyńsko-fryzyjska odmiany czerwono-białej Polish Holstein-Friesian Red-White variety	Jersey Jersey	Simentalska Simmental
n		269	302	335	240
Wydajność dobową Daily milk yield	$\bar{x}$	25,80 <sup>C</sup>	23,32 <sup>B</sup>	21,65 <sup>A</sup>	23,20 <sup>B</sup>
	SD	6,12	9,27	4,79	8,46
Tłuszcz Fat	$\bar{x}$	4,16 <sup>A</sup>	4,18 <sup>A</sup>	5,16 <sup>B</sup>	4,16 <sup>A</sup>
	SD	0,67	0,51	0,75	0,47
Białko Protein	$\bar{x}$	3,44 <sup>A</sup>	3,40 <sup>A</sup>	4,13 <sup>C</sup>	3,58 <sup>B</sup>
	SD	0,46	0,42	0,43	0,44
B/T* P/F*	$\bar{x}$	0,83 <sup>b</sup>	0,82 <sup>b</sup>	0,80 <sup>a</sup>	0,86 <sup>c</sup>
	SD	0,17	0,18	0,27	0,18
Laktoza Lactose	$\bar{x}$	4,75 <sup>B</sup>	4,73 <sup>B</sup>	4,75 <sup>B</sup>	4,62 <sup>A</sup>
	SD	0,23	0,31	0,35	0,25
Sucha masa Dry matter	$\bar{x}$	13,06 <sup>AB</sup>	13,07 <sup>B</sup>	14,74 <sup>C</sup>	12,99 <sup>A</sup>
	SD	1,03	0,83	1,05	0,94

Objaśnienia: / Explanatory notes:

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

\*– proporcja białka do tłuszczu / protein to fat ratio; a, b, c – różnice pomiędzy wartościami średnimi w wierszach statystycznie istotne przy  $p \leq 0,05$  / differences among mean values in lines are significant at  $p \leq 0,05$ ; A, B, C – różnice pomiędzy wartościami średnimi w wierszach statystycznie istotne przy  $p \leq 0,01$  / differences among mean values in lines are significant at  $p \leq 0,01$ .

Po przeanalizowaniu wydajności i podstawowego składu chemicznego mleka z uwzględnieniem fazy laktacji (tab. 2) wykazano, że u wszystkich ras następowało zmniejszanie się dobowej wydajności mleka. U krów rasy jersey i simentalskiej spadek ten był stosunkowo duży i statystycznie istotny ( $p \leq 0,01$ ), odpowiednio: z 24,16 do

Tabela 2. Wydajność dobową [kg] i skład chemiczny [%] mleka krów 4 ras z uwzględnieniem fazy laktacji.  
 Table 2. Daily yield [kg] and chemical composition [%] of milk from cows of 4 breeds including the stage of lactation.

Rasa Breed	Faza laktacji [dni] Stage of lactation [days]	n	Miara statyst. Statistical measure	Wydajność dzienna Daily milk yield	Tłuszcz Fat	Białko Protein	B/T* P/F*	Laktoza Lactose	Sucha masa Dry matter
Polska holsztyńsko- fryzyjaska odmiany czarno-białej Polish Holstein-Friesian Black-White variety	do 120 to 120	96	$\bar{x}$ SD	26,49 5,45	3,83 <sup>A</sup> 0,53	3,20 <sup>A</sup> 0,40	0,84 0,10	4,82 <sup>B</sup> 0,26	12,57 <sup>A</sup> 0,78
	121 - 200	78	$\bar{x}$ SD	25,53 5,73	4,17 <sup>B</sup> 0,59	3,46 <sup>B</sup> 0,38	0,83 0,08	4,70 <sup>A</sup> 0,21	13,02 <sup>B</sup> 0,90
	pow. 200 above 200	95	$\bar{x}$ SD	25,33 7,00	4,50 <sup>C</sup> 0,75	3,70 <sup>C</sup> 0,43	0,83 0,09	4,74 <sup>B</sup> 0,21	13,61 <sup>C</sup> 1,09
	do 120 to 120	121	$\bar{x}$ SD	25,67 <sup>b</sup> 9,88	4,05 <sup>A</sup> 0,39	3,16 <sup>A</sup> 0,51	0,85 0,08	4,79 0,33	12,83 <sup>A</sup> 0,88
	121 - 200	72	$\bar{x}$ SD	22,77 <sup>a</sup> 8,90	4,28 <sup>B</sup> 0,38	3,56 <sup>B</sup> 0,44	0,83 0,09	4,70 0,31	13,16 <sup>B</sup> 0,80
	pow. 200 above 200	109	$\bar{x}$ SD	21,08 <sup>a</sup> 8,21	4,26 <sup>B</sup> 0,36	3,57 <sup>B</sup> 0,48	0,79 0,10	4,70 0,28	13,30 <sup>B</sup> 0,71
Jersey Jersey	do 120 to 120	123	$\bar{x}$ SD	24,16 <sup>C</sup> 5,18	4,90 <sup>A</sup> 0,77	4,04 <sup>A</sup> 0,46	0,83 0,56	4,82 <sup>B</sup> 0,24	14,36 <sup>A</sup> 1,05
	121 - 200	85	$\bar{x}$ SD	22,20 <sup>B</sup> 3,99	5,06 <sup>A</sup> 0,70	4,12 <sup>B</sup> 0,38	0,81 0,28	4,81 <sup>B</sup> 0,27	14,66 <sup>A</sup> 1,09
	pow. 200 above 200	127	$\bar{x}$ SD	18,84 <sup>A</sup> 3,12	5,48 <sup>B</sup> 0,76	4,28 <sup>C</sup> 0,39	0,77 0,10	4,66 <sup>A</sup> 0,46	15,18 <sup>b</sup> 1,02

c.d. tab. 2

Simentalska Simmental	do 120 to 120	104	$\bar{x}$ SD	24,60 <sup>B</sup> 8,50	4,04 <sup>A</sup> 0,33	3,44 <sup>A</sup> 0,43	0,88 0,10	4,63 0,23	12,59 <sup>A</sup> 0,87
	121 - 200	71	$\bar{x}$ SD	23,99 <sup>B</sup> 8,33	4,21 <sup>B</sup> 0,36	3,66 <sup>B</sup> 0,39	0,87 0,09	4,66 0,31	13,20 <sup>B</sup> 0,80
	pow. 200 above 200	65	$\bar{x}$ SD	20,10 <sup>A</sup> 7,99	4,30 <sup>B</sup> 0,40	3,73 <sup>B</sup> 0,48	0,85 0,10	4,58 0,24	13,40 <sup>B</sup> 0,90
Wpływ czynnika Effect of factor	Rasa Breed			xx	xx	xx	x	xx	xx
	Faza laktacji / Stage of lactation			xx	xx	xx	x	xx	xx
	Interakcja / Interaction			xx	xx	x	ns	x	xx

Objaśnienia: / Explanatory notes:

\* – proporcja białka do tłuszczu / protein to fat ratio; a, b – różnice pomiędzy wartościami średnimi w kolumnach statystycznie istotne przy  $p \leq 0,05$  / differences among mean values in columns are significant at  $p \leq 0,05$ ; A, B, C – różnice pomiędzy wartościami średnimi w kolumnach statystycznie istotne przy  $p \leq 0,01$  / differences among mean values in columns are significant at  $p \leq 0,01$ ; x – przy  $p \leq 0,05$  / x - at  $p \leq 0,05$ ; xx – przy  $p \leq 0,01$  / xx - at  $p \leq 0,01$ ; ns – nie stwierdzono / not found.

18,84 kg i z 24,60 do 20,10 kg, zaś u krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej spadek ten był znacznie mniejszy, tzn. u odmiany czerwono-białej z 25,67 do 21,08 kg mleka ( $p \leq 0,05$ ), a u czarno-białej – z 26,49 do 25,33 kg, co świadczy o dużych predyspozycjach genetycznych tej rasy do intensywnej produkcji mleka.

Wraz z postępem laktacji wzrastała zawartość białka, tłuszczu i suchej masy. Ponadto w mleku krów rasy jersey i polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej z upływem laktacji istotnie ( $p \leq 0,01$ ) zmniejszała się zawartość laktozy (tab. 2). Podobne zależności wykazano we wcześniejszych badaniach [3], w których oceniano mleko krów 6 ras, tj polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno- i czerwono-białej, jersey, simentalskiej, polskiej czerwonej oraz białogrzbietej. Ikonen i wsp. [11] oraz Miciński i Klupczyński [14] również przeprowadzili szczegółową analizę wydajności i składu chemicznego mleka krów rasy ayrshire, jersey i holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej w poszczególnych etapach laktacji. Wykazali, że najwyższa produktywność krów przypadała na 31 - 60 dzień po wycieleniu, przy jednocześnie drastycznym zmniejszeniu zawartości białka i kazeiny w mleku. Dużym wahaniom podlegała także zawartość tłuszczu w mleku, osiągając swoje minimum między 91. a 120. dniem laktacji, by w kolejnych dniach ulegać szybszemu wzrostowi niż białko ogólne i kazeina.

Po ocenie równoczesnego wpływu rasy i fazy laktacji (tab. 2) stwierdzono istotne na poziomie  $p \leq 0,01$  interakcje w przypadku wydajności dziennej, procentowej zawartości tłuszczu i suchej masy oraz istotne na poziomie  $p \leq 0,05$  – białka i laktozy.

Dane zawarte tab. 3. wskazują na statystycznie istotne ( $p \leq 0,01$  i  $p \leq 0,05$ ) różnice międzyrasowe w udziale i proporcjach kwasów tłuszczowych oraz zawartości cholesterolu w mleku. Istotnie najwyższy ( $p \leq 0,05$ ) udział krótko- i średniołańcuchowych kwasów tłuszczowych (SFAsmc) miało mleko krów rasy simentalskiej, natomiast mleko krów rasy PHFHO i JE charakteryzowało się istotnie wyższym ( $p \leq 0,01$ ) udziałem długołańcuchowych kwasów tłuszczowych (SFAlc) (odpowiednio: 49,87 i 48,44 %) w porównaniu z mlekiem krów rasy PHFRW i SM (odpowiednio: 46,06 i 44,75 %). Istotnie najwyższy ( $p \leq 0,05$ ) udział UFA stwierdzono w mleku krów rasy PHF RW (29,90 %) i SM (29,54 %). W mleku krów rasy SM wynikało to głównie z najwyższego ( $p \leq 0,01$ ) udziału PUFA (3,44 %), co łączyło się z najkorzystniejszym stosunkiem PUFA/SFA (0,049), a w mleku krów rasy PHF RW z najwyższego ( $p \leq 0,01$ ) udziału MUFA (26,87 %), co wpłynęło na najlepszy ( $p \leq 0,01$ ) stosunek MUFA/SFA (0,39). Najniższy ( $p \leq 0,05$  i  $p \leq 0,01$ ) udział kwasów nienasyconych, w tym MUFA, PUFA i stosunek MUFA/SFA oraz PUFA/SFA zaobserwowano w mleku krów rasy PHF HO, tzn. o najwyższej wydajności mleka. Udział CLA w mleku wszystkich analizowanych ras krów był dość niski, przy czym najwyższy ( $p \leq 0,01$ ) w mleku krów ras JE (0,35 %) i SM (0,33 %), a najniższy – PHF HO (0,23 %). Niski udział CLA wynika



Tabela 3. Udział [%] kwasów tłuszczowych i zawartość cholesterolu [mg/100 ml] w mleku.  
Table 3. Proportion [%] of fatty acids and cholesterol content [mg/100 ml] in milk.

Rasa Breed	n	Miara statyst. Statistical measure	Kwasy tłuszczowe Fatty acids								Proporcje między kwasami Ratios among acids				Cholesterol Cholesterol
			SFA	SFA <sub>smc</sub>	SFA <sub>lc</sub>	UFA	MUFA	PUFA	CLA	SFA/UFA	MUFA/SFA	PUFA/SFA			
Polska holsteińsko-fryzyjska odmiana czarno-białej Polish Holstein-Friesian Black-White variety	46	$\bar{x}$	73,91 <sup>C</sup>	24,02 <sup>a</sup>	49,89 <sup>B</sup>	26,01 <sup>a</sup>	23,95 <sup>A</sup>	2,05 <sup>A</sup>	0,23 <sup>A</sup>	2,90 <sup>c</sup>	0,32 <sup>A</sup>	0,028 <sup>A</sup>	22,88 <sup>B</sup>		
		SD	3,49	4,08	3,65	3,44	3,33	0,46	0,06	0,52	0,06	0,006	10,93		
Polska holsteińsko-fryzyjska odmiana czerwono-białej Polish Holstein-Friesian Red-White variety	53	$\bar{x}$	68,59 <sup>A</sup>	22,53 <sup>a</sup>	46,06 <sup>A</sup>	29,90 <sup>c</sup>	26,87 <sup>C</sup>	3,03 <sup>B</sup>	0,29 <sup>B</sup>	2,37 <sup>a</sup>	0,39 <sup>C</sup>	0,044 <sup>B</sup>	25,39 <sup>C</sup>		
		SD	5,01	3,34	3,65	5,43	5,23	0,44	0,04	0,48	0,11	0,008	9,95		
Jersey Jersey	45	$\bar{x}$	72,04 <sup>B</sup>	23,59 <sup>a</sup>	48,44 <sup>B</sup>	27,77 <sup>b</sup>	24,70 <sup>AB</sup>	3,06 <sup>B</sup>	0,35 <sup>C</sup>	2,64 <sup>b</sup>	0,34 <sup>AB</sup>	0,042 <sup>B</sup>	15,71 <sup>A</sup>		
		SD	3,44	3,67	3,57	3,26	3,26	0,26	0,05	0,40	0,06	0,003	9,33		
Simentalska Simmental	49	$\bar{x}$	70,45 <sup>AB</sup>	25,70 <sup>b</sup>	44,75 <sup>A</sup>	29,54 <sup>c</sup>	26,09 <sup>BC</sup>	3,44 <sup>C</sup>	0,33 <sup>C</sup>	2,40 <sup>a</sup>	0,37 <sup>BC</sup>	0,049 <sup>C</sup>	21,73 <sup>B</sup>		
		SD	2,44	3,23	2,90	2,44	2,16	0,34	0,05	0,26	0,04	0,006	12,26		

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

Tabela 4. Udział [%] kwasów tłuszczowych i zawartość cholesterolu [mg/100 ml] w mleku krów 4 ras z uwzględnieniem fazy laktacji.  
 Table 4. Proportion (%) of fatty acids and cholesterol content (mg/100 ml) in milk from cows of 4 breeds including stage of lactation.

Rasa Breed	Faza laktacji (dni) Stage of lactation (days)	n	SFA	SFA <sub>smc</sub>	SFA <sub>lc</sub>	UFA	MUFA	PUFA	CLA	SFA/UFA	MUFA/SFA	PUFA/SFA	Cholesterol Cholesterol
Polska holsztyńsko- fryzjska odmiana czarno-białej Polish Holstein- Friesian black- white variety	do 120 to 120	$\bar{x}$	74,45	23,60	50,85	25,38	23,25	2,13	0,21	2,995	0,314	0,028	21,79
		SD	3,52	3,44	4,94	3,38	3,49	0,60	0,08	0,53	0,06	0,008	9,57
	121-200	$\bar{x}$	74,94	25,74	49,20	25,05	23,10	1,94	0,23	3,052	0,310	0,026	22,67
		SD	3,65	3,45	3,69	3,65	3,39	0,33	0,04	0,51	0,06	0,005	5,68
Polska holsztyńsko- fryzjska odmiana czerwono-białej Polish Holstein- Friesian red-white variety	pow. 200 above 200	$\bar{x}$	72,58	23,67	48,90	27,41	25,19	2,22	0,26	2,721	0,350	0,030	24,12
		SD	4,14	5,48	3,16	4,14	3,65	0,52	0,07	0,65	0,06	0,008	5,17
	do 120 to 120	$\bar{x}$	69,47	22,80	46,67	30,52	27,39	3,12	0,31	2,323	0,397	0,045	24,15
		SD	4,24	1,08	3,17	4,24	3,60	0,67	0,05	0,45	0,07	0,12	4,64
Jersey	do 120 to 120	$\bar{x}$	63,11	17,50	45,60	36,88	33,72	3,16	0,32	1,711	0,534	0,050	25,09
		SD	3,22	3,42	3,02	3,52	3,15	0,45	0,05	0,38	0,05	0,007	7,57
	pow. 200 above 200	$\bar{x}$	64,45	21,51	42,93	35,54	31,52	4,01	0,39	1,813	0,489	0,062	26,59
		SD	3,02	3,09	2,85	3,11	3,01	0,39	0,04	0,31	0,04	0,006	6,21
Jersey	do 120 to 120	$\bar{x}$	67,76	20,81	46,94	31,43	28,53	2,90	0,35	2,229	0,428	0,042	14,40
		SD	5,93	4,65	4,73	5,02	5,14	0,22	0,06	0,58	0,11	0,003	5,78
	121-200	$\bar{x}$	72,64	25,26	47,37	27,35	24,23	3,12	0,37	2,687	0,335	0,043	15,28
		SD	2,63	3,29	3,59	2,84	2,87	0,28	0,05	0,35	0,05	0,003	5,87
	pow. 200 above 200	$\bar{x}$	72,29	22,61	49,67	27,70	24,62	3,07	0,31	2,611	0,340	0,042	16,20
		SD	0,76	3,71	3,49	0,76	0,85	0,17	0,01	0,09	0,01	0,002	6,45

c.d. tab. 4

Simentalska Simmental	do 120 to 120	$\bar{x}$ SD	16	70,35 1,53	24,98 2,68	45,36 1,92	29,64 1,53	26,23 1,39	3,41 0,28	0,36 0,04	2,381 0,17	0,373 0,02	0,048 0,004	19,13 9,41
	121-200	$\bar{x}$ SD	13	69,23 2,79	24,47 2,11	44,76 1,19	30,76 2,79	27,08 2,66	3,67 0,16	0,34 0,02	2,272 0,28	0,393 0,05	0,053 0,004	22,93 8,01
	pow. 200 above 200	$\bar{x}$ SD	20	70,67 2,88	27,49 3,72	43,17 3,41	29,32 2,88	25,80 2,48	3,51 0,43	0,32 0,06	2,437 0,32	0,366 0,05	0,050 0,008	23,03 4,55
Wpływ czynnika Effect of factor	Rasa/Breed			xx	x	xx	xx	xx	xx	xx	xx	xx	xx	xx
	Faza laktacji/Stage of lactation			ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Interakcja/Interaction			ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Objasnienia: / Explanatory notes:

Wpływ czynnika: x / Effect of factor: x – przy  $p \leq 0,05$  / x - at  $p \leq 0,05$ ; xx – przy  $p \leq 0,01$  / xx - at  $p \leq 0,01$ ; ns – nie stwierdzono / not found.

prawdopodobnie z zastosowanego systemu żywienia, tzn. TMR, który według Bauma-  
na [6] jest mniej korzystny pod względem zawartości nienasyconych kwasów tłusz-  
czowych, w tym CLA, niż system tradycyjny uwzględniający wypas pastwiskowy.  
Barłowska i Litwińczuk [4] wskazują na genetyczne i środowiskowe uwarunkowania  
profilu kwasów tłuszczowych w mleku krów. Felkner-Poźniakowska i wsp. [10] wyka-  
zali natomiast istotny wpływ sezonu (letni i zimowy) na profil kwasów tłuszczowych  
nawet przy całorocznym alkierzowym systemie utrzymania krów i żywienia systemem  
PMR.

Istotnie największą ( $p \leq 0,01$ ) zawartość cholesterolu stwierdzono w mleku krów  
rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czerwono-białej (25,39 mg/100 ml),  
najmniejszą zaś w mleku krów rasy jersey (15,71 mg/100 ml) – tab. 3. Wiązało się to  
prawdopodobnie ze stanem dyspersji tłuszczu mlecznego. Z badań Barłowskiej i wsp.  
[5] wynika, że mleko krów rasy jersey ma wyższy udział dużych kuleczek tłusz-  
czowych, co sprawia, że łączna powierzchnia otoczek kuleczek w jednostce objętości jest  
mniejsza. Może mieć to istotny wpływ na ogólną zawartość cholesterolu w mleku,  
gdyż znajduje się on w otoczkach kuleczek tłuszczowych.

Z danych zawartych w tab. 4. wynika, że faza laktacji przy całorocznym utrzyma-  
niu krów w pomieszczeniach i żywieniu taką samą paszą (system TMR) nie miała  
istotnego wpływu na udział kwasów tłuszczowych i zawartość cholesterolu w mleku.  
Nie wykazano również istotnych interakcji rasa  $\times$  faza laktacji dla tych składników,  
tzn. kwasów tłuszczowych i cholesterolu.

## Wnioski

1. W intensywniej technologii chowu (obory wolnostanowiskowe i żywienie syste-  
mem TMR) największą wydajność mleka uzyskiwano od krów rasy polskiej holsz-  
tyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej (średnio 25,8 kg).
2. Krowy rasy simentalskiej w intensywnych technologiach chowu zwiększają pro-  
dukcję mleka (średnia wydajność 23,2 kg), zachowując jednocześnie bardzo ko-  
rzystną proporcję białka do tłuszczu (0,86).
3. W ocenie równoczesnego wpływu rasy i fazy laktacji stwierdzono wysoko istotne  
interakcje ( $p \leq 0,01$ ) w przypadku wydajności dziennej, zawartości tłuszczu i su-  
chej masy oraz istotne ( $p \leq 0,05$ ) dla zawartości białka i laktozy.
4. Przy podobnym systemie utrzymania i żywienia (TMR) rasa krów wpływała istot-  
nie na udział kwasów tłuszczowych i zawartość cholesterolu w mleku.
5. Wraz z postępowaniem laktacji powyżej 120. dnia doju u krów wszystkich 4 ras nastę-  
powało zmniejszenie dobowej wydajności mleka. U krów rasy jersey i simental-  
skiej spadek ten był stosunkowo duży i statystycznie istotny ( $p \leq 0,01$ ), odpowied-  
nie: o 5,32 i 4,50 kg, zaś u krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany

czarno-białej – niewielki (1,16 kg), co świadczy o dużych predyspozycjach genetycznych krów tej rasy do intensywnej produkcji mleka.

6. Przy całorocznym utrzymaniu krów w pomieszczeniach i żywieniu taką samą paszą (system TMR) faza laktacji nie miała istotnego wpływu na udział kwasów tłuszczowych i zawartość cholesterolu w mleku.

### Literatura

- [1] AOAC, Official Methods of Analysis of the AOAC 969.22. Methyl esters of fatty acids in oils and fats. 17<sup>th</sup> Ed. Arlington-Virginia USA, 2000.
- [2] AOAC, Official Methods of Analysis of the AOAC 969.33. Fatty acids on oils and fatty. 17<sup>th</sup> Ed. Arlington-Virginia USA, 2000.
- [3] Barłowska J., Litwińczuk Z., Król J., Topyła B.: Technological usefulness of milk cows of six breeds maintained in Poland relative to a lactation phase. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2006, **15** (56), 17-21.
- [4] Barłowska J., Litwińczuk Z.: Genetyczne i środowiskowe uwarunkowania profilu kwasów tłuszczowych mleka. *Med. Weter.*, 2009, **65** (5), 310-314.
- [5] Barłowska J., Szwałkowska M., Litwińczuk Z., Matwijczuk A.: The influence of cows breed and feeding system on the dispersion state of milk fat content of cholesterol. *Rocz. Nauk. PTZ*, 2011, **7** (3), 57-65.
- [6] Bauman D.E., Corl B.A., Peterson D.G.: The biology of conjugated linoleic acids in ruminants. In: *Advances in conjugated linoleic acid research*. Eds. J.L. Sebedio, W.W. Christie, R. Adlof, AOACS Press, USA, 2003, pp. 146-173.
- [7] Brodziak A., Litwińczuk A., Topyła B., Wolanciuk A.: Wpływ interakcji sezonu produkcji z rasą i systemem żywienia krów na wydajność i właściwości fizykochemiczne mleka. *Rocz. Nauk. PTZ*, 2012, **8** (1), 19-27.
- [8] FAOSTAT, 2013, Food and Agriculture Organization of The United Nations, Statistics Division, Dostęp w Internecie: [20.10.2013]; <http://faostat.fao.org>
- [9] Felius M., Koolmees P., Theunissen B.: On the breeds of cattle-historic and current classifications. *Diversity*, 2011, **3**, 660-692.
- [10] Felkner-Poźniakowska B., Pietrzak-Fiećko R., Kotlarska M., Kacprzak S.: Skład kwasów tłuszczowych tłuszczu mleka krów z chowu alkierzowego w okresie letnim i zimowym. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **1** (80), 81-92.
- [11] Ikonen T., Morry S., Tyrisevä A.-M., Routtinen O., Ojala M.: Genetic and phenotypic correlations between milk coagulation properties, milk production traits, somatic cell count, casein content and pH of milk. *J. Dairy Sci.*, 2004, **87**, 458-467.
- [12] Litwińczuk A., Barłowska J., Król J., Sawicka W.: Porównanie składu chemicznego i zawartości mocznika w mleku krów czarno-białych i simentalskich z okresu żywienia letniego i zimowego. *Annales UMCS, sec. EE.*, 2006, XXIV, **10**, 67-72.
- [13] Litwińczuk Z., Barłowska J., Chabuz W., Brodziak A.: The nutritional value and technological suitability of milk from cows of 3 Polish breeds included in the programme of genetic resources conservation. *Ann. Anim. Sci.*, 2012, **12** (3), 423-432.
- [14] Miciński J., Kłupczyński J.: Correlation between polymorphic variants of milk proteins, and milk yield and chemical composition in Black-and-White and Jersey cows. *Pol. J. Nutr. Sci.*, 2006, **15** (56), 137-143.
- [15] Neja W., Bogucki M., Krężel-Czopek S., Kunert S.: Wpływ systemu utrzymania na użytkowość mleczną krów. *Rocz. Nauk. PTZ*, 2010, **6** (2), 59-64.

- [16] Perišić P., Skalicki Z., Petrović M. M., Bogdanović V., Ružić-Muslić D.: Simmental cattle breed in different production systems. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 2009, **25 (5-6)**, 315-326.
- [17] Polska Federacja Hodowców Bydła i Producentów Mleka. Ocena i Hodowla Bydła Mlecznego. Dane za rok 2012, Warszawa 2013.
- [18] Sturaro A., Tiezzi F., Penasa M., De Marchi M., Cassandro M.: Study of milk coagulation properties in multibreed Italian dairy herds. *Acta Argic. Slovenica*, 2012, **3**, 89-92.

**BASIC CHEMICAL COMPOSITION, PROPORTION OF FATTY ACIDS, AND  
CHOLESTEROL CONTENT IN MILK OF FOUR BREEDS OF COWS USED IN  
THE INTENSIVE HUSBANDRY TECHNOLOGIES**

S u m m a r y

There were analyzed the basic chemical composition, proportion of fatty acids, and cholesterol content in milk samples obtained from four breeds of cows, i.e. Polish Holstein-Friesian – Black and White variety – PHF HO (269 samples) and Red and White variety – PHF RW (302), Simmental – SM (240), and Jersey – JE (335). It was proved that in the intensive husbandry technology, the PHF HO cows had the highest daily milk yield (25.8 kg per day on average). The SM cows (representing a combined type of use) obtained a slightly lower milk yield (23.2 kg) together with a very advantageous protein to fat ratio (0.86). Milk from the SM cows had significantly the highest ( $p \leq 0.05$ ) content of short- and medium chain saturated fatty acids (SFAsmc), while milk from PHF HO and JE cows was characterized by a significantly ( $p \leq 0.01$ ) higher proportion of long-chain saturated fatty acids (SFAlc). The content of CLA in milk from all the cow breeds analysed was rather low with significantly the highest percent level in milk from JE cows (0.35 %, at  $p \leq 0.01$ ) and SM cows (0.33 %, at  $p \leq 0.01$ ), and the lowest in milk from the PHF HO cows (0.23 %). The highest content of cholesterol (25.39 mg/100 ml) was reported in milk from the PHFEW cows, and the lowest in milk from the Jersey cows (15.71 mg/100 ml). The stage of lactation in that (intensive) livestock farming had no significant effect on the proportion of fatty acids and cholesterol content in milk. While comparing the simultaneous effect of breed and stage of lactation, significant interactions were found ( $p \leq 0.01$ ) among the daily milk yield, percent level of fat, and dry matter ( $p \leq 0.01$ ), and among the protein and lactose contents ( $p \leq 0.05$ ).

**Key words:** breed of cows, intensive husbandry, milk yield, chemical composition, fatty acids, cholesterol



IWONA CHWASTOWSKA-SIWIECKA, JOANNA KALINIEWICZ,  
JACEK KONDRATOWICZ, NATALIA SKIEPKO

## WPLYW CZASU ZAMRAŻALNICZEGO PRZECHOWYWANIA I METODY ROZMRAŻANIA NA PROFIL KWASÓW TŁUSZCZOWYCH TŁUSZCZU ŚRÓDMIEŚNIOWEGO MIĘSA KRÓLICZEGO

### Streszczenie

Celem przeprowadzonych badań było określenie wpływu czasu zamrażalniczego przechowywania i metody rozmrażania na skład i profil kwasów tłuszczowych tłuszczu śródmięśniowego mięsa króliczego. Materiał doświadczalny stanowiło 50 mięśni udowych królików rasy kalifornijskiej, ubitych w wieku 110 dni. Zapakowane próżniowo próbki przechowywano zamrażalniczo ( $-28 \pm 1$  °C) przez 2 tygodnie oraz przez 3 miesiące, a następnie rozmrażano mikrofalowo lub w powietrzu atmosferycznym. W badanych mięśniach oznaczono profil kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej.

Stwierdzono, że w miarę wydłużenia czasu zamrażalniczego przechowywania (do 3 miesięcy) nastąpiło zwiększenie udziału kwasu palmitynowego i stearynowego w tłuszczu śródmięśniowym mięśni udowych rozmrożonych w powietrzu atmosferycznym oraz ich zmniejszenie w tłuszczu rozmrożonych mikrofalowo. Najniższym udziałem kwasów: oleinowego, linolowego i  $\alpha$ -linolenowego charakteryzowały się próbki mięsa po 3-miesięcznym zamrażalniczym przechowywaniu, które rozmrażano w powietrzu atmosferycznym. Jednocześnie w grupie tej stwierdzono zwiększony udział kwasów nasyconych, a zmniejszony – kwasów mono- i polienowych. Przyczyniło się to do niekorzystnej modyfikacji profilu kwasów tłuszczowych, wyrażonej indeksami jakości zdrowotnej. Najkorzystniejszy stosunek kwasów PUFA  $n-6/n-3$  w badanych mięśniach królików stwierdzono po 2 tygodniach zamrażalniczego przechowywania i rozmrażania w powietrzu.

**Słowa kluczowe:** mięso królicze, zamrażalnicze przechowywanie, metoda rozmrażania, profil kwasów tłuszczowych, indeksy jakości zdrowotnej

---

*Dr inż. I. Chwastowska-Siwiecka, prof. dr hab. J. Kondratowicz, mgr inż. N. Skiepmo, Katedra Towaroznawstwa i Przetwórstwa Surowców Zwierzęcych, dr inż. J. Kaliniewicz, Katedra Żywienia Zwierząt i Paszoznawstwa, Wydz. Biotechnologii Zwierząt, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, ul. Oczapowskiego 5, 10-719 Olsztyn. Kontakt: iwona.chwastowska@uwm.edu.pl*



## Wprowadzenie

Rozwój produkcji mięsa króliczego przyczynił się do wzrostu zainteresowania jego jakością oraz wartością prozdrowotną. Zmiany zawartości tłuszczu w mięsie związane z systemami żywieniowymi zwierząt mają istotny wpływ na: poprawę stosunku kwasów SFA do UFA, kwasów szeregu PUFA *n-6* do *n-3*, uzupełnienie witamin A, E i niektórych składników mineralnych oraz na przeciwdziałanie procesom utleniania zachodzącym w mięsie podczas przechowywania [9, 19, 37]. Szybkość i kierunek utleniania lipidów mięsa zależy m.in. od ich składu chemicznego, zawartości wody, obecności naturalnych prooksydantów i antyoksydantów występujących w mięsie, procesów i operacji technologicznych oraz warunków przechowywania [10]. Prawie 90 % surowca króliczego przeznaczane jest na eksport w postaci chłodzonych i mrożonych tuszek, co może powodować zmiany jakości mięsa związane z nieprawidłowym doborem warunków mikroklimatycznych w łańcuchu chłodniczym [4]. Według Hęś i Korczaka [12] nawet nieznaczne napowietrzenie surowca jest przyczyną występowania w krótkim czasie po zakończeniu produkcji, a szczególnie po chłodniczym lub zamrażalniczym przechowywaniu, niepożądanych lub wręcz dyskwalifikujących produkt sensorycznych objawów oksydacyjnego rozkładu tłuszczu. Zmianom ulegają również zawarte w tłuszczach wartościowe składniki, takie jak witaminy i NNKT, które tracą właściwości biologiczne kwasów niezbędnych nienasyconych. Ze względu na możliwość występowania intensywnych zmian autooksydacyjnych kwasów PUFA i powstawania niekorzystnych produktów oksydacji, ważne są działania zmierzające do ich ochrony w czasie długotrwałego przechowywania mięsa.

W kształtowaniu jakości mięsa istotne jest zatem zapewnienie odpowiedniej metody zamrażania, optymalnych warunków zamrażalniczego przechowywania i sposobu rozmrażania [15]. Maksymalny czas przechowywania mrożonych surowców i przetworów mięsnych jest ograniczony głównie przez niekorzystne przemiany fizyczne, chemiczne i biochemiczne lipidów, a także lipoproteidów. W przypadku mięsa i przetworów głęboko mrożonych ( $t \leq -18$  °C) najważniejszy z nich to proces oksydacji lipidów zachodzący dopiero po długotrwałym przechowywaniu [14, 31]. Szybkość jełczenia tkanki tłuszczowej mięsa ulega wprawdzie wyraźnemu zmniejszeniu w chwili zamrożenia mięsa, jednak nawet podczas zamrażalniczego przechowywania nie dochodzi do całkowitego zahamowania autooksydacji. Im większy jest udział tkanki tłuszczowej w mięsie i zawartość nienasyconych kwasów tłuszczowych w lipidach tej tkanki, tym szybciej zachodzą zmiany oksydacyjne, a czas przechowywania jest krótszy. Występujące w tkance mięśniowej związki hemowe katalizują reakcje utleniania i dlatego też są główną przyczyną jełczenia tłuszczu śródmięśniowego, który zbudowany jest z fosfolipidów zawierających w dużej części wolne kwasy tłuszczowe [3].

Końcowym, ważnym ogniwem w technologii zamrażalniczego utrwalania mięsa jest proces rozmrażania, którego celem jest przywrócenie cech jakościowych zbliżo-

nych do mięsa świeżego [22]. Przy braku odpowiednich komór bądź tuneli do rozmrażania w zakładach mięsnych zabieg ten prowadzi się w powietrzu atmosferycznym, o różnych parametrach. Najczęściej dąży się do stosowania szybkich metod rozmrażania, z jednoczesną możliwością kontroli parametrów procesu [2]. Jedną z technik może być wykorzystanie energii mikrofal oraz poznanie ich wpływu na zmiany właściwości tłuszczu, stopień jego oksydacji, zmiany kwasów tłuszczowych oraz cech smakowo-zapachowych [26].

Celem badań było określenie wpływu czasu zamrażalniczego przechowywania i metody rozmrażania na skład i profil kwasów tłuszczowych tłuszczu śródmięśniowego mięsa króliczego.

### **Materiał i metody badań**

Materiał doświadczalny stanowiły króliki rasy kalifornijskiej (50 szt.), pochodzące z fermy hodowlanej w województwie warmińsko-mazurskim. Doświadczenie przeprowadzono w okresie letnim (od czerwca do września). Króliki utrzymywane były w zamkniętym pomieszczeniu w klatkach drewnianych, na głębokiej ściółce. Żywnienie w okresie tuczu oraz warunki utrzymania były podobne dla wszystkich zwierząt. W okresie odchowu zastosowano żywienie do woli mieszanką pełnoporcjową granulowaną, zawierającą: 16,5 % białka ogólnego, 15,4 % włókna surowego oraz 3,1 % tłuszczu surowego, ze stałym dostępem do wody pitnej.

Ubój królików po zakończeniu tuczu, w wieku 110 dni, z reprezentacją płci 1 : 1 oraz obróbka poubojowa przeprowadzone zostały zgodnie z wymaganiami technicznymi i sanitarnymi, jakie obowiązują w przemyśle mięsnym [28, 29]. Bezpośrednio po uboju tuszki wychładzano w komorze chłodniczej o temp.  $4 \pm 1$  °C, przez 24 h. W 45. minucie i 24. h *post mortem* w mięśni lewego uda (*m. biceps femoris*) wykonywano pomiar pH za pomocą pH-metru 340i WTW z kombinowaną elektrodą szklaną Double Pore, firmy Hamilton. Po wychłodzeniu wykonywano podział technologiczny tuszek na elementy zasadnicze. Do dalszego etapu badań wybrano 50 sztuk mięśni udowych, które określono jako RFN, tj. o pH<sub>1</sub> od 6,1 - 6,9 [1, 23, 24] i pH<sub>24</sub> od 5,80 - 5,98 [13]. Próbkę 40 mięśni umieszczano pojedynczo w opakowaniach z folii PA/PE i pakowano próżniowo, a następnie zamrażano w zamrażarce komorowej o temp.  $-28 \pm 1$  °C, bez regulacji ruchu powietrza. Zamrożone próbki przechowywano w tej temperaturze przez 2 tygodnie oraz przez 3 miesiące. Pozostałe mięśnie udowe przekazano bezpośrednio do analiz w laboratorium Katedry Towaroznawstwa i Przetwórstwa Surowców Zwierzęcych UWM. Po 2-tygodniowym zamrażalniczym składowaniu próbki rozmrażano metodą mikrofalową (10 szt., grupa I) oraz w powietrzu atmosferycznym (10 szt., grupa II). Kolejne mięśnie rozmrażano po 3 miesiącach również mikrofalowo (10 szt., grupa III) oraz w powietrzu atmosferycznym (10 szt., grupa IV).

