



ŻYWNOŚĆ

Nauka Technologia Jakość

FOOD

Science Technology Quality

Nr 5 (96)

Kraków 2014

Rok 21

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 Czarniecki, 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

ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość

Organ naukowy PTTŻ – dwumiesięcznik

Nr 5 (96)

Kraków 2014

Rok 21

SPIS TREŚCI

Od Redakcji.....	3
ANNA DOBOSZ, MAREK SIKORA, MAGDALENA KRYSZYJAN: Retrogradacja skrobi z dodatkiem i bez dodatku nieskrobiowych hydrokoloidów polisacharydowych – metody pomiaru i ich zastosowanie	5
DANUTA JAWORSKA, WIESŁAW PRZYBYLSKI: Wpływ wybranych czynników warunkujących jakość sensoryczną wieprzowiny.....	21
DAGMARA GŁÓD, MAREK ADAMCZAK, WŁODZIMIERZ BEDNARSKI: Wybrane aspekty zastosowania nanotechnologii w produkcji żywności.....	36
ZYGMUNT LITWIŃCZUK, MARIUSZ FLOREK, PIOTR DOMARADZKI, PAWEŁ ŻÓŁKIEWSKI: Właściwości fizykochemiczne mięsa buhajków trzech rodzimych ras – polskiej czerwonej, białogrzbiętej i polskiej czarno-białej oraz simentalskiej i polskiej holsztyńsko-fryzyskiej.....	53
KRZYSZTOF SZKUCIK, MICHAŁ GONDEK, ZBIGNIEW BEŁKOT, KRYSZYNA KURSA: Zawartość selenu w mięśniach i narządach wewnętrznych koni rzeźnych w zależności od ich wieku i płci	63
ANDRZEJ TYBURCY, IWONA ŚCIBISZ, EWELINA ROSTEK, ANNA PASIERBIEWICZ, TOMASZ FLOWOSKI: Przeciwtleniające właściwości soków z żurawiny i z róży w produktach z mięsa rozmrożonego..	72
KRYSZYNA GUTKOWSKA, PAWEŁ JANKOWSKI, MARTA SAJDAKOWSKA, SYLWIA ŻAKOWSKA-BIEMANS, IWONA KOWALCZUK: Kryteria różnicujące zachowania konsumentów wobec produktów żywnościowych na przykładzie mięsa i przetworów mięsnych.....	85
MAGDALENA STANEK, ZBIGNIEW BOREJSZO, JANUSZ DĄBROWSKI, BOGDAN JANICKI: Wybrane parametry jakości mięsa babki szczupłej (<i>Neogobius fluviatilis pallas</i>) odłowionej z Wisły	101
TOMASZ KRZYWIŃSKI, ZDZISŁAW DOMISZEWSKI, GRZEGORZ TOKARCZYK, GRZEGORZ BIENKIEWICZ: Ocena przydatności mięsa ryb małowcennych do produkcji żywności przekąskowej.....	111
ELŻBIETA GUJSKA, MARTA CZARNOWSKA, JOANNA MICHALAK: Zawartość folianów w kefirach i jogurtach świeżych oraz chłodniczo przechowywanych.....	124
JAROSŁAW KOWALIK, ADRIANA ŁOBACZ, KAMIL ADAMCZEWSKI, ANNA S. TARCZYŃSKA: Zastosowanie alternatywnych metod oceny bezpieczeństwa mikrobiologicznego wybranych serów	134
MARTA DZIUBA, DOROTA NAŁĘCZ, BARTŁOMIEJ DZIUBA: Analiza <i>in silico</i> peptydów immunoaktywnych pochodzących z białek żywności – badania z wykorzystaniem bazy BIOPEP	144
BARBARA BORCZAK, ELŻBIETA SIKORA, MAREK SIKORA, JOANNA KAPUSTA-DUCH, DIMITAR HRUSAVOV: Wpływ odroczonego wypieku i dodatku zakwasu na indeks glikemiczny <i>in vitro</i> oraz zawartość skrobi i polifenoli ogółem w bułkach pszennych	155
DOROTA LITWINEK, HALINA GAMBUŚ, GABRIELA ZIĘĆ, FLORIAN GAMBUŚ: Porównanie indeksu i ładunku glikemicznego herbatników owsianych oraz pszennych.....	168
JAKUB MACIERZYŃSKI, MARIA BUCZEK, WOJCIECH ZAWERACZ, BOGUSŁAW KRÓL: Skład polifenolowy owoców jeżyny <i>Rubus fruticosus</i>	183
LUBOMIRA BRONIARZ-PRESS, JACEK RÓŻAŃSKI, SYLWIA RÓŻAŃSKA: Właściwości reologiczne zatężonych kukurydzianych wywarów gorzelnianych	195
PRZEMYSŁAW DMOWSKI, MARIA ŚMIECHOWSKA, ELŻBIETA SAGAN: Wpływ czasu parzenia i stopnia rozdrobnienia herbaty czarnej na barwę naparu i jego właściwości przeciwtleniające	206
MARTINA OŠTÁDALOVÁ, BOHUSLAVA TREMLOVÁ, IVAN STRAKA, PAVEL BARTL: Wpływ przechowywania na zawartość teaflawin i tearubigin w herbatach typu oolong.....	217
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA: Interakcje składników żywności	228
GRAŻYNA MORKIS: Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym.....	230
MAGDALENA NIEWCZAS: Nowe książki.....	234
Współcześni twórcy nauki o żywności.....	236
Technolog Żywności.....	239

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 5 (96)

Kraków 2014

Vol. 21

CONTENTS

From the Editor.....	3
ANNA DOBOSZ, MAREK SIKORA, MAGDALENA KRYSZYJAN: Retrogradation of starch with and without non-starch polysaccharide hydrocolloids added – measurement methods and application thereof	5
DANUTA JAWORSKA, WIESŁAW PRZYBYLSKI: The effect of selected factors on sensory quality of pork ...	21
DAGMARA GŁÓD, MAREK ADAMCZAK, WŁODZIMIERZ BEDNARSKI: Selected aspects of nanotechnology applications in food production	36
ZYGMUNT LITWIŃCZUK, MARIUSZ FLOREK, PIOTR DOMARADZKI, PAWEŁ ŻÓŁKIEWSKI: Physico-chemical properties of meat from young bulls of 3 native breeds: polish red, white-backed, and polish black-and-white, as well as of simmental and polish holstein-fresian breeds	53
KRZYSZTOF SZKUCIK, MICHAŁ GONDEK, ZBIGNIEW BEŁKOT, KRYSZYNA KURSA: Content of selenium in muscles and internal organs of slaughter horses depending on their age and sex	63
ANDRZEJ TYBURCY, IWONA ŚCIBISZ, EWELINA ROSTEK, ANNA PASIERBIEWICZ, TOMASZ FLOWOSKI: Antioxidative properties of cranberry and rose juices in meat products made of defrosted meat	72
KRYSZYNA GUTKOWSKA, PAWEŁ JANKOWSKI, MARTA SAJDAKOWSKA, SYLWIA ŻAKOWSKA-BIEMANS, IWONA KOWALCZUK: Differentiation criteria of consumer behaviour towards food products exemplified by meat	85
MAGDALENA STANEK, ZBIGNIEW BOREJSZO, JANUSZ DĄBROWSKI, BOGDAN JANICKI: Selected meat quality parameters of pontian monkey goby (<i>Neogobius fluviatilis pallas</i>) fished in the Vistula River.....	101
TOMASZ KRZYWIŃSKI, ZDZIŚLAW DOMISZEWSKI, GRZEGORZ TOKARCZYK, GRZEGORZ BIENKIEWICZ: Assessing usefulness of low-value fish in producing snack foods.....	111
ELŻBIETA GUJSKA, MARTA CZARNOWSKA, JOANNA MICHALAK: Content of folates in fresh and cold stored kefir and yoghurts	124
JAROSŁAW KOWALIK, ADRIANA ŁOBACZ, KAMIL ADAMCZEWSKI, ANNA S. TARCZYŃSKA: Applying alternative methods to assess microbiological safety of selected cheeses	134
MARTA DZIUBA, DOROTA NAŁĘCZ, BARTŁOMIEJ DZIUBA: <i>In silico</i> analysis of immunoactive peptides derived from food proteins – a study based on BIOPEP database	144
BARBARA BORCZAK, ELŻBIETA SIKORA, MAREK SIKORA, JOANNA KAPUSTA-DUCH, DIMITAR HRUSAVOV: Effect of bake-off technology and added sourdough on <i>in vitro</i> glycaemic index and on content of total starch and polyphenols in wheat flour rolls	155
DOROTA LITWINEK, HALINA GAMBUŚ, GABRIELA ZIĘĆ, FLORIAN GAMBUŚ: Comparing glycaemic index and glycaemic load of oat biscuits and wheat biscuits	168
JAKUB MACIERZYŃSKI, MARIA BUCZEK, WOJCIECH ZAWERACZ, BOGUSŁAW KRÓL: Polyphenolic composition of <i>Rubus fruticosus</i> blackberry fruits	183
LUBOMIRA BRONIARZ-PRESS, JACEK RÓŻAŃSKI, SYLWIA RÓŻAŃSKA: Rheological properties of condensed corn distillers solubles.....	195
PRZEMYSŁAW DMOWSKI, MARIA ŚMIECHOWSKA, ELŻBIETA SAGAN: Effect of brewing time and fragmentation degree of black tea on colour of infusion and its antioxidant properties.....	206
MARTINA OŠŤÁDALOVÁ, BOHUSLAVA TREMLOVÁ, IVAN STRAKA, PAVEL BARTL: Effect of storage on content of theaflavins and thearubigins in oolong teas	217
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA: Interactions among food components.....	228
GRAŻYNA MORKIS: Food problems in Polish and EU legislation	230
MAGDALENA NIEWCZAS: Book reviews	234
Modern creators of the Polish food science	236
The Food Technologist.....	239

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

OD REDAKCJI

Szanowni Czytelnicy,

przekazujemy Państwu numer **5 (96)** 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.

Index Copernicus opublikował nową ocenę czasopism (IC Journals Master List 2013), zgodnie z którą nasze czasopismo uzyskało ocenę 10,85.

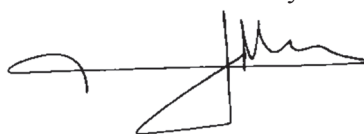
Miło nam poinformować, że Thomson Reuters opublikował w lipcu nowe wartości Impact Factors ocenianych czasopism. **Nowa wartość IF naszego dwumiesięcznika to 0,311, a IF₅ = 0,295.**

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

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

Kraków, październik 2014 r.

Redaktor Naczelny



Tadeusz Sikora

**Komitet Nauk o Żywności
Polskiej Akademii Nauk**



**Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii
Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie**



**WYDZIAŁ
NAUK O ŻYWNOSCI
I BIOTECHNOLOGII**

oraz

Polskie Towarzystwo Technologów Żywności



zapraszają na

**XLII Sesję Naukową Komitetu
Nauk o Żywności Polskiej Akademii Nauk
„ŻYWNOSĆ-ZDROWIE-PRZYSZŁOŚĆ”**

Lublin, 25-26 czerwca 2015 r.

Adres Komitetu Organizacyjnego

PTŻ O/Lubelski

Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie ul. Skromna 8/212, 20-704 Lublin

tel: (081) 462 33 41 fax: (081) 462 33 45

www.sesjapan.up.lublin.pl

e-mail: sesjapan@up.lublin.pl

ANNA DOBOSZ, MAREK SIKORA, MAGDALENA KRYSZYJAN

RETROGRADACJA SKROBI Z DODATKIEM I BEZ DODATKU NIESKROBIOWYCH HYDROKOLOIDÓW POLISACHARYDOWYCH – METODY POMIARU I ICH ZASTOSOWANIE

Streszczenie

W pracy przedstawiono podział metod pomiaru zjawiska retrogradacji skrobi z dodatkiem oraz bez dodatku nieskrobiowych hydrokolidów polisacharydowych (NHP), wśród których wyróżniono techniki makroskopowe oraz molekularne. Scharakteryzowano metody makroskopowe, takie jak: skaningowa kalorymetria różnicowa (DSC), pomiary tekstury, badania oscylacyjne, turbidymetria oraz pomiary synezy żeli, a także podano przykłady dotychczasowego ich zastosowania. W grupie molekularnych technik pomiaru retrogradacji szczególną uwagę zwrócono na najczęściej stosowane metody, tzn. jądrowy rezonans magnetyczny (NMR) oraz rentgenografię proszkową. Ponadto podano ograniczenia zastosowania innych metod badania procesu retrogradacji skrobi.

Słowa kluczowe: retrogradacja, skrobia, nieskrobiowe hydrokoloidy polisacharydowe, metody pomiaru retrogradacji skrobi, stabilność zeli skrobiowych

Wprowadzenie

Retrogradacja jest charakterystycznym procesem wodnych układów skrobi, polegającym na reorganizacji jej cząsteczek po skleikowaniu [8, 10, 24, 35, 38]. Uważa się ją za zjawisko krystalizacji, zarówno z udziałem amylozy, jak i amylopektyny obecnej w ziarenkach skrobiowych, w czasie którego zachodzi powrót do postaci częściowo uporządkowanej [40]. Wyróżnia się retrogradację krótko- i długoterminową [10]. Retrogradacja krótkoterminowa dotyczy cząsteczek amylozy i polega na przekształcaniu się ich formy spiralnej w liniową oraz porządkowaniu wyprostowanych łańcuchów amylozowych w zwarte micelle. Pozwala to na utworzenie między łańcuchami międzycząsteczkowych wiązań wodorowych, co prowadzi do krystalizacji amylozy [51]. Re-

Mgr inż. A. Dobosz, prof. dr hab. M. Sikora, dr inż. M. Krystyjan, Katedra Technologii Węglowodanów, Wydz. Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków. Kontakt: anna.dobosz88@gmail.com

trogradacja amylozy kończy się zwykle po kilku godzinach od przygotowania próbki [10], a największym tempem retrogradacji odznaczają się cząsteczki amylozy o małej masie cząsteczkowej [16, 52]. Ze względu na wysoką temperaturę topnienia kryształów amylozy (powyżej 100 °C), w warunkach normalnych jest ona procesem nieodwracalnym [36]. Z kolei retrogradacja długoterminowa wiąże się z rekrytalizacją zewnętrznych odgałęzień amylopektyny. Zachodzi znacznie wolniej niż retrogradacja amylozy (nawet do kilku tygodni) [10, 21, 29] i jest zjawiskiem odwracalnym termicznie [36]. Cząsteczki amylopektyny o małej i średniej długości najbardziej zewnętrznych, końcowych rozgałęzień łańcuchów, biorących udział w tworzeniu kryształów podczas retrogradacji, ulegają temu procesowi wolniej niż te o większej długości [38].