Rozmrażanie metodą mikrofalową polegało na umieszczeniu opakowanych mięśni w kuchence mikrofalowej firmy TEC i oddziaływaniu falami elektromagnetycznymi o mocy 260 W przez 30 min, a następnie 120 W również w ciągu 30 min. Rozmrażanie prowadzono naprzemiennie, stosując co 10 min zmianę mocy fal elektromagnetycznych z 260 na 120 W (w celu równomiernego nagrzewania całej masy mięsa), do momentu uzyskania temp. około  $-1\text{ }^{\circ}\text{C}$  w centrum mięśni oraz około  $15\text{ }^{\circ}\text{C}$  w warstwie zewnętrznej. Łączny czas rozmrażania wynosił 60 min. Po dalszym 2-godzinnym okresie stabilizacji termicznej (w tym samym opakowaniu) rozmrożone mięśnie uzyskiwały końcową temp. około  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Proces rozmrażania w warunkach powietrza atmosferycznego polegał na umieszczeniu opakowanych mięśni udowych królików w komorze wychładczej „Frost” o temp.  $4 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ , przy wilgotności względnej około 85 %, na 24 h, bez wymuszonego obiegu powietrza.

W celu przygotowania poszczególnych próbek do analiz laboratoryjnych, z powierzchni mięśni usuwano zewnętrzną tkankę tłuszczową i błony. Następnie próbki rozdrabniano w wilku laboratoryjnym (trzykrotne zmielenie), z zastosowaniem siatki o średnicy otworów 1,5 mm, a następnie dokładnie mieszano. Rozdrobnione próbki mięśni suszono, a tłuszcz ekstrahowano metodą Soxhleta według PN-ISO 1444:2000 [27]. Zawartość kwasów tłuszczowych w wyekstrahowanych lipidach mięśni udowych oznaczano metodą chromatografii gazowej, przy użyciu chromatografu Varian CP-3800, z detektorem FID płomieniowo-jonizacyjnym, w kolumnie kapilarnej CP-Sil 88, o długości ( $50\text{ m} \times 0,25\text{ mm i.o.} \times 0,25\text{ }\mu\text{m film}$ ). Analizę prowadzono w następujących warunkach: temp. detektora  $250\text{ }^{\circ}\text{C}$ , kolumny –  $170\text{ }^{\circ}\text{C}$ ; dozowanie próbki – split/50 : 1, gaz nośny- hel. Wyniki oznaczeń rejestrowano za pomocą systemu komputerowego Star Chromatography Workstation. Identyfikację kwasów tłuszczowych przeprowadzano na podstawie względnego czasu ich retencji, wykorzystując wzorce firmy Supelco.

Wyniki badań poddano analizie statystycznej za pomocą dwuczynnikowej analizy wariancji (układ ortogonalny) oraz testu Duncana, przy użyciu programu komputerowego Statistica, wersja 10.0 [32].

## Wyniki i dyskusja

Skład oraz profil kwasów tłuszczowych w tłuszczu śródmięśniowym wychłodzonych mięśni udowych królików przedstawiono w tab. 1. i 2. Spośród wyższych kwasów tłuszczowych w tłuszczu śródmięśniowym dominujący był kwas palmitynowy C16 : 0 (29,66 %) (tab. 1). Szkucik i Ziomek [35] oznaczyli w tłuszczu śródmięśniowym wychłodzonych mięśni udowych królików rasy mięsnej – francuski baran więcej tego kwasu – 33,82 %. Kwas C16:0 należy do grupy kwasów nasyconych (SFA), a jego ilość jest wprost proporcjonalna do stopnia otluszczenia tuszki, które również wpływa na szybszy wzrost poziomu SFA oraz MUFA niż PUFA [21]. Ilość kwasu

oleinowego (C18:1 *n*-9) i linolowego (C18:2 *n*-6) w całkowitej puli kwasów tłuszczowych kształtowała się na wysokim poziomie i wynosiła odpowiednio: 23,59 i 23,80 %. Wykazano, że zawartość kwasu  $\alpha$ -linolenowego, będącego prekursorem długołańcuchowych KT *n*-3, wynosiła 2,80 %.

Tabela 1. Zawartość kwasów tłuszczowych w tłuszczu śródmięśniowym wychłodzonych mięśni udowych królików [% sumy kwasów].

Table 1. Content of fatty acids of intramuscular fat in chilled hind leg muscles of rabbits [% of total acids].

Wyszczególnienie Specification	Wychłodzone mięśnie udowe / Chilled hind leg muscles ( $\bar{x} \pm s / SD$ ) (n = 10)
C12:0	0,50 $\pm$ 0,24
C14:0	3,33 $\pm$ 0,45
C14:1	0,15 $\pm$ 0,04
C15:0	0,73 $\pm$ 0,04
C16:0	29,66 $\pm$ 0,98
C16:1	2,14 $\pm$ 0,47
C17:0	0,87 $\pm$ 0,01
C17:1	0,40 $\pm$ 0,06
C18:0	9,45 $\pm$ 0,41
C18:1	23,59 $\pm$ 0,68
C18:2 <i>n</i> -6	23,80 $\pm$ 1,05
C18:3 <i>n</i> -3	2,80 $\pm$ 0,66
C 20:0	0,23 $\pm$ 0,02
C 20:1	0,29 $\pm$ 0,01
C 20:2 <i>n</i> -6	0,21 $\pm$ 0,02
C 20:4 <i>n</i> -6	1,52 $\pm$ 0,21
C 20:5 <i>n</i> -3 (EPA)	0,03 $\pm$ 0,01
C 22:0	0,24 $\pm$ 0,06
C 22:6 <i>n</i> -3 (DHA)	0,06 $\pm$ 0,02

Jednocześnie zaobserwowano najniższy udział kwasów wielonienasyconych: eikozapentaenowego C20:5 (EPA) oraz dokozaheksaenowego - C22:6 (DHA), wynoszący 0,03 vs 0,06 % sumy kwasów. Podobne zawartości wymienionych kwasów tłuszczowych w mięśniach tylnych nóg oraz najdłuższych grzbietu królików nowozelandzkich białych żywionych standardową mieszanką granulowaną oznaczyli Kowalska i Bielański [17] oraz Kowalska [19]. Według innych autorów [6, 10, 18, 20], profil

kwasów tłuszczowych zawartych w tkankach królików zależy od: rasy, rodzaju tkanki, wieku, płci, składu dawki pokarmowej, aktywności fizycznej czy przedubojowej masy ciała. Bielański [1] podaje, że tłuszcz śródmięśniowy królików składa się w 47,3 % z kwasów tłuszczowych nasyconych, w 35,5 % z kwasów tłuszczowych jednonienasyconych, a w pozostałych 17,2 % z kwasów wielonienasyconych. Egzogenny kwas linoowy stanowi 14,6 % całkowitej zawartości kwasów tłuszczowych, natomiast stosunek kwasów nasyconych do wielonienasyconych wynosi 0,36 i jest odpowiedni pod względem żywieniowym. Kowalska i wsp. [20] stwierdzili, że tłuszcz śródmięśniowy w decydującym stopniu może determinować skład lipidowy mięsa, a zawarte w nim fosfolipidy wykazują predyspozycje do wiązania nasyconego kwasu tłuszczowego w pozycji węgla *sn-1* glicerolu, a kwasu nienasyconego w pozycji *sn-2*. Stąd istnieje znacznie większa możliwość wpływu na kwasy nienasycone PUFA lub MUFA niż na zawartość SFA.

Tabela 2. Profil kwasów tłuszczowych w tłuszczu śródmięśniowym wychłodzonych mięśni udowych królików [%].

Table 2. Fatty acid profile of intramuscular fat in chilled hind leg muscles of rabbits [%].

Wyszczególnienie Specification	Wychłodzone mięśnie udowe Chilled hind leg muscles ( $\bar{x} \pm s / SD$ ) (n = 10)
Nasycone/ Saturated (SFA)	45,01 ± 1,09
Nienasycone/ Unsaturated (UFA)	54,99 ± 1,09
Jednonienasycone/ Monounsaturated (MUFA)	26,57 ± 0,96
Wielonienasycone/ Polyunsaturated (PUFA)	28,42 ± 1,14
DFA (UFA+C18:0)	64,44 ± 0,70
OFA (SFA-C18:0)	35,56 ± 0,70
DFA/OFA	1,81 ± 0,05
UFA/SFA	1,22 ± 0,05
PUFA <i>n-6/n-3</i>	8,83 ± 1,30
Indeks konsumencki / Consumer index = (C18:3+ C20:5+ C22:6)	2,89 ± 0,68

Objaśnienia: Explanatory notes:

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

Tłuszcz śródmięśniowy wychłodzonych mięśni udowych królików charakteryzował się wyższym udziałem kwasów nienasyconych UFA (54,99 %), w tym kwasów jednonienasyconych (MUFA) i wielonienasyconych (PUFA) niż kwasów nasyconych

SFA (45,01 %) (tab. 2). Za istotne pod względem żywieniowym można uznać zmiany polegające na zmniejszeniu ilości kwasów SFA w mięśniach królików i zwiększenie sumy PUFA *n-3* oraz na zmniejszeniu proporcji kwasów PUFA *n-6/n-3* np. z 8,51 do 3,56. W przypadku uzyskania takich zmian mięso królicze klasyfikuje się do grupy mięs o walorach prozdrowotnych [5, 19]. Stwierdzony w omawianym doświadczeniu stosunek PUFA *n-6/n-3* wynosił 8,83 i był zbliżony do wyników Kowalskiej i Bielańskiego [17]. Jakość zdrowotną lipidów śródmięśniowych badanego mięsa królików określono poprzez wyliczenie indeksów: konsumenckiego, OFA, DFA, DFA/OFA, UFA/SFA oraz *n-6/n-3* [25, 36]. Wyniki analizy potwierdziły, że zawartość kwasów tłuszczowych DFA, o działaniu hipocholesterolemicznym, była prawie dwukrotnie większa (64,44 %) od zawartości kwasów tłuszczowych hipercholesterolemicznych OFA (35,56 %). Ponadto, analizowany tłuszcz śródmięśniowy mięśni udowych charakteryzował się korzystnym stosunkiem DFA/OFA (1,81 %) oraz UFA/SFA (1,22 %). Wartość sumy kwasu  $\alpha$ -linolenowego, EPA i DHA, określana jako tzw. indeks konsumencki, wynosiła średnio 2,89 %. Wood i wsp. [36] podają, że zawartość wyżej wymienionych kwasów powinna stanowić do 3 % udziału w puli wszystkich kwasów tłuszczowych w mięsie. Migdał i wsp. [25] stwierdzili, że indeks konsumencki tłuszczu śródmięśniowego schabu i szynki świń oraz mięśni najdłuższych grzbietu byków, cieląt, jagniąt, a także smażonych mięśni piersiowych kurcząt i smażonych combrów królików kształtował się na poziomie od 0,71 do 3,33 %.

Spośród kwasów tłuszczowych zawartych w tłuszczu śródmięśniowym mięśni udowych królików przeważał kwas palmitynowy C16:0 (tab. 3). Największy jego udział (34,95 %) zaobserwowano w grupie próbek przechowywanych zamrażalniczo 3 miesiące i rozmrażanych w powietrzu atmosferycznym, co zostało potwierdzone statystycznie. Średnia, względna zawartość kwasu palmitynowego w pozostałych analizowanych grupach (I, II, III) wyniosła 31,43 %. W miarę upływu czasu zamrażalniczego przechowywania w grupie mięśni rozmrażanych mikrofalowo stwierdzono zmniejszenie względnej zawartości kwasu palmitynowego o 1,12 %. Wyższy udział kwasu palmitynowego wpłynął istotnie na łączną zawartość kwasów nasyconych (SFA) w grupie IV. Zaobserwowano również wpływ czasu zamrażalniczego przechowywania i metody rozmrażania ( $p \leq 0,05$ ) na poziom kwasu stearynowego, którego najmniej oznaczono w grupie II (8,78 %) oraz w III (9,17 %). W obrębie kwasów nienasyconych (UFA) wysoko istotnie większą ilość kwasu oleinowego C18:1 stwierdzono w tłuszczu śródmięśniowym mięśni udowych grup I, II i III w porównaniu z grupą IV. Natomiast najczęściej było go w mięśniach grupy I – 24,54 %. Wraz z wydłużaniem czasu składowania mięśni rozmrażanych metodą mikrofalową nastąpiło zmniejszenie zawartości kwasu oleinowego o 1,07 %, a w grupie próbek rozmrażanych w powietrzu – o 3,28 %. W analizowanych mięśniach oznaczono również cenne kwasy należące do rodziny *n-3*,

Tabela 3. Zawartość kwasów tłuszczowych w tłuszczu śródmięśniowym mięśni udowych królików w zależności od czasu zamrażalniczego przechowywania i metody rozmrażania [% sumy kwasów].

Tabela 3. Content of fatty acids in intramuscular fat of hind leg muscles of rabbits depending on deep-freeze storage time and thawing method [% of total acids].

Wyszczególnienie Specification	Czas zamrażalniczego przechowywania [miesiące] Time of deep-freeze storage[month]			
	0,5		3	
	Metoda rozmrażania / Thawing method ( $\bar{x} \pm s / SD$ )			
	mikrofalowa in microwave oven (I)	powietrzna atmospheric in air (II)	mikrofalowa in microwave oven (III)	powietrzna atmospheric in air (IV)
	(n = 10)	(n = 10)	(n = 10)	(n=10)
C12:0	0,42 ± 0,10	0,54 ± 0,18	0,58 ± 0,22	0,48 ± 0,67
C14:0	2,97 ± 0,34	3,33 ± 0,32	3,32 ± 0,54	3,79 ± 0,98
C14:1	0,11 ± 0,01	0,15 ± 0,12	0,14 ± 0,03	0,14 ± 0,11
C15:0	0,77 ± 0,09	0,78 ± 0,12	0,75 ± 0,06	0,76 ± 0,22
C16:0	31,80 <sup>b</sup> ± 0,80	31,81 <sup>B</sup> ± 0,45	30,68 <sup>B</sup> ± 0,95	34,95 <sup>Aa</sup> ± 0,93
C16:1	2,09 ± 0,14	2,82 ± 0,61	1,69 ± 0,83	1,97 ± 0,73
C17:0	0,88 ± 0,04	0,87 ± 0,12	0,91 ± 0,09	0,92 ± 0,14
C17:1	0,35 ± 0,03	0,38 ± 0,08	0,35 ± 0,04	0,41 ± 0,12
C18:0	10,54 <sup>ac</sup> ± 0,94	8,78 <sup>b</sup> ± 0,37	9,17 <sup>bc</sup> ± 0,69	11,04 <sup>a</sup> ± 0,73
C18:1	24,54 <sup>A</sup> ± 0,77	24,17 <sup>A</sup> ± 0,46	23,47 <sup>A</sup> ± 0,39	20,89 <sup>B</sup> ± 0,62
C18:2 <i>n-6</i>	20,67 <sup>b</sup> ± 0,79	21,75 ± 0,55	24,19 <sup>Aa</sup> ± 0,86	19,96 <sup>B</sup> ± 0,57
C18:3 <i>n-3</i>	1,86 <sup>B</sup> ± 0,27	2,49 <sup>A</sup> ± 0,30	2,46 <sup>A</sup> ± 0,42	1,60 <sup>B</sup> ± 0,29
C20:0	0,38 ± 0,03	0,30 ± 0,04	0,26 <sup>b</sup> ± 0,04	0,40 <sup>a</sup> ± 0,15
C20:1	0,28 <sup>b</sup> ± 0,02	0,28 <sup>b</sup> ± 0,04	0,31 <sup>a</sup> ± 0,02	0,28 <sup>b</sup> ± 0,01
C20:2 <i>n-6</i>	0,18 <sup>b</sup> ± 0,03	0,17 <sup>b</sup> ± 0,01	0,21 <sup>Aa</sup> ± 0,03	0,15 <sup>B</sup> ± 0,02
C20:4 <i>n-6</i>	1,61 ± 0,41	1,14 ± 0,14	1,25 ± 0,30	1,73 ± 0,64
C20:5 <i>n-3</i> (EPA)	0,02 ± 0,02	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01
C22:0	0,49 <sup>a</sup> ± 0,16	0,20 <sup>b</sup> ± 0,09	0,19 <sup>b</sup> ± 0,05	0,47 <sup>a</sup> ± 0,29
C22:6 <i>n-3</i> (DHA)	0,04 ± 0,01	0,03 ± 0,02	0,06 ± 0,01	0,05 ± 0,03

Objaśnienia:/ Explanatory notes:

 $\bar{x} \pm s / SD$  – wartość średnia ± odchylenie standardowe / mean value ± standard deviation;wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się w wierszach statystycznie istotnie: a, b, c – przy  $p \leq 0,05$ ; A, B – przy  $p \leq 0,01$  / mean values denoted by different letters in rows are statistically significantly different: a, b, c – at  $p \leq 0,05$ ; A, B – at  $p \leq 0,01$



tj. C20:5 (0,012 %), C22:6 (0,045 %) oraz kwas  $\alpha$ -linolenowy C18:3, którego najniższy udział zaobserwowano w grupie I oraz IV i wynosił on odpowiednio: 1,86 i 1,60 %. Tłuszcz śródmięśniowy mięśni udowych królików cechował się znaczną zawartością kwasu  $\alpha$ -linolenowego w grupie II (2,49 %) i III (2,46 %). Wśród wielonienasyconych kwasów tłuszczowych wyróżnia się również grupę *n-6*, do której zaliczane są kwasy: linolowy C18:2, arachidonowy C20:4 i eikozadienowy C20:2. Kwasy te w tłuszczu królików występują zdecydowanie w większej ilości w porównaniu z wołowiną, baraniną czy wieprzowiną, a także z tłuszczem brojlerów kurzych żywionych mieszankami przemysłowymi, dlatego też ze względu na ich obecność oraz wzajemne i korzystne proporcje tłuszcz królików ma wysoką wartość biologiczną [33, 34].

Względna zawartość kwasu (LA) była o 4,23 % mniejsza w grupie IV w stosunku do prób przechowywanych zamrażalniczo przez 3 miesiące i rozmrażanych mikrofalowo (tab. 3). Z pewnością wpłynęło to również na większą ogólną zawartość wielonienasyconych kwasów tłuszczowych ( $\Sigma$ PUFA) w mięśniach udowych grupy III. Analizując wpływ metody rozmrażania mięśni królików odnotowano wysoko istotny ( $p \leq 0,01$ ) wzrost kwasu eikozadienowego w grupie doświadczalnej III w porównaniu z grupą IV, po zakończeniu 3-miesięcznego okresu zamrażalniczego przechowywania. Natomiast udział kwasu arachidonowego był najwyższy w tłuszczu śródmięśniowym mięśni rozmrażanych w polu mikrofalowym – grupa I i w powietrzu atmosferycznym – grupa IV. Fapojuwo [8] podaje, że na skład kwasów tłuszczowych nieznacznie wpływa metoda obróbki produktów mięsnych. Wymieniony autor zaobserwował także, że stosunek zawartości KT nienasyconych *n-6/n-3* w mrożonych przetworach mięsnych był mniejszy po rozmrożeniu metodą konwencjonalną niż mikrofalową. Dolińska i Warchalewski [7] nie stwierdzili zmian ogólnej zawartości kwasów tłuszczowych, jak i nienasyconych (*n-3*) w mięsie śledzi, które ogrzewano mikrofalowo, w porównaniu z metodą tradycyjną.

Własne dane doświadczalne charakteryzujące profil kwasów tłuszczowych w tłuszczu śródmięśniowym mięśni udowych królików, w zależności od czasu zamrażalniczego przechowywania i metody rozmrażania, przedstawiono w tab. 4. W miarę wydłużania czasu zamrażalniczego przechowywania (do 3 miesięcy), w grupie mięśni udowych rozmrażanych w powietrzu atmosferycznym nastąpił wysoko istotny ( $p \leq 0,01$ ) wzrost zawartości nasyconych kwasów tłuszczowych (SFA), w porównaniu z pozostałymi grupami doświadczalnymi. Najniższy udział SFA stwierdzono w próbach przechowywanych zamrażalniczo 3 miesiące i rozmrażanych z zastosowaniem pola elektromagnetycznego. Odwrotną tendencję zaobserwowano w przypadku nienasyconych kwasów tłuszczowych (UFA). Wraz z upływem czasu zamrażalniczego przechowywania do 3 miesięcy w grupie doświadczalnej rozmrażanej w powietrzu atmosferycznym zawartość UFA zmalała do 47,19 %, w stosunku do grup I, II i III, co zostało potwierdzone statystycznie ( $p \leq 0,01$ ). Zawartość kwasów tłuszczowych jedno-

nienasyconych cechuje się identyczną zależnością jak w przypadku UFA, tzn. najniższy udział MUFA stwierdzono w grupie IV (23,69 %), a najwyższy – w II (27,80 %) i I (27,37 %). W przeprowadzonych badaniach oznaczono znaczną zawartość wielonienasyconych kwasów tłuszczowych PUFA w tłuszczu śródmięśniowym mięśni udowych przechowywanych zamrażalniczo 3 miesiące i rozmrażanych mikrofalowo. Wynosiła ona 28,18 % i była większa w porównaniu z grupami I, II i IV odpowiednio o [%]: 3,80, 2,59 i 4,68. Według Kowalskiej i wsp. [20] dodatek witaminy E do paszy korzystnie oddziałuje na zmniejszenie podatności lipidów mięsa na procesy utleniania w trakcie jego zamrażalniczego przechowywania. Natomiast znaczna ilość kwasów PUFA w tkance zwierząt, zarówno zapasowej, jak i mięśniowej, może nasilać proces peroksydacji lipidów w żywym organizmie, a także w przechowywanych produktach mięsnych. Produkty utleniania kwasów PUFA mogą powodować obniżenie walorów smakowo-zapachowych, jak również barwy i tekstury mięsa, a dodatkowo cechy te niekorzystnie narastają wraz z wydłużaniem okresu przechowywania.

Zawartość kwasów pożądaných, hipocholesterolemicznych (DFA) i niepożądanych, hipercholesterolemicznych (OFA), a także stosunek DFA/OFA oraz UFA/SFA utrzymywały się na zbliżonym poziomie w grupach I, II i III, co zostało potwierdzone statystycznie. Udział DFA w próbkach tłuszczu śródmięśniowego mięśni udowych królików przechowywanych zamrażalniczo 3 miesiące, a następnie rozmrożonych w powietrzu atmosferycznym, uległ istotnemu ( $p \leq 0,01$ ) obniżeniu (58,23 %) w stosunku do pozostałych analizowanych grup. Natomiast zawartość kwasów OFA w grupie IV była największa ( $p \leq 0,01$ ) w porównaniu z innymi grupami, a jego wartość kształtowała się na poziomie 41,77 %.

Zaobserwowano wysoko istotną ( $p \leq 0,01$ ) różnicę w proporcji kwasów PUFA *n-6/n-3* próbek mięśni przechowywanych zamrażalniczo 2 tygodnie oraz rozmrażanych w powietrzu atmosferycznym, w porównaniu z próbkami mrożonymi 3 miesiące i rozmrażanymi tą samą metodą. W grupie II odnotowano korzystny stosunek PUFA *n-6/n-3*, a niepożądany – w IV (13,16 %). Dietetycy zalecają ograniczenie spożycia kwasów z rodziny *n-6* w celu poprawy proporcji *n-6* do *n-3*, która nie powinna być większa niż (4 - 5) : 1 [11, 16, 30, 36]. Czas przechowywania i zastosowane metody rozmrażania miały wysoko istotny wpływ na indeks konsumencki (tab. 4). Najbardziej pożądaną wartością charakteryzowały się mięśnie udowe grupy II i III, w których udział sumy kwasów (ALA, EPA i DPA) kształtował się na podobnym poziomie – 2,53 %. Niekorzystny indeks zaobserwowano w grupie mięśni udowych królików rozmrażanych w powietrzu atmosferycznym po 3 miesiącach zamrażalniczego przechowywania.

Tabele 4. Profil kwasów tłuszczowych w tłuszczu śródmięśniowym mięśni udowych królików w zależności od czasu zamrażalniczego przechowywania i metody rozmrażania [%].

Table 4. Profile of fatty acids in intramuscular fat of hind leg muscles of rabbits depending on deep-freeze storage time and thawing method [%].

Wyszczególnienie Specification	Czas zamrażalniczego przechowywania [miesiące] Time of deep-freeze storage [month]			
	0,5		3	
	Metoda rozmrażania/ Thawing method ( $\bar{x} \pm s / SD$ )			
	mikrofalowa in microwave oven (I)	powietrzna atmospheric in air (II)	mikrofalowa in microwave oven (III)	powietrzna atmospheric in air (IV)
	(n = 10)	(n = 10)	(n = 10)	(n = 10)
Nasycone Saturated (SFA)	48,25 <sup>B</sup> ± 1,17	46,61 <sup>B</sup> ± 0,58	45,86 <sup>B</sup> ± 1,65	52,81 <sup>A</sup> ± 2,68
Nienasycone Unsaturated (UFA)	51,75 <sup>A</sup> ± 1,17	53,39 <sup>A</sup> ± 0,58	54,14 <sup>A</sup> ± 1,65	47,19 <sup>B</sup> ± 2,68
Jednonienasycone Monounsaturated (MUFA)	27,37 <sup>A</sup> ± 1,04	27,80 <sup>A</sup> ± 2,24	25,96 ± 1,14	23,69 <sup>B</sup> ± 2,20
Wielonienasycone Polyunsaturated (PUFA)	24,38 <sup>b</sup> ± 0,70	25,59 ± 2,31	28,18 <sup>Aa</sup> ± 2,48	23,50 <sup>B</sup> ± 2,80
DFA (UFA + C18:0).	62,29 <sup>A</sup> ± 1,38	62,17 <sup>A</sup> ± 0,25	63,31 <sup>A</sup> ± 2,47	58,23 <sup>B</sup> ± 2,97
OFA (SFA – C18:0)	37,71 <sup>B</sup> ± 1,28	37,83 <sup>B</sup> ± 0,25	36,69 <sup>B</sup> ± 2,47	41,77 <sup>A</sup> ± 2,97
DFA/OFA	1,65 <sup>a</sup> ± 0,10	1,64 <sup>a</sup> ± 0,01	1,73 <sup>A</sup> ± 0,19	1,39 <sup>Bb</sup> ± 0,18
UFA/SFA	1,07 <sup>Ab</sup> ± 0,05	1,15 <sup>A</sup> ± 0,03	1,18 <sup>Aa</sup> ± 0,08	0,89 <sup>B</sup> ± 0,10
PUFA <i>n-6/n-3</i>	11,70 <sup>a</sup> ± 1,58	9,11 <sup>Bb</sup> ± 2,01	10,14 <sup>a</sup> ± 1,46	13,16 <sup>A</sup> ± 1,87
Indeks konsumencki Consumer index = (C18:3+ C20:5+ C22:6)	1,92 <sup>B</sup> ± 0,27	2,53 <sup>A</sup> ± 0,32	2,53 <sup>A</sup> ± 0,43	1,66 <sup>B</sup> ± 0,28

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

## Wnioski

1. Wykazano, że w miarę wydłużania czasu zamrażalniczego przechowywania (do 3 miesięcy) mięśni udowych królików nastąpiło niekorzystne zwiększenie zawartości kwasu palmitynowego i stearynowego w lipidach mięśni rozmrażanych w powietrzu atmosferycznym.

2. Czas zamrażalniczego przechowywania i metoda rozmrażania miały wysoko istotny ( $p \leq 0,01$ ) wpływ na zmiany udziału kwasu  $\alpha$ -linolenowego. Przechowywanie zamrażalnicze do 3 miesięcy i rozmrożenie w powietrzu atmosferycznym wpłynęło na niepożądane obniżenie poziomu kwasów: oleinowego, linolowego i  $\alpha$ -linolenowego w tłuszczu śródmięśniowym mięśni udowych królików.
3. Tłuszcz śródmięśniowy mięśni udowych królików przechowywanych zamrażalniczo przez 3 miesiące i rozmrażanych w polu mikrofalowym cechował się zdecydowanie korzystniejszym stosunkiem DFA/OFA, UFA/SFA, PUFA  $n-6/n-3$  oraz większą zawartością kwasów DFA i OFA w porównaniu z próbkami rozmrażanymi w powietrzu atmosferycznym.
4. Zastosowane parametry rozmrażania mikrofalowego pozwoliły na zachowanie zadowalającego profilu kwasów tłuszczowych tłuszczu śródmięśniowego w mięśniach udowych królików.

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

### Literatura

- [1] Bielański P.: Wpływ rasy i systemów utrzymania na cechy produkcyjne brojlerów króliczych. Roczn. Nauk. Zoot. IZ, Kraków, 2004, **18**, 5-86.
- [2] Chwastowska I., Kondratowicz J.: Właściwości technologiczne mięsa wieprzowego w zależności od czasu zamrażalniczego przechowywania i metody rozmrażania. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2005, **3 (44)** Supl., 11-20.
- [3] Chwastowska-Siwiecka I., Kondratowicz J.: Effect of deep-freeze storage time and thawing method on intramuscular lipid oxidation and sensory quality of pork loin. Pol. J. Vet. Sci., 2008, **11 (2)**, 113-117.
- [4] Chwastowska I., Baryczka I., Skiepmo N.: Wpływ metody pakowania i czasu chłodniczego przechowywania na właściwości fizykochemiczne i sensoryczne mięsa króliczego. Chłodnictwo, 2012, **7-8**, 56-60.
- [5] Cygan-Szczegielniak D., Stasiak K., Janicki B.: Wpływ diety na zawartość CLA, cholesterolu oraz kwasów tłuszczowych w mięsie królików. Med. Weter., 2010, **66 (4)**, 272-275.
- [6] Cygan-Szczegielniak D., Stasiak K., Janicki B.: Wpływ diety na wybrane parametry oceny poubojowej tuszek oraz jakość mięsa królików. Med. Weter., 2010, **66 (12)**, 839-842.
- [7] Dolińska R., Warchalewski J.R.: Przyszłościowe technologie żywności z udziałem mikrofal i ich wpływ na składniki żywności. Przem. Spoż., 2003, **11**, 2-7, 27.
- [8] Fapojuwo O.O.: The composition and stability of lipids in meat products and a spectrofluorimetric assay for malonaldehyde in biological tissues. Dissertation Abstracts International, 1982, B-42, **11**, 43.
- [9] Forrester-Anderson I.T., McNitt J., Way R., Way M.: Fatty acid content of pasture-reared fryer rabbit meat. J. Food. Compos. Anal., 2006, **19**, 715-719.
- [10] Gašperlin L., Polak T., Rajar A., Skvarèa M., Lender B.: Effect of genotype, age at slaughter and sex on chemical composition and sensory profile of rabbit meat. World Rabbit Sci., 2006, **14**, 157-166.

- [11] Gigaud V., Combes S.: The effect of decreasing the omega 6/omega 3 ratio in feed on fatty acid content of rabbit meat to meet human dietary recommendations. 9<sup>th</sup> World Rabbit Congress on Meat Quality and Safety, Verona, Italy 2008, June 10 – 13, pp. 1353-1358.
- [12] Hęś M., Korczak J.: Wpływ różnych czynników na szybkość utleniania się lipidów mięsa. *Nauka Przyr. Technol.*, 2007, 1, 1, #3.
- [13] Hulot F., Ouhayoun J.: Muscular pH and related traits in rabbits. A review. *World Rabbit Sci.*, 1999, 7, 15-36.
- [14] Kondratowicz J., Matusevičius P.: Use of low temperatures for food preservation. *Veterinarija ir Zootechnika*, 2002, 17, 88-92.
- [15] Kondratowicz J., Chwastowska I.: Technological quality of pork deep-frozen directly post-slaughter or after 24 h chilling, measured during 12-months of storage. *Anim. Sci. Pap. Rep.*, 2006, 24 (3), 131-140.
- [16] Kowalska D., Bielański P.: Wpływ dodatku oleju rzepakowego i przeciwutleniacza w dawkach pokarmowych na jakość mięsa króliczego. *Rocz. Nauk. PTZ*, 2007, 3 (4), 317-323.
- [17] Kowalska D., Bielański P.: Efektywność odłożenia wielonienasyconych kwasów tłuszczowych pochodzących z paszy w tkance mięśni króliczych. *Rocz. Nauk. PTZ*, 2008, 4 (3), 175-181.
- [18] Kowalska D.: Effect of dietary supplementation with rapeseed and fish oil mixture and antioxidant on rabbit meat quality. 9th World Rabbit Congress on Meat Quality and Safety, Verona, Italy 2008, June 10-13, pp. 1371-1376.
- [19] Kowalska D.: Wzbogacanie mięsa królików w nienasycone kwasy tłuszczowe i witaminy oraz przeciwdziałanie procesom utleniania. *Rocz. Nauk. Zoot.*, 2011, 38 (2), 227-243.
- [20] Kowalska D., Bielański P., Chełmińska A.: Wpływ dodatku do paszy oleju lnianego i rybnego na profil kwasów tłuszczowych i utlenianie tłuszczu śródmięśniowego królików. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, 2 (75), 148-159.
- [21] Lazzaroni L., Biagini D., Lussiana C.: Fatty acids composition of meat and perirental fat in rabbits from two different rearing systems. *Meat Sci.*, 2009, 83, 135-139.
- [22] Lechowski J., Walkiewicz A., Jankowski Ł.: Wpływ rozmrażania mięsa mikrofalami na zawartość kwasu askorbinowego w wyrębach podstawowych świń rasy wbp. *Mat. IX Konferencji Naukowo-Promocyjnej "Lepsza Żywność" UWM, Olsztyn 2002, czerwiec 27, Biul. Nauk*, 2002, 16, 63-64.
- [23] Ludwig M., van Treel N., Fehlhaber K.: Schlachtausbeute und Fleischqualität von Mastkaninchen in Abhängigkeit vom Alter. *Fleischwirtschaft*, 2003, 6, 101-103.
- [24] Maj D., Bieniek J., Łapa P.: Jakość mięsa królików rasy białej nowozelandzkiej i kalifornijskiej oraz ich mieszańców. *Med. Weter.*, 2008, 64 (3), 351-353.
- [25] Migdał W., Pustkowiak H., Živković B., Cilev G., Młynek J., Walczycka M., Wojtysiak D., Migdał Ł., Pieszka M., Orzechowska B., Połtowicz K., Michniak Ł.: The intramuscular fat of animals of slaughter. *Modern trends in meat production. Editors Polish Society of Food Technologists. Wyd. Nauk. PTTŻ, Kraków 2010, październik 7-8, ss. 9-19.*
- [26] Mitrus M.: Zastosowanie mikrofal w technologii żywności. *Post. Nauk. Rol.*, 2000, 4, 99-113.
- [27] PN-ISO 1444:2000. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczenie zawartości tłuszczu wolnego.
- [28] Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 16 lutego 2005 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie wymagań weterynaryjnych przy produkcji i dla produktów z mięsa króliczego i z mięsa zwierząt łownych utrzymywanych na fermach, umieszczanych na rynku. *Dz. U.* 2005 r. Nr 33, poz. 297 i 298.
- [29] Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 6 listopada 2001 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie szczegółowych warunków weterynaryjnych wymaganych przy uboju zwierząt rzeźnych oraz rozbiórce i składowaniu mięsa. *Dz. U.* 2001 r. Nr 133, poz. 1505.
- [30] Sárraga C., Guàrdia M.D., Diaz I., Guerrero L., García Requeiro J.A., Arnau J.: Nutritional and sensory quality of porcine raw meat, cooked ham and dry-cured shoulder as affected by dietary enrichment with docosahexaenoic acid (DHA) and  $\alpha$ -tocopheryl acetate. *Meat Sci.*, 2007, 76, 377-384.
- [31] Stiebing A., Hegerding L.: Viele sensorische Veränderungen. *Fleischwirtschaft*, 2004, 84 (6), 34-38.
- [32] StatSoft, Inc. 2011. STATISTICA (data analysis software system), version 10.0 [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com).

- [33] Szkucik K., Pisarski R., Paszkiewicz W., Pijarska I.: Jakość tuszek, skład chemiczny i cechy sensoryczne mięsa kurcząt brojlerów żywionych mieszanką o zmniejszonej wartości energetycznej. *Med. Weter.*, 2009, **65** (3), 184-187.
- [34] Szkucik K., Pyz-Łukasik R.: Jakość zdrowotna mięsa królików. *Med. Weter.*, 2009, **65** (10), 665-669.
- [35] Szkucik K., Ziomek M.: Zmienność profilu kwasów tłuszczowych w zależności od rodzaju tłuszczu i rasy królików. *Med. Weter.*, 2010, **66** (7), 495-498.
- [36] Wood J.D., Richardson R.I., Nute G.R., Fisher A.V., Campo M.M., Kasapidou E., Sheard P.R., Enser M.: Effects of fatty acids on meat quality: a review. *Meat Sci.*, 2004, **66** (1), 21-32.
- [37] Zsédely E., Tóth T., Eiben Cs., Virág Gy., Fábrián J., Schmidt J.: Effect of dietary vegetable oil (sunflower, linseed) and vitamin E supplementation on the fatty acid composition, oxidative stability and quality of rabbit meat. 9th World Rabbit Congress on Meat Quality and Safety, Verona, Italy 2008, June 10-13, pp.1473-1477.

#### EFFECT OF DEEP-FREEZE STORAGE TIME AND THAWING METHOD ON PROFILE OF FATTY ACIDS IN INTRAMUSCULAR FAT OF RABBIT MEAT

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

The objective of the research study performed was to determine the effect of deep-freeze storage time and thawing method on the composition and profile of fatty acids in intramuscular fat of rabbit meat. The research material comprised 50 thigh muscles of the Californian rabbits slaughtered at the age of 110 days. The vacuum packed samples were stored under deep-freeze ( $-28 \pm 1$  °C) conditions for 2 weeks and for 3 months, and, next, they were thawed in a microwave oven or in air. In the muscles investigated, the profile of fatty acids was determined using a gas chromatography method.