Zwykle retrogradacja jest procesem niepożądanym, gdyż prowadzi do pogorszenia właściwości produktów zawierających skrobię, m.in. konsystencji czy stopnia zętnienia kleików i żeli. Ponadto tworzenie kryształów amylozy i amylopektyny przyczynia się do stopniowego zwiększania sztywności żeli oraz ich synerezy [25, 32, 40, 54]. Retrogradacja może być także zjawiskiem korzystnym, ponieważ prowadzi do powstania jednego z rodzajów tzw. skrobi odpornej (ang. *resistant starch*), zaliczanej do składników błonnika pokarmowego [9, 13]. W wyniku retrogradacji amylozy, zachodzącej w trakcie schładzania skleikowanej skrobi, tworzy się bowiem frakcja skrobi odpornej na działanie amylaz, nazywana skrobią oporną RS3 [9, 13].

Stabilność produktów spożywczych zawierających skrobię można zwiększyć, stosując skrobię modyfikowaną [51, 52]. Podejmuje się też próby poprawy trwałości układów poprzez dodatek nieskrobiowych hydrokoloidów polisacharydowych (NHP) [2, 3, 4, 6, 7, 10, 11, 12, 47, 48], gdyż zmieszanie skrobi z NHP wpływa na żelowanie oraz na lepkość wytworzonych żeli i ich podatność na retrogradację [1, 3, 6, 10, 11, 27, 46].

Ze względu na duże znaczenie retrogradacji skrobi, zarówno bez dodatku, jak i z dodatkiem NHP, opracowano wiele metod badania tego zjawiska, a wybór odpowiedniej techniki pomiaru ma decydujący wpływ na uzyskanie poprawnych wyników [8, 21].

Podział metod pomiaru retrogradacji skrobi

Zjawisko retrogradacji skrobi można badać przy użyciu wielu metod, których podstawę stanowią zmiany właściwości fizycznych i chemicznych układów skrobiowych lub produktów spożywczych na bazie skrobi, powstające w trakcie ich starzenia [21]. Według Karima i wsp. [21] metody badania retrogradacji skrobi dzielą się na dwie grupy – techniki makroskopowe, analizujące zmiany właściwości fizycznych skrobi świadczących o retrogradacji oraz techniki molekularne, które analizują zmiany zachodzące w konformacji skrobi, a także mobilność wody w utworzonych żelach skrobiowych na poziomie cząsteczkowym. Do technik makroskopowych Karim i wsp.

[21] zaliczyli: skaningową kalorymetrię różnicową (DSC), analizę tekstury, badania reologiczne, turbidymetrię i pomiary synerezy żeli. Z kolei wśród technik molekularnych wyróżnili: jądrowy rezonans magnetyczny (NMR), dyfrakcję rentgenowską, spektroskopię ramanowską oraz spektroskopię fourierowską (FTIR).

Skaningowa kalorymetria różnicowa (DSC)

W skaningowej kalorymetrii różnicowej (DSC) mierzy się różnicę energii wprowadzonej do próbki i materiału odniesienia, jako funkcję temperatury w czasie, podczas zaprogramowanego ogrzewania lub chłodzenia obu materiałów [20, 21]. Metodę tę wykorzystuje się głównie do badania retrogradacji amylopektyny [10, 19, 39, 49, 55], ale można ją stosować także w celu określenia retrogradacji krótkoterminowej [17, 24, 32, 35].

Do zalet DSC należą m.in. prosta procedura wykonywania pomiarów, brak zmian zawartości wody w trakcie przechowywania żeli (ze względu na stosowanie hermetycznych pojemników) oraz możliwość bezpośredniego wyznaczenia energii potrzebnej do stopienia zretrogradowanej skrobi. Wadami tej metody są jednak wysokie koszty i problemy z pobraniem do analizy reprezentatywnych próbek (z powodu ich małych rozmiarów) [21]. Ponadto, aby zbadać retrogradację, stężenie skrobi powinno być większe niż 15 % (m/m) [21, 32], co uniemożliwia zastosowanie DSC do pomiaru zjawiska retrogradacji typowych żeli skrobiowych, tzn. o mniejszej zawartości skrobi. Oznaczenie retrogradacji skrobi w żelach o mniejszym stężeniu jest jednak możliwe, gdy retrogradację prowadzi się poza urządzeniem DSC i do badań stosuje się skrobię retrogradowaną [18, 31].

Pomiary tekstury

Jednym z testów stosowanych do pomiaru retrogradacji żeli skrobi i ich mieszanin z NHP jest instrumentalna analiza profilu tekstury (*texture profile analysis* – TPA). Zaletą TPA jest możliwość doboru różnych warunków eksperymentalnych, takich jak: wielkość i kształt próbek, stopień deformacji próbki, prędkość głowicy czy liczba powtórzeń. Istnieje też możliwość utworzenia programu pomiarowego oraz automatycznego obliczania wyników, co pozwala zaoszczędzić czas i zmniejsza częstość występowania błędów. Wadą tej metody jest brak normalizacji procedur i warunków prowadzenia badań, co utrudnia porównywanie wyników otrzymanych przez różnych badaczy [21].

W literaturze nie ma zbyt wielu informacji na temat zastosowania analizy profilu tekstury do badania zjawiska retrogradacji żeli skrobiowych z dodatkiem, jak również bez dodatku NHP. Prowadzone dotychczas pomiary dotyczyły przede wszystkim właściwości teksturalnych żeli mierzonych najpóźniej 24 h po ich wytworzeniu. Przykładem mogą być badania Huanga i wsp. [15], Sandhu i Singh [45] oraz Coronato i wsp.

[7]. Huang i wsp. [15] analizowali teksturę żeli różnych odmian skrobi ryżowej (o stężeniu 35 % (m/m)) z dodatkiem gumy gellan, konjac albo karagenów po kilku godzinach przechowywania próbek w temp. 4 °C. Zaobserwowali dużą zależność wyników twardości, żujności i adhezyjności od odmiany ryżu i rodzaju dodanego hydrokoloidu. Sandhu i Singh [45] stwierdzili występowanie znacznych różnic pomiędzy parametrami teksturalnymi 6-procentowych (m/m) żeli skrobi różnych odmian kukurydzy. Z kolei Coronato i wsp. [7] na podstawie analizy profilu tekstury żeli zawierających skrobię manioku oraz gumę gellan, w których fazę rozpraszającą stanowiła woda lub mleko, zauważyli, że dodatek nieskrobiowego hydrokoloidu w dużo większym stopniu zmienił właściwości układów na bazie mleka niż na bazie wody, potwierdzając konieczność obecności kationów do wytworzenia żelu gumy gellan.

Badania retrogradacji długoterminowej żeli poprzez pomiar tekstury prowadziło tylko kilka grup badaczy [19, 29, 55]. Nie stosowali oni jednak metody TPA, ale tzw. test penetracji, na podstawie którego wyznacznali jedynie niektóre parametry teksturalne. Vandeputte i wsp. [55] badali wpływ struktury skrobi ryżowych (o określonej bezwzględnej zawartości amylozy, niezawierających amylozy, o znanej zawartości kompleksów amylozowo-lipidowych i rozkładzie długości łańcuchów amylopektyny) na retrogradację amylopektyny i właściwości teksturalne żeli. Stwierdzili, że żele skrobi woskowych po 2 dniach i po 2 tygodniach przechowywania charakteryzowały się podobnymi parametrami teksturalnymi. Z kolei żele z normalnych skrobi ryżowych przechowywane przez 2 tygodnie odznaczały się większą twardością (ang. *firmness*) i siłą po relaksacji (ang. *force after-relaxation*) niż żele przechowywane przez 2 dni. Nie zaobserwowano natomiast związku właściwości teksturalnych z zawartością kompleksów amylozowo-lipidowych i rozkładem długości łańcuchów amylopektyny. Karam i wsp. [19], badając retrogradację 6-procentowych (m/v) mieszanych żeli skrobi kukurydzianej, manioku i pochryznu skrzydlastego (łac. *Dioscorea alata*), nie stwierdzili istotnych zmian wartości parametrów tekstury żeli przechowywanych w temp. 4 °C przez 7 dni. Zasugerowali oni, że głównym czynnikiem wpływającym na właściwości żeli była retrogradacja amylozy, występująca przed rozpoczęciem pomiarów tekstury. Krystyjan i wsp. [29] prowadzili badania tekstury żeli skrobi ziemniaczanej oraz żeli tej skrobi z dodatkiem κ -karagenu oraz gum: guarowej lub ksantanowej, przechowywanych w temp. 5 °C przez 30 dni. Stwierdzili, że dodatek hydrokoloidów wpływał jedynie na siłę żelu (ang. *strength*) 3-procentowych (m/m) mieszanych układów. Ponadto zaobserwowali nieznaczny wpływ stężenia i rodzaju dodanego hydrokoloidu na kruchość żeli.

Pomiary reologiczne

Wśród pomiarów reologicznych, które można zastosować do opisu zjawiska retrogradacji skrobi wyróżnia się m.in. jednoosiowe ściskanie, badania oscylacyjne, test pełzania i powrotu oraz test relaksacji naprężeń [21, 40].

Z wymienionych wyżej metod najczęściej stosowane są badania oscylacyjne. Można je stosować do pomiaru retrogradacji, zarówno krótko-, jak i długoterminowej [21]. Polegają na poddaniu próbki żelu działaniu okresowego, sinusoidalnego momentu obrotowego (naprężenia) o małej amplitudzie. Przyłożone naprężenie zmienia się przy danej częstotliwości. Jeśli zachowanie materiału lepkosprężystego jest liniowe, w wyniku pomiarów otrzymuje się sinusoidalnie zmienne naprężenie, które jest przesunięte w fazie o kąt δ . W przypadku ciał doskonale lepkich, kąt przesunięcia fazowego jest równy 90° . Z kolei, jeśli kąt δ wynosi 0° , badaną substancją jest ciecz doskonale sprężysta. Natomiast gdy wartość kąta przesunięcia fazowego mieści się pomiędzy 0 a 90° , próbka wykazuje właściwości lepkosprężyste [21, 37, 40]. Na podstawie kąta przesunięcia fazowego można wyznaczyć również tzw. moduł zespolony przy ścinaniu. Ma on dwie składowe G' i G'' [37]. G' jest nazywany modułem sprężystości, określającym energię elastyczną, która jest zmagazynowana w próbce. Moduł ten jest wskaźnikiem stałego lub elastycznego charakteru materiału – gdy G' jest wysoki, materiał odznacza się wysokim stopniem sprężystości. Natomiast G'' jest to tzw. dynamiczny moduł lepkości, zwany także modułem strat. Określa on energię próbki zamienioną na ciepło i jest wskaźnikiem zachowania lepkiego lub ciekłego [21, 35, 37]. W czasie chłodzenia próbek i przechowywania żeli obserwuje się zwiększanie wartości obu modułów, przy czym wzrost modułu sprężystości jest znacznie większy [23, 29] i to właśnie wyniki pomiarów G' najczęściej wykorzystuje się w celu określenia tendencji żeli do retrogradacji [5, 10, 11, 23, 32, 33, 35]. Zaobserwowano, że moduł sprężystości zwiększa się gwałtownie w czasie chłodzenia układów i na początku okresu przechowywania próbek, co jest związane z tworzeniem żelu i retrogradacją amylozy [5, 10, 11, 23, 29, 32]. Natomiast podczas dłuższego przechowywania próbek obserwuje się powolny wzrost wartości G' , świadczący o retrogradacji amylopektyny [29, 32, 35].

Jedną z zalet pomiarów oscylacyjnych jest możliwość badania rozwoju struktury żelu w czasie jego tworzenia, a także podczas przechowywania. Badania te pozwalają bowiem na stałą ocenę modułów dynamicznych bez niszczenia struktury próbki wytworzonej w czasie starzenia. Ponadto uzyskiwane wyniki wyrażone są w jednostkach absolutnych, co umożliwia porównywanie danych otrzymanych przez różnych badaczy oraz przy użyciu różnych urządzeń pomiarowych [21]. Wadą badań oscylacyjnych jest konieczność wyznaczenia zakresu liniowej lepkosprężystości przed rozpoczęciem pomiarów, czyli obszaru, w którym odkształcenie jest mierzone bezpośrednio i jest ono

proporcjonalne do przyłożonego naprężenia (tj. zakresu, w którym moduły nie zależą od odkształcenia) [21, 32].

Prowadzone dotychczas badania oscylacyjne dotyczyły głównie właściwości lepkosprężystych układów skrobiowych bezpośrednio po przygotowaniu próbek lub po 24 h od ich sporządzenia. Pomiarów takie wykonywali m.in. Singh i Singh [50] oraz Kaur i wsp. [23], którzy badali właściwości lepkosprężyste kleików i żeli skrobi ziemniaczanej. Z kolei Sandhu i wsp. [44] analizowali właściwości żeli skrobi kukurydzianej, a Lu i wsp. [33] – skrobi różnych odmian ryżu. Closs i wsp. [6] badali właściwości żeli skrobi kukurydzianej (natywnej, woskowej i czystej amylopektyny) z dodatkiem gumy guarowej. Natomiast Chaisawang i Supphantharika [3, 4] zajmowali się badaniem właściwości mieszanych żeli natywnej, anionowej (fosforylowanej tripolifosforanem sodu) i kationowej skrobi tapiokowej z gumą guarową lub ksantanową. Właściwości mieszanych żeli skrobi tapiokowej badali też Pongsawatmanit i wsp. [42], a Choi i Yoo [5] wykonywali pomiary właściwości lepkosprężystych kleików i żeli skrobi batatów z dodatkiem gumy ksantanowej.