It was found that the prolongation of deep-freezing storage time (up to 3 months) caused the percent content of palmitic and stearic acids to increase in the intramuscular fat of thigh muscles thawed in air and the content of those compounds to decrease in the fat of muscles thawed in the microwave oven. The meat samples after 3-month deep-frozen storage and thawed in air were characterized by the lowest percent content of oleic, linoleic, and  $\alpha$ -linolenic acids. At the same time, it was found that the content of saturated fatty acids in that group increased and the content of mono- and polyenic acids decreased. This contributed to the negative modification in the fatty acid profile expressed by health quality indices. The most advantageous ratio of *n-6/n-3* PUFA acids in the rabbit meat analyzed was found in the meat after 2 week deep-frozen storage and thawed in air.

**Key words:** rabbit meat, deep-freezing storage, thawing method, fatty acid profile, health quality indices



STANISŁAW WAJDA, JACEK KONDRATOWICZ, EWA BURCZYK,  
RAFAŁ WINARSKI

## WYDAJNOŚĆ RZEŻNA I JAKOŚĆ MIĘSA TUSZ BUHAJKÓW ZAKWALIFIKOWANYCH W SYSTEMIE EUROP DO RÓŻNYCH KLAS UFORMOWANIA

### Streszczenie

Badania przeprowadzono na 167 tuszach buhajków rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej (phf), które od masy 70 ÷ 100 kg opasano intensywnie z dużym udziałem pasz treściwych oraz z dodatkiem siana lub słomy. Ubój przeprowadzono po uzyskaniu przez buhajki masy około 570 kg. Tusze buhajków rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej zostały zakwalifikowane do klasy O (52,44 %), O+ – 17,48 % i O- – 4,90 % oraz do klasy R (11,89 %) i R- (13,29 %). Buhajki, których tusze po uboju miały najlepsze uformowanie (klasa R) charakteryzowały się najmniejszą średnią masą w czasie zakupu, największymi przyrostami dobowymi podczas opasu oraz najwyższym wskaźnikiem wydajności rzeźnej. Mniej korzystnymi wartościami tych cech charakteryzowały się buhajki, których tusze zakwalifikowano do klasy O-. Tusze buhajków, które osiągnęły wyższą klasę uformowania, charakteryzowały się większym udziałem elementów kulinarnych o wyższej wartości handlowej i mniejszym udziałem kości w tuszy, co powinno być uwzględniane przy ustalaniu cen skupu bydła, jak i w obrocie handlowym tuszami. Mięso uzyskane z buhajków rasy phf, niezależnie od klasy uformowania, charakteryzowało się dobrą jakością. Zawierało powyżej 1 % tłuszczu śródmięśniowego, miało prawidłową wartość pH nieprzekraczającą 5,8 oraz zbliżone cechy sensoryczne.

**Słowa kluczowe:** buhajki, wartość rzeźna, jakość mięsa, klasa uformowania EUROP

### Wprowadzenie

Klasyfikacja poubojowa bydła w systemie EUROP obejmuje ocenę uformowania i otluszczenia tusz, które określa się po obróbce poubojowej. Wymagania dla poszczególnych klas uformowania i otluszczenia podane są w formie opisowej i na wzorcach

---

*Prof. dr hab. S. Wajda, prof. dr hab. J. Kondratowicz, dr inż. E. Burczyk, dr inż. Rafał Winarski, Katedra Towaroznawstwa i Przetwórstwa Surowców Zwierzęcych, Wydz. Bioinżynierii Zwierząt, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, ul. M. Oczapowskiego 5, 10-719 Olsztyn. Kontakt: jacek.kondratowicz@uwm.edu.pl*



rysunkowych [1, 17]. Ocenę uformowania i otłuszczenia tusz wołowych przeprowadza się niezależnie. Zakłady mięsne prowadzące rozliczenie producentów żywca według klasyfikacji poubojowej oddzielnie premiuje za klasę uformowania i otłuszczenia tusz przy ustalaniu cen bydła. Ważniejsze są jednak klasy uformowania tusz, które oceniane są na podstawie wykształcenia mięśni łopatki, grzbietu i udźca [5, 20]. Elementy uzyskane z tych partii tuszy charakteryzują się największą przydatnością jako mięso kulinarne i mają najwyższą wartość handlową [24, 25]. Dlatego, aby prawidłowo ustalić cennik skupu bydła niezbędna jest znajomość wskaźników uzysku elementów kulinarnych w tuszach różnych klas uformowania oraz związku między jakością mięsa a klasą tusz.

Celem przeprowadzonych badań było określenie wydajności rzeźnej i jakości tusz buhajków rasy phf zaliczonych do różnych klas uformowania w systemie EUROP.

### **Material i metody badań**

Badania przeprowadzono na 167 tuszach buhajków rasy polskiej holsztyńskofryzyskiej o masie  $70 \div 110$  kg, zakupionych od indywidualnych producentów. Identyfikację zwierząt przeznaczonych do opasu przeprowadzano na podstawie paszportu. Opas buhajków prowadzono systemem intensywnym, z dużym udziałem pasz treściwych oraz dodatkiem siana lub słomy. Zwierzęta do masy około 130 kg żywione były mieszanką firmową „CIELAK” ( $1 \div 2$  kg) oraz sianem łąkowym do woli. W drugim okresie, tj. do masy  $230 \div 250$  kg otrzymywały od 3 do 4,3 kg mieszanki treściwej i 1,2 kg siana. W kolejnym okresie opasu, tj. do masy  $400 \div 420$  kg buhajki otrzymywały od 4,9 do 6,1 kg paszy treściwej, a w końcowym okresie opasu od 6,7 do 8,1 kg mieszanki treściwej oraz od 1,4 do 1,8 kg słomy. Zastosowane w czasie opasu mieszanki treściwe składały się z kukurydzy, jęczmienia, żyta, poekstrakcyjnej śruty rzepakowej, otrąb pszennych, wysłodków buraczanych suszonych, NaCl i premiksu.

Buhajki po uzyskaniu masy około 570 kg (wiek 18 - 19 miesięcy) ważono, a następnie przekazywano do uboju. Zwierzęta po przywiezieniu do zakładów mięsnych były przetrzymywane w magazynie żywca w pojedynczych kojcach przez 20 h, a następnie po ważeniu poddawano je ubojowi i obróbce poubojowej według zasad obowiązujących w zakładach mięsnych. Po obróbce poubojowej tusze klasyfikowano według systemu EUROP [1, 17] oraz ważono.

Po 48-godzinnym chłodzeniu tusz (temp. ok.  $2^{\circ}\text{C}$ ), prawe półtusze ważono i poddawano rozbiorowi [12] według modyfikacji obowiązującej przy eksporcie elementów kulinarnych do Anglii. Zastosowana metoda podziału tusz nie przewidywała usuwania zewnętrznej warstwy tłuszczu z elementów kulinarnych.

Z rozbioru półtuszy, oprócz elementów kulinarnych, uzyskano także mięso I (chude), II (tłuste), III (ścięgniste) i IV klasy (krwawe) oraz tłuszcz, ścięgna i kości. Uży-

skane elementy z podziału prawych półtuszy ważono i obliczano ich procentowy udział w tuszy.

W trakcie podziału tusz losowo wybrano 145 rostbefów, z których pobierano wycinki mięśnia najdłuższego grzbietu (*m. longissimus dorsi*) między 11. a 13. kręgiem piersiowym do oceny jakości mięsa. Próbkę mięsa poddawano analizie jakościowej po około 72 h, licząc od momentu uboju zwierząt. Ocena podstawowego składu chemicznego mięsa obejmowała oznaczenie zawartości: suchej masy wg PN-ISO 1442:2000 [14], tłuszczu – metodą Soxhleta, wg PN-ISO 1444:2000 [15], białka ogólnego – metodą Kjeldahla wg PN-75/A-04018/AZ3:2002 [13] oraz związków mineralnych w postaci popiołu – wg PN-ISO 936:2000 [16]. Wodochłonność mięsa określano metodą Graua i Hamma [28]. Pomiar stopnia zakwaszenia tkanki mięśniowej wykonywano w homogenacie wodnym mięsa (stosunek wody redestylowanej i mięsa 1 : 1), przy użyciu elektrody kombinowanej Polilyte Lab firmy Hamilton i pH-metru pH340i firmy WTW. Charakterystykę barwy mięsa wykonywano na podstawie wartości parametrów  $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$  w systemie CIE Lab [4]. Parametry  $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$  określano metodą odbicia światła za pomocą aparatu MiniScan XE Plus firmy HunterLab.

Ocenę właściwości sensorycznych (zapach, smakowość, soczystość, kruchość) mięsa gotowanego przeprowadzano przy zastosowaniu 5-punktowej skali ocen (1 pkt – ocena najniższa, 5 pkt – ocena najwyższa) [2]. Określano również wartość siły cięcia (po obróbce cieplnej) za pomocą wieloczynnościowej maszyny wytrzymałościowej Intron (model 5542) z przystawką Warner-Bratzler (500 N, prędkość 100 mm/min).

Wyniki badań opracowano statystycznie w programie komputerowym Statistica (data analysis software system), wersja 9.0 [19] z wykorzystaniem testu Duncana oraz jednoczynnikowej analizy wariancji.

## Wyniki i dyskusja

W badaniach analizowano efekt opasu, wartość rzeźną i jakość mięsa buhajków rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej, których tusze zaliczono do różnych klas uformowania w systemie klasyfikacji EUROP. W klasyfikacji tej, zgodnie z obowiązującymi przepisami, uwzględniono dla każdej klasy uformowania dwie podklasy (+, -). Pomimo intensywnego opasu buhajków ich tusze (tab. 1) zostały zakwalifikowane najczęściej do klasy uformowania O (52,44 % tusz), następnie do klasy O+ (17,48 %), do klasy R- (13,29 %), do klasy R (11,89 %) i do klasy O- (4,90 %).

Pod względem uformowania najwięcej tusz buhajków zakwalifikowano do klasy O2 (32,86 %) (tab. 1). Wynika z tego, że pomimo intensywnego żywienia tusze buhajków rasy phf miały stosunkowo średnio ukształtowane partie mięśni łopatki, grzbietu i udźca. Uzyskane wyniki są odzwierciedleniem struktury ubojów w Polsce wg klasyfikacji EUROP [22]. Słabe uformowanie tusz bydła rzeźnego rasy holsztyńsko-fryzyjskiej wykazali również Nogalski i wsp. [10] oraz Schöne i wsp. [18].

Tabela 1. Udział tusz buhajków w klasach uformowania w systemie EUROP [%].

Table 1. Proportion rate of carcasses of young bulls in conformation classes according to EUROP grading system [%].

Klasa uformowania Conformation class	Klasa otluszczenia Fitness class			Razem Total
	1	2	3	
R	2,10	4,20	5,59	11,89
R -	1,40	9,79	2,10	13,29
O +	0,70	8,39	8,39	17,48
O	6,99	32,86	12,59	52,44
O -	2,10	2,80	-	4,90
Razem Total	13,29	58,04	28,67	100,00

Największą masę przedubojową, jak i masę tusz miały buhajki, których tusze zakwalifikowano do klasy R (592,88 kg), a najmniejszą masę miały buhajki, których tusze zaliczono do klasy O i O- (około 560 kg) – tab. 2.

Średnie wielkości przyrostów dobowych buhajków, których tusze zaliczono do klas uformowania od R do O- wynosiły powyżej 1000 g, co można uznać za zadowalające [8, 22]. Stosunkowo najniższe przyrosty dobowe (1030 g) miały buhajki, których tusze zaliczono do klasy O-, a najwyższe w klasie O+ (1170 g). Różnice między średnimi grup były statystycznie nieistotne ( $p \leq 0,01$ ). Wynika z tego, że wielkość przyrostów dobowych buhajków rasy phf nie miała powiązania z uzyskaną po uboju klasą uformowania tusz.

Po zakończonym opasie buhajki przewożono do zakładów mięsnych, gdzie określano ich masę przedubojową. Największą masę przed ubojem i masę tusz miały buhajki, których tusze zaliczono do klasy R, a istotnie ( $p \leq 0,01$ ) mniejszą masę buhajki, których tusze zaklasyfikowano do klasy O-.

Średnie wartości wskaźnika wydajności rzeźnej buhajków uzależnione były od klasy umięśnienia tusz. Najwyższym wskaźnikiem wydajności rzeźnej charakteryzowały się buhajki, których tusze zakwalifikowano do klasy uformowania R (57,27 %), natomiast najniższy wskaźnik wydajności rzeźnej stwierdzono w przypadku buhajków o tuszach zaliczonych do klasy O- (54,13 %). Różnice między średnimi grup w poszczególnych klasach uformowania były istotne zarówno na poziomie  $p \leq 0,05$ , jak i  $p \leq 0,01$ . Wielkości wskaźnika wydajności rzeźnej w badaniach własnych były wyższe lub zbliżone w porównaniu ze wskaźnikiem buhajków rasy holsztyńsko-fryzyjskiej w innych badaniach [8, 10, 23].

Tabela 2. Wyniki opasu i wskaźnik wydajności rzeźnej buhajków w zależności od klasy uformowania tuszy.  
Table 2. Fattening results and carcass dressing yield percentage of young bulls depending on conformation class.

Wyszczególnienie Specification	Miara stat. Statistic measure	Klasa uformowania Conformation class				
		R n=20	R- n=22	O+ n=29	O n=88	O- n=8
Masa na początku opasu Body weight at the beginning of fattening [kg]	$\bar{x}$ s / SD	84,94 <sup>B</sup> 16,79	85,68 <sup>B</sup> 20,43	93,68 <sup>ABb</sup> 18,87	87,33 <sup>B</sup> 17,40	107,43 <sup>Aa</sup> 17,49
Masa na koniec opasu Body weight at the end of fattening [kg]	$\bar{x}$ s / SD	592,88 <sup>a</sup> 41,08	570,79 39,74	574,52 32,76	557,41 <sup>b</sup> 37,71	561,29 <sup>b</sup> 53,71
Przyrosty dobowe Daily gains [g]	$\bar{x}$ s / SD	1120 240	1060 180	1170 170	1140 190	1030 140
Masa przedubojem Pre-slaughter body weight [kg]	$\bar{x}$ s / SD	573,24 <sup>Aa</sup> 40,96	547,11 <sup>b</sup> 36,66	548,32 <sup>b</sup> 34,16	534,88 <sup>B</sup> 35,29	526,57 <sup>B</sup> 38,49
Masa tuszyciepłej Hot carcass weight [kg]	$\bar{x}$ s / SD	327,66 <sup>A</sup> 24,11	306,35 <sup>B</sup> 18,63	307,22 <sup>B</sup> 19,66	293,17 <sup>BC</sup> 17,55	285,80 <sup>C</sup> 34,09
Wskaźnik wydajności rzeźnej Carcass dressing yield percentage [%]	$\bar{x}$ s / SD	57,27 <sup>Aa</sup> 3,68	56,03 <sup>ab</sup> 1,62	56,09 <sup>ab</sup> 2,28	54,88 <sup>bc</sup> 2,37	54,13 <sup>Bc</sup> 2,88

Objaśnienia: / Explanatory notes:

$\bar{x}$  – wartość średnia / mean value, s – odchylenie standardowe / SD – standard deviation;  
wartości średnie oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się statystycznie istotnie na poziomie: a, b, c –  $p \leq 0,05$ ; A, B, C –  $p \leq 0,01$  / mean values denoted by different letters in rows are statistically significantly different: a, b, c –  $p \leq 0.05$ ; A, B, C –  $p \leq 0.01$ .

Mięso wołowe powinno być przeznaczane głównie na cele kulinarne, dlatego w cenniku skupu bydła należy preferować tusze zakwalifikowane do wyższych klas uformowania, które mają większy udział elementów kulinarnych o wyższej wartości handlowej [24, 25]. W badaniach wykonano podział tusz według zasad obowiązujących przy eksporcie mięsa w postaci elementów kulinarnych na rynek angielski. Taki podział tuszy pozwala uzyskać większą liczbę elementów niż w podziale stosowanym w Polsce (tab. 3).

Rozbiór kontrolny prowadzono na prawych półtuszach, z których największą średnią masę miały półtusze w klasie R (160,64 kg), mniejszą w klasie R- i O+ (150,07 i 150,28 kg), a najmniejszą w klasie O i O- (143,70 i 140,32 kg). Różnice między średnimi grup były statystycznie istotne ( $p \leq 0,01$ ).

Tabela 3. Masa półtuszy i udział elementów kulinarnych w półtuszach buhajków.

Table 3. Half-carcaass weight and percentage of retail cuts in the carcasses of young bulls.

Wyszczególnienie Specification	Miara stat. Statistic measure	Klasa uformowania Conformation class				
		R	R-	O+	O	O-
Masa półtuszy Half-carcaass weight [kg]	$\bar{x}$ s / SD	160,64 <sup>A</sup> 11,42	150,07 <sup>B</sup> 9,17	150,28 <sup>B</sup> 9,45	143,70 <sup>BC</sup> 8,79	140,32 <sup>C</sup> 16,52
Karkówka Best end of neck [%]	$\bar{x}$ s / SD	4,93 <sup>a</sup> 0,98	4,74 1,06	4,61 0,94	4,46 0,77	4,25 <sup>b</sup> 0,77
Rozbratel Fore ribs [%]	$\bar{x}$ s / SD	4,35 <sup>a</sup> 0,55	4,45 <sup>A</sup> 0,84	4,13 0,85	4,21 0,57	3,76 <sup>Bb</sup> 0,46
Antrykot Best ribs [%]	$\bar{x}$ s / SD	3,16 <sup>a</sup> 0,32	3,13 0,27	3,05 0,27	3,03 0,30	2,93 <sup>b</sup> 0,32
Szponder Thin flank [%]	$\bar{x}$ s / SD	6,74 0,91	6,82 0,63	6,84 0,96	6,80 0,96	7,07 1,83
Mostek Brisket [%]	$\bar{x}$ s / SD	4,20 0,44	4,21 0,53	4,25 0,48	4,51 0,69	4,31 0,94
M. nadgrzebienny <i>Musculus supraspinatus</i> [%]	$\bar{x}$ s / SD	0,87 <sup>B</sup> 0,12	0,86 <sup>B</sup> 0,13	0,88 <sup>B</sup> 0,17	0,93 <sup>b</sup> 0,13	1,05 <sup>Aa</sup> 0,16
M. podgrzebienny <i>Musculus infraspinatus</i> [%]	$\bar{x}$ s / SD	1,30 <sup>b</sup> 0,23	1,19 <sup>B</sup> 0,14	1,26 <sup>B</sup> 0,17	1,25 <sup>B</sup> 0,18	1,44 <sup>Aa</sup> 0,16
M. trójgłowy ramienia <i>Musculus triceps brachii</i> [%]	$\bar{x}$ s / SD	3,33 <sup>b</sup> 0,47	3,29 <sup>b</sup> 0,42	3,25 <sup>b</sup> 0,57	3,22 <sup>b</sup> 0,35	3,64 <sup>a</sup> 0,42
Zrazowa górna Topside [%]	$\bar{x}$ s / SD	5,82 0,39	5,81 0,40	5,57 0,30	5,58 0,31	5,72 0,27
Zrazowa dolna z ligawą Silverside + bavette [%]	$\bar{x}$ s / SD	5,62 <sup>A</sup> 0,39	5,54 <sup>ABa</sup> 0,42	5,25 <sup>BCb</sup> 0,33	5,12 <sup>C</sup> 0,32	5,17 <sup>C</sup> 0,22
Skrzydło Thick flank [%]	$\bar{x}$ s / SD	3,54 0,22	3,47 <sup>B</sup> 0,20	3,47 <sup>B</sup> 0,18	3,48 <sup>B</sup> 0,20	3,67 <sup>A</sup> 0,17
Krzyżowa Rump [%]	$\bar{x}$ s / SD	3,57 0,32	3,57 0,17	3,59 0,21	3,52 0,34	3,72 0,32
Rostbef Loin [%]	$\bar{x}$ s / SD	3,43 <sup>ABa</sup> 0,25	3,47 <sup>A</sup> 0,36	3,27 0,30	3,15 <sup>BCb</sup> 0,33	3,11 <sup>C</sup> 0,42
Polędwica Sirloin [%]	$\bar{x}$ s / SD	1,43 0,17	1,38 0,11	1,37 0,14	1,36 0,13	1,41 0,10
Łata Flank [%]	$\bar{x}$ s / SD	3,60 0,60	3,85 0,51	3,85 0,90	3,97 0,48	3,87 0,54

c.d. tab. 3.

Mięso kl. I Meat of Class I [%]	$\bar{x}$ s / SD	1,20 <sup>Aa</sup> 0,36	1,15 <sup>ab</sup> 0,28	1,13 <sup>ab</sup> 0,44	0,97 <sup>bc</sup> 0,23	0,86 <sup>Bb</sup> 0,09
Mięso kl. II Meat of Class II [%]	$\bar{x}$ s / SD	12,42 <sup>A</sup> 2,07	12,53 <sup>A</sup> 1,78	12,13 <sup>A</sup> 2,01	11,61 <sup>a</sup> 1,53	10,18 <sup>Bb</sup> 1,49
Mięso kl. III Meat of Class III [%]	$\bar{x}$ s / SD	1,06 0,91	0,91 0,51	1,03 0,41	1,00 0,42	0,85 0,49
Mięso kl. IV Meat of Class IV [%]	$\bar{x}$ s / SD	0,71 0,27	0,67 <sup>b</sup> 0,24	0,66 <sup>b</sup> 0,38	0,67 <sup>b</sup> 0,37	0,95 <sup>a</sup> 0,47
Kości Bones [%]	$\bar{x}$ s / SD	17,09 <sup>Dd</sup> 1,06	17,97 <sup>CDc</sup> 1,11	18,31 <sup>BCc</sup> 1,34	19,27 <sup>ABb</sup> 1,01	20,35 <sup>Aa</sup> 2,65
Tłuszcz Fat [%]	$\bar{x}$ s / SD	4,33 2,02	3,66 1,30	4,69 1,67	4,58 1,34	3,90 1,61
Ścięgna Tendons [%]	$\bar{x}$ s / SD	1,28 0,12	1,27 0,27	1,27 0,23	1,27 0,20	1,41 0,37

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

Na podstawie analizy udziału elementów kulinarnych w półtuszach (tab. 3) stwierdzono większy ( $p \leq 0,05$ ) udział rozbratla i antrykotu w półtuszach klasy R i R- w porównaniu z klasą O-. Natomiast udział mięśni wyodrębnionych z łopatki był największy w półtuszach zaliczonych do najniższej z badanych klas uformowania O-. Najwyższą wartość handlową ma polędwica, której udział w tuszy był na zbliżonym poziomie we wszystkich analizowanych klasach uformowania. Równie cennym elementem kulinarnym jest rostbef, którego największy udział stwierdzono w półtuszach klasy R- i R, a najmniejszy – w klasie O- i O. Dużą przydatność kulinarną mają mięśnie uzyskane z udźca. Udział zrazowej górnej i krzyżowej kształtował się na zbliżonym poziomie w półtuszach badanych klas uformowania. Natomiast udział zrazowej dolnej z ligawą był największy w półtuszach zaliczonych do klasy R i R- (5,62 i 5,54 %). Do elementów o niższej wartości handlowej uzyskanych z podziału tuszy można zaliczyć szponder, mostek oraz łatę. Udział tych elementów był na zbliżonym poziomie w półtuszach wszystkich analizowanych klas uformowania. Wyższy udział elementów kulinarnych w wyższych klasach uformowania tusz potwierdzono w innych badaniach [3, 24, 25]. W trakcie rozbioru tusz wołowych oprócz elementów kulinarnych uzyskano także mięso drobne I, II, III i IV klasy, kości, tłuszcz i ścięgna (tab. 3). Największy udział mięsa I i II klasy stwierdzono w półtuszach klasy R, także wysoki i zbliżony w półtuszach klasy R- i O+, a najmniejszy – w półtuszach klasy O- i O. Różnice między średnimi z grup były istotne na poziomie  $p \leq 0,05$  i  $p \leq 0,01$ . Udział tłuszczu i ścięgien w półtuszach buhajków był zbliżony we wszystkich analizowanych klasach uformowania. Natomiast najwyższy udział kości stwierdzono w półtuszach

zaliczonych do klasy O- (20,35 %), niższy w klasie O i O+ (19,27 i 18,31 %), a najniższy w klasie R i R- (17,09 i 17,97 %).

Tabela 4. Podstawowy skład chemiczny, właściwości fizykochemiczne i sensoryczne mięsa buhajków oraz wartość siły cięcia.

Table 4. Basic chemical composition, physicochemical and sensory properties of young bull meat, and shear force values.

Wyszczególnienie Specification	Miara stat. Statistic measure	Klasa uformowania Conformation class				
		R	R-	O+	O	O-
Sucha masa Dry matter [%]	$\bar{x}$ s / SD	25,03 0,61	24,74 0,75	25,35 <sup>a</sup> 0,87	25,27 <sup>a</sup> 0,70	24,59 <sup>b</sup> 0,76
Białko ogólne Total protein [%]	$\bar{x}$ s / SD	23,67 0,59	23,23 0,53	23,21 0,65	23,40 0,55	23,39 0,72
Tłuszcz Fat [%]	$\bar{x}$ s / SD	1,35 0,72	1,40 0,76	1,79 0,79	1,76 0,74	1,47 0,55
Popiół Ash [%]	$\bar{x}$ s / SD	1,07 0,03	1,08 0,04	1,09 0,03	1,09 0,03	1,12 0,04
pH <sub>u</sub>	$\bar{x}$ s / SD	5,57 0,11	5,62 0,13	5,57 0,07	5,61 0,14	5,56 0,08
Wodochłonność Water-holding capacity [cm <sup>2</sup> ]	$\bar{x}$ s / SD	5,77 <sup>b</sup> 0,81	5,91 <sup>b</sup> 1,17	5,80 <sup>b</sup> 1,08	5,73 <sup>b</sup> 1,03	6,82 <sup>a</sup> 0,53
L*	$\bar{x}$ s / SD	34,91 2,73	36,50 2,21	36,11 2,26	36,00 2,33	36,07 1,79
a*	$\bar{x}$ s / SD	17,72 1,95	17,43 1,41	17,39 1,00	17,68 1,43	17,87 1,29
b*	$\bar{x}$ s / SD	14,12 1,82	13,91 1,07	13,65 1,26	13,87 1,34	14,03 1,22
Zapach – natężenie Aroma – intensity [points]	$\bar{x}$ s / SD	3,94 <sup>a</sup> 0,51	4,06 <sup>a</sup> 0,73	3,63 0,61	3,63 0,62	3,38 <sup>b</sup> 0,25
Zapach – pożądalność Aroma – desirability [points]	$\bar{x}$ s / SD	4,72 0,48	4,88 0,22	4,92 0,19	4,86 0,27	5,00 0,00
Smakowitość – natężenie Palatability – intensity [points]	$\bar{x}$ s / SD	4,28 0,48	4,19 0,44	4,10 0,33	4,08 0,41	4,13 0,63
Smakowitość – pożądalność Palatability – desirability [points]	$\bar{x}$ s / SD	4,72 0,36	4,84 0,30	4,85 0,28	4,83 0,31	4,88 0,25
Soczystość Juiciness [points]	$\bar{x}$ s / SD	3,91 0,52	4,16 0,51	4,08 0,46	4,09 0,57	3,88 0,48
Kruchość Tenderness [points]	$\bar{x}$ s / SD	3,81 0,51	3,69 0,83	3,81 0,67	3,73 0,73	3,63 0,25
Siła cięcia Shear force [N]	$\bar{x}$ s / SD	47,09 13,81	51,69 12,26	46,68 11,57	49,80 12,46	40,54 8,90



Objaśnienia: / Explanatory notes:

a, b – wartości średnie oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się statystycznie istotnie na poziomie  $p \leq 0,05$  / mean values denoted by different letters in rows are statistically significantly different at  $p \leq 0,05$ .

Pozostałe objaśnienia jak pod tab. 2. / Other explanatory notes as in Tab. 2.

Mięso wołowe jest przede wszystkim mięsem kulinarnym, dlatego duże znaczenie ma jego jakość, tj. skład chemiczny i właściwości fizykochemiczne [7, 11]. Z analizy składu chemicznego mięsa (tab. 4) wynika, że zawartość białka w mięsie była podobna we wszystkich analizowanych klasach uformowania tusz.

Jednym z ważniejszych elementów jakości mięsa wołowego jest ocena zawartości w nim tłuszczu śródmięśniowego, który wpływa korzystnie na cechy sensoryczne wołowiny, a tym samym na przydatność kulinarną [6, 9, 11, 26]. W przeprowadzonych badaniach mięso z tusz buhajków badanych klas uformowania miało zbliżoną, przekraczającą 1 % zawartość tłuszczu śródmięśniowego. Według Wichłacza i wsp. [27] oraz Treli i wsp. [21] jest to minimalna ilość do zachowania odpowiedniej jakości sensorycznej mięsa. Natomiast optymalną zawartość tłuszczu śródmięśniowego, zalecaną w mięsie wołowym kulinarnym na poziomie  $2,5 \div 4,5$  % trudno jest uzyskać w mięsie buhajków rasy holsztyńsko-fryzyjskiej [5, 8]. Jednym z podstawowych parametrów fizykochemicznych, który decyduje o przydatności mięsa wołowego do dojrzewania jest wartość pH [9, 12, 18]. Wynika to z funkcji, jaką pH mięsa odgrywa w kształtowaniu barwy, wodochłonności, kruchości i soczystości a także trwałości mięsa. We wszystkich klasach uformowania tusz mięso buhajków miało zbliżoną średnią wartość pH wynoszącą od 5,56 do 5,62 (tab. 4), a wszystkie analizowane próbki mięsa miały pH poniżej 5,8. Wynika z tego, że z tusz buhajków pH intensywnie żywionych można uzyskać mięso kulinarne, które można poddać procesowi dojrzewania.

W ocenie barwy mięsa buhajków w systemie CIE Lab również nie wykazano różnic między średnimi wartościami  $L^*$  (jasność),  $a^*$  (czerwoność) i  $b^*$  (żółtość) w poszczególnych klasach uformowania tusz. Natomiast stwierdzono, że pod względem zdolności utrzymania wody własnej mięso z tusz klasy O- charakteryzowało się mniejszą wodochłonnością w porównaniu z mięsem pozostałych badanych klas.

Porównując wartości siły cięcia próbki mięśni *longissimus dorsi* (tab. 4) wykazano jedynie tendencję (niepotwierdzoną statystycznie) nieznacznie większej kruchości mięsa buhajków z tusz zaliczonych do klasy O- (40,54 N) w porównaniu z mięsem tusz z pozostałych klas uformowania.

W badaniach wykonano także ocenę sensoryczną mięsa buhajków (tab. 4). Wykazano, że liczba punktów przyznanych za smakowość, soczystość i kruchość mięsa była zbliżona dla mięsa wszystkich badanych klas uformowania. Najwyższe noty punktowe przyznano próbkom mięsa z tusz ze wszystkich analizowanych klas uformowania za pożądalność zapachu ( $4,72 \div 5,00$ ). Natomiast natężenie zapachu było

bardziej zdecydowane w mięsie z tusz klasy R- i R, a mniej wyczuwalne w mięsie z tusz klasy O- (różnice istotne na poziomie  $p \leq 0,05$ ).

### Wnioski

1. Tusze buhajków rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej żywione intensywnie z dużym udziałem pasz treściwych zostały zakwalifikowane najczęściej do ogólnej klasy O (74,82 %), w tym do klasy O (52,44 %), O+ (17,48 %) i O- (4,90 %) oraz do klasy R (11,89 %) i R- (13,29 %).
2. Buhajki, których tusze po uboju miały najlepsze uformowanie (klasa R) charakteryzowały się najmniejszą średnią masą w czasie zakupu, miały najwyższe przyrosty dobowe podczas opasu, najmniejsze ubytki masy w obrocie przedubojowym oraz najwyższy wskaźnik wydajności rzeźnej. Niekorzystne wskaźniki tych cech stwierdzono w przypadku buhajków, których tusze zakwalifikowano do klasy O-.
3. Tusze buhajków o wyższej klasie uformowania charakteryzowały się większym udziałem elementów kulinarnych o wyższej wartości handlowej i mniejszym udziałem kości w tuszy, co powinno być uwzględniane przy ustalaniu cen przy skupie bydła, jak i w obrocie handlowym tusz.
4. Mięso pochodzące z buhajków rasy phf, niezależnie od klasy uformowania, charakteryzowało się dobrą jakością. Zawierało powyżej 1 % tłuszczu śródmięśniowego, miało prawidłową wartość pH nieprzekraczającą 5,8 oraz zbliżone cechy sensoryczne.

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


### Literatura

- [1] Bach H., Dünkel R.: Handelsklassen für Rindfleisch. AID 1128/1993. Ostsee – Druck. Rostock.
- [2] Baryłko-Pikielna N., Matuszewska I.: Sensoryczne badania żywności. Podstawy. Metody. Zastosowania. Wyd. II. Wyd. Nauk. PTTŻ, Kraków 2014.
- [3] Choroszy B., Choroszy Z., Topolski P.: Analiza składu tkankowego tusz buhajków rasy simentalskiej w zależności od uzyskanej klasy umięśnienia w systemie EUROP. Rocz. Nauk. Zoot., 2009, **36**, 1, 17-23.
- [4] C.I.E. Recommendations on uniform color spaces, color difference equations, psychometric color terms. Suppl. 2 to CIE publication, 15 (E.-1.3.1) 1971/(TC-1-3), Commission Internationale de l'Éclairage, Paris 1978.
- [5] Daszkiewicz T., Wajda S.: Jakość mięsa z tusz buhajków rasy czarno-białej zaliczonych do różnych klas umięśnienia i otluszczenia w systemie klasyfikacji EUROP. Zesz. Nauk. Przegł. Hod., 2001, **55**, 229-238.

- [6] Kinal S., Lubojemska B., Gajewczyk P.: Wpływ żywienia bydła opasowego na kształtowanie się cech jakościowych mięsa wołowego. *Rocz. Inst. Przem. Mięś. i Tłuszcz.*, 2007, **45/1**, 89-98.
- [7] Kołczak T.: Jakość wołowiny. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **1 (56)**, 5-22.
- [8] Litwińczuk Z., Chabuz W., Domaradzki P., Jankowski P.: Slaughter value of young Polish Black-and-White, White-Backed, Polish Holstein-Friesian and Limousin bulls under semi-intensive fattening. *Ann. Anim. Sci.*, 2012, **12, 2**, 159-168.
- [9] Młynek K.: Wpływ intensywności wzrostu buhajów na zależności występujące pomiędzy otluszczeniem tusz i jakością kulinarną mięsa. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, **3 (76)**, 130-142.
- [10] Nogalski Z., Wroński M., Wielgosz-Groth Z., Purwin C., Sobczuk-Szul M., Mochol M., Pogorzelska P.: The effect of carcass conformation class (EUROP system) on the slaughter quality of young crossbred beef bulls and Holstein-Friesians. *Ann. Anim. Sci.*, 2013, **13 (1)**, 121-131.
- [11] Park B., Cho S., Kim J., Yoo Y., Lee J., Ahn Ch., Kim Y., Yun S.: Carcass composition and meat quality by intramuscular fat contents in *Longissimus dorsi* of Hanwoo. 47<sup>th</sup> International Congress of Meat Science and Technology, August 26<sup>th</sup>-31<sup>th</sup> 2001, Kraków, Poland, 2001, I, pp. 116-118.
- [12] PN-91/A-82001/A2. Mięso w tuszach, półtuszach i ćwierćtuszach.
- [13] PN-75/A-04018/Az3:2002. Produkty rolniczo-żywnościowe. Oznaczanie zawartości azotu i przeliczanie na zawartość białka. Metoda Kjeldahla.
- [14] PN-ISO 1442:2000. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości wody. Metoda odwoławcza.
- [15] PN-ISO 1444:2000. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości tłuszczu wolnego.
- [16] PN-ISO 936:2000. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie popiołu całkowitego.
- [17] Sack E., Scholz W.: EUROP – Handel – Klasse. *Fleischwirtschaft*, 1988, **3**, 286.
- [18] Schöne F., Kirchheim U., Kinast C., Waßmut R., Reichardt W.: Qualität des Fleisches von Jungbulen. *Fleischwirtschaft*, 2006, **11**, 101-107.
- [19] Statsoft, Inc. STATISTICA (data analysis software system) version 9.0. [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com). 2009.
- [20] Śmiecińska K., Wajda S.: Udział elementów zasadniczych w tuszach krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej zaliczonych do różnych klas uformowania i otluszczenia w systemie klasyfikacji EUROP. *Rocz. Nauk. Pol. Tow. Zootech.*, 2007, **3, 1**, 115-121.
- [21] Trela J., Wichłacz H., Grześkowiak E.: Jakość mięsa wołowego w zależności od poziomu tłuszczu śródmięśniowego. *Zesz. Nauk. Przegł. Hod.*, 2004, **72 (1)**, 261-271.
- [22] Wajda S., Borzuta K.: Biologiczna ewolucja krajowej populacji zwierząt rzeźnych. Cz. II. Bydło rzeźne. Monografia. Innowacyjność gospodarki mięsnej w Polsce. Wyd. Zarząd Główny SN-TIiTPS, Warszawa 2011, ss. 50-70.
- [23] Wajda S., Burczyk E., Winarski R., Daszkiewicz T.: Wskaźnik wydajności rzeźnej buhajków i jego związek z wartością handlową tusz. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, **4 (77)**, 94-102.
- [24] Wajda S., Daszkiewicz T.: Efekt ekonomiczny uzyskany z podziału elementów zasadniczych tusz buhajków różnych klas. *Rocz. Nauk. Pol. Tow. Zoot.*, 2006, **2 (2)**, 117-123.
- [25] Wajda S., Daszkiewicz T., Mikołajczak J.: Udział elementów kulinarnych i zasadniczych w tuszach buhajków zaliczonych do różnych klas w systemie EUROP. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2003, **4 (37)**, 419-425.
- [26] Warren H.E., Scollan N.D., Nute G.R., Hughes S.I., Wood J.D., Richardson R.I.: Effect of breed and a concentrate or grass silage diet on beef quality in cattle of 3 ages. II: Meat stability and flavor. *Meat Sci.*, 2008, **78**, 270-278.
- [27] Wichłacz H., Trela J., Grześkowiak E.: Wpływ poziomu tłuszczu śródmięśniowego na cechy fizykochemiczne i sensoryczne mięśnia najdłuższego grzbietu młodego bydła rzeźnego. *Zesz. Nauk. AR we Wrocławiu*, 1998, **336**, 157-163.
- [28] Van Oeckel M.J., Warnants N., BoucquéCh.V.: Comparison of different methods for measuring water holding capacity and juiciness of pork versus on-line screening methods. *Meat Sci.*, 1999, **51**, 313-320.