Badania krótkoterminowej retrogradacji skrobi (24 h od momentu przygotowania próbek) z zastosowaniem pomiarów oscylacyjnych prowadzili m.in. Funami i wsp. [10], którzy stwierdzili, że dodatek niejonowych polisacharydów (gumy guarowej, tara, konjac, mączki chleba świętojańskiego) zmienił podatność żeli skrobi pszennej na retrogradację we wczesnym etapie przechowywania i hamował proces retrogradacji amylozy. Z kolei Funami i wsp. [11] zauważyli, że wpływ dodatku gumy guarowej na retrogradację skrobi kukurydzianej zależał od masy cząsteczkowej NHP. Natomiast dodatek gumy arabskiej przyspieszał rozwój struktury mieszanego żelu skrobi ryżowej [12]. Badania retrogradacji mieszanych żeli skrobi w ciągu 24 h, przy użyciu pomiarów oscylacyjnych, prowadzili także Krystyjan i wsp. [30]. Stwierdzili, że dodatek gumy ksantanowej powodował zmniejszenie właściwości lepkosprężystych i opóźnienie procesu retrogradacji żeli skrobi zbożowych (kukurydzianej i owsianej), natomiast wpływał na zwiększenie lepkosprężystości i przyspieszenie retrogradacji układów skrobi z roślin bulwiastych (ziemniaczanej i tapiokowej). Lewen i wsp. [32] stosowali badania oscylacyjne w celu określenia retrogradacji żeli skrobi kukurydzianej o stężeniu 5, 10, 15 i 25 %, w ciągu 48 h od ich wytworzenia. Zaobserwowali dwuetapowy przebieg procesu retrogradacji skrobi jedynie w przypadku żeli o największej zawartości skrobi (25 %). Matalanis i wsp. [35], badając retrogradację żeli skrobi kukurydzianej, ryżowej i sorgo, po 0, 1, 3, 5 i 7 dniach przechowywania w temp. 4 °C, stwierdzili, że szybkość oraz stopień retrogradacji skrobi zależały od pochodzenia botanicznego skrobi, a retrogradacja przebiegała w dwóch etapach: retrogradacja amylozy (krótkoterminowa), obserwowana w świeżych żelach i retrogradacja długoterminowa, widoczna w czasie przechowywania. Natomiast Krystyjan i wsp. [29] zauważyli, że stabilność żeli skrobi ziemniaczanej z dodatkiem κ -karagenu, gumy guarowej lub gumy

ksantanowej, przechowywanych przez 30 dni, zależała od ich stężenia oraz rodzaju dodanego hydrokoloidu, a zmiany wartości modułów G' i G'' świadczyły o występowaniu krótko- i długoterminowej retrogradacji skrobi.

Pomiary turbidymetryczne

Pomiary turbidymetryczne to kolejna metoda, na podstawie której możliwe jest określenie retrogradacji żeli skrobiowych, zarówno krótko-, jak i długoterminowej. W metodzie tej wykorzystuje się zjawisko zwiększania zmętnienia żeli w czasie ich starzenia, spowodowane łączeniem się cząsteczek skrobi i zmianami w rozkładzie gęstości, wynikającymi z rozdzielania się faz [21, 40].

Badania retrogradacji skrobi z wykorzystaniem metod turbidymetrycznych prowadzili m.in. Perera i Hoover [39]. Autorzy ci badając zmętnienie żeli skrobi ziemniaczanej (natywnej, odtłuszczonej i modyfikowanej metodą hydrotermiczną), przechowywanych przez 35 dni, stwierdzili, że największym początkowym zmętnieniem charakteryzowały się żele skrobi poddanej modyfikacji hydrotermicznej, a najmniejszym – żele skrobi natywnej. Zmętnienie badanych żeli zwiększało się w trakcie przechowywania, przy czym największy wzrost zmętnienia zaobserwowano po jednym dniu, co sugerowało, że najbardziej intensywnym procesem była retrogradacja amylozy (krótkoterminowa). Singh i Singh [50], stosując pomiary turbidymetryczne w celu określenia retrogradacji żeli skrobi ziemniaczanej, przechowywanych w temp. 4 °C przez 5 dni, stwierdzili, że mniejsze zmętnienie wykazały żele skrobi o większych rozmiarach ziarenek, a tym samym charakteryzowały się one mniejszą podatnością na retrogradację. Kaur i wsp. [23], badając retrogradację żeli skrobi pochodzącej z różnych odmian ziemniaków zaobserwowali, że zarówno zmętnienie, jak i procent przepuszczalności światła poszczególnych układów skrobiowych różniły się w sposób istotny. Ponadto w przypadku wszystkich żeli odnotowali zmniejszanie się przepuszczalności światła i zwiększanie zmętnienia w trakcie ich przechowywania. Sandhu i wsp. [44] oraz Sandhu i Singh [45] zaobserwowali różnice zmętnienia żeli skrobi kukurydzianej z różnych odmian kukurydzy, a także powolne zachodzenie procesu retrogradacji skrobi podczas przechowywania żeli. Z kolei Jambrak i wsp. [17], badając retrogradację żeli skrobi kukurydzianej modyfikowanej działaniem ultradźwięków, nie stwierdzili istotnych różnic pomiędzy zmętnieniem świeżych żeli skrobi modyfikowanych i żelu skrobi natywnej. Zauważyli jednak zmniejszanie się zmętnienia żeli skrobi modyfikowanych w czasie przechowywania, przy czym spadek był tym większy, im większa była intensywność działania ultradźwięków. Natomiast Pietrzyk i Fortuna [41], badając zmętnienie żeli ze skrobi różnego pochodzenia botanicznego (natywnych i utlenionych przy użyciu różnych utleniaczy), przechowywanych przez 21 dni w temp. 8 °C, stwierdzili, że największą podatnością na retrogradację charakteryzowały się żele skrobi pszennej i kukurydzianej, a najmniejszą – układy skrobi kuku-

rydzianej woskowej. Podatność na retrogradację żeli skrobi modyfikowanych zależała od rodzaju zastosowanego czynnika utleniającego. Wyjątek stanowiły żele utlenionej skrobi kukurydzianej woskowej, które nie wykazywały retrogradacji w trakcie przechowywania. Zjawiska retrogradacji nie zaobserwowali także Krysińska i wsp. [28], którzy prowadzili pomiary zmętnienia żeli skrobi modyfikowanych (hydroksypropylowanego fosforanu diskrobiowego, acetylowanego adypinianu diskrobiowego oraz mieszanin tych skrobi), otrzymanych z kukurydzy woskowej, przechowywanych przez 21 dni, w temp. 6 °C. Podobne wyniki uzyskali Sitkiewicz i Denoch [51]. Badali oni retrogradację żeli ze skrobi kukurydzianych woskowych (natywnej i skrobi modyfikowanych), przechowywanych przez 9 dni w temp. 4 °C. Zauważyli, że żele skrobi modyfikowanych charakteryzowały się mniejszą przejrzystością niż żel skrobi natywnej. Ponadto nie wykazywały one zjawiska retrogradacji w trakcie przechowywania.

Pomiary synerezy

Pomiary synerezy żeli należą do makroskopowych technik opisu zjawiska retrogradacji skrobi, pozwalających na określenie krótko- i długoterminowej retrogradacji. Badania te stosowano przede wszystkim do określania stabilności żeli skrobiowych na zamrażanie i rozmrażanie [21, 35, 43].

Badania stabilności zamrażalniczej żeli skrobiowych poprzez pomiar synerezy polegają na poddaniu próbki wielokrotnemu zamrażaniu i rozmrażaniu do temperatury pokojowej, a następnie na oddzieleniu (zwykle przez odwirowanie) uwolnionej fazy ciekłej i jej zważeniu [21, 35, 43]. Pomiary te można stosować jako wskaźnik tendencji skrobi do retrogradacji, ponieważ po wymrożeniu wody zachodzi proces retrogradacji amylopektyny. Im większa jest liczba cykli zamrażanie – rozmrażanie, tym większa jest retrogradacja amylopektyny (większa synereza żeli). Zastosowanie tej metody może jednak prowadzić do otrzymania nieprawidłowych wyników, ponieważ pozostawienie kleików skrobiowych w temperaturze pokojowej przez 1 h powoduje, że reabsorbują one większość oddzielonej cieczy [21].

Pomiary synerezy stosowano także do badania retrogradacji żeli skrobiowych przechowywanych w warunkach chłodniczych, niepoddanych zamrażaniu. Pomiary takie wykonywali m.in. Kaur i wsp. [23]. Badali oni retrogradację żeli skrobi ziemniaczanej z różnych odmian ziemniaków, przechowywanych przez 24, 48 i 120 h w temp. 4 °C. Zaobserwowali, że podatność żeli miała związek z zawartością amylozy i strukturą ziarenek skrobiowych. Największą synerezę stwierdzili w przypadku żeli skrobi z odmian ziemniaków, z których skrobia charakteryzowała się mniejszą zawartością amylozy i większym udziałem małych ziarenek. Ponadto zaobserwowali, że większą podatnością na retrogradację odznaczały się żele skrobi wyizolowanej ze skrobiowych odmian ziemniaków. Podobne badania wykonywali Sandhu i wsp. [44]. Badali retrogradację żeli skrobi różnych odmian kukurydzy, przechowywanych przez 24, 48

i 120 h w temp. 4 °C. Stwierdzili, że retrogradacja wszystkich badanych żeli zwiększała się wraz ze wzrostem okresu przechowywania, a największą podatnością na retrogradację odznaczały się żele skrobi z odmian kukurydzy zawierających skrobię o dużych oraz podłużnych ziarenkach. Funami i wsp. [10, 11, 12] stosowali pomiary synerezy do badania stabilności mieszanych żeli przechowywanych w warunkach chłodniczych. Stwierdzili, że dodatek niejonowych polisacharydów (gumy guarowej, tara, konjac i mączki chleba świętojańskiego) zmniejszał podatność na retrogradację żeli skrobi pszennej, przechowywanych przez 7 i 14 dni w temp. 4 °C [10]. Zauważyli także, że wpływ dodatku gumy guarowej na retrogradację żeli skrobi kukurydzianej, przechowywanych przez 7 i 14 dni w temp. 4 °C, zależał od masy cząsteczkowej nieskrobiowego hydrokoloidu (im masa cząsteczkowa gumy guarowej była większa, tym wolniej zachodziła długoterminowa retrogradacja) [11]. Z kolei obecność gumy guarowej powodowała zwiększenie synerezy mieszanych żeli skrobi pszennej, przechowywanych przez 24 h w temp. 4 °C [12]. Natomiast Krysińska i wsp. [28] wykorzystywali pomiary synerezy do badania długoterminowej retrogradacji żeli skrobi modyfikowanych (hydroksypropylovanego fosforanu diskrobiowego, acetylowanego adypinianu diskrobiowego oraz mieszanin tych skrobi), z kukurydzy woskowej, przechowywanych przez 1 ÷ 9 dni, w temp. 6 °C. Nie zaobserwowali oni zjawiska synerezy żeli badanych skrobi, a odporność skrobi na retrogradację tłumaczyli wpływem obecności grup acetylowych i hydroksypropylowych na zatrzymywanie wody w cząsteczkach skrobi i opóźnianie krystalizacji amylopektyny.

Rentgenografia proszkowa

Dyfrakcja rentgenowska jest jedną z molekularnych technik pomiaru retrogradacji skrobi, którą można zastosować do badania właściwości żeli przechowywanych przez dłuższy czas. W metodzie tej wykorzystuje się zmianę stopnia krystaliczności skrobi w czasie kleikowania i żelowania. Skrobie natywne występują bowiem w formie ziarenek, które można traktować jako częściowo krystaliczne, a częściowo amorficzne układy. Obszary krystaliczne zbudowane są głównie z uporządkowanych promieniście w ziarenku skrobiowym liniowych fragmentów amylopektyny. Są one poprzedzielane warstwami amorficznymi, które składają się z cząsteczek amylozy i miejsc rozgałęzień amylopektyny [21, 24, 53]. W wyniku ogrzewania zawiesin, ziarenka skrobi pęcznieją lub nawet dochodzi do ich rozpadu (w zależności od stężenia skrobi i zastosowanej obróbki), na skutek czego tracą one swój semikrystaliczny charakter [21, 24, 35]. Częściowo uporządkowana struktura skrobi odtwarza się w czasie przechowywania żeli, tzn. w trakcie ich retrogradacji [21, 24]. Zastosowanie dyfrakcji rentgenowskiej, po uwzględnieniu wyników pomiaru retrogradacji przy użyciu innych technik, pozwala stwierdzić, że krystalizacja starzejących się żeli skrobiowych jest procesem dwufazowym [21].

W wyniku pomiarów krystaliczności skrobi za pomocą proszkowych widm rentgenowskich uzyskuje się dyfraktogramy, których wygląd jest charakterystyczny dla danej postaci skrobi. Na podstawie przebiegu widm rentgenograficznych skrobie dzieli się na typy: A, B, C oraz V [54]. Typ A wykazują natywne skrobie zbożowe (pszenna, ryżowa, kukurydziana). Typ B jest charakterystyczny dla skrobi z roślin bulwiastych, a także owoców, skrobi wysokoamylozowej i niektórych skrobi zretrogradowanych. Z kolei typ C jest typem pośrednim pomiędzy typem A i B, wykazywanym przez skrobie nasion roślin strączkowych, a typ V jest przypisany kompleksom amylozowo-lipidowym, występującym w starych żelach skrobi zbożowych o dużej zawartości tłuszczów [21, 38, 54].