**SLAUGHTER VALUE AND QUALITY OF MEAT FROM BEEF CARCASSES CLASSIFIED TO DIFFERENT CONFORMATION CLASSES IN EUROP SYSTEM****S u m m a r y**

The research study involved 167 young Polish Holstein-Friesian (PHF) bulls with an initial body weight of 70 ÷ 100 kg, fed concentrates supplemented with hay or straw. The animals were slaughtered at a body weight of ca. 570 kg. The majority of carcasses (74.82 %) were classified to a conformation class O incl. 52.44 % to class O, 17.48 % to class O+, and 4.90 % to class O-, as well as to classes R (11.89 %) and R- (13.29 %). The young PHF bulls, whose carcasses were characterized by the best conformation (class R), had the lowest average body weight at purchase, the highest daily gains during fattening, and the highest dressing percentage. The bulls, whose carcasses were assigned to conformation class O-, were characterized by less advantageous values of the above parameters. The carcasses classified to higher conformation classes had a higher percent content of retail cuts of a higher market value, and a lower proportion of bones, and this should be taken into account while setting beef cattle prices. Regardless of the conformation class, the meat from PHF bulls was characterized by a good quality. It contained more than 1 % of intramuscular fat, its pH values were correct and did not exceed 5.8, and it had comparable organoleptic properties.

**Key words:** bulls, slaughter value, meat quality, conformation class, EUROP 

PIOTR SZYMAŃSKI, DANUTA KOŁOŻYŃ-KRAJEWSKA

## EFEKTYWNOŚĆ SZCZEPU BAKTERII *STAPHYLOCOCCUS CARNOSUS* ATCC-51365 W ZAKRESIE REDUKCJI AZOTANÓW(V) W ŚRODOWISKU MIĘSNYM

### Streszczenie

Celem pracy było określenie efektywności szczepu bakterii *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 w zakresie redukcji azotanów(V) w środowisku mięsnym. Materiał do badań stanowił szczep bakterii denitryfikujących *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365, wyizolowany z kiełbasy suszonej. Efektywność bakterii w zakresie redukcji azotanów(V) badano w modelowym farszu mięsnym, do którego wprowadzono azotan(V) sodu na poziomie 100 mg/kg. W pracy porównano dwa sposoby namnażania szczepu bakterii. W pierwszym sposobie bakterie standardowo namnażano na białkowym podłożu TSB. W drugim bakterie namnażano na podłożu TSB i dodatkowo zastosowano stymulowanie komórek bakterii, które polegało na wprowadzeniu azotanu(V) sodu na określonym poziomie do podłoża. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono istotny wpływ sposobu namnażania szczepu *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 na aktywność bakterii w zakresie redukcji azotanów w farszu mięsnym poddawanym obróbce cieplnej. W przypadku wariantu, w którym zastosowano stymulowanie komórek bakterii w trakcie namnażania, szczep charakteryzował się wysoką aktywnością już w pierwszym etapie obróbki cieplnej (20 °C). Po zakończeniu etapu obróbki przebiegającej w temperaturze 45 °C stwierdzono 100-procentową redukcję azotanów(V). W przypadku szczepu namnażanego standardowo nie stwierdzono aktywności bakterii w zakresie redukcji azotanów(V) w farszu mięsnym w temp. 20 °C.

**Słowa kluczowe:** mięso, peklowanie, bakterie denitryfikujące, redukcja azotanów(V)

### Wprowadzenie

Restrykcyjne zasady higieny wprowadzone w zakładach mięsnych przyczyniły się do poprawy jakości mikrobiologicznej surowca mięsnego stosowanego do produk-

---

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

cji wędlin. Z uwagi na bezpieczeństwo mikrobiologiczne produktów jest to działanie pozytywne, ale może mieć negatywny wpływ na przebieg procesu technologicznego, głównie procesu peklowania mięsa. Nadmierna „jałowość” surowca mięsnego, a tym samym odmienne właściwości biochemiczne farszów mięsnych mogą przyczynić się do zmiany przebiegu reakcji chemicznych zachodzących w mięsie podczas peklowania.

W latach 70. XX w. Cassens i wsp. [3] dowiedli, że 1 ÷ 10 % azotanu(III) dodanego do mięsa może przekształcić się w azotany(V). Niektórzy badacze wskazują, że ilość azotanów(III), która utlenia się podczas peklowania mięsa jest większa i wynosi 10 ÷ 40 % [7]. Nie jest ostatecznie wyjaśnione, w wyniku jakich reakcji chemicznych w produktach peklowanych azotanami(III) tworzą się często znaczne ilości azotanów(V). Wiadomo natomiast, że ogólny bilans azotanów(III) dodanych do mięsa podczas peklowania może być różny i zależny od wielu czynników, tj. właściwości biochemicznych mięśni, warunków przeprowadzanego procesu technologicznego, mikroflory mięsa czy użycia substancji wspomagających ten proces [2, 3, 4, 7]. Można przypuszczać, że ograniczenie dostępnego azotanu(III), spowodowane utlenianiem go do azotanu(V), podczas peklowania mięsa może mieć istotny wpływ na efektywność procesu i stabilność barwy produktów mięsnych poddanych obróbce cieplnej.

W Instytucie Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego podjęto prace dotyczące zbadania, czy wzbogacenie naturalnej mikroflory mięsa o wybrane szczepy bakterii denitryfikujących będzie miało istotny wpływ na efektywność procesu peklowania mięsa za pomocą azotanów(III). W pierwszym etapie badań określono warunki i oddziaływanie wybranych substancji dodatkowych stosowanych w produkcji farszów mięsnych na aktywność wybranego do badań szczepu bakterii denitryfikujących *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365. Badania przeprowadzono w układzie modelowym, w płynnym podłożu białkowym TSB. Stwierdzono, że badany szczep charakteryzuje się aktywnością w stosunkowo szerokim zakresie temperatury (15 ÷ 40 °C), w którym jest zdolny przeprowadzać redukcję azotanów(V) i azotanów(III). Szybkość działania szczepu *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 w zakresie redukcji azotanów(V) w obecności chlorku sodu i wielofosforanów była wystarczająca przy zastosowaniu odpowiednio wysokiej liczby komórek bakterii ( $10^7$  kom/g). Wraz ze wzrostem liczby bakterii w układzie modelowym obserwowano obniżenie wartości potencjału oksydacyjno-redukcyjnego środowiska. Stwierdzone właściwości biochemiczne szczepu *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 wskazują na możliwość zastosowania go w procesie peklowania mięsa azotanem(III) [18].

Warunki środowiskowe w mięsie tj. dostępność składników odżywczych, aktywność wody i pH różnią się od tych w płynnym podłożu białkowym. Dlatego celem niniejszej pracy była ocena efektywności szczepu bakterii *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 w zakresie redukcji azotanów(V) w środowisku mięsnym.



## Material i metody badań

Material do badań stanowił szczep bakterii denitryfikujących *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 pochodzący z kolekcji kultur bakteryjnych *The American Type Culture Collection*. Szczep wyizolowano z kielbasy suszonej. Efektywność bakterii w zakresie redukcji azotanów(V) badano w modelowym, drobno rozdrobnionym farszu mięsnym o następującym składzie: mięsień półbłoniasty (*m. semimembranosus*) z szynki wieprzowej – 100,0 kg, woda/lód –20,0 kg, chlorek sodu – 2,20 kg, glukoza – 0,20 kg. Do farszu wprowadzano azotan(V) sodu na poziomie 100 mg/kg. Poziom wprowadzonego azotanu(V) sodu do farszu został ustalony na podstawie badań wstępnych [17, 18]. Mięso do badań pozyskano z rozbioru przemysłowego przeprowadzane go w przedsiębiorstwie Polish Farm Meat Zakłady Mięsne "STANISŁAWÓW" w Stanisławowie. Surowiec pochodził z półtuszy wychłodzonych, 48 h po uboju i wolny był od wad jakościowych. Produkcję doświadczalną prowadzono w hali półtechnicznej Oddziału Technologii Mięsa i Tłuszczu IBPRS w Warszawie.

W pracy zastosowano dwa sposoby namnażania bakterii. Pierwszym sposobem bakterie standardowo namnażano w płynnym białkowym podłożu TSB (Difco, USA,  $\text{pH}_{\text{podłoża}} = 7,30 \pm 0,20$ ) w ciągu 20 h, w temp. 30 °C. Drugim – w podłożu TSB i dodatkowo zastosowano stymulowanie komórek bakterii, które polegało na wprowadzeniu do podłoża azotanu(V) sodu na poziomie 100 mg/l. W obu przypadkach komórki bakterii z trzeciego pasażu były odwirowywane. Otrzymana biomasa bakteryjna zawieszana była w roztworze soli fizjologicznej i w takiej formie wprowadzana do farszu. W roztworze z bakteriami, które poddawano stymulacji, oznaczano pozostałość azotanów (V) i (III). Stwierdzono, że w założonych warunkach namnażania bakterii zawartość azotanów (V) i (III) w badanym roztworze kształtowała się poniżej progu wykrywalności metody (<5 mg/l) [11, 15]. Liczba początkowa bakterii *S. carnosus* ATCC51365 w farszu mięsnym wynosiła  $10^7$  kom/g, a jej poziom został określony w badaniach modelowych [17].

Farszem napełniano puszki i po zamknięciu przetrzymywano w temp. 4 °C przez 24 h. Następnie poddawano go obróbce cieplnej prowadzonej etapami po dwie godziny tak, aby temperatura w centrum konserwy wynosiła odpowiednio: 20, 40, 45 °C, a następnie do uzyskania wewnątrz 70 °C. Obróbkę cieplną konserw prowadzono w kotle warzelnym Brokelmann typu B. 2001/E. Temperatura środowiska (wody) i wewnątrz konserw mierzona była w sposób ciągły przy użyciu termopar zespolonych z panelem sterującym Ellab typu ctf84. Zastosowane parametry obróbki cieplnej farszu ustalono na podstawie wcześniejszych badań [18] oraz uwzględniono normalne warunki przemysłowe (czas i temperaturę), w jakich prowadzone są poszczególne etapy produkcyjne (peklowanie, osadzanie, osuszanie, parzenie i wędzenie) wędlin poddawanych obróbce cieplnej.



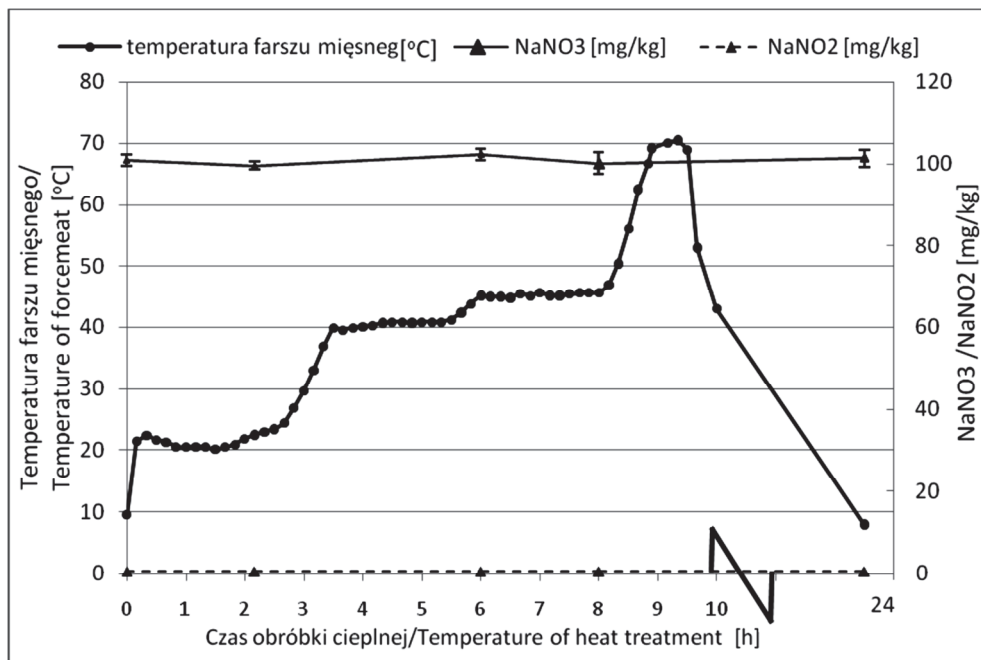
Do badań pobrano próbki farszu mięsnego: bezpośrednio po wymieszaniu składników, po 24 h przechowywania w temp. 4 °C, po zakończeniu poszczególnych etapów obróbki cieplnej, po zakończonej obróbce cieplnej i wychłodzeniu. W próbkach oznaczano: zawartość azotanów(V) i (III) [11] z modyfikacją [15], wartość pH [12], potencjał redox (w aparacie Metter Delta 350 z elektrodą InLab Redox Pro; pomiar wykonywano w roztworze przygotowanym przez zhomogenizowanie 10 g farszu mięsnego z 50 ml wody destylowanej; czas homogenizacji – 1 min, prędkość obrotowa noży – 1400 obr./min) oraz liczbę *Staphylococcus* (podłoże medium 110, składnik selektywny – chlorek sodu) i ogólną liczbę drobnoustrojów tlenowych OLD (podłoże TSA) – metodą płytkową. Farsz mięsny po zakończonej obróbce cieplnej i wychłodzeniu (produkt gotowy) poddawano wzrokowej ocenie barwy. Mierzono także wyciek soku mięsnego powstałego podczas obróbki cieplnej. Wariant kontrolny nie zawierał dodatku szczepu bakteryjnego. Badania przeprowadzono w pięciu równoległych powtórzeniach.

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

## Wyniki i dyskusja

Nie wykazano istotnych różnic ( $p \leq 0,05$ ) pod względem badanych parametrów farszów mięsnych bezpośrednio po wymieszaniu składników i po 24 h przechowywania w temp. 4 °C. W dalszej części pracy parametry początkowe farszów podawane będą w odniesieniu do farszów mięsnych po 24-godzinnym okresie przechowywania w warunkach chłodniczych.

W trakcie przeprowadzanej obróbki cieplnej i po jej zakończeniu nie stwierdzono redukcji azotanu(V) sodu dodanego do farszu mięsnego (rys. 1). Zawartość azotanów(V) w trakcie całego procesu kształtowała się na zbliżonym poziomie i wynosiła około 100 mg/kg w przeliczeniu na azotan(V) sodu. Nie zaobserwowano również w środowisku azotanów(III), które mogłyby powstać ze zredukowanego azotanu(V). Początkowa ogólna liczba drobnoustrojów tlenowych mierzona w farszu mięsnym kształtowała się na poziomie 4,76 log jtk/g. Poziom ten można uznać za normalny i zgodny z aktualnymi wymaganiami dotyczącymi kryteriów higieny mięsa przetwarzanego w zakładach produkcyjnych [14]. Zgodnie z tymi wymaganiami ogólna liczba bakterii tlenowych w mięsie mielonym na poziomie  $5,0 \times 10^5$  jtk/g (5,70 log jtk/g) jest zadowalająca.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

Linie przerywane na wykresie obrazują zmiany zawartości azotanów(III) (wyrażone jako NaNO<sub>2</sub>) powstałych ze zredukowanego azotanu(V) sodu przez bakterie / Dashed lines on the graph illustrate changes in content of nitrates(III) (expressed as NaNO<sub>2</sub>) produced from bacteria-reduced sodium nitrate(V). Na wykresie graficznie naniesiono wartości  $\bar{x} \pm SD$  / Mean values plotted on the graph are  $\bar{x} \pm SD$ .

Rys. 1. Przemiany azotanu(V) sodu w środowisku mięsnym.

Fig. 1. Transformations of sodium nitrate(V) in meat.

Wyższe wartości (5,19 log jtk/g) ogólnej liczby drobnoustrojów w mięsie wieprzowym po 3 dniach od uboju uzyskali Kajak i wsp. [8].

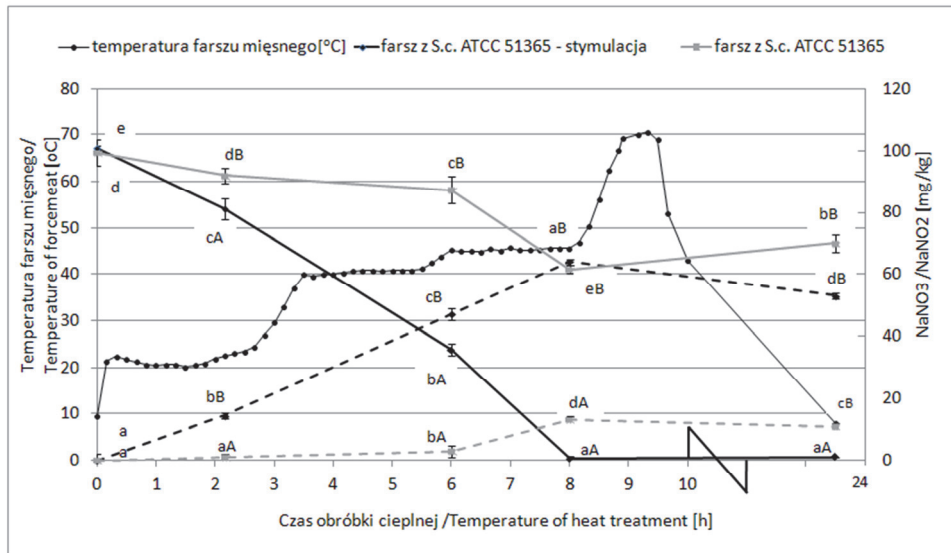
Bakterie *Staphylococcus* wchodzące w skład naturalnej mikroflory farszu mięsnego oznaczono na poziomie 3,13 log jtk/g. Podczas przeprowadzanej obróbki cieplnej farszu ogólna liczba komórek bakterii tlenowych i *Staphylococcus* utrzymywała się na zbliżonym poziomie do osiągnięcia i przetrzymania farszu przez dwie godziny w temp. 45°C. W wyższych zakresach temperatury nie pobierano próbek do badań mikrobiologicznych, niemniej przypuszczać można, że temperatura destrukcyjna dla komórek bakterii powodowała stopniowe obniżanie ogólnej liczby bakterii w mięsie. Po zakończonej obróbce cieplnej i wychłodzeniu produktów doświadczalnych stwierdzono ogólną liczbę drobnoustrojów na poziomie 3,18 log jtk/g, a bakterii *Staphylococcus* – 1,30 log jtk/g. Zbliżone wyniki OLD (2,64 ÷ 3,66 log jtk/g) w parzonych produktach mięsnych po wytworzeniu otrzymali Ciegiełska-Radziejewska i wsp. [5].

Poszczególne gatunki bakterii *Staphylococcus* i szczepy bakterii należące do tego samego gatunku, ale wyizolowane z różnych środowisk, mogą charakteryzować się różnymi właściwościami biochemicznymi, takimi jak: aktywność enzymów reduktazy azotanowej(V) i azotanowej(III), tolerancja wobec temperatury czy niektórych substancji dodatkowych stosowanych w produkcji żywności [6, 9, 10, 18]. Badania Szymańskiego i Kołożyn-Krajewskiej [18] przeprowadzone w układzie modelowym wykazały, że efektywność redukcji azotanów(V) przez wybrane szczepy *Staphylococcus carnosus* zależy od liczby i tempa wzrostu komórek bakterii. Przypuszczać można, że niska efektywność redukcji azotanów(V) przez bakterie *Staphylococcus* z mięsa związana jest ze stosunkowo małą ich liczbą początkową w farszu. Jest prawdopodobne, że szczepy bakterii, które wchodzi w skład mikroflory środowiskowej mięsa, mogą również charakteryzować się niską aktywnością enzymu reduktazy azotanowej(V).

Efektom wzbogacenia naturalnej mikroflory mięsa w szczep bakterii denitryfikujących była częściowa redukcja dodanego do farszu azotanu(V) sodu podczas przeprowadzanej obróbki cieplnej (rys. 2). Obserwowano powstawanie azotanów(III) ze zredukowanego przez bakterie azotanu(V) sodu. Największą 40-procentową redukcję zawartości azotanów(V) stwierdzono po ósmej godzinie obróbki cieplnej, tzn. w temp. 45 °C. W próbach farszu pobranych do analizy stwierdzono, że zawartość azotanu(V) i azotanu(III) sodu wynosiła średnio odpowiednio: 61,6 mg/kg i 13,2 mg/kg.

Statystycznie wykazano, że średnia zawartości azotanu(V) sodu w gotowym produkcie (73,0 mg/kg) była istotnie ( $p \leq 0,05$ ) większa od oznaczonej w farszu w temperaturze 45 °C. Powstały ze zredukowanego azotanu(V) sodu azotan(III) w procesie peklowania mógł ulec ponownemu utlenieniu do azotanu(V).

Stwierdzono istotny ( $p \leq 0,05$ ) wpływ sposobu namnażania szczepu *Staphylococcus carnosus* ATCC51365 na aktywność bakterii w zakresie redukcji azotanów(V) w farszu mięsnym, poddawany obróbce cieplnej (rys. 2). W wariancie doświadczalnym, w którym zastosowano stymulowanie komórek bakterii azotanem(V) sodu w trakcie namnażania, szczep charakteryzował się wysoką aktywnością już w pierwszym etapie obróbki cieplnej (20°C). Po zakończeniu ogrzewania farszu w temp. 45 °C stwierdzono 100-procentową redukcję azotanów(V) (rys. 2). Redukcji azotanu(V) sodu towarzyszyło generowanie azotanów(III). W przypadku szczepu namnażanego pierwszym sposobem nie stwierdzono aktywności bakterii w zakresie redukcji azotanów(V) w temp. 20 °C. W farszu mięsnym, w którym zastosowano bakterie denitryfikujące poddane stymulacji, nie stwierdzono obecności azotanów(V) po przeprowadzonej obróbce cieplnej i wychłodzeniu. Azotany(III) powstałe z redukcji dodanego azotanu(V) sodu oznaczono w gotowym produkcie na poziomie 53,5 mg/kg w przeliczeniu na azotan(III) sodu.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

Linie przerywane na wykresie obrazują zmiany zawartości azotanów(III) (wyrażone jako NaNO<sub>2</sub>) powstałych ze zredukowanego azotanu(V) sodu przez bakterie / Dashed lines on the graph illustrate changes in content of nitrates(III) (expressed as NaNO<sub>2</sub>) produced from bacteria-reduced sodium nitrate(V). Na wykresie graficznie naniesiono wartości  $\bar{X} \pm SD$  / Values plotted on the graph are  $\bar{X} \pm SD$ . Wartości średnie oznaczone różnymi małymi literami (a-e) w obrębie tej samej próby i dużymi literami (A, B) pomiędzy próbkami różnią się statystycznie istotnie ( $p \leq 0,05$ ) / Mean values followed by different small letters (a-e) within the same sample or by capital letters (A, B) within different samples are significantly different ( $p \leq 0.05$ ).

Rys. 2. Wpływ *Staphylococcus carnosus* ATCC 51365 na przemiany azotanu(V) sodu w środowisku mięsnym.

Fig. 2. Effect of ATCC 51365 *Staphylococcus carnosus* on transformations of sodium nitrate(V) in meat.

Wysoka aktywność szczepu *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 w redukcji azotanów(V) spowodowana stymulacją może wynikać z syntezy enzymu reduktazy azotanowej(V) przez komórki bakterii już na etapie ich namnażania. Jak podają Neubauer i Gotz [9], produkcja enzymu reduktazy azotanowej(V) przez bakterie *Staphylococcus* zachodzi w beztlenowym lub słabo zaopatrzonym w tlen środowisku, przy jednoczesnym dostępie azotanu(V). W wyrobie gotowym nie stwierdzono resztkowych azotanów(V), które teoretycznie powinny powstać z azotanów(III) obecnych w środowisku w wyniku reakcji dysmutacji. Trudno wyjaśnić to zjawisko. Można przypuszczać, że środowisko mięsne działa na komórki bakterii ochronnie przed niszcącym działaniem ogrzewania. W takim przypadku szczep mógł wykazywać aktywność metaboliczną również w wyższych temperaturach i redukować azotany(V).

Wyniki badań wskazują, że środowisko mięsne oddziałuje hamująco na wzrost liczby komórek bakterii szczepu *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365. Liczba komórek bakterii w farszu mięsnym podczas jego ogrzewania utrzymywała się na zbliżonym poziomie –  $10^7$  kom/g do osiągnięcia temperatury 45 °C.

Zjawisko to obserwuje się także podczas produkcji kielbas surowo dojrzewających. Nie stwierdza się wzrostu liczby komórek bakterii *Staphylococcus* dodawanych do farszu kielbasianego. Ich liczba podczas procesu fermentacji zmniejsza się wraz z upływem czasu [1, 16].

W wytworzonych produktach doświadczalnych liczbę *Staphylococcus* oznaczono na stosunkowo niskim poziomie: 1,3 log jtk/g w przypadku wariantu ze stymulacją i 2,0 log jtk/g bez stymulacji komórek bakterii. Taką samą tendencję stwierdzono w przypadku ogólnej liczby drobnoustrojów, jednak najniższy jej poziom w produkcie gotowym – 1,65 log jtk/g stwierdzono w wariacie, w którym zastosowano szczep poddany stymulacji. W farszu, oprócz chlorku sodu, występował w stosunkowo wysokim stężeniu azotan(III) powstały ze zredukowanego azotanu(V) sodu. Wysoce prawdopodobne jest, że azotan(III) i chlorek sodu działały synergistycznie i wpływały hamująco na mikroflorę farszu mięsnego.

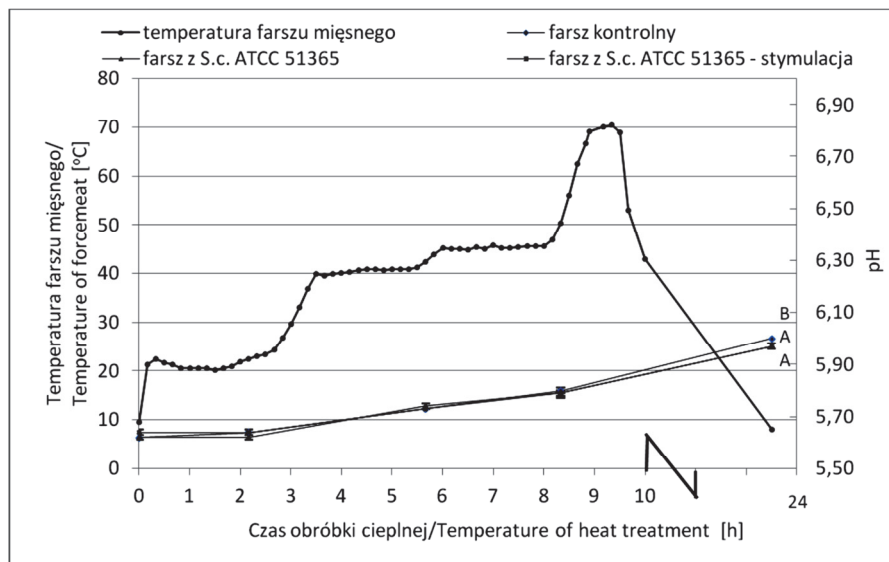
Konserwy doświadczalne wytworzone z zastosowaniem bakterii *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 charakteryzowały się różową barwą. Potwierdza to udział azotanów(III) powstałych ze zredukowanego azotanu(V) sodu w procesach barwotwórczych zachodzących podczas peklowania mięsa. Wariant kontrolny charakteryzował się szarą barwą. Nie były widoczne obszary, które wskazywałyby na przepeklowanie mięsa.

Sposób namnażania bakterii nie różnicował istotnie ( $p \leq 0,05$ ) przebiegu zmian pH farszu mięsnego podczas przeprowadzanego procesu obróbki cieplnej i po wychłodzeniu. Stwierdzono wpływ zastosowanych bakterii *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 na poziom kwasowości produktu gotowego (rys. 3). Obniżenie pH produktu w wariantach, w których zastosowano bakterie, było niewielkie, ale statystycznie istotne ( $p \leq 0,05$ ).

W przeprowadzonym eksperymencie nie stwierdzono istotnych różnic ( $p \leq 0,05$ ) pod względem ilości wycieku soku mięsnego po obróbce cieplnej pomiędzy wariantami. Wydaje się, że zaobserwowane obniżenie pH farszu nie naruszało naturalnych limitów pojemności buforowej mięsa i nie miało wpływu na jego wodochłonność.

Sposób namnożenia bakterii nie różnicował istotnie ( $p \leq 0,05$ ) przebiegu zmian potencjału redox środowiska mięsnego w początkowej fazie obróbki cieplnej i w gotowym produkcie. Po przetrzymaniu farszu w temp. 45 °C przez dwie godziny stwierdzono, że wartość potencjału oksydacyjno-redukcyjnego środowiska mięsnego, w którym zastosowano szczep bakterii denyfikujących, poddanych stymulacji, była istotnie

wyższa ( $p \leq 0,05$ ) od potencjału redox farszu kontrolnego i od wartości w wariancie, w którym zastosowano szczep bakterii niepoddanych stymulacji (rys. 4).



Objaśnienia: / Explanatory notes:

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

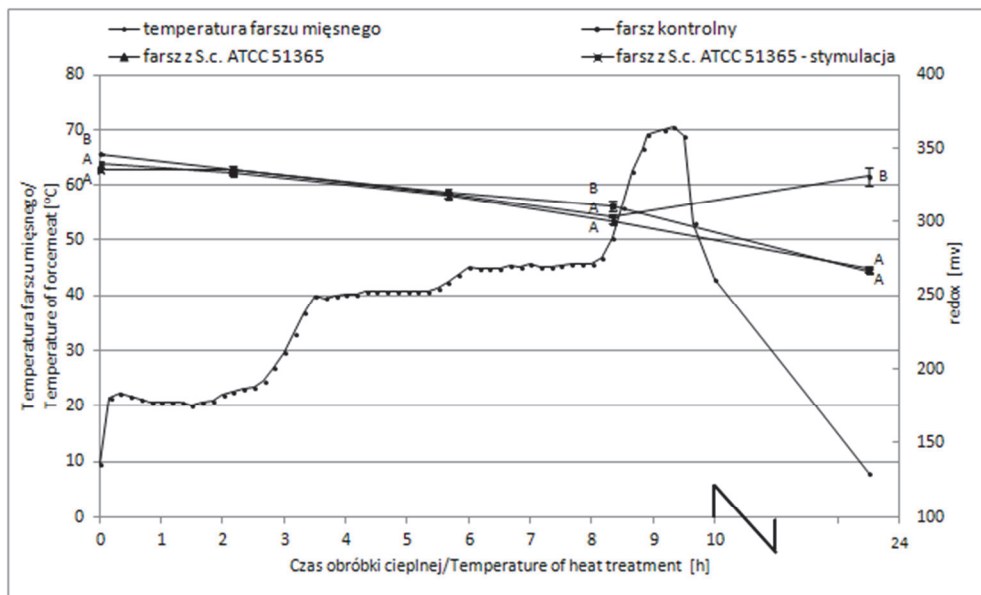
Wartości średnie oznaczone różnymi dużymi literami (A, B) pomiędzy próbkami różnią się statystycznie istotnie ( $p \leq 0,05$ ) / Mean values followed by different capital letters (A, B) within different samples are significantly different ( $p \leq 0.05$ ).

Rys. 3. Zmiany pH farszu mięsnego poddawanego obróbce cieplnej.

Fig. 3. Changes in pH of heat-treated forcemeat.

Można przypuszczać, że zaobserwowana zależność jest wynikiem stosunkowo dużej zawartości azotan(III) powstałego ze zredukowanego azotanu(V) sodu w próbce farszu wzbogaconego w bakterie denitryfikujące poddane stymulacji. Zgodnie z danymi literaturowymi [13], azotan(III) w istotny sposób wpływa na wzrost wartości potencjału redox danego środowiska [13]. Trudno wytłumaczyć to zjawisko, szczególnie biorąc pod uwagę udowodnione przeciwutleniające właściwości azotanów(III).

Wprowadzenie szczepu bakteryjnego do mięsa wpłynęło istotnie ( $p \leq 0,05$ ) na obniżenie potencjału redox farszu modelowego po zakończonej obróbce cieplnej i wychłodzeniu. Obniżenie wartości potencjału oksydacyjno-redukcyjnego, spowodowane aktywnością bakterii denitryfikujących podczas peklowania mięsa, ma wpływ na stabilność barwy produktu mięsnego i zawartość resztkowych azotanów(III).



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

Rys. 4. Zmiany potencjału redox farszu mięsnego poddawane obróbce cieplnej.

Fig. 4. Changes in redox of heat-treated forcemeat.

Przeprowadzone badania wskazują, że aktywność metaboliczna badanych bakterii denitryfikujących była różna w środowisku mięsnym i w płynnym podłożu białkowym (TSB). W doświadczeniach przeprowadzanych w układzie modelowym intensywny wzrost bakterii obserwowano w zakresie temperatur:  $20 \div 40$  °C. Towarzyszyło temu duże obniżenie wartości potencjału redox i pH środowiska [18]. Stwierdzone różnice mogą wynikać m.in. z różnej dostępności składników odżywczych, pH oraz aktywności wody w środowisku mięsnym i w płynnym podłożu białkowym.

### Wnioski

1. Zastosowanie stymulowania komórek bakterii *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 azotanem(V) sodu podczas namnażania zwiększyło istotnie ( $p \leq 0,05$ ) efektywność redukcji azotanów(V) w środowisku mięsnym.
2. Sposób namnażania bakterii nie różnicował istotnie ( $p \leq 0,05$ ) przebiegu zmian pH farszu mięsnego podczas przeprowadzanej obróbki cieplnej. W obu przypadkach wprowadzenie szczepu bakteryjnego do mięsa wpłynęło istotnie ( $p \leq 0,05$ ) na obniżenie potencjału redox i pH farszu modelowego po zakończonej obróbce cieplnej i wychłodzeniu.



3. Nie stwierdzono wzrostu liczby komórek bakterii szczepu *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 w farszu mięsnym poddawanym obróbce cieplnej.
4. Praktyczne zastosowanie bakterii denitryfikujących w produkcji wędlin parzonych wymaga przeprowadzenia dalszych badań, m.in. w zakresie wpływu zastosowania bakterii poddanych stymulacji na cechy jakościowe (trwałość barwy) i bezpieczeństwo zdrowotne (pozostałość resztkowych azotanów (V) i (III)) produktu gotowego.

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

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

### Literatura

- [1] Albin M.: Kultury starterowe jako główny parametr sterowania jakością wędlin dojrzewających. *Gosp. Mięs.* 1999, **4**, 46-47.
- [2] Arneth W.: Chemische Grundlagen der Umrötung. *Fleischwirtschaft*, 1998, **8**, 868-874.
- [3] Cassens R.G., Ito I., Lee M., Buege, D.: The use of nitrite in meat. *Bioscience*, 1978, **28 (10)**, 633-637.
- [4] Cassens R.G.: Use of sodium nitrite in cured meats today. *Food Technology*, 1995, **49 (7)**, 72-80.
- [5] Cegielska-Radziejewska R., Kijowski J., Nowak E., Zabielski J.: Wpływ temperatury na dynamikę zmian liczby bakterii w wybranych wędlinach przechowywanych w warunkach handlu hurtowego i detalicznego. *Żywność. Nauka.Technologia. Jakość*, 2007, **4 (53)**, 80-83.
- [6] Gøtterup J., Olsen K., Knochel S., Tjener K., Stahnke L.H., Møller J.K.S.: Relationship between nitrate/nitrite reductase activities in meat associated staphylococci and nitrosylmyoglobin formation in a cured meat model system. *Int. J. Food Microbiol.*, 2007, **120**, 303-310.
- [7] Honikel K.O.: The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. *Meat Science*, 2008, **78**, 68-76.
- [8] Kajak K., Przybylski W., Jaworska D., Rosiak E.: Charakterystyka jakości technologicznej, sensorycznej i trwałości mięsa wieprzowego o zróżnicowanej końcowej wartości pH. *Żywność. Nauka.Technologia. Jakość*, 2007, **1 (50)**, 31-32.
- [9] Neubauer H., Götz F.: Physiology and interaction of nitrate and nitrite reduction in *Staphylococcus carnosus*. *J. Bacteriology*, 1996, **178**, 2005-2009.
- [10] Pantel I., Lindgren P.E., Neubauer H., Götz F.: Identification and characterization of the *Staphylococcus carnosus* nitrate reductase operon. *Molecular Genetics and Genomics*, 1998, **259**, 105-114.
- [11] PN-EN ISO 12014:2006. Artykuły żywnościowe. Oznaczanie zawartości azotanów i/lub azotynów.
- [12] PN-77/A-82058. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie pH.
- [13] Rodel W.: Potencjał oksydoredukcyjny mięsa i przetworów mięsnych – możliwość zastosowania w praktyce. Publikacja tłumaczona z *Fleischwirtschaft*. *Mięso i Wędliny*. 1999, **7**, 27-29.
- [14] Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1441/2007 z dnia 5 grudnia 2007 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 2073/2005 w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych. *Dz. Urz. UE L 322/12 z 07.12.2007*.

- [15] Siu D., Henshall A.: Ion chromatographic determination of nitrate and nitrite in meat products. *J. Chromat.*, 1998, **804**, 156-160.
- [16] Słowiński M., Jankiewicz L.: Technologia produkcji wędlin. Kiełbasy surowe. Mięso i Wędliny, Polskie Wydawnictwo Fachowe, Warszawa 2004.
- [17] Szymański P.: Badania dotyczące poziomu występowania azotynów i azotanów w wybranych rynkowych produktach mięsnych poddanych obróbce cieplnej – niepublikowane wyniki badań. Oddział Technologii Mięsa i Tłuszczu IBPRS, Warszawa 2010.
- [18] Szymański P., Kołożyn-Krajewska D.: Ocena możliwości zastosowania szczepu bakterii *Staphylococcus carnosus* ATCC-51365 w procesie peklowania mięsa. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.* 2013, **3 (88)**, 61-72.
- [19] Talon R., Walter D., Chartier S., Barriere C., Montel M.C.: Effect of nitrate and incubation conditions on the production of catalase and nitrate reductase by staphylococci. *Int. J. Food Microbiol.*, 1999, **52**, 47-56.