Kim i wsp. [25] badali wpływ stężenia (10 i 50 % (m/m)) i temperatury (-18, 2 i 18 °C) na retrogradację żeli normalnej i woskowej skrobi ryżowej, przechowywanych przez 6 dni. Zauważyli, że stężone żele przechowywane w wyższych temperaturach (2 i 18 °C) odznaczały się występowaniem piku charakterystycznego dla skrobi typu B. Natomiast dyfraktogramy pozostałych żeli wskazywały na ich amorficzny charakter. Retrogradację żeli skrobiowych z zastosowaniem dyfrakcji rentgenograficznej badali też Perera i Hoover [39]. Stwierdzili, że świeże żele natywnej, odtłuszczonej oraz modyfikowanej metodą termiczną skrobi ziemniaczanej miały charakter amorficzny. Z kolei układy tych skrobi pod koniec okresu przechowywania (30 dni) charakteryzowały się występowaniem piku, obserwowanego w przypadku natywnych skrobi z roślin bulwiastych.

Krystyjan i wsp. [30] zaobserwowali, że kleiki skrobi ziemniaczanej i tapiokowej, bezpośrednio po skleikowaniu, a także żele skrobi tapiokowej (z dodatkiem i bez dodatku gumy ksantanowej) przechowywane przez 72 h nie wykazywały obecności struktur uporządkowanych. Niewielkim uporządkowaniem struktury charakteryzowały się natomiast mieszane żele skrobi ziemniaczanej po 12 h przechowywania, co sugerowało, że obecność NHP mogła przyspieszać retrogradację. Z kolei żele skrobi zbożowych odznaczały się występowaniem uporządkowanej struktury już bezpośrednio po ich wytworzeniu, a dodatek gumy ksantanowej miał znaczenie jedynie w odniesieniu do skrobi owsianej.

Jądrowy rezonans magnetyczny (NMR)

Inną molekularną techniką, którą można wykorzystać do pomiaru krótko- i długoterminowej retrogradacji skrobi, jest jądrowy rezonans magnetyczny (NMR) [2, 21]. W metodzie tej bada się struktury molekularne poprzez pomiary interakcji oscylującego pola elektromagnetycznego o częstotliwości radiowej ze zbiorem jąder atomowych, będących częścią atomów tworzących cząsteczki, zanurzonych w silnym zewnętrznym polu magnetycznym [34]. Najczęściej stosowaną techniką badania systemów żywnościowych, pozwalającą określić ich strukturę fizyczną poprzez analizę zaniku sygnału

NMR, jest technika niskiej rozdzielczości (^1H NMR) [21]. W badaniu retrogradacji skrobi przy użyciu ^1H NMR wykorzystuje się tendencję, że wraz z postępowaniem tego procesu zmniejsza się sygnał pochodzący od fazy płynnej i równocześnie zwiększa się sygnał przypisywany protonom fazy stałej [2]. Podstawę do rozróżnienia pomiędzy cząsteczkami skrobi w stanie ciekłym i w stanie stałym (zretrogradowanym) stanowi różnica czasu relaksacji spin-spin (T_2), która jest szczególnie wrażliwa na zmiany molekularnej mobilności [21].

Zastosowanie NMR do badania długoterminowej retrogradacji skrobi ma wiele zalet, m.in. nieinwazyjny i nieniszczący charakter metody, pozwalający na prowadzenie pomiarów przy użyciu tej samej próbki, przez cały czas trwania doświadczenia [2, 21]. Ponadto pomiary można prowadzić w szerokim zakresie temperatur i stężeń żeli skrobiowych [21].

Dotychczas pomiary z zastosowaniem niskiej rozdzielczości ^1H NMR stosowano głównie w celu określania stabilności żeli skrobiowych na zamrażanie i rozmrażanie [22, 26] lub pomiarów czasu relaksacji spin-sieć (T_1) oraz spin-spin (T_2) w trakcie kleikowania i żelowania układów skrobi pszennej [14] oraz ziemniaczanej z dodatkiem NHP [1].

Badania stabilności mieszanych żeli prowadzili Baranowska i wsp. [2]. Badali mobilność cząsteczek wody w trakcie 94 h przechowywania mieszanych żeli skrobi ziemniaczanej, manioku, kukurydzianej i owsianej z dodatkiem lub bez dodatku gumy ksantanowej, guarowej i κ -karagenu. Zaobserwowali, że skrobie zbożowe tworzyły sztywniejsze żele niż skrobie z roślin bulwiastych, a stabilność dwuskładnikowych żeli zależała od rodzaju dodanego NHP, rodzaju skrobi oraz temperatury przechowywania. Największą stabilnością odznaczały się żele skrobi ziemniaczanej z dodatkiem gumy ksantanowej, przechowywane w temperaturze pokojowej oraz mieszane żele skrobi manioku z gumą guarową, zarówno w trakcie przechowywania w temp. otoczenia, jak i w $4\text{ }^\circ\text{C}$.

Inne metody pomiaru zjawiska retrogradacji

W literaturze opisywane są także inne metody pomiaru retrogradacji skrobi. Należą do nich m.in. spektroskopia w podczerwieni, której odmianą jest spektroskopia fourierowska (FTIR) oraz spektroskopia ramanowska [8, 21, 40]. Choć ich użycie umożliwia ciągły pomiar retrogradacji na poziomie molekularnym, to jednak nie znalazły one powszechnego zastosowania do badania tego zjawiska [21].

Dużą grupę metod, które można stosować do pomiaru procesu retrogradacji skrobi, stanowią także techniki wykorzystujące barwną reakcję skrobi z jodem [21]. Zaobserwowano bowiem, że amyloza w czasie retrogradacji traci zdolność do tworzenia niebieskiego kompleksu z jodem, co jest spowodowane tworzeniem przez ten polimer podwójnych helis, które nie mogą pomieścić jonów polijodkowych [21, 24]. Zastoso-

wanie tych metod jest jednak ograniczone, gdyż odzwierciedlają one tylko retrogradację krótkoterminową (retrogradację amylozy) [21].

Retrogradację, a szczególnie jej szybkość we wczesnych etapach procesu, można określić także poprzez pomiar odporności skrobi na hydrolizę [21, 53]. W metodzie tej wykorzystuje się zjawisko, że retrogradacja w dużym stopniu ogranicza dostępność skrobi dla enzymów amylolitycznych, a tym samym zmniejsza stopień hydrolizy [53]. Nie znalazła ona jednak szerszego zastosowania z uwagi na konieczność zapewnienia odpowiednich warunków ogrzewania i przechowywania próbek, w celu wywołania krystalizacji amylozy lub amylopektyny, a jednocześnie optymalnych warunków działania enzymów. Wykorzystanie tej metody utrudnia również obecność innych składników żywności [21].

Podsumowanie

Z przedstawionego przeglądu literatury wynika, że retrogradację skrobi z dodatkiem i bez dodatku NHP bada się przede wszystkim poprzez zastosowanie makroskopowych metod pomiaru tego zjawiska. Natomiast wykorzystanie metod molekularnych jest niewielkie. Wyjątek stanowią rentgenografia proszkowa oraz jądrowy rezonans magnetyczny, przy czym jak dotąd NMR stosowano głównie do określenia stabilności żeli skrobiowych na zamrażanie oraz rozmrażanie.