#### EFFECTIVENESS OF BACTERIAL STRAIN OF *STAPHYLOCOCCUS CARNOSUS* ATCC-51365 IN RESPECT OF REDUCTION OF NITRATES (V) IN MEAT

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

The objective of the research study was to determine the effectiveness of the *Staphylococcus carnosus* ATCC–51365 bacterial strain in respect of the reduction of nitrates(V) in meat. The research material comprised the strain of *Staphylococcus carnosus* ATCC–51365 denitrifying bacteria isolated from dried sausages. The effectiveness of those bacteria in respect of the reduction of nitrates(V) was studied in a model forcemeat with sodium nitrate(V) added at a level of 100 mg/kg of. In the research study, two methods of multiplying bacteria strains were compared. The first method was used to conventionally multiply bacteria on a TSB protein medium. The second method consisted in that bacteria were multiplied on a TSB medium and, additionally, the bacterial cells were stimulated by sodium nitrate(V) added at a specific level into the medium. On the basis of the research study performed, it was found that the multiplication method of *Staphylococcus carnosus* ATCC–51365 strain had a significant effect on the activity of those bacteria in respect of the reduction of nitrates(V) in the heat-treated forcemeat. In the case of the variant with the stimulation of bacterial cells during their multiplication, the strain discussed was characterized by a high activity already during the first stage of heat treatment (20 °C). A 100 % reduction of nitrates(V) was reported at the end of the treatment stage completed at a temperature of 45 °C. In the case of the strain multiplied conventionally, no activity was reported of bacteria as regards the reduction of nitrates(V) in forcemeat at a temperature of 20 °C.

**Key words:** meat, meat curing, denitrifying bacteria, reduction of nitrates ☒

JUSTYNA LIBERA, ZBIGNIEW J. DOLATOWSKI

**WPLYW BAKTERII PROBIOTYCZNYCH *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS* (BAUER) I *BIFIDOBACTERIUM BIFIDUM* NA ZMIANY TŁUSZCZU W MIĘSNYCH WYROBACH SUROWO DOJRZEWAJĄCYCH PODCZAS PRZECHOWYWANIA**

Streszczenie

Celem pracy było określenie zmian oksydacyjnych w baleronach surowo dojrzewających z dodatkiem bakterii probiotycznych z rodzaju *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* podczas czteromiesięcznego chłodniczego przechowywania.

Przygotowano cztery warianty doświadczalne wyrobów: kontrolny – bez dodatku probiotyku (K) i trzy warianty z dodatkiem probiotyków: *Lactobacillus acidophilus* Bauer (W1), *Bifidobacterium bifidum* (W2), *Lactobacillus acidophilus* Bauer oraz *Bifidobacterium bifidum* w mieszaninie 1 : 1 (W3). Mięso peklowano przez 72 h metodą suchą z 3-procentowym dodatkiem mieszanki peklującej (peklosól, sól morską oraz azotan(V) sodu), następnie dodawano 0,05 % askorbinianu sodu, 1,2 % glukozy oraz bakterie probiotyczne w ilości  $2 \times 10^6$  jtk/g mięsa. Po dojrzewaniu w temperaturze 16 °C przez 21 dni wyroby zapakowano próżniowo i przechowywano przez cztery miesiące w temperaturze 4 °C. W próbach oznaczono: kwasowość czynną (pH), liczbę kwasową, liczbę nadtlenkową, liczbę p-anizydynową, wskaźnik TBARS oraz parametry barwy tkanki tłuszczowej i tkanki mięśniowej w systemie CIE L\*a\*b\*.

Stwierdzono, że kwasowość utrzymywała się we wszystkich próbach na zbliżonym poziomie przez cały okres przechowywania. Najniższe wartości pH obserwowano w próbie W3 (po dojrzewaniu – 5,41, po dwóch miesiącach przechowywania – 5,20 i po czterech – 5,80). Stwierdzono statystycznie istotny ( $p < 0,05$ ) wzrost wartości liczby kwasowej we wszystkich próbach podczas przechowywania. Po czteromiesięcznym przechowywaniu wykazano około trzykrotny wzrost zawartości wolnych kwasów tłuszczowych w wariantcie K (39,31 mg KOH/g tłuszczu) w porównaniu z wartością po dwumiesięcznym przechowywaniu (12,95 mg KOH/g tłuszczu). W pozostałych próbach wzrost liczby kwasowej był niższy. Najniższą wartością liczby nadtlenkowej po dwumiesięcznym przechowywaniu charakteryzowała się próba W2 (0,25 meq/kg tłuszczu), w której po czterech miesiącach chłodniczego przechowywania liczba nadtlenkowa osiągnęła wartość 0,80 meq/kg tłuszczu. Wartość wskaźnika TBARS we wszystkich wariantach badawczych utrzymywała się na niskim poziomie przez pierwsze dwa miesiące przechowywania, po czym zwiększyła się istotnie ( $p < 0,05$ ) po czwartym miesiącu – do 2,35 mg MDA/kg produktu w próbie

---

Mgr inż. J. Libera, 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. Kontakt: justyna.libera@up.lublin.pl

kontrolnej, natomiast w próbach z probiotykami W1, W2 i W3 odpowiednio do: 1,81, 0,97 i 1,16 mg MDA/kg produktu. Spektrofotometryczna ocena parametrów barwy produktu nie wykazała istotnych zmian pod względem wartości L\*, a\* i b\* we wszystkich wariantach po produkcji i podczas chłodniczego przechowywania.

Wykazano, że bakterie probiotyczne dodane w procesie produkcji do baleronów surowo dojrzewających wpłynęły na hamowanie przemian oksydacyjnych tych wyrobów podczas dojrzewania i czteromiesięcznego przechowywania.

**Słowa kluczowe:** balerony surowo dojrzewające, probiotyki, oksydacja tłuszczu, przechowywanie

## Wprowadzenie

Produkty pochodzenia zwierzęcego są źródłem pełnowartościowych białek, tłuszczów, witamin z grupy B i mikroelementów, m.in. żelaza i cynku. Tłuszcze stanowią podstawowe źródło energii oraz biorą udział w budowaniu błon komórkowych, hormonów steroidowych i witamin rozpuszczalnych w tłuszczach. Lipidy mięsa zawierają wielonienasycone kwasy tłuszczowe, których poziom zależy m.in. od gatunku zwierzęcia, jego wieku i rasy. Skład profilu lipidowego mięsa wieprzowego można wzbogacić w prozdrowotne składniki (m.in. z rodziny omega 3) odpowiednio modyfikując paszę dla zwierząt [13]. Wieprzowina zawiera od 10 do 50 % tłuszczu, przy czym około połowę tej wartości stanowią wyższe nienasycone kwasy tłuszczowe, głównie oleinowy (C18:1) [11]. Balerony są wyrobami mięsnymi, produkowanymi z karkówki wieprzowej, o dużej zawartości tłuszczu śródmięśniowego (16 - 30 %), a więc bardzo podatnymi na utlenianie. Procesy oksydacyjne zachodzące podczas przechowywania produktów mięsnych powodują niepożądane zmiany, m.in. tworzenie szeregu niekorzystnych dla organizmu człowieka związków chemicznych, tj. dialdehyd malonowego i 4-hydroksynonenalu [2, 3, 5, 11]. W celu spowolnienia tych reakcji, do produkcji wędlin surowo dojrzewających dodawane są naturalne lub syntetyczne substancje przeciwutleniające [9, 10, 19, 21]. Probiotyki, należące do bakterii kwasu mlekowego, również mogą stabilizować procesy oksydacyjne zachodzące podczas przechowywania wędlin surowo dojrzewających [21].

Celem pracy była ocena zmian oksydacyjnych w baleronach surowo dojrzewających wyprodukowanych z dodatkiem bakterii probiotycznych *Lactobacillus acidophilus* Bauer i *Bifidobacterium bifidum*, podczas chłodniczego czteromiesięcznego przechowywania.

## Material i metody badań

Materiałem doświadczalnym był baleron surowo dojrzewający, wyprodukowany w warunkach półtechnicznych Katedry Technologii Mięsa i Zarządzania Jakością UP w Lublinie. Bakterie probiotyczne *Lactobacillus acidophilus* Bauer i *Bifidobacterium*

*bifidum* pochodziły z kolekcji Katedry Technologii Gastronomicznej i Higieny Żywności SGGW w Warszawie. Z tusz wieprzowych rasy wielka biała polska, o zbliżonej masie przyżyciowej, wykrawano mięso i dzielono je na porcje o masie ok. 1 kg. Próby peklowano przez 72 h metodą suchą, stosując 3-procentowy dodatek mieszanki peklującej (16,58 g chlorku sodu, 13 g soli morskiej, 0,27 g azotanu(III) sodu i 0,15 g azotanu(V) sodu). Następnie dodawano 0,05 % askorbinianu sodu, 1,2 % glukozy oraz inokulum szczepu probiotycznego w ilości  $2 \times 10^6$  jtk/g mięsa (tab. 1). W przypadku próby W3 mieszaninę szczepów bakterii przygotowano poprzez zmieszanie inokulum o jednakowej liczbie komórek *Lactobacillus acidophilus* Bauer i *Bifidobacterium bifidum*. Układem odniesienia była próba kontrolna wyprodukowana bez dodatku drobnoustrojów probiotycznych. Otrzymano cztery warianty doświadczalne (tab. 1), które poddawano dojrzewaniu w temp. 16 °C przez 21 dni. Po zakończonym procesie dojrzewania próby pakowano próżniowo w woreczki polietylenowe i przechowywano w warunkach chłodniczych ( $4 \pm 1$  °C) przez cztery miesiące. Badania wykonywano bezpośrednio po dojrzewaniu, po dwóch oraz czterech miesiącach chłodniczego przechowywania.

Tabela 1. Warianty badawcze baleronów surowo dojrzewających z dodatkiem bakterii probiotycznych.  
Table 1. Variants of dry-fermented pork neck with probiotic bacteria added.

Wariant Variant	Bakterie probiotyczne / Probiotic bacteria	Inne dodatki Other additives
K	-	Askorbinian sodu Sodium ascorbate
W1	<i>Lactobacillus acidophilus</i> Bauer – $2 \times 10^6$ jtk/g	– 0,05 %
W2	<i>Bifidobacterium bifidum</i> – $2 \times 10^6$ jtk/g	Glukoza Glucose
W3	<i>Lactobacillus acidophilus</i> Bauer + <i>Bifidobacterium bifidum</i> – $2 \times 10^6$ jtk/g	– 1,2 %

Badania obejmowały oznaczenie kwasowości czynnej (pH) [14], liczby kwasowej tłuszczu (AV) [17], liczby nadtlenkowej (PV) [15], liczby p-anizydynowej (p-AV) [16], wskaźnika TBARS [12] oraz parametrów barwy tkanki mięśniowej i tłuszczowej w systemie CIE L\*a\*b\*. Tłuszcz do analiz ekstrahowano metodą Folcha i wsp. [4]. Używano mieszaniny metanolu i chloroformu (1 : 2). Parametry barwy tkanki mięśniowej oznaczano w wykrojonych z baleronu sześciątach o boku 20 mm. Tkanę tłuszczową wycinano z plastra baleronu, umieszczano w folii polietylenowej i prasowano w celu otrzymania jednolitej powierzchni. Parametry barwy oznaczano przy użyciu spektrofotometru sferycznego X-Rite z otworem pomiarowym o średnicy

13 mm. Do badań zastosowano światło D65 i obserwator kolorymetryczny o polu widzenia 10°. Jako źródło odniesienia zastosowano wzorzec bieli ( $L^* = 95,87$ ,  $a^* = -0,49$ ,  $b^* = 2,39$ ).

Przeprowadzono dwie serie badań w trzech powtórzeniach każdego z badanych wyróżników. Do interpretacji wyników zastosowano dwuczynnikową analizę wariancji (rodzaj probiotyku i okres przechowywania). Istotność różnic pomiędzy wartościami średnimi grup weryfikowano testem Tukeya na poziomie istotności  $p < 0,05$ .

## Wyniki i dyskusja

Najniższe wartości pH oznaczono w próbie z dodatkiem szczepów *Lactobacillus acidophilus* Bauer i *Bifidobacterium bifidum* (W3) we wszystkich etapach doświadczenia. Wartość pH baleronów po produkcji wynosiła 5,41, a po czterech miesiącach przechowywania – 5,80 (rys. 1). Wartości te były statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ) niższe niż pH prób pozostałych wariantów.

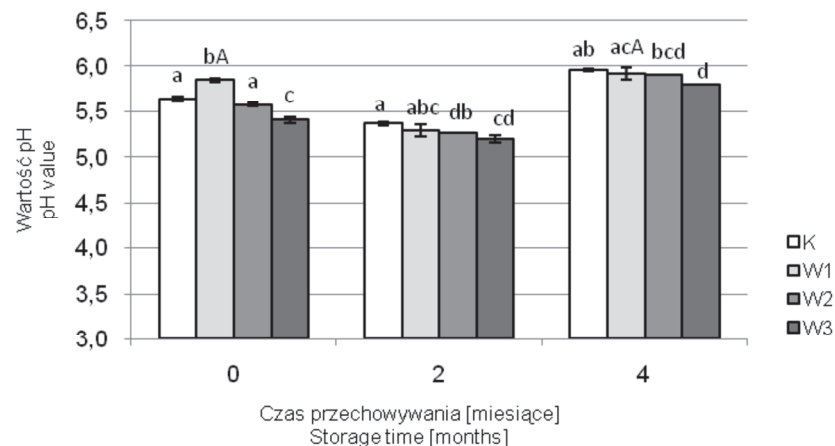
Wyższe wartości pH po dojrzewaniu stwierdzono w próbach: kontrolnej (K) – 5,64, w próbie z dodatkiem szczepu *Lactobacillus acidophilus* Bauer (W1) – 5,86 i w próbie z dodatkiem szczepu *Bifidobacterium bifidum* (W2) – 5,58. Wartości pH tych prób utrzymywały się na podobnym poziomie podczas długotrwałego przechowywania, a po czterech miesiącach wzrosły do 5,96 (K), 5,92 (W1) oraz 5,91 (W2).

We wszystkich próbach zaobserwowano obniżenie wartości pH po dwumiesięcznym przechowywaniu (o 0,2 - 0,5 jednostki), a następnie statystycznie istotny ( $p < 0,05$ ) wzrost wartości pH (o ok. 0,6 jednostki) po czterech miesiącach przechowywania. Podobne relacje obniżania się wartości pH po dwóch miesiącach przechowywania, a następnie wzrastania tej wartości stwierdzili Wójciak i wsp. [21] w potencjalnie probiotycznych kielbasach oraz Stadnik i Dolatowski [18] w połówkach surowo dojrzewających. Lorenzo i Franco [8] przypuszczają, że wzrost wartości pH kielbas surowo dojrzewających po długotrwałym okresie przechowywania może być powodowany wzrostem ilości produktów rozpadu białek, działających buforująco na kwasy organiczne.

Stwierdzono wysoką zawartość wolnych kwasów tłuszczowych we wszystkich wariantach baleronów (rys. 2).

Zarówno bezpośrednio po 21-dniowym okresie dojrzewania, jak i po dwóch miesiącach chłodniczego przechowywania wartości liczby kwasowej wszystkich wariantów były na zbliżonym poziomie (od 8,60 do 14,67 mg KOH/g tłuszczu). Po cztero-miesięcznym przechowywaniu stwierdzono co najmniej dwukrotny wzrost zawartości wolnych kwasów tłuszczowych we wszystkich wariantach doświadczalnych: w próbie kontrolnej (K) – do 39,31 mg KOH/g tłuszczu, w próbie z dodatkiem *Lactobacillus acidophilus* Bauer (W1) – do 28,72 mg KOH/g tłuszczu, w próbie z dodatkiem *Bifidobacterium bifidum* (W2) – do 30,93 mg KOH/g tłuszczu i w próbie z dodatkiem szcze-

pów *Lactobacillus acidophilus* Bauer i *Bifidobacterium bifidum* (W3) – do 26,76 mg KOH/g tłuszczu. Zaobserwowano w tym okresie statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ) niższe wartości liczby kwasowej w próbach zawierających bakterie probiotyczne w porównaniu z wynikami próby kontrolnej.



Objaśnienia: Explanatory notes:

K – próba bez bakterii probiotycznych / sample without probiotic bacteria; W1 – z *Lactobacillus acidophilus* Bauer / with *Lactobacillus acidophilus* Bauer; W2 – z *Bifidobacterium bifidum* / with *Bifidobacterium bifidum*; W3 – z *Lactobacillus acidophilus* Bauer i *Bifidobacterium bifidum* w mieszaninie (1 : 1) / with *Lactobacillus acidophilus* Bauer and *Bifidobacterium bifidum* in mixture (1 : 1);

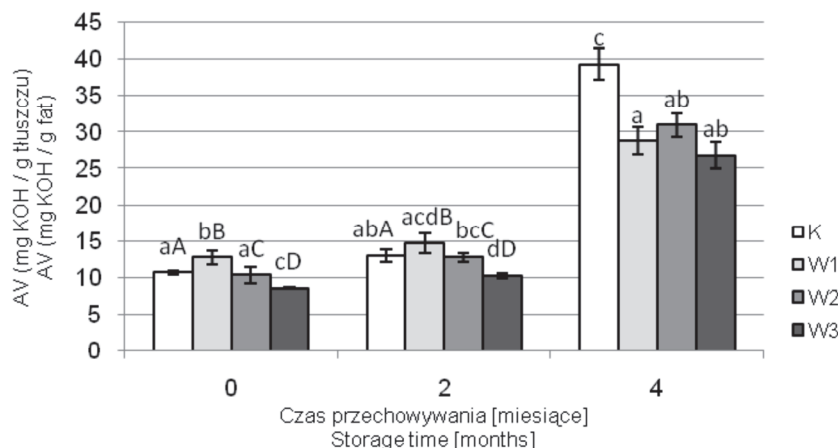
0 – bezpośrednio po zakończeniu 21-dniowego dojrzewania / immediately after 21-day period of ripening; 2 – po dwóch miesiącach chłodniczego przechowywania / after two months of refrigeration storage; 4 – po czterech miesiącach chłodniczego przechowywania / after four month refrigeration storage;

a, b, c – wartości średnie oznaczone tą samą małą literą nie różnią się statystycznie istotnie na poziomie  $p < 0,05$  w obrębie tej samej grupy obejmującej próbę kontrolną i próby z probiotykami / mean values denoted by the same small letter do not differ statistically significantly within the same group, which comprises both the control sample and the samples with probiotic bacteria at  $p < 0.05$ ; A (B, C, D – rys. 2/ Fig. 2) – wartości średnie oznaczone tą samą dużą literą nie różnią się statystycznie istotnie na poziomie  $p < 0,05$  w obrębie tej samej grupy obejmującej czas przechowywania / mean values denoted by the same capital letter do not differ statistically significantly at  $p < 0.05$  within the same group comprising the storage time.

Rys. 1. Wartość pH baleronów surowo dojrzewających z dodatkiem bakterii probiotycznych podczas przechowywania.

Fig. 1. pH value of dry-fermented pork necks with probiotic bacteria added during storage.





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

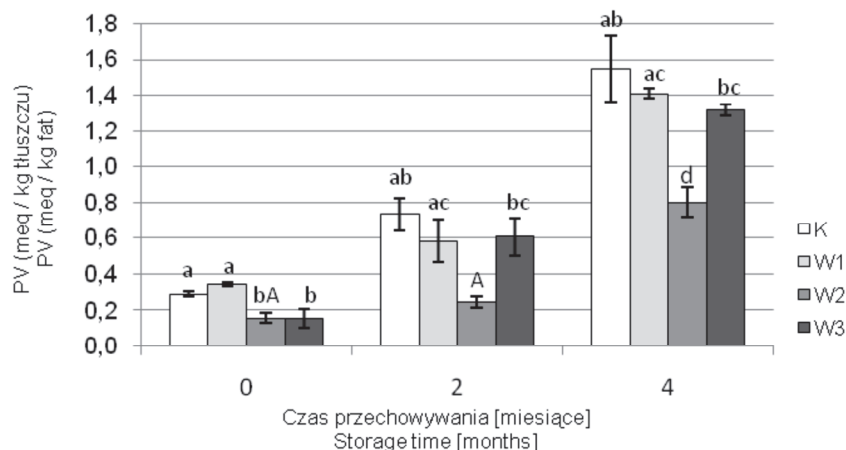
Rys. 2. Wartość liczby kwasowej (AV) baleronów surowo dojrzewających z dodatkiem bakterii probiotycznych podczas przechowywania.

Fig. 2. Acid value (AV) of dry-fermented pork necks with probiotic bacteria added during storage.

W wielu badaniach autorzy obserwują zwiększającą się zawartość wolnych kwasów tłuszczowych w wyrobach mięsnych surowo dojrzewających podczas przechowywania, [5, 9, 10]. Visessanguan i wsp. [20] stwierdzili, że zawartość wolnych kwasów tłuszczowych w kiełbasach fermentowanych zwiększała się o 50 % podczas każdej kolejnej doby w czasie 7-dniowego przechowywania. Autorzy twierdzą, że zawartość wolnych kwasów tłuszczowych w tłuszczu zależy od wielu czynników, m.in. od surowca stosowanego do produkcji, sposobu wytwarzania wędlin, rozdrobnienia surowca czy zastosowanych dodatków. Lorenzo i Franco [8] przypuszczają, że przyczyną wysokich wartości liczby kwasowej może być zwiększone działanie lipolityczne kultur startowych.

Badania stopnia oksydacji tłuszczu (rys. 3) wykazały niski poziom nadtlenków bezpośrednio po zakończeniu 21-dniowego okresu dojrzewania: w próbie kontrolnej (K) – 0,29 meq/kg tłuszczu, w próbie z *Lactobacillus acidophilus* Bauer (W1) – 0,34 meq/kg tłuszczu, w próbie z *Bifidobacterium bifidum* (W2) – 0,16 meq/kg tłuszczu oraz w próbie z *Lactobacillus acidophilus* Bauer i *Bifidobacterium bifidum* (W3) – 0,15 meq/kg tłuszczu. Po dwóch i czterech miesiącach chłodniczego przechowywania w opakowaniach próżniowych zaobserwowano wyższe wartości liczby nadtlenkowej, odpowiednio: ok. 0,6 meq/kg tłuszczu i ok. 1,4 meq/kg tłuszczu w wariantach K, W1 i W3. Statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ) niższy poziom nadtlenków stwierdzono w próbach ze szczepem *Bifidobacterium bifidum* (W2) podczas dwu- i czteromiesięcznego okresu przechowywania. Wyniki te pozwalają przypuszczać, że szczep *Bifidobacte-*

*rium bifidum* hamuje powstawanie nadtlenków w produkcie podczas przechowywania. Potwierdzają to Lin i Yen [7], którzy badali modelowe układy lipidowe z bakteriami *Lactobacillus acidophilus* i *Bifidobacterium longum* i wykazali, że siedem z ośmiu badanych szczepów hamowało utlenianie kwasu linolowego.



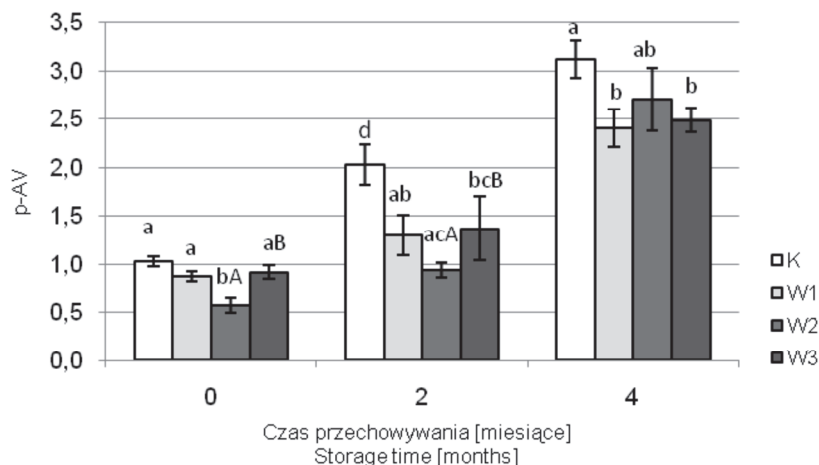
Objaśnienia jak pod rys. 1. Explanatory notes as in Fig. 1.

Rys. 3. Wartość liczby nadtlenkowej (PV) baleronów surowo dojrzewających z dodatkiem bakterii probiotycznych podczas przechowywania.

Fig. 3. Peroxide value (PV) of dry-fermented pork necks with probiotic bacteria added during storage.

Podobną, niską zawartość nadtlenków (0,30 meq/kg tłuszczu) w okresie do dwóch miesięcy przechowywania kiełbas surowo dojrzewających z dodatkiem probiotyku zauważyli Wójciak i wsp. [21]. Hernandez i wsp. [6] stwierdzili czterokrotnie mniejszą zawartość nadtlenków (0,69 meq/kg tłuszczu) w polędwicy fermentowanej niż w polędwicy surowej świeżej (2,43 meq/kg tłuszczu).

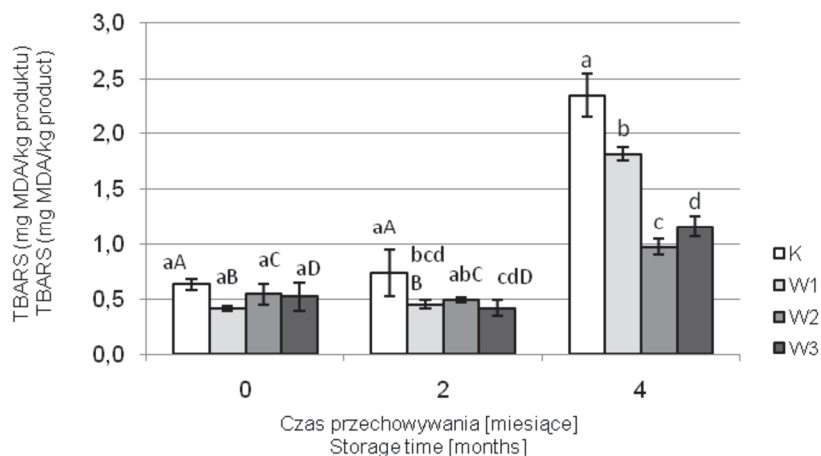
Zawartość wtórnych produktów oksydacji tłuszczu wyrażono liczbą p-anizydynową p-AV (rys. 4) i wskaźnikiem TBARS (rys. 5). Stwierdzono, że po czteromiesięcznym przechowywaniu zwiększyła się istotnie ( $p < 0,05$ ) ilość wtórnych produktów utlenienia tłuszczu we wszystkich wariantach, w porównaniu do wartości otrzymanych bezpośrednio po 21-dniowym dojrzewaniu prób. W pierwszych dwóch etapach badań, tj. po dojrzewaniu i dwumiesięcznym przechowywaniu, w próbie z dodatkiem szczepu *Bifidobacterium bifidum* (W2) stwierdzono najniższe wartości p-AV (odpowiednio: 0,57 i 0,93). Najwyższe wartości liczby p-anizydynowej stwierdzono w próbie kontrolnej (K): po dojrzewaniu – 1,03, po 2 miesiącach przechowywania – 2,02 oraz po 4 miesiącach – 3,12. Wartości te były wyższe od wyników oznaczeń prób zawierających bakterie probiotyczne.



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

Rys. 4. Wartość liczby p-anizydynowej baleronów surowo dojrzewających z dodatkiem bakterii probiotycznych podczas przechowywania.

Fig. 4. P-anisidine value (p-AV) of dry-fermented pork necks with probiotic bacteria added during storage.



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

Rys. 5. Wartość wskaźnika TBARS baleronów surowo dojrzewających z dodatkiem bakterii probiotycznych podczas przechowywania.

Fig. 5. The TBARS value of dry-fermented pork necks with probiotic bacteria added during storage.

Analiza wskaźnika TBARS wykazała niski i zbliżony we wszystkich próbach poziom substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym po dojrzewaniu i po dwóch miesiącach przechowywania.

Po czteromiesięcznym okresie przechowywania stwierdzono statystycznie istotny ( $p < 0,05$ ) wzrost wskaźnika TBARS, w porównaniu do pierwszych dwóch etapów badań, tj. po 21-dniowym dojrzewaniu i dwumiesięcznym przechowywaniu. Najwyższy poziom wtórnych produktów utlenienia tłuszczu stwierdzono w próbie kontrolnej (2,35 mg MDA/kg produktu) po czterech miesiącach chłodniczego przechowywania. W wariantach z probiotykami W1, W2 i W3 po tym czasie stwierdzono niższe wartości wskaźnika TBARS, odpowiednio [mg MDA/kg produktu]: 1,81, 0,97 i 1,16. Zwiększone ilości dialdehydu malonowego, a tym samym wartości TBARS podczas dojrzewania i przechowywania w fermentowanych kiełbasach wykazali też inni autorzy [3, 5, 6, 9, 11, 21].

Można sądzić, że przyczyną stosunkowo niewielkich wartości wskaźnika TBARS obserwowanych po dwóch miesiącach przechowywania, jest niski poziom pierwotnych produktów utleniania tłuszczu (nadtlenków). Antequera i wsp. [1] przypuszczają, że przyczyną niskich wartości wskaźnika TBARS mogą być również reakcje aldehydów z wolnymi grupami aminowymi i peptydami, powstającymi podczas proteolizy białek.

Po przeanalizowaniu zmian barwy tkanki mięśniowej (tab. 2) i tłuszczowej (tab. 3) wykazano, że jasność ( $L^*$ ) barwy tkanki mięśniowej była zbliżona we wszystkich wariantach i nieznacznie wzrastała w kolejnych miesiącach. Istotną ( $p < 0,05$ ) zmianę jasności tkanki mięśniowej podczas przechowywania stwierdzono w wariantcie z dodatkiem szczepów *Lactobacillus acidophilus* Bauer i *Bifidobacterium bifidum* (W3) – z 34,55 po dojrzewaniu do 54,89 w ostatnim etapie przechowywania. Wszystkie warianty baleronów charakteryzowały się stabilną wartością parametru  $a^*$  (udział barwy czerwonej) po 21-dniowym dojrzewaniu i po dwóch miesiącach przechowywania. Po 4 miesiącach przechowywania w dwóch wariantach K i W3 stwierdzono statystycznie istotne ( $p < 0,05$ ) zmiany nasycenia barwy czerwonej w tkance mięśniowej baleronów, w porównaniu z wynikami uzyskanymi po 2 miesiącach przechowywania. Nastąpiło zmniejszenie wartości parametru barwy czerwonej w próbie kontrolnej (K) z 11,77 do 7,38 oraz w próbie z mieszaniną bakterii *Lactobacillus acidophilus* Bauer i *Bifidobacterium bifidum* (W3) z 10,01 do 6,24.

Wartości parametru barwy żółtej ( $b^*$ ) tkanki mięśniowej we wszystkich wariantach, na każdym z badanych etapów badań były zbliżone (na poziomie 6 - 10 jednostek). Istotne ( $p < 0,05$ ) zmiany wartości  $b^*$  stwierdzono w próbie kontrolnej (K) i w próbie z dodatkiem mieszaniny *Lactobacillus acidophilus* Bauer i *Bifidobacterium bifidum* (W3). W próbie K wartość parametru  $b^*$  zmniejszyła się z 8,92 po dojrzewaniu do 6,27 po 4 miesiącach przechowywania. W wariantcie W3 zaobserwowano od-

wrotną tendencję, tzn. istotny wzrost wartości parametru  $b^*$  z 6,39 bezpośrednio po dojrzewaniu do 9,94 po czteromiesięcznym przechowywaniu.

Tabela 2. Wartości parametrów barwy tkanki mięśniowej baleronów surowo dojrzewających z dodatkiem bakterii probiotycznych podczas przechowywania.

Table 2. Colour parameters of muscle tissues of dry-fermented pork necks with probiotic bacteria added during storage.

Parametr barwy Colour parameter		Czas przechowywania [miesiące] Storage time [months]	Wariant / Variant			
			K	W1	W2	W3
$L^*$	$\bar{x}$	0	40,78 <sup>aA</sup>	34,59 <sup>aB</sup>	37,57 <sup>aD</sup>	34,55 <sup>aE</sup>
	SD		1,93	3,28	5,26	1,97
	$\bar{x}$	2	41,44 <sup>aA</sup>	45,21 <sup>aC</sup>	38,97 <sup>aD</sup>	42,01 <sup>aE</sup>
	SD		3,08	5,71	4,43	0,51
	$\bar{x}$	4	44,45 <sup>aA</sup>	44,21 <sup>aBC</sup>	43,99 <sup>aD</sup>	54,89
	SD		3,84	2,00	0,95	5,86
$a^*$	$\bar{x}$	0	11,77 <sup>bF</sup>	12,04 <sup>bG</sup>	10,14 <sup>bH</sup>	10,01 <sup>bI</sup>
	SD		0,46	1,26	1,78	0,95
	$\bar{x}$	2	10,73 <sup>bF</sup>	10,60 <sup>bG</sup>	11,67 <sup>bH</sup>	10,61 <sup>bI</sup>
	SD		0,53	0,52	1,50	0,50
	$\bar{x}$	4	7,38 <sup>b</sup>	10,41 <sup>cG</sup>	10,00 <sup>cH</sup>	6,24 <sup>b</sup>
	SD		1,27	2,17	0,94	1,84
$b^*$	$\bar{x}$	0	8,92 <sup>dg</sup>	7,56 <sup>defK</sup>	7,38 <sup>eghL</sup>	6,39 <sup>fhM</sup>
	SD		1,00	0,71	0,75	0,39
	$\bar{x}$	2	6,80 <sup>dJ</sup>	7,96 <sup>dK</sup>	7,04 <sup>dL</sup>	7,90 <sup>dMN</sup>
	SD		0,35	1,66	0,90	0,91
	$\bar{x}$	4	6,27 <sup>J</sup>	8,46 <sup>dK</sup>	8,16 <sup>dL</sup>	9,94 <sup>dN</sup>
	SD		0,66	0,18	0,20	0,76

Objaśnienia: / Explanatory notes:  $\bar{x}$  - wartość średnia /mean value; SD – odchylenie standardowe / standard deviation;  $n = 3$ ; wartości średnie oznaczone tą samą małą literą w wierszach oraz dużą literą w kolumnach nie różnią się statystycznie istotnie na poziomie  $p < 0,05$  / mean values denoted by the same small letter in rows and by the same capital letter in columns are not significantly different at  $p < 0.05$ .

Nie stwierdzono statystycznie istotnych ( $p < 0,05$ ) różnic pomiędzy wartościami parametrów  $L^*$  i  $b^*$  barwy tkanki tłuszczowej baleronów. W wariantach K i W3 bezpośrednio po dojrzewaniu stwierdzono istotnie ( $p < 0,05$ ) wyższy od pozostałych wariantów poziom parametru  $a^*$ . Po dwumiesięcznym przechowywaniu, we wszystkich wariantach baleronów zaobserwowano wzrost wartości parametru  $a^*$ , przy czym próby nie różniły się między sobą istotnie ( $p < 0,05$ ). Po czteromiesięcznym przechowywaniu

wartości te uległy zróżnicowaniu. W próbie z dodatkiem szczepu *Bifidobacterium bifidum* (W2) stwierdzono obniżenie wartości parametru  $a^*$  z 5,29 do 3,37, natomiast w próbie z dodatkiem szczepów *Lactobacillus acidophilus* Bauer i *Bifidobacterium bifidum* (W3) – wzrost: z 5,67 do 7,59.

Tabela 3. Wartości parametrów barwy tkanki tłuszczowej baleronów surowo dojrzewających z dodatkiem bakterii probiotycznych podczas przechowywania.

Table 3. Colour parameters of adipose tissue of dry-fermented pork necks with probiotic bacteria added during storage.

Parametr barwy Colour parameter		Czas przechowywania [miesiące] Storage time [months]	Wariant / Variant			
			K	W1	W2	W3
L*	$\bar{x}$	0	77,88 <sup>aA</sup>	74,71 <sup>aB</sup>	75,67 <sup>aCD</sup>	74,99 <sup>a</sup>
	SD		1,43	2,26	1,04	4,18
	$\bar{x}$	2	77,45 <sup>aA</sup>	72,77 <sup>aB</sup>	75,01 <sup>aC</sup>	69,64 <sup>a</sup>
	SD		2,85	7,71	1,38	6,33
	$\bar{x}$	4	77,11 <sup>aA</sup>	78,52 <sup>aB</sup>	78,24 <sup>aD</sup>	73,80 <sup>a</sup>
	SD		0,79	7,98	0,47	5,02
a*	$\bar{x}$	0	4,09 <sup>bE</sup>	2,14 <sup>c</sup>	2,77 <sup>cH</sup>	4,68 <sup>bI</sup>
	SD		0,30	0,31	0,15	0,49
	$\bar{x}$	2	6,54 <sup>bF</sup>	0,56 <sup>bG</sup>	5,29 <sup>b</sup>	5,67 <sup>bIJ</sup>
	SD		1,16	1,71	0,65	0,56
	$\bar{x}$	4	5,55 <sup>bcdEF</sup>	4,88 <sup>bcFG</sup>	3,37 <sup>ceH</sup>	7,59 <sup>dIJ</sup>
	SD		1,20	1,48	0,45	1,50
b*	$\bar{x}$	0	10,01 <sup>gKL</sup>	8,52 <sup>gL</sup>	7,86 <sup>g</sup>	9,55 <sup>gO</sup>
	SD		0,40	0,66	0,01	1,96
	$\bar{x}$	2	9,33 <sup>ghK</sup>	10,17 <sup>gijML</sup>	10,69 <sup>hikN</sup>	11,88 <sup>jkOP</sup>
	SD		1,38	0,47	0,59	0,68
	$\bar{x}$	4	11,58 <sup>gL</sup>	11,00 <sup>gM</sup>	12,13 <sup>gN</sup>	13,20 <sup>gP</sup>
	SD		0,50	1,04	0,70	1,69

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

## Wnioski

1. Zastosowanie do produkcji wyrobów mięsnych surowo dojrzewających o wysokiej zawartości tłuszczu (baleronów) dodatku bakterii probiotycznych *Lactobacillus acidophilus* Bauer i *Bifidobacterium bifidum* spowodowało zahamowanie procesów oksydacyjnych podczas fermentacji i czteromiesięcznego okresu przechowywania.

2. Z badanych szczepów probiotycznych szczep *Bifidobacterium bifidum* skuteczniej hamował procesy utleniania tłuszczu w porównaniu z *Lactobacillus acidophilus* Bauer.
3. Procesy oksydacyjne zachodzące w tłuszczu baleronów surowo dojrzewających w czasie ich przechowywania nie spowodowały istotnych zmian barwy tkanki mięśniowej i tłuszczowej.

### Literatura

- [1] Antequera T., Lopez-Bote C.J., Cordoba J.J., Garcia C., Asensio M.A., Ventanas, J., Garcia-Regueiro J.A., Diaz I.: Lipid oxidative changes in the processing of iberian pig hams. *Food Chem.*, 1992, **45**, 105-110.
- [2] Choe E., Min D.B.: Mechanisms of antioxidants in the oxidation of foods. *CRFSFS*, 2009, **8**, 345-358.
- [3] Coutron-Gambotti C., Gandemer G.: Lipolysis and oxidation in subcutaneous adipose tissue during dry-cured ham processing. *Food Chem.*, 1999, **64**, 95-101.
- [4] Folch J., Lees M., Sloane S.G.H.: A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J.Biol. Chem.*, 1957, **226**, 497-509.
- [5] Gambacorta, G., Sinigaglia, M., Schena, A., Baiano, A., Lamacchia, C., Patti, S, La Notte E.: Changes in free fatty acid and diacylglycerol compounds in short-ripening dry-cured sausage. *J. Food Lipids*, 2009, **16**, 1-18.
- [6] Hernandez P., Navarro J.L., Toldrá F.: Lipolytic and oxidative changes in two Spanish pork loin products: dry-cured loin and pickled-cured loin. *Meat Sci.*, 1999, **51**, 123-128.
- [7] Lin M.Y., Yen C.L.: Inhibition of lipid peroxidation by *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium longum*. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47**, 3661-3664.
- [8] Lorenzo J.M., Franco D.: Fat effect on physico-chemical, microbial and textural changes through the manufactured of dry-cured foal sausage lipolysis, proteolysis and sensory properties. *Meat Sci.*, 2012, **92**, 704-714.
- [9] Lücke F.K.: Utilization of microbes to process and preserve meat. *Meat Sci.* 2000, **56**, 105-115.
- [10] Martín-Sánchez, A.M., Chaves-López, C., Sendra, E., Sayas, E., Fenández-López, J., Pérez-Álvarez, J.A.: Lipolysis, proteolysis and sensory characteristics of a Spanish fermented dry-cured meat product (salchichón) with oregano essential oil used as surface mold inhibitor. *Meat Sci.*, 2011, **89**, 35-44.
- [11] Olivares A., Navarro J.L., Flores M.: Effect of fat content on aroma generation during processing of dry fermented sausages. *Meat Sci.*, 2011, **87**, 264-273.
- [12] Pikul J., Leszczyński D.E., Kummerow F.A.: Evaluation of three modified TBA methods for measuring lipid oxidation in chicken meat. *J. Agric. Food Chem.*, 1989, **37**, 1309-1313.
- [13] Piotrowska A., Świąder K., Waszkiewicz-Robak B., Świdorski F.: Możliwości uzyskania mięsa i przetworów z mięsa wieprzowego o podwyższonej zawartości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych n-3. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **5** (84), 5-19.
- [14] PN ISO 2917:2001. Mięso i przetwory mięsne. Pomiar pH. Metoda odwoławcza.
- [15] PN-EN ISO 3960:2012. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby nadtlenkowej. Jodometryczne (wizualne) oznaczanie punktu końcowego.
- [16] PN-EN ISO 6885:2008. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby anizydynowej.
- [17] PN-EN ISO 660:2010. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby kwasowej i zawartości wolnych kwasów tłuszczowych.
- [18] Stadnik J., Dolatowski Z.J.: Changes in selected parameters related to proteolysis during ageing of dry-cured pork loins inoculated with probiotic. *Food Chem.*, 2013, **139**, 67-71.



- [19] Toldrá F., Reig M.: Innovations for healthier processed meats. Trends Food Sci. Technol., 2011, **22**, 517-522.
- [20] Visessanguan W., Benjakul S., Riebroy S., Yarchai M., Tapingkae W.: Changes in lipid composition and fatty acid profile of Nham, a Thai fermented pork sausage, during fermentation. Food Chem., 2006, **94**, 580-588.
- [21] Wójciak K.M., Kołożyn-Krajewska D., Trzaskowska M., Dolatowski Z.J.: Effects on physico-chemical properties and oxidative stability of dry fermented sausages during chilling storage. Fleischwir. Int., 2013, **1**, 53-60.

**EFFECT OF *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS* (BAUER) AND *BIFIDOBACTERIUM BIFIDUM* ON CHANGES IN FAT IN DRY-FERMENTED MEAT PRODUCTS DURING STORAGE**

S u m m a r y

The objective of the research study was to assess the oxidative changes in dry-fermented meat products with the addition of probiotic bacteria of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* genere during four-month refrigeration storage.

Four experimental variants of the products were prepared: control sample without any probiotic strain added (K) and three samples with the addition of probiotic strains of *Lactobacillus acidophilus* Bauer (W1), *Bifidobacterium bifidum* (W2), *Lactobacillus acidophilus* Bauer, and *Bifidobacterium bifidum* in a 1: 1 mixture (W3). The meat was cured during a period of 72 hrs with use of a dry method and with a 3% curing mixture (sodium chloride, sodium nitrite, sodium nitrate) added. Next, 0.05% sodium ascorbate, 1.2% glucose, and probiotic bacteria, amounting to  $2 \times 10^6$  cfu/g of meat, were added. After ripening at a temperature of 16°C for 21 days, the products were vacuum-packed and stored at a temperature of 4 °C for 4 months. In the samples, the following parameters of adipose and muscle tissues were determined: active acidity (pH value), acid value, peroxide value, p-anisidine value, TBARS index, and colour parameters in the CIE L\*a\*b\* system.

It was found that in all the samples the acidity was on a similar level during the storage period. The lowest pH values were found in the W3 sample (after ripening– 5.41; after two months of storage - 5.20; after four months – 5.80). A statistically significant ( $p < 0.05$ ) increase was found in the acid value of all the samples during their storage. Almost a threefold increase in the content of free fatty acids (39.31 mg KOH/g of fat) was reported in the K control sample after 4-month storage compared to the value after 2-month storage (12.95 mg KOH/g of fat). The increase in all other samples was lower. The W2 sample was characterized by the lowest peroxide value (0.25 mEq/kg of fat) after 2-month storage; this value increased to 0.80 mEq/kg of fat after four months of cold storage. The TBARS value remained at a low level in all the samples during the first two months of storage. After that, it significantly ( $p < 0.05$ ) increased to 2.35 mg MDA/kg of product in the control sample after four month storage; however, in the W1, W2, and W3 samples with probiotic bacteria, it increased to 1.81, 0.97, and 1.16 mg MDA/kg of product, respectively. A spectrophotometric assessment of the colour parameters of the product did not show significant differences ( $p < 0.05$ ) among the L\*, a\*, b\* parameters of all the samples during the refrigeration storage period.

It was proved that the probiotic bacteria, added to dry-fermented pork necks during the production process, affected the inhibition of oxidative changes in those products during ripening and four-month storage.

**Key words:** dry-fermented pork necks, probiotics, fat oxidation, storage ☒

ANNA BAGNOWSKA, LUCJAN KRALA, AGNIESZKA NOWAK,  
JOANNA ORACZ

## WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWUTLENIAJĄCE CHITOZANU W KIELBASACH BEZ DODATKU AZOTANU(III)

### Streszczenie

Przesłanki teoretyczne wskazują, że dzięki dobrym właściwościom przeciwutleniającym chitozan może wchodzić w skład zestawu dodatków pozwalających na wyeliminowanie azotanu(III) z produkcji kielbas. Aktywność przeciwutleniająca chitozanu zależy od sposobu jego pozyskania, budowy cząsteczkowej oraz od właściwości materiału biologicznego, do którego został dodany.

Celem niniejszej pracy było określenie skuteczności przeciwutleniającej chitozanu o różnej masie cząsteczkowej, dodanego wraz z likopenem do wieprzowych kielbas średniorozdrobnionych, przechowywanych w warunkach chłodniczych przez 35 dni.

Właściwości przeciwutleniające chitozanu określono na podstawie wartości AV, zawartości MDA i kwasów tłuszczowych oraz parametrów barwy. Stwierdzono, że chitozan o masie cząsteczkowej  $135 \cdot 10^3$  Da charakteryzował się najsilniejszym oddziaływaniem przeciwutleniającym. Wraz z likopenem spełniał on funkcję ochronną przed zmianami oksydacyjnymi w kielbasach, w podobnym zakresie jak składniki tradycyjnej mieszanki peklowanej. Natomiast chitozan o masie cząsteczkowej  $68 \cdot 10^3$  Da wykazywał najsłabsze właściwości przeciwutleniające. Zmniejszenie zawartości kwasów PUFA w kielbasie z dodatkiem chitozanu o masie cząsteczkowej  $68 \cdot 10^3$  Da było około dwukrotnie większe (2,1 mg/g tłuszczu) niż w kielbasie z dodatkiem chitozanu o masie cząsteczkowej  $135 \cdot 10^3$  Da (1,1 mg/g tłuszczu). Stosunek kwasów tłuszczowych z szeregu *n-6* do *n-3* w badanych kielbasach był trzykrotnie wyższy niż pożądanym (12,9 - 16,3) i był charakterystyczny dla mięsa wieprzowego.

**Słowa kluczowe:** chitozan, kielbasy średniorozdrobnione, kwasy tłuszczowe, peklowanie

### Wprowadzenie

Chitozan jest łańcuchowym poliaminosacharydem otrzymywanym w reakcji deacetylacji chityny. Jego źródłem są przede wszystkim skorupiaki. Taki chitozan wystę-

---

*Mgr inż. A. Bagnowska, dr hab. inż. L. Krala, mgr inż. J. Oracz, Instytut Chemicznej Technologii Żywności, ul. Stefanowskiego 4/10, dr inż. A. Nowak, Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, Wydz. Biotechnologii i Nauk o Żywności, Politechnika Łódzka, ul. Wólczańska 171/173, 90-924 Łódź. Kontakt: anna.bagnowska1@gmail.com*

puje w postaci kompleksów z białkami, lipidami, barwnikami oraz solami mineralnymi [1]. Czysty polimer można otrzymać z alg morskich *Cylotella cryptica* oraz *Thalassiosira fluviatilis*. Bogatym źródłem chitozanu są także grzyby strzępkowe z klasy *Zygomycetes* [20].

Chitozan jest związkiem nietoksycznym, biodegradowalnym, biofunkcyjnym i biokompatybilnym. Istotną zaletą chitozanu jest to, że nie jest metabolizowany w przewodzie pokarmowym człowieka i może pełnić funkcję błonnika pokarmowego. Związek ten wykazuje również zdolność redukcji poziomu cholesterolu nawet o 20 – 30 % w organizmie człowieka [15, 19].

Aktywność przeciwutleniającą chitozanu w roztworach modelowych analizowano w wielu ośrodkach badawczych. Wykazano m.in., że dawka 0,1 mg/ml charakteryzowała się 50-procentową aktywnością [10]. Natomiast w badaniach właściwości przeciwutleniających chitozanu o różnym pochodzeniu udowodniono ścisłą zależność jego aktywności od stężenia w roztworze modelowym. Przy stężeniu 0,5 mg/ml aktywność przeciwutleniająca była niska i wynosiła  $19,1 \div 29,8$  %, natomiast przy stężeniu 25 mg/ml wynosiła aż  $85,4 \div 94,7$  % [15]. W badaniach *in vitro* wykazano również wpływ masy cząsteczkowej chitozanu na jego aktywność przeciwutleniającą [23]. Yen i wsp. [24, 25] także w badaniach roztworów modelowych wykazali wpływ stopnia deacetylacji chitozanu na jego właściwości przeciwutleniające, niezależnie od jego pochodzenia. Dotychczas nie badano jednak właściwości przeciwutleniających chitozanu dodanego do wieloskładnikowych produktów żywnościowych, w tym kielbas.

Likopen jest naturalnym barwnikiem, syntetyzowanym przez rośliny oraz mikroorganizmy, ale nie przez zwierzęta. Najbogatszym źródłem likopenu są pomidory. Unikatowe właściwości chemiczne likopenu związane są z jego budową. Jest on liniowym karotenoidem o 11 sprzężonych wiązaniach podwójnych, co czyni go związkiem silnie hydrofobowym. Ochronne działanie likopenu jest częściowo przypisywane jego właściwościom przeciwutleniającym i/lub zdolnościom inaktywowania tlenu singletowego. Likopen chroni organizm ludzki przed wieloma czynnikami chorobotwórczymi [14].

Celem badań było wykazanie przeciwutleniającego działania chitozanu na kielbasy wieprzowe, określenie wpływu masy cząsteczkowej na jego aktywność oraz podjęcie próby zastąpienia funkcji przeciwutleniającej i barwotwórczej azotanu(III) w kielbasach przez dodatek chitozanu i likopenu.

### **Material i metody badań**

Material badany stanowiły kielbasy wieprzowe, średniorozdrobnione, wędzone, otrzymane w warunkach laboratoryjnych z mięsa wieprzowego (klasa 1, 2a i 2b), solonego, z dodatkiem chitozanu i likopenu. Udział mięsa wieprzowego poszczególnych klas podano w tab. 1. Do rozdrobnionego mięsa, z wyjątkiem prób kontrolnych, doda-

wano chitozan o różnej średniej masie cząsteczkowej, wynoszącej  $135 \cdot 10^3$  Da,  $68 \cdot 10^3$  Da,  $45 \cdot 10^3$  Da oraz likopen (w celu uzyskania pożądanej barwy gotowego wyrobu). W doświadczeniach użyto chitozanu o nazwie handlowej Primex III Fg 90 ( $135 \cdot 10^3$  Da), produkcji islandzkiej firmy Primex. W celu zróżnicowania masy cząsteczkowej chitozan Primex III Fg 90 poddawano działaniu promieniowania jonizującego o dawce 14 kGy lub 25 kGy. Po obróbce radiacyjnej otrzymano dwie nowe frakcje chitozanu o średniej masie cząsteczkowej  $68 \cdot 10^3$  Da oraz  $45 \cdot 10^3$  Da. Średnią masę cząsteczkową trzech chitozanów określano na podstawie analizy chromatograficznej GPC, wykonanej w Instytucie Biopolimerów i Włókien Chemicznych w Łodzi. Analizowane frakcje chitozanów charakteryzowały się takim samym stopniem deacetylacji wynoszącym 82 % (deklaracja producenta). Próby kontrolne (A) stanowiły kiełbasy otrzymane z mięsa peklowanego w sposób tradycyjny, z wykorzystaniem typowej, azotanowej(III) mieszanki peklującej (peklosoli) [16]. W pozostałych wariantach zamiast peklosoli użyto soli warzonki.

Tabela 1. Udział mięsa wieprzowego poszczególnych klas w farszu kiełbas doświadczalnych.  
Table 1. Content of pork meat of respective classes in batter of experimental sausages

Surowiec Raw	Udział surowca [%] Percent content of raw material [%]
Mięso wieprzowe klasa 1 Pork of class 1	10
Mięso wieprzowe klasa 2a Pork class 2a	60
Mięso wieprzowe klasa 2b Pork of class 2b	30

Warianty kiełbas doświadczalnych oznaczono symbolami:

- A – kiełbasa kontrolna wytworzona z mięsa wieprzowego peklowanego tradycyjną mieszanką peklującą, zawierającą azotan(III),
- B – kiełbasa wytworzona z mięsa wieprzowego solonego z dodatkiem chitozanu o średniej masie cząsteczkowej  $135 \cdot 10^3$  Da i likopenu,
- C – kiełbasa wytworzona z mięsa wieprzowego solonego z dodatkiem chitozanu o średniej masie cząsteczkowej  $68 \cdot 10^3$  Da i likopenu,
- D – kiełbasa wytworzona z mięsa wieprzowego solonego z dodatkiem chitozanu o średniej masie cząsteczkowej  $45 \cdot 10^3$  Da i likopenu.

Mięso wieprzowe, w ustalonych proporcjach masowych (tab. 1), wstępnie rozdrabniano w wilku przez szarpak (typ PM-70, firmy MAINCA), dodawano do niego wodę, mieszankę peklującą lub sól, chitozan i likopen, w zależności od wariantu kiełbas (tab. 2), dokładnie mieszano z użyciem mieszalki (typ RM-20, firmy MAINCA) i pozostawiano na 24 h w komorze chłodniczej o temp.  $2 \div 4$  °C. Po tym czasie do

każdego farszu dodawano przyprawy smakowe (pieprz czarny mielony i czosnek – tab. 2). Każdy farsz dokładnie mieszano i napelniano nim osłonki naturalne o średnicy 28 ÷ 30 mm, przy użyciu nadziewarki (typ EC-12, firmy MAINCA).

Tabela 2. Ilość dodatków w farszu kielbas doświadczalnych.  
Table 2. Amount of additives in batter of experimental sausages.

Składnik Component	Kielbasa / Sausage			
	A	B	C	D
	Ilość dodatku [g/100 g mięsa] Amount of additive [g/100 g meat]			
Sól Salt	-	1,802	1,802	1,802
Peklosól Curing salt	1,802	-	-	-
Woda Water	15,4	15,4	15,4	15,4
Chitozan 135·10 <sup>3</sup> Da Chitosan 135·10 <sup>3</sup> Da	-	0,173	-	-
Chitozan 68·10 <sup>3</sup> Da Chitosan 68·10 <sup>3</sup> Da	-	-	0,173	-
Chitozan 45·10 <sup>3</sup> Da Chitosan 45·10 <sup>3</sup> Da	-	-	-	0,173
Likopen Lycopene	-	0,029	0,029	0,029
Pieprz mielony Ground pepper	0,193	0,193	0,193	0,193
Czosnek Garlic	0,385	0,385	0,385	0,385

Gotowe kielbasy wieszano na kijach wędzarniczych w celu osadzenia. Wszystkie kielbasy wędzono w tradycyjnym dymie olchowo-bukowym, w komorach wędzarniczo-parzelniczych, w Zakładzie Mięsnym „SuperDrob” w Łodzi. Obróbkę termiczną kończono po osiągnięciu wewnątrz batonów kielbas temp. 72 °C. Po zakończeniu wędzenia i parzenia kielbasy chłodzono pod natryskiem zimnej wody, a następnie przez owiewanie zimnym powietrzem do temp. 4 °C wewnątrz batonów. Po schłodzeniu poszczególne kielbasy pakowano próżniowo i przechowywano w komorze chłodniczej o temp. 3 ± 1 °C, w Zakładzie Technologii Chłodnictwa Żywności PŁ, przez pięć tygodni.

Zakres zmian oksydacyjnych i parametrów barwy kielbas doświadczalnych oceniano zaraz po schłodzeniu, następnie po 7, 21, 28 i 35 dobach przechowywania, na podstawie wyników analiz stężenia dialdehydu malonowego (MDA) [5], wartości liczby anizydynowej (AV) [17], profilu kwasów tłuszczowych metodą chromatografii

gazowej (GC) [4] oraz parametrów barwy w systemie CIE  $L^*a^*b^*$ , mierzonych przy użyciu kolorymetru Konica Minolta CR-400. W każdym terminie badań, z każdego wariantu kielbas do analiz pobierano po pięć próbek.

W celu dokonania analizy zmian oksydacyjnych i profilu kwasów tłuszczowych badane kielbasy rozdrabniano i suszono w liofilizatorze firmy CHRIST typ Delta 1-24 LSC, do końcowej zawartości wody 1 %. Przed liofilizacją próby mrożono przez 24 h w temp.  $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ , w celu stabilizacji temperatury w całej objętości próbki. Zasadniczy etap liofilizacji prowadzono przy ciśnieniu  $0,340 \div 0,430$  mbar i temp.  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ , zaś dosuszanie przy ciśnieniu  $0,050$  mbar i temp.  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Z liofilizatów ekstrahowano tłuszcz do analiz w aparacie Soxtec 2055, stosując jako rozpuszczalnik eter naftowy. Całkowity czas ekstrakcji wyniósł 1,5 h.

Analizę profilu kwasów tłuszczowych wykonywano przy użyciu chromatografu gazowego Varian 450-GC, z detektorem FID. Zastosowano kolumnę FactorFour VF-23 ms o wymiarach: długość 60 m, średnica wewnętrzna: 0,25 mm. Temperatura dozwornika wynosiła  $220\text{ }^{\circ}\text{C}$ , a detektora –  $250\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Objętość próbki wynosiła 1  $\mu\text{l}$ . Gazem nośnym był hel o objętościowym natężeniu przepływu  $1\text{ cm}^3/\text{min}$ .

Kąt tonu barwy (h) obliczano z równania:

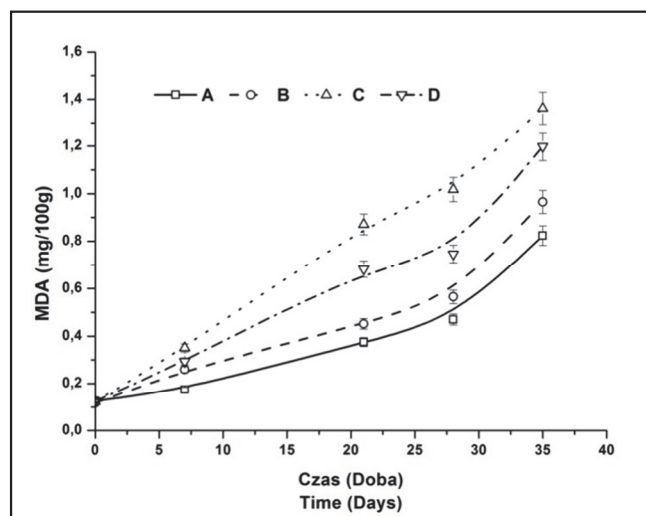
$$h = \frac{180}{\pi} \text{tg}^{-1} \left( \frac{b^*}{a^*} \right)$$

W celu ustalenia istotności różnic pomiędzy wynikami analiz wykonano jedno- i dwuczynnikową analizę wariancji oraz test istotności różnic NIR, na poziomie istotności  $p = 0,05$ , przy użyciu programu Statistica, wersja 10.

## Wyniki i dyskusja

Dobrym odzwierciedleniem stopnia zaawansowania zmian oksydacyjnych przetworów mięsnych, w tym kielbas, jest stężenie dialdehydu malonowego (MDA) oraz wartość liczby anizydynowej (AV), jako wskaźniki nagromadzenia wtórnych produktów oksydacji lipidów. Wyniki analiz tych wskaźników przedstawiono na rys. 1 i 2. Stwierdzono stopniowy wzrost zawartości dialdehydu malonowego we wszystkich kielbasach doświadczalnych (rys. 1). Najmniejszą zawartość MDA przez cały okres wykonywania analiz oznaczono w wariancie kielbasy A. Po porównaniu kielbas wytworzonych z mięsa solonego z dodatkiem różnego rodzaju chitozanów stwierdzono, że przed zmianami oksydacyjnymi najlepiej zabezpiecza je chitozan o masie cząsteczkowej  $135 \cdot 10^3$  Da (wariant B), zaś najslabiej – chitozan o masie cząsteczkowej  $68 \cdot 10^3$  Da (wariant C). Zmiany zawartości MDA w kielbasach A i B następowały podobnie, lecz różniły się od zmian stwierdzonych w kielbasach C i D. W przypadku liczby anizydynowej także wykazano stopniowy jej wzrost, przy czym w próbach A i B następował on z podobną szybkością (rys. 2). Przez cały okres przechowywania

najniższą wartość AV stwierdzono w próbie A, natomiast najwyższa utrzymywała się w próbie C. Zatem uzyskane wyniki potwierdzają hipotezę, że właściwości przeciwutleniające chitozanu zależą od jego masy cząsteczkowej. Chitozan o najwyższej z badanych średniej masy cząsteczkowej ( $135 \cdot 10^3$  Da) najlepiej chronił kielbasy przed zmianami oksydacyjnymi. Powyższe wyniki są odmienne od wyników badań innych autorów, wykonanych w układach modelowych [21, 22].



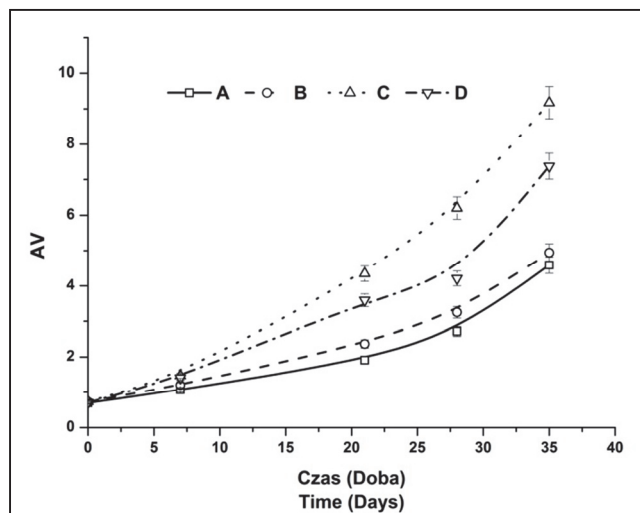
Rys. 1. Zmiany zawartości dialdehydu malonowego w tłuszczu przechowywanych kielbas doświadczalnych.

Fig. 1. Changes in concentration of malondialdehyde (MDA) in fat of experimental sausages stored.

Różnica ta potwierdza jednocześnie istotne znaczenie właściwości środowiska, tzn. materiału biologicznego, do którego został dodany chitozan. Na właściwości przeciwutleniające chitozanu wpływ mogły mieć również ewentualne interakcje między chitozaniem a likopenem, o udokumentowanych zdolnościach przeciwutleniających [14].

Udział najważniejszych pod względem walorów żywieniowych kwasów tłuszczowych, w poszczególnych grupach kwasów tłuszczowych, to jest kwasów nasyconych (SFA), nienasyconych (UFA) oraz wielonienasyconych (PUFA), przedstawiono w tab. 3., a w tab. 4. – zawartość głównych kwasów tłuszczowych, które występowały w największych ilościach w przechowywanych kielbasach doświadczalnych.





Rys. 2. Zmiany wartości liczby anizydynowej (AV) w tłuszczu kiełbas doświadczalnych.  
 Fig. 2. Changes in anisidine number value (AV) in fat of experimental sausages.

Porównując wyniki analiz wszystkich badanych wariantów kiełbas doświadczalnych można stwierdzić, że kwas oleinowy (C18:1) miał największy udział w całej puli kwasów tłuszczowych. Na początku okresu przechowywania kiełbas stanowił, w zależności od wariantu doświadczalnego, od 38,3 do 39,8 % ogólnej ilości kwasów tłuszczowych. Zatem można stwierdzić, że kwas C18:1 był głównym kwasem nienasyconym (UFA) zawartym w tłuszczu doświadczalnych kiełbas średnio rozdrobnionych. Oznaczone zawartości kwasu C18:1 są zgodne m.in. z wcześniejszymi wynikami Aguiary i wsp. [3]. Wśród nasyconych kwasów tłuszczowych (SFA) dominującym był kwas palmitynowy (C16:0). Bezpośrednio po wytworzeniu kiełbas stanowił  $32,1 \div 32,4$  % ogólnej ilości kwasów tłuszczowych tłuszczu kiełbas. Wartość ta jest wprawdzie wyższa od wartości podawanych przez innych badaczy [3, 6, 7, 11, 18], lecz charakterystyczna dla składu surowcowego wsadu mięsnego w kiełbasach doświadczalnych, tzn. mięsa wieprzowego. Głównym związkiem z grupy kwasów wielonienasyconych (PUFA) był kwas linolowy (C18:2). Po wytworzeniu kiełbas stanowił on  $7,4 \div 8,0$  % ogólnej zawartości kwasów tłuszczowych. Zbliżone wyniki przedstawili inni badacze [6, 11, 12, 18]. Stosunek PUFA z szeregu  $n-6$  do  $n-3$  w badaniach własnych był około trzykrotnie większy od wartości zalecanej przez dietetyków [2, 8]. Zawartość izomerów *trans* kwasów tłuszczowych w tłuszczu bezpośrednio po wytworzeniu kiełbas doświadczalnych była korzystnie mała i wynosiła  $0,28 \div 0,31$  %. Porównanie zawartości kwasów nasyconych (SFA), nienasyconych (UFA) oraz wielonienasyconych (PUFA) w tłuszczu przechowywanych kiełbas wskazuje na najkorzystniejsze działanie przeciwutleniające chitozanu o najwyższej ( $135 \cdot 10^3$  Da) masie

cząsteczkowej (kielbasa B). Dodatek tego chitozanu wpłynął na ochronę kielbas doświadczalnych przed utlenianiem zawartego w nich tłuszczu w podobny sposób jak azotan(III) obecny w składzie tradycyjnej mieszanki peklującej (kielbasa A). W miarę upływu czasu przechowywania kielbas zawartość w nich SFA stopniowo zwiększała się. Największy wzrost zawartości SFA stwierdzono w kielbasie C wytworzonej z mięsa peklowanego z dodatkiem chitozanu o średniej masie molekularnej ( $68 \cdot 10^3$  Da) i likopenu. Natomiast najmniejszy wzrost zawartości kwasów tłuszczowych SFA wykazano w kielbasach A i B. Podobne tendencje dotyczą zmian zawartości głównego SFA, to jest kwasu tłuszczowego C16:0. Zaobserwowano, że w miarę wydłużania okresu przechowywania kielbas doświadczalnych względna zawartość nienasyconych kwasów tłuszczowych UFA w tłuszczu powoli malała, co wskazuje na postęp zmian oksydacyjnych. Relatywnie największe zmniejszenie zawartości UFA stwierdzono w tłuszczu kielbas C. W kielbasach kontrolnych (A) wykazano o połowę mniejsze zmiany zawartości kwasów tłuszczowych UFA. W kielbasie B zmiany zawartości kwasów tłuszczowych UFA były nieznacznie większe niż w próbie kontrolnej, jednak różnica nie była statystycznie istotna ( $p \leq 0,05$ ). Zmiany zawartości kwasu tłuszczowego C18:1, głównego reprezentanta grupy kwasów UFA w tłuszczu kielbas doświadczalnych, kształtowały się podobnie do zmian zachodzących w całej grupie. W trakcie przechowywania analizowanych kielbas zmiany zawartości kwasu C18:2 kształtowały się w podobny sposób jak ogólna zawartość PUFA. Najmniejsze zmiany zawartości kwasu C18:2 wykazano w tłuszczu kielbas B, zaś największe zmniejszenie – w przypadku kielbas C. Najmniej zmniejszyła się zawartość całej puli kwasów wielonienasyconych (PUFA) w trakcie przechowywania kielbasy kontrolnej (A). Oznacza to, że dodatek azotanu(III) do mięsa w największym stopniu wpływał na ochronę wytworzonej z niego kielbasy przed zmianami oksydacyjnymi. Pod tym względem efektywność dodatku chitozanu o najwyższej masie cząsteczkowej (wariant kielbas B) była mniejsza. Głównym przedstawicielem PUFA z szeregu kwasów tłuszczowych *n-3*, występujących w badanych kielbasach, był kwas  $\alpha$ -linolenowy (C18:3). Zmniejszenie zawartości tego kwasu podczas chłodniczego przechowywania kielbas we wszystkich porównywanych przypadkach przebiegało w podobny sposób. W stosunku do prób kontrolnych (A) różnice nie były statystycznie istotne ( $p \leq 0,05$ ). Stosunek kwasów tłuszczowych z szeregu *n-6* do kwasów tłuszczowych PUFA z szeregu *n-3* przez cały okres przechowywania kielbas pozostawał na wysokim poziomie i wynosił od 12,8 do 15,1. Po pięciu tygodniach przechowywania najkorzystniejszy stosunek *n-6/n-3* zaobserwowano w próbach B i A. Iloraz ten był jednak dwukrotnie wyższy od wartości zalecanej przez dietetyków [2, 8]. W tłuszczu kielbas doświadczalnych, z wyjątkiem próby C, przez cały okres przechowywania zawartość izomerów *trans* kwasów

Tabela 3. Zawartość wybranych grup kwasów tłuszczowych podczas przechowywania kielbas doświadczalnych [mg/g tłuszczu].

Table 3. Content of selected groups of fatty acids while storing experimental sausages [mg/g fat].

Kwasy tłuszczowe Fatty acids	Wariant kielbasy Sausage variant	Czas [doba] Time [day]				
		0	7	21	28	35
SFA	A	47,0 <sup>a</sup> ± 1,5	47,7 <sup>a</sup> ± 1,6	47,7 <sup>a</sup> ± 1,6	48,5 <sup>a</sup> ± 1,5	49,3 <sup>a</sup> ± 1,5
	B	47,1 <sup>a</sup> ± 1,7	47,2 <sup>a</sup> ± 1,8	47,8 <sup>a</sup> ± 1,8	48,5 <sup>a</sup> ± 1,7	49,5 <sup>a</sup> ± 1,5
	C	43,4 <sup>b</sup> ± 1,8	44,5 <sup>b</sup> ± 1,6	47,1 <sup>a</sup> ± 1,6	48,6 <sup>a</sup> ± 1,8	50,4 <sup>c</sup> ± 1,3
	D	46,4 <sup>a</sup> ± 1,6	48,1 <sup>a</sup> ± 1,9	49,2 <sup>a</sup> ± 1,9	49,9 <sup>a</sup> ± 1,6	49,5 <sup>a</sup> ± 1,7
UFA	A	52,4 <sup>a</sup> ± 1,8	51,5 <sup>a</sup> ± 2,0	51,0 <sup>a</sup> ± 1,8	50,7 <sup>b</sup> ± 1,7	49,4 <sup>b</sup> ± 1,6
	B	53,3 <sup>a</sup> ± 1,9	53,0 <sup>a</sup> ± 1,7	52,0 <sup>a</sup> ± 2,1	51,5 <sup>a</sup> ± 1,9	50,2 <sup>b</sup> ± 1,9
	C	54,7 <sup>a</sup> ± 1,5	52,8 <sup>a</sup> ± 1,8	50,7 <sup>b</sup> ± 1,8	49,8 <sup>b</sup> ± 1,7	47,9 <sup>b</sup> ± 1,7
	D	54,9 <sup>a</sup> ± 1,9	52,7 <sup>a</sup> ± 1,9	52,6 <sup>a</sup> ± 1,7	52,3 <sup>a</sup> ± 2,1	50,5 <sup>b</sup> ± 2,0
MUFA	A	44,5 <sup>a</sup> ± 1,4	43,8 <sup>a</sup> ± 1,5	43,4 <sup>a</sup> ± 1,4	43,4 <sup>a</sup> ± 1,7	42,8 <sup>b</sup> ± 1,3
	B	44,6 <sup>a</sup> ± 1,7	44,5 <sup>a</sup> ± 1,4	44,4 <sup>a</sup> ± 1,3	43,8 <sup>a</sup> ± 1,6	42,7 <sup>b</sup> ± 1,6
	C	45,9 <sup>a</sup> ± 1,5	44,3 <sup>a</sup> ± 1,6	42,6 <sup>b</sup> ± 1,6	42,1 <sup>b</sup> ± 1,4	41,1 <sup>b</sup> ± 1,5
	D	45,7 <sup>a</sup> ± 1,7	44,8 <sup>a</sup> ± 1,5	44,7 <sup>a</sup> ± 1,2	44,6 <sup>a</sup> ± 1,5	42,8 <sup>b</sup> ± 1,7
PUFA	A	7,9 <sup>a</sup> ± 0,2	7,7 <sup>a</sup> ± 0,1	7,6 <sup>c</sup> ± 0,2	7,3 <sup>c</sup> ± 0,1	6,7 <sup>d</sup> ± 0,1
	B	8,7 <sup>b</sup> ± 0,3 <sup>b</sup>	8,4 <sup>b</sup> ± 0,3	7,6 <sup>c</sup> ± 0,2	7,6 <sup>c</sup> ± 0,3	7,6 <sup>c</sup> ± 0,1
	C	8,8 <sup>b</sup> ± 0,1 <sup>b</sup>	8,5 <sup>b</sup> ± 0,4	8,2 <sup>a</sup> ± 0,1	7,7 <sup>a</sup> ± 0,2	6,7 <sup>d</sup> ± 0,2
	D	9,1 <sup>b</sup> ± 0,2 <sup>b</sup>	7,9 <sup>a</sup> ± 0,1	7,9 <sup>a</sup> ± 0,1	7,7 <sup>a</sup> ± 0,1	7,7 <sup>a</sup> ± 0,1
Izomery <i>trans</i> <i>Trans</i> isomers	A	0,30 <sup>a</sup> ± 0,01	0,30 <sup>a</sup> ± 0,01	0,30 <sup>a</sup> ± 0,01	0,33 <sup>a</sup> ± 0,01	0,35 <sup>a</sup> ± 0,01
	B	0,31 <sup>a</sup> ± 0,02	0,31 <sup>a</sup> ± 0,01	0,32 <sup>a</sup> ± 0,01	0,33 <sup>a</sup> ± 0,02	0,35 <sup>a</sup> ± 0,01
	C	0,29 <sup>a</sup> ± 0,01	0,30 <sup>a</sup> ± 0,02	0,31 <sup>a</sup> ± 0,01	0,34 <sup>a</sup> ± 0,01	0,57 <sup>b</sup> ± 0,02
	D	0,28 <sup>a</sup> ± 0,01	0,31 <sup>a</sup> ± 0,01	0,31 <sup>a</sup> ± 0,02	0,31 <sup>a</sup> ± 0,01	0,35 <sup>a</sup> ± 0,01
PUFA <i>n</i> -3	A	0,50 <sup>a</sup> ± 0,02	0,49 <sup>a</sup> ± 0,02	0,49 <sup>a</sup> ± 0,02	0,49 <sup>a</sup> ± 0,01	0,46 <sup>a</sup> ± 0,01
	B	0,53 <sup>a</sup> ± 0,03	0,54 <sup>a</sup> ± 0,01	0,49 <sup>a</sup> ± 0,03	0,48 <sup>a</sup> ± 0,02	0,47 <sup>a</sup> ± 0,02
	C	0,54 <sup>a</sup> ± 0,01	0,53 <sup>a</sup> ± 0,01	0,52 <sup>a</sup> ± 0,01	0,51 <sup>a</sup> ± 0,01	0,42 <sup>c</sup> ± 0,01 <sup>c</sup>
	D	0,58 <sup>b</sup> ± 0,02	0,55 <sup>a</sup> ± 0,02	0,55 <sup>a</sup> ± 0,01	0,48 <sup>a</sup> ± 0,03	0,47 <sup>a</sup> ± 0,01
PUFA <i>n</i> -6	A	7,7 <sup>a</sup> ± 0,2	7,5 <sup>a</sup> ± 0,1	6,7 <sup>b</sup> ± 0,1	6,7 <sup>b</sup> ± 0,1	6,6 <sup>b</sup> ± 0,9
	B	8,0 <sup>a</sup> ± 0,1	7,0 <sup>a</sup> ± 0,1	7,0 <sup>a</sup> ± 0,2	6,8 <sup>b</sup> ± 0,2	6,8 <sup>b</sup> ± 0,8
	C	7,8 <sup>a</sup> ± 0,2	7,4 <sup>a</sup> ± 0,2	7,2 <sup>a</sup> ± 0,1	6,7 <sup>b</sup> ± 0,1	5,9 <sup>c</sup> ± 1,0 <sup>c</sup>
	D	7,4 <sup>a</sup> ± 0,1	6,8 <sup>b</sup> ± 0,2	6,7 <sup>b</sup> ± 0,2	6,4 <sup>b</sup> ± 0,2	5,8 <sup>c</sup> ± 1,1 <sup>c</sup>

c.d. tab. 3

PUFA <i>n-6/n-3</i>	A	14,4 <sup>a</sup> ± 0,9	14,1 <sup>a</sup> ± 0,7	14,1 <sup>a</sup> ± 0,7	13,5 <sup>b</sup> ± 0,6	12,9 <sup>c</sup> ± 1,8
	B	15,0 <sup>a</sup> ± 0,6	14,0 <sup>a</sup> ± 0,6	15,1 <sup>a</sup> ± 0,5	14,5 <sup>a</sup> ± 0,8	12,8 <sup>c</sup> ± 1,9
	C	14,4 <sup>a</sup> ± 0,7	14,4 <sup>a</sup> ± 0,8	13,4 <sup>b</sup> ± 0,8	13,4 <sup>b</sup> ± 0,4	16,3 <sup>d</sup> ± 1,6
	D	14,1 <sup>a</sup> ± 0,8	13,0 <sup>b</sup> ± 0,6	13,0 <sup>b</sup> ± 0,6	14,5 <sup>a</sup> ± 0,6	14,9 <sup>b</sup> ± 1,8

Objaśnienia: / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviations; n = 5

a, b, c, d – w obrębie jednej grupy kwasów tłuszczowych wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie na poziomie  $p \leq 0,05$  / within a group of fatty acids, mean values labeled by different superscripts differ significantly ( $p \leq 0,05$ ).

Tabela 4. Zawartość wybranych kwasów tłuszczowych w tłuszczu przechowywanych kiełbas doświadczalnych [mg/g tłuszczu].

Table 4. Content of selected fatty acids in fat of experimental sausages stored [mg/g fat].

Kwas tłuszczowy Fatty acid	Wariant kiełbasy Sausage variant	Czas [doba] Time [day]				
		0	7	21	28	35
C16:0	A	32,4 <sup>a</sup> ± 1,3	32,6 <sup>a</sup> ± 1,4	32,8 <sup>a</sup> ± 1,5	33,1 <sup>a</sup> ± 1,2	33,4 <sup>a</sup> ± 0,9
	B	32,1 <sup>a</sup> ± 1,9	32,5 <sup>a</sup> ± 1,6	32,6 <sup>a</sup> ± 1,3	32,9 <sup>a</sup> ± 0,8	33,0 <sup>a</sup> ± 1,2
	C	32,3 <sup>a</sup> ± 1,6	32,9 <sup>a</sup> ± 1,2	33,2 <sup>a</sup> ± 1,8	33,9 <sup>a</sup> ± 1,1	34,2 <sup>a</sup> ± 1,3
	D	32,4 <sup>a</sup> ± 1,5	32,8 <sup>a</sup> ± 0,9	33,2 <sup>a</sup> ± 1,1	33,2 <sup>a</sup> ± 0,9	33,8 <sup>a</sup> ± 0,9
C18:1	A	38,3 <sup>a</sup> ± 0,8	37,7 <sup>a</sup> ± 1,1	37,5 <sup>a</sup> ± 0,9	37,5 <sup>a</sup> ± 1,0	36,8 <sup>b</sup> ± 1,1
	B	38,5 <sup>a</sup> ± 0,9	38,2 <sup>a</sup> ± 1,4	38,1 <sup>a</sup> ± 1,3	37,8 <sup>a</sup> ± 1,3	36,9 <sup>b</sup> ± 1,5
	C	39,8 <sup>a</sup> ± 1,2	38,1 <sup>a</sup> ± 1,8	36,7 <sup>b</sup> ± 0,8	36,4 <sup>b</sup> ± 0,7	35,3 <sup>c</sup> ± 1,0
	D	39,4 <sup>a</sup> ± 1,0	38,8 <sup>a</sup> ± 1,2	38,6 <sup>a</sup> ± 1,2	38,6 <sup>a</sup> ± 0,9	37,0 <sup>a</sup> ± 0,8
C18:2( <i>n-6</i> )	A	7,2 <sup>a</sup> ± 0,1	6,9 <sup>a</sup> ± 0,2	6,8 <sup>a</sup> ± 0,1	6,5 <sup>c</sup> ± 0,1	5,9 <sup>d</sup> ± 0,1
	B	7,9 <sup>b</sup> ± 0,2	7,6 <sup>b</sup> ± 0,1	7,3 <sup>a</sup> ± 0,2	6,9 <sup>a</sup> ± 0,1	6,0 <sup>d</sup> ± 0,1
	C	7,8 <sup>b</sup> ± 0,1	7,6 <sup>b</sup> ± 0,2	6,9 <sup>a</sup> ± 0,1	6,8 <sup>a</sup> ± 0,2	6,8 <sup>a</sup> ± 0,3
	D	8,2 <sup>b</sup> ± 0,3	7,1 <sup>a</sup> ± 0,3	7,1 <sup>a</sup> ± 0,2	6,9 <sup>a</sup> ± 0,1	6,9 <sup>a</sup> ± 0,2
C18:3( <i>n-3</i> )	A	0,48 <sup>a</sup> ± 0,01	0,46 <sup>a</sup> ± 0,01	0,44 <sup>a</sup> ± 0,01	0,43 <sup>b</sup> ± 0,01	0,40 <sup>b</sup> ± 0,01
	B	0,52 <sup>a</sup> ± 0,02	0,49 <sup>a</sup> ± 0,02	0,49 <sup>a</sup> ± 0,01	0,42 <sup>b</sup> ± 0,02	0,41 <sup>b</sup> ± 0,02
	C	0,48 <sup>a</sup> ± 0,01	0,47 <sup>a</sup> ± 0,01	0,46 <sup>a</sup> ± 0,02	0,45 <sup>a</sup> ± 0,01	0,36 <sup>d</sup> ± 0,01
	D	0,52 <sup>a</sup> ± 0,02	0,49 <sup>a</sup> ± 0,03	0,43 <sup>b</sup> ± 0,01	0,42 <sup>b</sup> ± 0,01	0,41 <sup>b</sup> ± 0,01

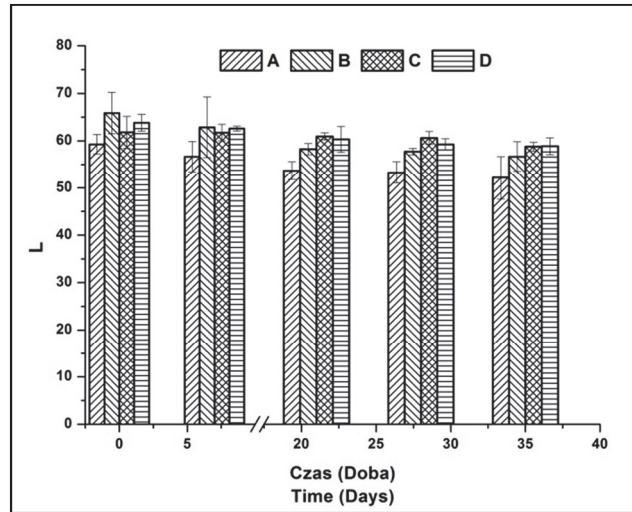
Objaśnienia jak w tabeli 3 / Explanatory notes as in table 3

tłuszczowych pozostawała na niezmiennym poziomie. W tłuszczu kiełbas C zawartość izomerów *trans*, w końcowym okresie przechowywania, wzrosła niemal dwukrotnie. Najmniej wzrosła zawartość izomerów *trans* w tłuszczu kiełbas B.

Podsumowując tę część badań można stwierdzić, że chitozan (o najwyższej masie cząsteczkowej –  $135 \cdot 10^3$  Da) wraz z likopenem dodane do farszu kiełbas w wariacie B wpływały na ochronę kwasów tłuszczowych przed zmianami oksydacyjnymi w podobnym stopniu jak azotan(III), obecny w składzie tradycyjnej mieszanki peklującej.

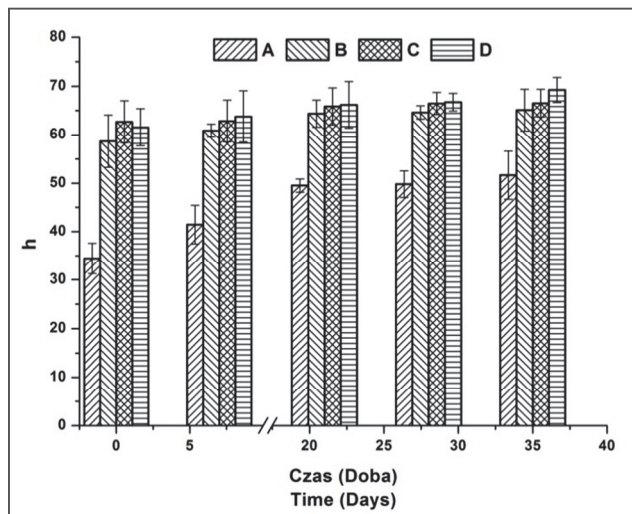
Podczas pięcioletniego przechowywania kiełbas doświadczalnych najmniejsze zmiany jasności barwy ( $L^*$ ) zaobserwowano w przypadku prób C (rys. 3). Najmniej stabilna pod tym względem okazała się kiełbasa A. Przez cały okres przechowywania kiełbasy wariantu C nie stwierdzono statystycznie istotnych ( $p \leq 0,05$ ) różnic jasności barwy. W przypadku kiełbas B i D zmiany te wystąpiły dopiero w ostatnim tygodniu przechowywania. Natomiast w kiełbasie A zaobserwowano je już w trzecim tygodniu. Nie wykazano statystycznie istotnych ( $p \leq 0,05$ ) różnic pomiędzy poszczególnymi odmianami chitozanu, zatem można stwierdzić, że średnia masa cząsteczkowa chitozanu nie miała wpływu na jasność badanych kiełbas doświadczalnych. Fernández-López i wsp. [11] stwierdzili, że na jasność mięsa wpływa oksydacja lipidów, która w niniejszych badaniach była hamowana przez dodatek chitozanu do kiełbas. Kąt tonu barwy ( $h$ ) okazał się najbardziej stabilny w przypadku kiełbasy B z dodatkiem chitozanu o średniej masie cząsteczkowej  $135 \cdot 10^3$  Da (rys. 4). Największe zmiany parametru  $h$  stwierdzono w kiełbasie C, do wyprodukowania której został użyty chitozan o masie molekularnej  $68 \cdot 10^3$  Da. W wariantach kiełbas B i D zmiany parametru  $h$  były nieistotne statystycznie ( $p \leq 0,05$ ). Natomiast w wariantach A i C istotne ( $p \leq 0,05$ ) zmiany wystąpiły w ostatnim tygodniu przechowywania.

Podsumowując ten fragment badań można stwierdzić, że masa cząsteczkowa chitozanu nie miała wpływu na zachowanie barwy badanych kiełbas. Dodatek chitozanu stabilizował barwę kiełbas barwionych likopenem. Do wytworzenia charakterystycznej barwy peklowanego mięsa konieczna jest obecność przynajmniej niewielkiego stężenia azotanów(III) w mieszance peklującej.



Rys. 3. Zmiany wartości jasności ( $L^*$ ) barwy podczas chłodniczego przechowywania kiełbas doświadczalnych.

Fig. 3. Changes in colour lightness ( $L^*$ ) during refrigerated storage of experimental sausages



Rys. 4. Zmiany wartości kąta tonu (h) podczas chłodniczego przechowywania kiełbas doświadczalnych.

Fig. 4. Changes in hue (h) value during refrigerated storage of experimental sausages.

## Wnioski

1. Chitozan dodany wraz z likopenem do farszu mięsnego wpłynął na spowolnienie procesu oksydacji lipidów w czasie chłodniczego przechowywania wędzonych kielbasach parzonych.
2. Przeciwwutleniające oddziaływanie chitozanu zależało od jego średniej masy cząsteczkowej oraz od właściwości środowiska.
3. Najsilniejsze oddziaływanie przeciwwutleniające wykazywał chitozan o średniej masie cząsteczkowej  $135 \cdot 10^3$  Da. Wraz z likopenem spełniał funkcję ochronną przed zmianami oksydacyjnymi w kielbasach w podobnym zakresie jak azotanowa mieszanka pekująca.
4. Wielonienasycone kwasy tłuszczowe (PUFA) były najlepiej zachowane w wariantach kielbas, w których zastosowano mieszaninę chitozanu o średniej masie cząsteczkowej  $135 \cdot 10^3$  Da i likopenu.
5. W celu uzyskania pożądanej barwy kielbas z dodatkiem chitozanu i likopenu konieczny jest dodatek azotanu(III) do peklowanego mięsa.

## Literatura

- [1] Abdou E.S., Nagy K.S.A., Elsabee M.Z.: Extraction and characterization of chitin and chitosan from local sources. *Biores. Technol.* 2008, **99**, 1359-1369.
- [2] Achremowicz B., Korus J.: Potrzeba regulacji zawartości izomerów trans kwasów tłuszczowych w żywności. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **52**, **3**, 5-14.
- [3] Aguiar A.P.S., Contreras-Castillo C., Baggio S., Vicente E.: Meat quality of broilers from different rearing systems. *Ital. J. Food Sci.*, 2008, **20**, **2**, 213-223.
- [4] AOAC: Official Methods of Analysis. 15th Edition. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, 1990.
- [5] AOCS: Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. 4th Ed. Am. Oil Chem. SOC. Champaign, IL 1990.
- [6] Araújo W.A.G., Albino L.F.T., Sakomura N.K., Paulino P.V.R., Campos A.M.: Meat quality in "in door" and "out door" production systems of poultry and swine. *Open J. Animal Sci.*, 2011, **1**, **3**, 75-88.
- [7] Basso L.R., Moisés S., Brunori J.: Calidad de carne diferencial de cerdos producidos em sistemas al aire libre. *Proc. of the IX encuentro de nutrición y producción en animales monogástricos*, Montevideo, 2007, pp. **325**, 63-67.
- [8] Chemists' Society. 4th Ed. Am. Oil Chem. SOC. Champaign, IL 1989.
- [9] Cichosz G.: Oleje roślinne a zagrożenia nowotworami. *Przeł. Mlecz.*, 2008, **6**, 4-12.
- [10] Duh P.-D., Du P.-Ch., Yen G.-Ch.: Action of methanolic extract of mung bean hulls as inhibitors of lipid peroxidation and non-lipid oxidative damage. *Food and Chem. Toxicol.*, 1999, **37**, **11**, 1055-1061.
- [11] Fernández-López J., Sevilla L., Sayas-Barberá E., Navarro C., Marin F., Pérez-Alvarez J.A.: Evaluation of the antioxidant potential of hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extracts in cooked and pork meat. *J. Food Sci.*, 2003, **68**, **2**, 660-664.



- [12] Franci O., Bozzi R., Pugliese C., Acciaioli A., Campodoni G., Gandini G.: Performance of *Cinta Senese* pigs and their crosses with Large White. 1 Muscle and subcutaneous fat characteristics. *Meat Sci.*, 2005, **69**, **3**, 545-550.
- [13] Hoffman L.C., Styger E., Muller M., Brand T.S.: The growth and carcass and meat characteristics of pigs raised in a free-range or conventional housing system. *South African J. Animal Sci.*, 2003, **33**, **3**, 166-175.
- [14] Leoni, C.: Focus on lycopene. *Acta Horticulturae*, 2003, 613, 357-363.
- [15] Mau J.-L., Chang Ch.-N., Huang S.-J., Chen Ch.-Ch.: Antioxidant properties of methanolic extracts from *Grifola frondosa*, *Morchella esculenta* and *Termitomyces albuminosus* mycelia. *Food Chem.*, 2004, **87**, **1**, 111-118.
- [16] Muzzarelli R.A.A.: Chitosan – based dietary foods. *Carbohydr. Polym.*, 1996, **29**, **4**, 304-316.
- [17] Pisula A., Pospiech E.: Mięso – podstawy nauki i technologii. Wyd. SGGW. Warszawa, 2011, ss. 322-340.
- [18] PN-EN ISO 6885:2008. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby anizydynowej.
- [19] Pugliese C., Bozzi R., Campodoni G., Acciaioli A., Franci O., Gandini G.: Performance of *Cinta Senese* pigs reared outdoors and indoors.: 1. Meat and subcutaneous fat characteristics. *Meat Sci.*, 2005, **69**, **3**, 459-464.
- [20] Shahidi F., Arachchi J.K.V., Jeon Y.-J.: Food application of chitin and chitosan. *Trends Food Sci. Technol.*, 1999, **10**, **2**, 37-51.
- [21] Tan S.Ch., Tan T.K., Wong S.M., Khor E.: The chitosan yield of *Zygomycetes* at their optimum harvesting time. *Carbohydr. Polym.*, 1996, **30**, **4**, 239-242.
- [22] Tomida H., Fujii T., Furutani N., Michihara A., Yasufuku T., Akasaki K., Maruyama T., Otagiri M., Gebicki J.M., Anraku M.: Antioxidant properties of some different molecular weight chitosans. *Carbohydr. Res.*, 2009, **344**, **13**, 1690-1696.
- [23] Xing R., Liu S., Guo Z., Yu H., Wang P., Li C., Li Z., Li P.: Relevance of molecular weight of chitosan and its derivatives and their antioxidant activities *in vitro*. *Bioorg. Med. Chem.*, 2005, **13**, **5**, 1573-1577.
- [24] Yen M.-T., Tseng Y.-H., Li R.-Ch., Mau J.-L.: Antioxidant properties of fungal chitosan from shiitake stipes. *LWT - Food Sci. Technol.*, 2007, **40**, **2**, 255-261.
- [25] Yen M.-T., Yang J.-H., Mau J.-L.: Antioxidant properties of chitosan from crab shells. *Carbohydr. Polym.*, 2008, **74**, **4**, 840-844.

#### ANTIOXIDANT PROPERTIES OF CHITOSAN IN SAUSAGES WITHOUT NITRATE (III) ADDED

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

Theoretical assumptions suggest that chitosan might be, owing to its good antioxidant properties, a component of a set of additives, which are able to eliminate a nitrate(III) compound from the production of sausages. The antioxidant activity of chitosan depends on the method of how it is obtained, on its molecular structure, and on the properties of biological material, to which it was added.

The objective of the research study was to determine the antioxidant effectiveness of chitosan with different molecular weight values that was added, together with lycopene, to medium-comminuted pork sausages stored under the refrigeration conditions for 35 days.

The antioxidant properties of chitosan were determined based on: the AV values, MDA concentration and content of fatty acids, and colour parameters. It was shown that the chitosan of a molecular weight of  $135 \cdot 10^3$  Da, was characterized by the strongest antioxidant activity. Together with the lycopene, it acted as

an agent protecting against oxidative changes, and its protective range was similar to that of the traditional curing mix. On the other hand, the chitosan of a molecular weight of  $68 \cdot 10^3$  Da had the weakest antioxidant properties. The decrease in the content of PUFAs in the sausages with the added chitosan of a molecular weight of  $68 \cdot 10^3$  Da was about twice as high (2.1 mg/g fat) compared to the sausages with the added chitosan of a molecular weight of  $135 \cdot 10^3$  Da (1.1 mg/g of fat). In the sausages analyzed, the ratio between the *n-6* series and *n-3* series fatty acids in the sausages tested was three times higher than the desired ratio (12.9 - 16.3 ), and it was typical for the pork meat.

**Key words:** chitosan, medium-comminuted sausages, fatty acids, curing ☒

WIESŁAWA GRZESIŃSKA, MARZENA TOMASZEWSKA, BEATA BILSKA,  
JOANNA TRAFIAŁEK

## OPTIMALIZACJA UWARUNKOWAŃ WYBORU SYSTEMU DYSTRYBUCJI POSIŁKÓW W ŻYWIENIU SZPITALNYM

### Streszczenie

W żywnieniu szpitalnym wykorzystywane są dwa systemy dystrybucji posiłków: tacowy (indywidualny) oraz bemarowy (zbiorczy). Przy wyborze systemu zwraca się uwagę na opłacalność inwestycji, jak też na funkcjonalność jego wprowadzenia.

Celem pracy była analiza porównawcza dwóch systemów dystrybucji potraw: tacowego i bemarowego, na przykładzie nowo projektowanego wojewódzkiego szpitala specjalistycznego. Przy porównaniu dwóch systemów uwzględniono czynniki: organizacyjne (powierzchnia działu ekspedycyjnego, wyposażenie technologiczne) oraz ekonomiczne (koszt: powierzchni użytkowej działu ekspedycyjnego, wyposażenia technologicznego, energii elektrycznej). Już na etapie inwestycji, ze względów ekonomicznych, jako bardziej preferowany należy wskazać system tacowy. Pomimo, że szacunkowy koszt wyposażenia technologicznego w tym systemie jest wyższy, to nakłady związane z budową i wykończeniem wnętrza są niższe w porównaniu z systemem bemarowym. W pracy zwrócono także uwagę na pobór energii elektrycznej, niezbędnej do eksploatacji urządzeń. Wyposażenie technologiczne zaproponowane w tacowym systemie dystrybucji pozwala znacząco obniżyć miesięczny koszt jej zużycia.

Na podstawie analizy czynników organizacyjnych i ekonomicznych szpitala projektowanego dla 600 pacjentów stwierdzono, że za rekomendowany sposób żywienia w takiej placówce należy uznać indywidualny system dystrybucji posiłków.

**Słowa kluczowe:** żywienie szpitalne, dystrybucja posiłków, bemarowy system dystrybucji posiłków, tacowy system dystrybucji posiłków

### Wprowadzenie

Szpitalne są szczególnym rodzajem obiektów, w których w ciągu roku leczonych jest około 17 % ogółu ludności [26]. Dzięki odpowiednio zbilansowanej diecie możli-

---

*Dr inż. W. Grzesińska, dr inż. M. Tomaszewska, dr inż. B. Bilaska, dr inż. J. Trafiątek, 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: wieslawa\_grzesinska@sggw.pl*

we jest skrócenie czasu hospitalizacji, co pozwala obniżyć całkowite koszty leczenia o 30 ÷ 50 % [8], a nawet do 75 % [18]. Według raportu NIK [18] żywienie w szpitalach jest często niedostosowane do potrzeb pacjentów, ich stanu odżywienia oraz jednostki chorobowej. Podobnych obserwacji dokonały Pokrzywa i Cieślak [20]. Posiłki wydawane pacjentom w szpitalach powinny być nie tylko odpowiednio zbilansowane i dostosowane do jednostki chorobowej, ale także o właściwej jakości sensorycznej oraz bezpieczne dla zdrowia konsumentów [24].

Jak podaje Konecka-Matyjek [14], środowisko kuchni szpitalnej może być przyczyną rozprzestrzeniania się drobnoustrojów odpowiedzialnych za zakażenia szpitalne. Pacjenci przebywający na oddziałach szpitalnych wykazują zazwyczaj obniżoną sprawność układu odpornościowego. Dlatego też posiłki przeznaczone dla nich powinny cechować się odpowiednią wartością odżywczą, a zwłaszcza jakością mikrobiologiczną [15].

Jeden z etapów procesu technologicznego, który w praktyce żywienia szpitalnego wyznaczany jest jako krytyczny punkt kontrolny w ramach systemu HACCP, to dystrybucja gotowej potrawy przed wydaniem pacjentom [24].

Obecnie, w żywieniu szpitalnym funkcjonują dwa systemy dystrybucji potraw: bemaowy (zbiorczy) oraz tacy (indywidualny). System bemaowy jest powszechnie wykorzystywany w polskim żywieniu szpitalnym. W raporcie NIK wskazano, że aż 76 % szpitali stosuje system zbiorczy dystrybucji posiłków na oddziały szpitalne [18]. Ten sposób dystrybucji polega na przygotowaniu posiłków w kuchni centralnej i transporcie na oddziały w pojemnikach gastronomicznych z użyciem wózków jezdnych lub termosów. System zbiorczy wymaga dodatkowego zaprojektowania kuchenek oddziałowych, w których porcuje się posiłki i przygotowuje napoje [4].

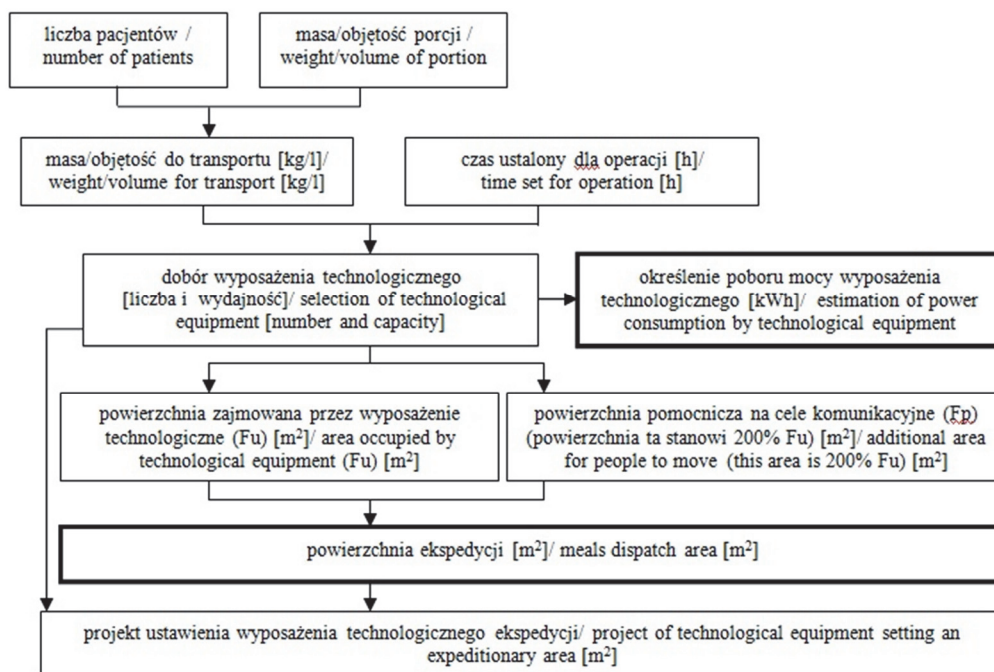
Tacy system dystrybucji polega na kompletowaniu zestawów zgodnie z indywidualnymi dietami pacjentów na terenie kuchni centralnej, skąd są ekspediowane na poszczególne oddziały. System tacy wymaga organizacji centralnej zmywalni, w której myte są wózki, tace oraz wszystkie elementy zastawy stołowej powracające z oddziałów szpitala [23]. W raporcie NIK [18] wskazano, że zaledwie 12 % szpitali stosuje tacy system dystrybucji posiłków, a 11 % – system mieszany. W Stanach Zjednoczonych scentralizowany system produkcji i dystrybucji posiłków z zastosowaniem systemu tacy funkcjonuje w 81 % szpitali. W Wielkiej Brytanii bardziej powszechnym systemem dystrybucji potraw jest system zbiorczy (37 % szpitali), ale system tacy wykorzystywany jest w niewiele mniejszym stopniu (35 %). W pozostałych 28 % szpitali stosuje się kombinację tych dwóch systemów dystrybucji [6].

Przy wyborze systemu zwraca się uwagę nie tylko na opłacalność inwestycji, ale również na funkcjonalność jej wprowadzenia. Zatem zasadniczym zagadnieniem jest dobór odpowiedniego systemu dystrybucji potraw na oddziały szpitalne, uwzględniający szereg uwarunkowań zarówno natury organizacyjnej, jak i ekonomicznej.

Celem pracy była analiza porównawcza, ekonomiczno-organizacyjna dwóch systemów dystrybucji potraw: tacowego i bemarowego, na przykładzie nowo projektowanego wojewódzkiego szpitala specjalistycznego.

### Material i metody badań

Założono, że analizowana kuchnia szpitalna będzie przygotowywała i ekspediowała posiłki na 17 oddziałów o łącznej liczbie 600 łóżek. Do analizy porównawczej przyjęto występowanie centralnej zmywalni naczyń stołowych w obu systemach dystrybucji. Jedynie w przypadku 3 oddziałów tj. obserwacyjno-zakaźnego, położniczo-ginekologicznego i dziecięcego (łącznie 130 łóżek) przewidziano w przypadku obu systemów kompleks pomieszczeń: kuchenka oddziałowa i zmywalnia naczyń stołowych, ze względu na podwyższone ryzyko zakażeń. W systemie tacowym przyjęto kompletację na terenie kuchni. Natomiast w systemie bemarowym zaplanowano 14 kuchenek oddziałowych.

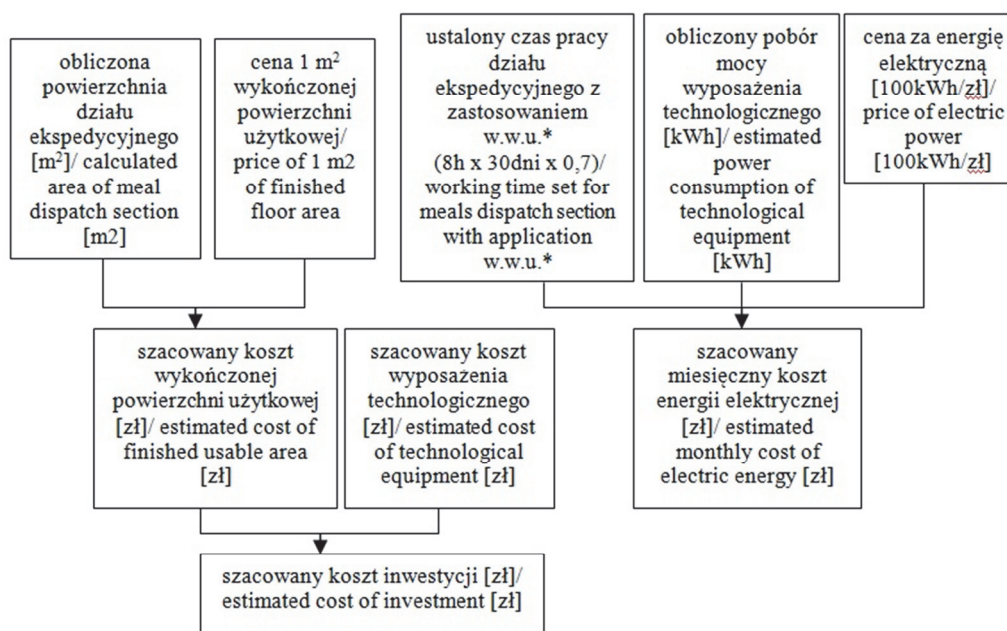


Rys. 1. Schemat uzyskania danych w zakresie organizacyjnym.

Fig. 1. Method of data obtaining in a organizational scope.

Źródło: Opracowanie własne na podst.: / Author's own elaboration based on: [3, 23]

Schemat uzyskania danych niezbędnych do analizy porównawczej w zakresie organizacyjnym oraz ekonomicznym przedstawiono odpowiednio na rys. 1. i 2. Dane niezbędne do obliczenia powierzchni zajmowanej przez wyposażenie technologiczne, określenia poboru mocy oraz kosztu wyposażenia uzyskano z katalogów producentów sprzętu gastronomicznego.



Objaśnienie: / Explanatory note:

\*w.w.u. - współczynnik wykorzystania urządzenia/ coefficient of equipment utilization

Rys. 2. Schemat uzyskania danych w zakresie ekonomicznym.

Fig. 2. Diagram of acquisition of data ref. to economic aspects.

Źródło: Opracowanie własne / Source: the author's own study

## Wyniki i dyskusja

W tab. 1. przedstawiono, dobrane zgodnie z metodyką, urządzenia niezbędne do kompletacji posiłków w obu systemach dystrybucji. Dobór sprzętu uwzględnia różnorodność wydawanych posiłków. W systemie indywidualnym zastosowano tylko 470 tac izotermicznych, ponieważ odliczono liczbę pacjentów obsługiwanych przez kuchenki na 3 oddziałach o podwyższonym ryzyku.

Tabela 1. Specyfikacja sprzętu uwzględnionego przy szacowaniu powierzchni działu ekspedycji w systemie indywidualnym i zbiorczym.

Table 1. Specification of equipment units included in the estimation of surface area of meal dispatch section in individual and collective systems.

Wyszczególnienie Specification	Wyposażenie Equipment	Liczba [szt] Quantity [pcs]	Powierzchnia pomieszczenia Surface area of space [m <sup>2</sup> ]	Pobór mocy [kWh/szt.] Power consumption [kWh/pcs]/	Łączny pobór mocy [kW/h] Power consumption in total [kWh]
System indywidualny / Individual system					
Obszar kompletacji / Completion area	wózki koszowe niepodgrzewane / closed (neutral) platform dispenser trolleys (non-heated)	4	96		43,75
	wózki do transportu i wydawania tac / food transportation & tray dispensing trolleys	24			
	podgrzewany dyspenser do talerzy / round pipe plate dispenser (heated)	4		1,8	
	wózki koszowe podgrzewane closed platform trolleys (heated)	4		1,8	
	przebieg taśmowy conveyor belt	1		4,0	
	regaly jezdne na poj. GN high design rack trolleys for GN	3			
	tace termoizolacyjne thermo-insulated trays	470			
	wózek platformowy open platform dispenser trolley	9			
	bemar 3xGN1/1 bain marie 3xGN 1/1	7		2,1	
	wózek transportowy 2-półkowy 2-shelf serving trolley	3			
	wózek niepodgrzewany neutral trolley (non-heated)	4			
	termos jednoczęściowy one piece thermos	4			
	wózek do termosów trolley for thermoses	2			



	ekspres do kawy przelewowy, poj. 2,2 l / filter coffee ma- chine, its capacity 2.2 l	1		2,1	
	stół szkieletowy / framework table	1			
	Wózek bemarowy 3xGN1/1 z podgrzewanymi szafkami bain marie trolley, 3xGN 1/1, with heated cupboards	3		2,85	
Kuchnia i zmywalnia Kitchen and dishwashing room (o. o. p. r.)*	umywalka do rąk hand washbasin	3			
	trzon kuchenny 4-palnikowy elektryczny / electric 4-hotplate range	3		9,3	
	stół roboczy ze zlewem 1-komorowym / working 1-chamber table with sink	3			
	okap /ventilation hood	3		2,8	
	stół roboczy / working table	3			
	stół roboczy z szafkami working table with cupboards	6	90		81,3
	zmywarka do naczyń z opcją wyparzania / dishwasher with scalding function	3		10,5	
	stół ze zlewem 1-komorowym 1-chamber table with sink	3			
	pojemnik na odpadki waste container	3			
	stół odstawczy / side table	3			
	sterylizator przelotowy pass-through sterilizer	3		4,5	
Ogółem: / In total			186		125,05
System zbiorczy / Collective system					
Obszar kompletacji Completion area	wózek bemarowy 3xGN 1/1 z podgrzewanymi szafkami bain marie trolley, 3xGN 1/1, with heated cupboards	17		2,85	
	stół roboczy / working table	9	40		50,55
	wózek transportowy 2-półkowy 2-shelf serving trolley	14			
	termos jednoczęściowy one piece thermos	4			

	wózek do termosów trolley for thermoses	2			
	ekspres do kawy przelewowy, poj. 2,2 l / filter coffee ma- chine, its capacity 2.2 l	1		2,1	
Kuchnia i zmywalnia Kitchen and dishwashing room (o. o. p. r)*	umywalka do rąk hand washbasin	3	90		81,3
	trzon kuchenny 4-palnikowy elektryczny / electric 4-hotplate range;	3		9,3	
	stół roboczy ze zlewem 1-komorowym / working table with 1-chamber sink	3			
	okap / ventilation hood	3		2,8	
	stół roboczy / working table	3			
	stół roboczy z szafkami working table with cupboards	6			
	zmywarka do naczyń z opcją wyparzania / dishwasher with scalding fuction	3		10,5	
	stół ze zlewem 1-komorowym table with 1-chamber sink	3			
	pojemnik na odpadki waste container	3			
	stół odstawczy / side table	3			
	sterylizator przelotowy pass-through sterilizer	3		4,5	
	Kuchnie oddziałowe Ward kitchens	trzon kuchenny 4-palnikowy/ electric 4-hotplate range		14	
stół roboczy ze zlewem 1-komorowym / working table with 1-chamber sink		14			
stół roboczy z półką working table with 1 shelf		14			
regał z półkami perforowanymi rack with perforated shelves		14			
pojemnik na odpadki waste container		14			
umywalka do rąk hand washbasin		14			
okap / ventilation hood		14	2,8		
Ogółem / Total			298		301,25

Objaśnienie: / Explanatory note:

\* O. o P.R – Oddział o Podwyższonym Ryzyku / Department with Increased Risk

Źródło: Opracowanie własne na podst.: /The author's own study based on: [10, 11, 12, 13]

Jak wynika z porównania (tab. 1), system bemarowy wymaga większej powierzchni (o 112 m<sup>2</sup>) oraz większego zużycia mocy przez wyposażenie (o 176,2 kWh) w porównaniu z systemem tacowym. Różnice te wynikają z konieczności zaprojektowania i budowy 14 kuchenek oddziałowych niezbędnych przy zbiorczym systemie dystrybucji żywności. Konieczność zaplanowania łącznie 17 kuchni oddziałowych sprawiła, że sumaryczna powierzchnia pomieszczeń wchodzących w skład działu ekspedycyjnego w przypadku systemu zbiorczego (bemarowego) jest o 37,6 % większa w porównaniu z powierzchnią pomieszczeń w systemie indywidualnym. Powoduje to zwiększenie kosztów inwestycyjnych związanych z wybudowaniem i wykończeniem powierzchni użytkowej. Koszty te przedstawiono w tab. 2. Z analizy wynika, że na powierzchnię w systemie dystrybucji zbiorczej należy przeznaczyć o 672 000 zł więcej w stosunku do kosztów wykończonej powierzchni przy indywidualnym systemie dystrybucji.

Odwrotną tendencję stwierdzono przy analizie kosztów wyposażenia technologicznego. Sporządzony na podstawie aktualnych cenników producentów profesjonalnego wyposażenia gastronomicznego [10, 11, 12, 13] kosztorys urządzeń obu systemów dystrybucji pozwala stwierdzić, że nakład finansowy na wprowadzenie systemu indywidualnego jest o 46,5 % większy w porównaniu z systemem zbiorczym (tab. 2).

Ogólny koszt inwestycyjny, obejmujący sumę szacowanego kosztu wykończonej powierzchni oraz kosztu wyposażenia, w przypadku indywidualnego systemu dystrybucji posiłków jest o 6 % (149 200 zł) mniejszy w porównaniu z systemem zbiorczym. Zatem już na etapie inwestycji tacowy system dystrybucji posiłków należy uznać za bardziej korzystny ze względów ekonomicznych. Tendencja ta znajduje również odzwierciedlenie w analizie szacowanego miesięcznego kosztu zużycia energii elektrycznej. Zapotrzebowanie na energię elektryczną wyposażenia technologicznego używanego w tacowym systemie dystrybucji potraw jest prawie o połowę mniejsze w porównaniu z systemem zbiorczym (tab. 1). System tacowy pozwala zmniejszyć o 58,5 % miesięczny koszt zużycia energii elektrycznej w porównaniu z systemem bemarowym (tab. 2). Wobec konieczności oszczędzania energii, argument ten może się okazać niezwykle istotny przy podejmowaniu decyzji dotyczącej wyboru systemu dystrybucji posiłków.

Dystrybucja posiłków w szpitalu jest procesem bardzo złożonym i trudnym do przeprowadzenia. Zadaniem osób odpowiedzialnych za budżet działu żywienia w szpitalu jest przede wszystkim efektywna kontrola kosztów. Zastosowany system dystrybucji powinien być wydajny i korzystny [2]. Korzyści mogą być rozumiane jako eko-

nomiczne i pozaekonomiczne. Przeprowadzona analiza ekonomiczna wskazuje na system indywidualny jako tańszy od zbiorczego.

Tabela 2. Zestawienie systemu dystrybucji indywidualnej i zbiorczej pod względem szacowanej powierzchni ekspedycyjnej, szacowanego kosztu wyposażenia i szacowanego poboru mocy.

Table 2. List of individual and collective distribution systems from the point of view of estimated dispatch area, estimated equipment costs, and estimated electric power consumption.

Pomieszczenie Space	Szacowany koszt wykończonej powierzchni <sup>1</sup> Estimated cost of finished space area <sup>1</sup> [zł]	Szacowany koszt wyposażenia technologicznego <sup>2</sup> Estimated cost of technological equipment <sup>2</sup> [zł]	Szacowany miesięczny koszt energii elektrycznej <sup>3</sup> Estimated monthly cost of electric power consumption <sup>3</sup> [zł]
Dystrybucja indywidualna / Individual distribution			
Obszar ekspedycyjny Dispatch space	576 000	990 600	4 631
3 kuchenki i zmywalnie O. o.P.R <sup>4</sup> 3 kitchens and dishwashing spaces O. o P. R <sup>4</sup> .	540 000	134 600	8 605
Suma / Total	1 116 000	1125 200	13 236
Dystrybucja zbiorcza / Collectiv distribution			
Obszar ekspedycyjny Expedition area	240 000	310 000	5 350
14 kuchenek oddziałowych 14 ward kitchens	1 008 000	157 800	17 929
3 kuchenki i zmywalnie O. o.P.R <sup>4</sup> 3 kitchens and dishwashing room O. o P. R <sup>4</sup>	540 000	134 600	8 605
suma/Total	1 788 000	602 400	31 884

Objaśnienia: / Explanatory notes:

<sup>1</sup> - cenę 1m<sup>2</sup> – 6 000 zł przyjęto na podstawie danych uzyskanych z Biura Projektów Kazimierski i Ryba Sp. j., ul. Żytnia 16, lok. F, 01-014 Warszawa / price of 1m<sup>2</sup> – 6 000 zł assumed on the basis of data obtained from The Design Office, Owner Kazimierski & Ryba Co. (Biuro Projektów Kazimierski i Ryba Sp. j.), seated in 16 Żytnia Street, Suite F, 01-014 Warszawa;

<sup>2</sup> - koszt ustalono na podstawie / cost was based on the: [10, 11, 12, 13];

<sup>3</sup> - cenę 100 kWh – 42 zł ustalono na podstawie/ price of 100 kWh – 42 zł was based on: [22, 27];

<sup>4</sup> - O. o.P.R – Oddział o Podwyższonym Ryzyku / Department with Increased Risk.

Ważną kwestią przy planowaniu systemu dystrybucji jest określenie rodzaju i wielkości pomieszczeń niezbędnych do prawidłowej organizacji przyjętego systemu.

Jak podkreślają Jarosz i Turlejska [9], w wielu szpitalach spotyka się nieprawidłowości w zakresie infrastruktury i standardów technicznych. Obok niewłaściwej lokalizacji bloków żywienia oraz braku podstawowych pomieszczeń, to właśnie nieodpowiednia powierzchnia (zbyt mała lub zbyt duża) jest jedną z częściej występujących nieprawidłowości. Źle zaplanowana powierzchnia, w tym powierzchnia działu ekspedycyjnego, może być rezultatem błędnych założeń podejmowanych przy organizacji bloku żywienia.

Konecka-Matyjek [14] zwraca uwagę na problem niewłaściwego przechowywania w kuchniach oddziałowych odpadów pokonsumpcyjnych, które następnie przekazywane są do bloku żywienia. Stwarza to zagrożenie dla zdrowia pacjentów, ponieważ może doprowadzić do wtórnego zanieczyszczenia żywności. Jak wskazują dane epidemiologiczne [1] szpitale są miejscami, w których często dochodzi do wystąpienia ognisk zatruc/zakażeń pokarmowych. W 2010 r. w polskich szpitalach odnotowano 23,5 % ognisk zatruc pokarmowych, które były przyczyną 1254 przypadków zachorowań. Dominującym czynnikiem etiologicznym w ogniskach były odzwierzęce typy pałeczek *Salmonella* (32,9 %) oraz wirusy (25,5 %). Wydawać się może, że wysoki odsetek ognisk zatruc pokarmowych w polskich szpitalach wiąże się głównie z występowaniem systemu bimarowego oraz wadliwych nawyków związanych z przechowywaniem odpadów pokonsumenckich. Zatem celowe wydaje się zwrócenie większej uwagi na bezpieczeństwo mikrobiologiczne posiłków oferowanych pacjentom, a tym samym stosowanie higienicznych rozwiązań związanych z dystrybucją posiłków.

W opinii pacjentów, zaletą systemu bimarowego jest możliwość dopasowania wielkości porcji do ich potrzeb. Może to jednak wpłynąć negatywnie na dietoterapię. Alternatywny system tacowy wybierany jest głównie ze względu na bezpieczeństwo żywności na wszystkich etapach produkcji i dystrybucji, bardzo dobrą organizację pracy, a także zmniejszenie kosztów eksploatacji [6, 7]. Dodatkowo, system ten pozwala na prawidłowe dobranie posiłków pod względem zapotrzebowania pacjenta, co umożliwia kontrolę stanu odżywienia.

System zbiorczy postrzegany jest często jako taki, który powoduje większe straty żywności. Wynika to głównie z dużych strat tzw. bimarowych (20,5 %), powstałych z braku możliwości dokładnego ustalenia wielkości porcji. Dystrybucja indywidualna generuje znacznie wyższe straty talerzowe (11,6 %) w porównaniu z ekspedycją zbiorczą (5,9 %), jednak są one i tak mniejsze w stosunku do łącznych strat w systemie bimarowym [5].

Dla konsumentów ważna jest jakość oferowanych posiłków, utożsamiana przez nich głównie z jakością sensoryczną, podczas gdy zagadnienia związane z bezpieczeństwem zdrowotnym żywności wydają się bez znaczenia [19]. Dostępne w literaturze wyniki badań wskazują na wciąż niski poziom zadowolenia pacjentów z otrzymywanych posiłków. Badania przeprowadzone przez Tranter i wsp. [25] w USA wykazały,

że 35,9 % pacjentów negatywnie oceniło posiłki serwowane w szpitalu, przy czym największa liczba badanych niekorzystnie oceniła temperaturę zimnych posiłków (100 %), temperaturę gorących posiłków (93,7 %), teksturę (91,3 %) oraz wygląd potraw (81,3 %). Naithani i wsp. [17] po badaniach przeprowadzonych wśród 828 pacjentów czterech londyńskich szpitali stwierdzili, że największy odsetek badanych wskazywał niezadowolenie ze smaku otrzymywanych posiłków (34 %), ich zapachu (28 %) i temperatury (20 %). Wrażenia sensoryczne są ściśle powiązane z temperaturą serwowanych dań. Jak podkreślają Jarosz i Turlejska [9], w systemie bemarowym, w wielu przypadkach czynności prowadzone na oddziale lub w kuchence oddziałowej związane z porcjowaniem i wydawaniem posiłków pacjentom trwają zbyt długo. W konsekwencji pacjenci otrzymują dania niesatysfakcjonujące ich pod względem temperatury. Dodatkowo bemarowy system dystrybucji nie gwarantuje zachowania odpowiednich warunków higienicznych. Jak wykazano w raporcie NIK [18], częstą nieprawidłowością związaną z dystrybucją w systemie zbiorczym było stosowanie nieodpowiednich (niepodgrzewanych) wózków transportowych, na których posiłki znajdowały się w naczyniach niewłaściwie przykrytych bądź bez przykrycia. Nieodpowiednie zabezpieczenie posiłku w czasie transportu na oddziały może wpłynąć na ich bezpieczeństwo. Możliwe jest zagrożenie ze strony środowiska szpitalnego w proces dystrybucji żywności. Dodatkowy negatywny wpływ mogą mieć: zły stan techniczny szpitalnych ciągów komunikacyjnych, transport posiłków na oddziały w windach niewyłączonych na ten czas z ogólnego użytku, nieograniczony dostęp personelu medycznego, pomocniczego oraz pacjentów i odwiedzających do kuchenek oddziałowych [14].

Wyznaczniki jakości posiłków – temperatura i tekstura – mają znaczący wpływ na całościową ocenę potraw przez pacjentów. Biorąc pod uwagę satysfakcję pacjentów nie można jednoznacznie stwierdzić, który system jest lepszy. W licznych badaniach system tacowy postrzegany jest przez pacjentów jako szczególnie higieniczny. Pozytywnie oceniono także organizację pracy. Inaczej jest w przypadku oceny tekstury i temperatury dostarczonych dań. W systemie bemarowym były one akceptowane w wyższym stopniu niż w przypadku systemu tacowego [5, 6, 21]. System tacowy jest szczególnie pożądany w placówkach szpitalnych ze względu na liczne korzyści, takie jak: eliminacja porcjowania posiłków na oddziałach, utrzymanie odpowiedniej temperatury posiłków, zwiększenie wydajności ekspedycji potraw, ułatwienie monitorowania i przygotowania indywidualnej dietoterapii, zminimalizowanie strat produkcyjnych, automatyzacja procesu mycia w zmywalni centralnej [16].

## **Wnioski**

1. Rekomendowaną formą ekspedycji żywności w szpitalu żywiącym 600 pacjentów jest indywidualny system dystrybucji posiłków.

2. Szacunkowy koszt wyposażenia technologicznego jest wyższy w systemie indywidualnym w porównaniu z systemem bemarowym.
3. Eliminacja kuchenek oddziałowych w systemie indywidualnym znacząco zmniejsza nakłady inwestycyjne związane z budową i wykończeniem powierzchni użytkowej.
4. Mniejsze zużycie energii elektrycznej przez wyposażenie technologiczne zaproponowane w systemie tacowym przyczynia się do redukcji kosztów w porównaniu z systemem bemarowym.
5. Brak jest jednoznacznych opinii konsumentów określających preferencje wyboru systemu dystrybucji. Pacjenci preferują system zbiorczy ze względu na walory sensoryczne potraw, natomiast system tacowy postrzegany jest jako bardziej higieniczny.

### Literatura

- [1] Baumann-Popczyk A., Sadkowska-Todys M.: Zatrucia i zakażenia pokarmowe w Polsce w 2010 roku. *Przegl. Epidemiol.*, 2012, **66**, 241-248.
- [2] Freshwater J.F.: Least-cost hospital food service systems. [online]. Dostęp w Internecie: [13.12.2008]; <http://www.archive.org>.
- [3] Grzebińska W.: Ogólne zasady projektowania technologicznego zakładów gastronomicznych. W: *Wyposażenie zakładów gastronomicznych z elementami techniki i projektowania*. Red. A. Neryng. Wyd. SGGW, Warszawa 2003, ss. 221-241.
- [4] Grzebińska W.: Szpital od kuchni III. *Przegląd Gastronomiczny*, 2008 rocznik LXII, **2**, 7-8.
- [5] Hartwell H., Edwards J.: A preliminary assessment of two hospital food service systems using parameters of food safety and consumer opinion. *Worshipful Company of Cooks Centre for Culinary Research*, Bournemouth University, England, 2007.
- [6] Hartwell H.J., Edwards J.S.A., Beavis J.: Plate versus bulk trolley food service in a hospital: comparison of patients' satisfaction. *Nutrition*, 2007, **23**, 211-218.
- [7] Hartwell J.H., Edwards A.S.J.: A comparative analysis of plate and bulk trolley hospital food service systems. *Food Serv. Technol.*, 2003, **3**, (3-4), 133-142.
- [8] Jarosz M.: Wprowadzenie. W: *Zasady prawidłowego żywienia chorych w szpitalach*. Red. M. Jarosz. Instytut Żywności i Żywienia, Warszawa 2011, ss. 15-16.
- [9] Jarosz M., Turlejska H.: Organizacja żywienia zbiorowego w szpitalach – zespół ds. żywienia szpitalnego. W: *Zasady prawidłowego żywienia chorych w szpitalach*. Red. M. Jarosz. Instytut Żywności i Żywienia, Warszawa 2011, ss. 91-104.
- [10] Katalog firmy Cambro, 2009.
- [11] Katalog firmy Electrolux. *Professional Meal Distribution Systems*, 2009.
- [12] Katalog firmy Fagor, 2009.
- [13] Katalog firmy Stalgast, 2009.
- [14] Konecka-Matyjek E.: Źródła zagrożeń w produkcji i dystrybucji posiłków szpitalnych. W: *Zasady prawidłowego żywienia chorych w szpitalach*. Red. M. Jarosz. Instytut Żywności i Żywienia, Warszawa 2011, ss. 259-264.
- [15] Maćkiw E.: Zagrożenia mikrobiologiczne w przygotowaniu posiłków szpitalnych. W: *Zasady prawidłowego żywienia chorych w szpitalach*. Red. M. Jarosz. Instytut Żywności i Żywienia, Warszawa 2011, ss. 264-268.
- [16] Mibey R., Williams P.G.: Food service trends in New South Wales hospitals. *Faculty of Health Behavioural Sciences, University of Wollongong*, 2002.
- [17] Naithani S., Thomas J.E., Whelan K., Morgan M., Gulliford M.C.: Experiences of food access in hospital. A new questionnaire measure. *Clin. Nutr.*, 2009, **28**, 625-630.



- [18] Informacja o wynikach kontroli żywienia i utrzymania czystości w szpitalach publicznych. Najwyższa Izba Kontroli, Delegatura w Krakowie, Kraków 2009.
- [19] Nowak M., Trziszka T., Otto J.: Pozycja jakości posiłków wśród czynników kształtujących preferencje nabywców usług gastronomicznych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **3 (58)**, 132-140.
- [20] Pokrzywa P., Cieślak E.: Ocena sposobu żywienia pacjentów w szpitalach województwa małopolskiego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **1 (56)**, 138-145.
- [21] Porter J., Cant R.: Exploring hospital patients' satisfaction with cook-chill foodservice systems: a preliminary study using a validated questionnaire. *J. Food Serv.*, 2009, **20 (2)**, 81-89.
- [22] Tabela kursów. [online]. NBP. Dostęp w Internecie: [04.06.2013]; <http://www.nbp.pl/Kursy/KursyA.html>
- [23] Tomaszewska M.: Organizacja dystrybucji w szpitalach. W: Technologiczne projektowanie zakładów gastronomicznych. Red. W. Grzezińska. Wyd. SGGW, Warszawa 2012, ss. 129-137.
- [24] Turlejska H.: Systemowe podejście do zarządzania bezpieczeństwem zdrowotnym posiłków w szpitalach. W: Zasady prawidłowego żywienia chorych w szpitalach. Red. M. Jarosz. Instytut Żywności i Żywienia, Warszawa 2011, ss. 253-259.
- [25] Tranter M.A., Gregoire M.B., Fullam F.A., Lafferty L.J.: Can patient-written comments help explain patient satisfaction with food quality? *J. Am. Diet. Assoc.*, 2009, **109**, 2068-2072.
- [26] Wojtyniak B., Goryński P., Wysocki M.: Sytuacja zdrowotna ludności Polski. Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego – Państwowy Zakład Higieny, Warszawa 2008.
- [27] Zestawienie średnich cen prądu. [online]. EUROSTAT Dostęp w Internecie: [04.06.2013]; [http://epp.eurostat.ec.europa.eu/cache/ITY\\_OFFPUB/KS-DK-11-001/EN/KS-DK-11-001-EN.PDF](http://epp.eurostat.ec.europa.eu/cache/ITY_OFFPUB/KS-DK-11-001/EN/KS-DK-11-001-EN.PDF).

#### OPTIMIZING DETERMINANTS IN SELECTING DISTRIBUTION SYSTEM FOR HOSPITAL CATERING

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

In hospital catering, two systems of distributing meals are applied: tray (individual) and bain marie (collective). While choosing a system, attention is drawn to the profitability of the investment and the functionality of the system after its implementation in hospitals.

The objective of the research study was to comparatively analyze two meal distribution systems: trays and 'bain maries' meal serving using the example of a newly designed provincial specialist hospital. While comparing the two systems, two factors were taken into account: organizational factor (surface area of meal dispatch section, technological equipment) and economic factor (costs of: floor area of meal dispatch section, technological equipment, and electric power). Already at the stage of investing, the tray system should be regarded as a more preferred one owing to economic reasons. The estimated costs of technological equipment for that system are higher; however, the expenditures involved in the construction and finishing of the interiors are lower compared to the bain-marie system. In the research study, the consumption of electric power necessary for the equipment to operate was highlighted, too. The technological equipment recommended for the tray distribution system makes it possible to significantly reduce the monthly costs of electricity.

Based on the analysis of organizational and economic factors of the hospital designed for 600 patients, it was concluded that the individual system of meal distribution should be recommended as a meal distribution system to be applied therein.

**Key words:** hospital nutrition, tray distribution system, bulk trolley distribution system 

HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA

## INTERAKCJE SKŁADNIKÓW ŻYWNOŚCI

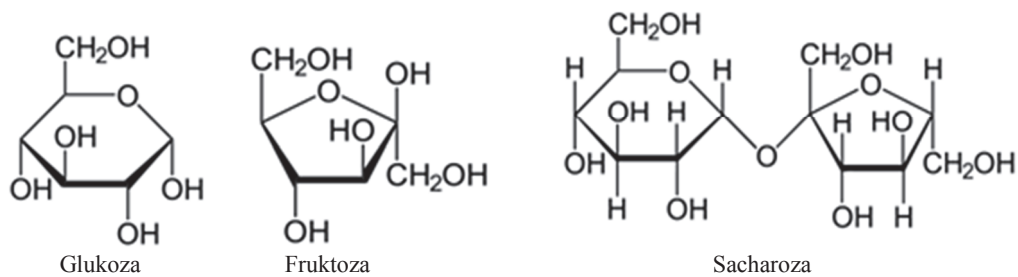
Prezentujemy 22. część cyklu nt.: „Interakcje składników żywności”. Druk materiałów z tego cyklu rozpoczęliśmy w *Żywności* nr 1 (74), 2011.

Grejpfurt – owoc polecany i zakazany. To przeciwstawne określenie ma merytoryczne uzasadnienie zarówno ze względów żywieniowych, jak przeciwżywnościowych. Grejpferty nie występują w stanie dzikim i są najprawdopodobniej krzyżówką owocu pomelo oraz słodkiej pomarańczy. Ojczyzną grejpfurtów począwszy od XVII wieku jest wyspa Barbados. Grejpfurt charakteryzuje się słodko-kwaśnym smakiem z dominującą nutą goryczy oraz orzeźwiający zapachem. Zgodnie z przyjętą zasadą wyjaśniamy, jakie związki wpływają na smakowo-zapachowe właściwości grejpfurta. Strukturę chemiczną tych związków przedstawiono na rys. 1. Na smak słodki grejpfurtów wpływają cukry: glukoza, fruktoza i sacharoza. Naringina – glikozyd flawonoidowy odpowiedzialny jest za smak gorzki grejpfurta. Glikozyd ten zasługuje na uwagę, bo pomimo obecności w strukturze cukrów prostych, ramnozy i glukozy, wykazuje smak gorzki. Smak kwaśny nadaje grejpfurtowi obecność kwasu cytrynowego i witaminy C. Nookaton – seskwiterpen nadaje grejpfurtowi charakterystyczny przyjemny, orzeźwiający zapach. Należy przypomnieć, że powstawanie określonego smaku następuje w wyniku konformacyjnego dopasowania i połączenia receptora smaku z określonym związkiem chemicznym. Oznacza to, że obecność cukrów prostych w cząsteczce naryngininy nie wpływa na jej interakcję z receptorem smaku gorzkiego. W tab. 1. zamieszczono zawartość obecnych w grejpfurcie substancji odżywczych.

Należy zaznaczyć, że wartości te są zróżnicowane w zależności od źródła pochodzenia, niemniej mieszczą się w granicach wpływu abiotycznych czynników wzrostu owocu na jego skład chemiczny. Przedstawione dane potwierdzają opinię, że grejpfurt jest owocem wartościowym i polecanym. Zamieszczenie wzorów chemicznych ma na celu ułatwienie czytelnikowi zrozumienie relacji pomiędzy konformacją związku

Tabela 1. Wartość odżywcza grejfrutów.

Składnik	Zawartość w 100 g
Wartość energetyczna	32 kcal
Białko	0,63 g
Tłuszcz ogółem	0,10 g
Kwasy tłuszczowe nasycone	0,014 g
Kwasy tłuszczowe jednonienasycone	0,013 g
Kwasy tłuszczowe wielonienasycone	0,024 g
Kwasy tłuszczowe omega-3	8 mg
Kwasy tłuszczowe omega-6	29 mg
Węglowodany	8,06 g
Glukoza	2,0 g
Fruktoza	2,1 g
Sacharoza	2,1 g
Błonnik pokarmowy	1,10 g
Witamina A	1150 I.U.
Witamina E	0,13 mg
Witamina C	34,4 mg
Witamina B <sub>1</sub>	0,036 mg
Witamina B <sub>2</sub>	0,020 mg
Witamina B <sub>3</sub> (PP)	0,250 mg
Witamina B <sub>6</sub>	0,042 mg
Kwas foliowy	10 µg
Wapń	12 mg
Żelazo	0,09 mg
Magnez	8,0 mg
Fosfor	8,0 mg
Potas	139 mg
Cynk	0,07 mg
Miedź	0,06 mg
Selen	0,10 µg



Rys. 1. Związki chemiczne odpowiedzialne za smak słodki grejpfruta

chemicznego a jego biologiczną aktywnością, która jest efektem interakcji z receptorami lub różnymi białkami. W następnym artykule zostaną omówione fitozwiązki obecne w grejpfrucie i ich interakcje z lekami, by uznać grejpfrut także za owoc zakazany dla niektórych ludzi. ☒

GRAŻYNA MORKIS

## PROBLEMATYKA ŻYWNOŚCIOWA W USTAWODAWSTWIE POLSKIM I UNIJNYM

Publikujemy kolejny przegląd aktów prawnych, które ukazały się w Dzienniku Ustaw RP i Dzienniku Urzędowym UE. Poniższe zestawienie zawiera akty prawne dotyczące szeroko omawianej problematyki żywnościowej wg stanu na dzień 22 lipca 2014 r.

### **Polskie akty prawne**

1. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 16 czerwca 2014 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie określenia spraw rozstrzyganych w drodze decyzji administracyjnych przez powiatowego lekarza weterynarii albo urzędowego lekarza weterynarii z upoważnienia powiatowego lekarza weterynarii (Dz. U. 2014 r., poz. 838).  
Wprowadzono zmiany w rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 9 października 2006 r. w sprawie określenia spraw rozstrzyganych w drodze decyzji administracyjnych przez powiatowego lekarza weterynarii albo urzędowego lekarza weterynarii z upoważnienia powiatowego lekarza weterynarii.
2. Obwieszczenie Ministra Gospodarki z dn. 28 kwietnia 2014 r. w sprawie listy akredytowanych laboratoriów upoważnionych do wykonywania badań potwierdzających spełnianie przez nawozy oznaczone znakiem "NAWÓZ WE" wymagań określonych dla tych nawozów w odrębnych przepisach (M.P. 2014 r., poz. 357).  
Załącznik do obwieszczenia zawiera listę 20 akredytowanych laboratoriów upoważnionych do wykonywania badań potwierdzających spełnianie przez nawozy oznaczone znakiem "NAWÓZ WE" wymagań określonych dla tych nawozów

w przepisach rozporządzenia (WE) nr 2003/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 13 października 2003 r. w sprawie nawozów.

### Unijne akty prawne

1. Decyzja Wykonawcza Komisji z dn. 14 lipca 2014 r. w sprawie dopuszczenia do obrotu oleju z mikroalg *Schizochytrium* sp. jako nowego składnika żywności zgodnie z rozporządzeniem (WE) nr 258/97 Parlamentu Europejskiego i Rady oraz w sprawie uchylenia decyzji 2003/427/WE i 2009/778/WE (Dz. Urz. UE L, 2014 r., Nr 209, s. 55).

Olej z mikroalg *Schizochytrium* sp. może zostać wprowadzony do obrotu w UE jako nowy składnik żywności: przetworów mlecznych, tłuszczów do smażenia, tłuszczów do gotowania, suplementów diety, wyrobów piekarskich, batonów zbożowych oraz napojów bezalkoholowych.

Olej z mikroalg *Schizochytrium* sp. dopuszczony do obrotu niniejszą decyzją jest oznaczany na etykiecie zawierających go środków spożywczych jako "olej z mikroalg *Schizochytrium* sp."

2. Decyzja Wykonawcza Komisji z dn. 24 czerwca 2014 r. zezwalająca na wprowadzenie do obrotu drożdży piekarskich poddanych promieniowaniu UV (*Saccharomyces cerevisiae*) jako nowego składnika żywności zgodnie z rozporządzeniem (WE) nr 258/97 Parlamentu Europejskiego i Rady (Dz. Urz. L., 2014 r., poz. 186, s. 108).

Drożdże piekarskie poddane promieniowaniu UV mogą zostać wprowadzone do obrotu w UE jako nowy składnik żywności do zastosowań określonych i przy maksymalnych poziomach ustanowionych w załączniku II, nie naruszając przepisów dyrektywy 2002/46/WE i rozporządzenia (WE) nr 1925/2006.

Drożdże piekarskie poddane promieniowaniu UV dopuszczone niniejszą decyzją muszą mieć oznaczone na etykiecie zawierających je środków spożywczych jako "drożdże z witaminą D" lub "drożdże z witaminą D<sub>2</sub>".

Dopuszczalne jest zastosowanie drożdży piekarskich poddawanych promieniowaniu UV w żywności, jak: chleb i bułki drożdżowe; drożdżowe pieczywo cukiernicze i wyroby ciastkarskie; suplementy diety. ☒

## NOWE KSIĄŻKI

### **Prawo czystej żywności. Od Kodeksu Hammurabiego do Codex Alimentarius.**

Kowalczyk S.

Wydawnictwo: Oficyna Wydawnicza SGH, Warszawa 2014 rok, ISBN 978-83-7378-883-1, stron 475, cena 59,45 zł

Zamówienia: [www.larix.lublin.pl](http://www.larix.lublin.pl)

Podjęto próbę ukazania historii działań podejmowanych przez wiele pokoleń ludzi o „czystą”, niezafałszowaną żywność. W publikacji Autor przedstawił osiemnaście wybranych wydarzeń, aktów prawnych oraz historii ludzkich, które wyznaczają wielowiekowy trend zabiegów o bezpieczną żywność, prowadzonych w różnych państwach, również w Polsce, i na różnych kontynentach. Obecnie, w czasach globalizacji, tzw. afery żywnościowe mają bardzo szeroki zasięg, stąd książka może pozwolić zrozumieć mechanizmy i procesy związane z bezpieczeństwem i jakością żywności.

Książka jest adresowana zarówno do przedstawicieli nauki, świata polityki, agrobiznesu oraz konsumentów.

### **Koszty jakości. Wybrane aspekty.**

Wójcik G.P.

Wydawnictwo: Difin, Warszawa 2014, ISBN 978-83-7930-277-2, stron 233, cena 41,40 zł

Zamówienia: [www.ksiegarnia.difin.pl](http://www.ksiegarnia.difin.pl)

W książce przedstawiono definicje kosztów jakości, modele kosztów jakości oraz metody, techniki i narzędzia zarządzania kosztami. Na podstawie analizy literatury wskazano przesłanki do włączenia systemu kosztów jakości do zarządzania przedsiębiorstwem, związek między kosztami jakości a oceną efektywności i doskonaleniem działań przedsiębiorstwa.

Książka ma postać syntetyczną. Przeznaczona jest dla kadry zarządzającej jakością.



**Polysaccharides: Natural Fibers in Food and Nutrition**  
**[Polisacharydy: Naturalny błonnik w żywności i żywieniu]**

Benkeblia N. (red.)

Wydawnictwo: CRC Press, Warszawa 2014, ISBN 9781466571815, stron 512, cena 79,20 £

Zamówienia: [www.crcpress.com](http://www.crcpress.com)

W podręczniku dokonano charakterystyki właściwości chemicznych, biochemicznych i żywieniowych naturalnego błonnika. Scharakteryzowano również aspekty techniczne i technologiczne przetwarzania błonnika. Zawarto najbardziej aktualne informacje w tej dziedzinie. Książka stanowi źródło informacji zarówno dla profesjonalistów zajmujących się żywnością, jak studentów i osób zainteresowanych tą tematyką.

**Technologia produkcji wina**

Margalit Y.

Wydawnictwo: PWRiL, Warszawa 2014, ISBN 978-83-09-01158-3, stron 241, cena 56,90 zł

Zamówienia: [www.pwriL.com](http://www.pwriL.com)

W książce przedstawiono aktualny stan wiedzy z dziedziny winiarstwa. Szczegółowo scharakteryzowano takie zagadnienia jak: fermentacja, maceracja, kwasy i związki fenolowe znajdujące się w winie, zastosowanie beczek dębowych oraz kontrola jakości. Materiał podzielono na rozdziały odzwierciedlające kolejność operacji i procesów prowadzonych w winiarni, zaczynając od zbioru owoców, a kończąc na butelkowaniu wina.

*Opracowała: Magdalena Niewczas*

## TECHNOLOG ŻYWNOSCI

### INFORMATOR POLSKIEGO TOWARZYSTWA TECHNOLOGÓW ŻYWNOSCI

Rok 24 Nr 4

sierpień 2014

---

#### DZIAŁALNOŚĆ TOWARZYSTWA

##### Zarząd Główny

Wiceprezes PTTŻ, prof. dr hab. Danuta Kołożyn-Krajewska, była w imieniu Towarzystwa konsultantem przy przygotowywanym przez Urząd Miasta Stołecznego Warszawy zarządzeniu Prezydenta z dnia 27.06.2014 r. w sprawie określenia zaleceń w zakresie organizacji żywienia w przedszkolach i szkołach, dla których organem prowadzącym jest m. st. Warszawa. Konsultacja dotyczyła załącznika nr 2 – Lista polecanych produktów spożywczych do sklepiku szkolnego oraz Lista produktów, które należy ograniczyć lub usunąć z asortymentu sklepiku szkolnego.

PTTŻ był Patronem i Partnerem Naukowym I Konferencji Naukowej „Witamina D – eliksir zdrowia”, która odbyła się w Warszawie w dniu 11.07.2014 r. Organizatorem konferencji było Europejskie Stowarzyszenie Promocji Zdrowia „Pro-Salutem”. W konferencji uczestniczyła wiceprezes, prof. dr hab. Danuta Kołożyn-Krajewska.

##### Oddział Lubelski

W dniu 11 czerwca 2014 r. na Wydziale Nauk o Żywności i Biotechnologii Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie odbyło się seminarium naukowe „Wymagania higieniczno-sanitarne dla obiektów żywnościowych”. Seminarium zostało zorganizowane z inicjatywy władz Oddziału Lubelskiego Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności przy współpracy z władzami Wydziału. Celem, jaki przyświecał organizatorom, było przybliżenie członkom Towarzystwa, kadrcze dydaktycznej i studentom aktualnego stanu prawnego w dziedzinie bezpieczeństwa żywności i wymagań, jakie muszą spełniać obiekty produkcji i obrotu żywnością. Problematykę tę przybliżył uczestnikom lek. wet. Piotr Pietura - kierownik Oddziału Higieny Żywności, Żywienia i Przedmiotów Użytku Wojewódzkiej Stacji Sanitarno-Epidemiologicznej w Lublinie, który przyjął zaproszenie do udziału w seminarium.

WAŻNIEJSZE MIĘDZYKRAJOWE I KRAJOWE  
KONFERENCJE NAUKOWE W 2014 r.

Wrzesień

**15 -19 KRAKÓW = 19th IGWT Symposium Commodity Science in research and practice – current achievements and future challenges.**

Organizatorzy: Cracow University of Economics – Faculty of Commodity Science; International Society of Commodity Science and Technology.

Informacje: [www.igwt2014.uek.krakow.pl](http://www.igwt2014.uek.krakow.pl)

Kontakt: e-mail: [igwt2014@uek.krakow.pl](mailto:igwt2014@uek.krakow.pl)

**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.ptzm.org](http://www.ptzm.org)

Kontakt: e-mail: [rrjuszcz@cyf-kr.edu.pl](mailto:rrjuszcz@cyf-kr.edu.pl)

e-mail: [aduda-chodak@ar.krakow.pl](mailto: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](mailto: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](mailto: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 4 (95)/2014 Biuletynu podano według stanu informacji do 15 sierpnia 2014 r. Materiały do Nr 5 (96)/2014 prosimy nadsyłać do 1 października 2014 r. na adres Redakcji Czasopisma.*

---

#### KOMUNIKAT

Informujemy P.T. Autorów, że *Informacje dla Autorów oraz wymagania redakcyjne* publikujemy na stronie <http://www.ptz.org/zyw/index.html>

**Adresy Zarządu Głównego, Oddziałów i Sekcji  
Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności**

<b>PREZES / ODDZIAŁ</b>	<b>ADRES</b>
Prof. dr hab. Edward Pospiech Prezes PTTŻ	UP, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ Tel.: 61 848 72 60; e-mail: pospiech@up.poznan.pl
Dr hab. Dorota Piasecka-Kwiatkowska Sekretarz PTTŻ	UP, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ e-mail: dorotapk@up.poznan.pl
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
<b>SEKCJE</b>	
Dr Karol Krajewski Ekonomiczna	WSliZ, ul. Rakowiecka 32, 02-532 WARSZAWA Tel.: 22 646 20 60; e-mail: krajewski@wsiiz.pl
Dr inż. Arkadiusz Żych Technologii Mięsa	ZUT, ul. Kazimierza Królewicza 3, 71-550 SZCZECIN Tel.: 91 449 66 00 wew. 6583; e-mail: arkadiusz.zych@zut.edu.pl
Dr hab. Magdalena Rudzińska Chemii i Technologii Tłuszczów	UP, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ Tel.: 61 848 72 76; e-mail: magdar@up.poznan.pl
Prof. dr hab. Waław Leszczyński Technologii Węglowodanów	UP, ul. Chełmońskiego 37/41, 51-630 WROCŁAW Tel.: 71 320 52 21; Fax: 71 320 52 21
Dr hab. inż. Piotr Gębczyński, prof. nadzw. Technologii Owoców i Warzyw	UR, ul. Balicka 122, 30-149 KRAKÓW e-mail: rrgebczy@cyf-kr.edu.pl
Mgr inż. Patrycja Komolka Młodej Kadry Naukowej	UP, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ e-mail: pkomolka@au.poznan.pl