Dotychczas prowadzono przeważnie badania retrogradacji krótkoterminowej żeli skrobiowych bez dodatków nieskrobiowych hydrokoloidów polisacharydowych lub do badań stosowano tylko jedną technikę pomiarów. Większość badań dotyczyła retrogradacji żeli skrobi ryżowej oraz mieszanych układów tej skrobi, z uwzględnieniem takich NHP, jak gumy: gellanowa, konjac i arabska oraz karageny. Dość często badano także krótkoterminową retrogradację naturalnej i modyfikowanej skrobi kukurydzianej, tapiokowej oraz batatów, z/lub bez dodatku gum: guarowej i ksantanowej. Badania te wykonywano do 24 h od momentu wytworzenia żeli, z zastosowaniem pomiarów oscylacyjnych oraz pomiarów tekstury. Natomiast długoterminową retrogradację badano przede wszystkim w odniesieniu do żeli skrobi: ryżowej – z zastosowaniem pomiarów tekstury, badań oscylacyjnych oraz rentgenografii proszkowej, kukurydzianej – poprzez pomiar zmętnienia żeli, pomiary synerozy, analizę tekstury i badania oscylacyjne, a także pomiar ^1H NMR, ziemniaczanej – przy użyciu badań turbidymetrycznych, pomiarów oscylacyjnych, analizy tekstury i rentgenografii proszkowej, pomiarów synerozy oraz ^1H NMR, pszennej – poprzez pomiar zmętnienia żeli, pomiary synerozy i dyfrakcję rentgenowską, owsianej – z wykorzystaniem techniki ^1H NMR i pomiarów rentgenograficznych, oraz maniokowej – z zastosowaniem analizy tekstury i ^1H NMR. Z kolei wpływ dodatku NHP na długoterminową retrogradację mieszanych układów dotyczył jedynie skrobi: ziemniaczanej z dodatkiem κ -karagenu, gumy guarowej lub gumy ksantanowej – poprzez pomiar tekstury i badania oscylacyjne,

¹H NMR oraz pomiary rentgenograficzne (tylko z gumą ksantanową); a także skrobi manioskowej, kukurydzianej i owsianej, zawierających wyżej wymienione hydrokoloidy – techniką ¹H NMR. Badano również długoterminową retrogradację poprzez pomiary synerezy żeli skrobi pszennej z dodatkiem gum: guarowej, konjac i tara, a także mączki chleba świętojańskiego.

Projekt zrealizowano ze środków Narodowego Centrum Nauki, umowa nr UMO-2013/11/B/NZ9/01951.

Literatura

- [1] Baranowska H.M., Sikora M., Kowalski S., Tomasik P.: Interactions of potato starch with selected polysaccharide hydrocolloids as measured by low-field NMR. *Food Hydrocoll.*, 2008, **22** (2), 336-345.
- [2] Baranowska H.M., Sikora M., Krystyan M., Tomasik P.: Evaluation of the time-dependent stability of starch–hydrocolloid binary gels involving NMR relaxation time measurements. *J. Food Eng.*, 2012, **109** (4), 685-690.
- [3] Chaisawang M., Suphantharika M.: Effects of guar gum and xanthan gum additions on physical and rheological properties of cationic tapioca starch. *Carbohydr. Polym.*, 2005, **61** (3), 288-295.
- [4] Chaisawang M., Suphantharika M.: Pasting and rheological properties of native and anionic tapioca starches as modified by guar gum and xanthan gum. *Food Hydrocoll.*, 2006, **20** (5), 641-649.
- [5] Choi H.M., Yoo B.: Steady and dynamic shear rheology of sweet potato starch–xanthan gum mixtures. *Food Chem.*, 2009, **116** (3), 638-643.
- [6] Closs C.B., Conde-Petit B., Roberts I.D., Tolstoguzov V.B., Escher F.: Phase separation and rheology of aqueous starch/galactomannan systems. *Carbohydr. Polym.*, 1999, **39** (1), 67-77.
- [7] Coronato R., Biasutti E.A.R., Carvalho C.W.P., Grossmann M.V.E.: Gellan gum/cassava starch mixtures in water systems and in milk systems. *Starch/Stärke*, 2012, **64** (5), 359-366.
- [8] Fechner P.M., Wartewig S., Kleinebudde P., Neubert R.H.: Studies of the retrogradation process for various starch gels using Raman spectroscopy. *Carbohydr. Res.*, 2005, **340** (16), 2563-2568.
- [9] Fuentes-Zaragoza E., Riquelme-Navarrete M.J., Sánchez-Zapata E., Pérez-Álvarez J.A.: Resistant starch as functional ingredient: A review. *Food Res. Int.*, 2010, **43** (4), 931-942.
- [10] Funami T., Kataoka Y., Omoto T., Goto Y., Asai I., Nishinari K.: Effects of non-ionic polysaccharides on the gelatinization and retrogradation behavior of wheat starch. *Food Hydrocoll.*, 2005, **19** (1), 1-13.
- [11] Funami T., Kataoka Y., Omoto T., Goto Y., Asai I., Nishinari K.: Food hydrocolloids control the gelatinization and retrogradation behavior of starch. 2b. Functions of guar gums with different molecular weights on the retrogradation behavior of corn starch. *Food Hydrocoll.*, 2005, **19** (1), 25-36.
- [12] Funami T., Nakauma M., Noda S., Ishihara S., Asai I., Inouchi N., Nishinari K.: Effects of some anionic polysaccharides on the gelatinization and retrogradation behaviors of wheat starch: Soybean-soluble polysaccharide and gum arabic. *Food Hydrocoll.*, 2008, **22** (8), 1528-1540.
- [13] Haralampu S.G.: Resistant starch – a review of the physical properties and biological impact of RS₃. *Carbohydr. Polym.*, **41** (3), 285-292.
- [14] Gonera A., Cornillon P.: Gelatinization of starch/gum/sugar systems studied by using DSC, NMR, and CSLM. *Starch/Stärke*, 2002, **54** (11), 508-516.

- [15] Huang M., Kennedy J. F., Li B., Xu X., Xie B. J.: Characters of rice starch gel modified by gellan, carrageenan, and glucomannan: A texture profile analysis study. *Carbohydr. Polym.*, 2007, **69** (3), 411-418.
- [16] Ishiguro K., Noda T., Kitahara K., Yamakawa O.: Retrogradation of Sweetpotato Starch. *Starch/Stärke*, 2000, **52** (1), 13-17.
- [17] Jambrak A.R., Hecceg Z., Šubarić D., Babić J., Brncić M., Brncić S.R., Bosiljkov T., Cvek D., Tripalo B., Gelo J.: Ultrasound effect on physical properties of corn starch. *Carbohydr. Polym.*, 2010, **79** (1), 91-100.
- [18] Kapelko M., Zięba T., Golachowski A., Gryszkin A.: Effect of production method on the properties of RS3/RS4 type resistant starch. Part 1. Properties of retrograded starch (RS3) produced under various conditions and its susceptibility to acetylation. *Food Chem.*, 2012, **135** (3), 1494-1504.
- [19] Karam L.B., Grossmann M.V.E., Silva R.S.S.F., Ferrero C., Zaritzky N.: Gel textural characteristics of corn, cassava and yam starch blends: a mixture surface response methodology approach. *Starch/Stärke*, 2005, **57** (2), 62-70.
- [20] Kardas M., Grochowska-Niedworok E.: Różnicowa kalorymetria skaningowa jako metoda termodynamiczna stosowana w farmacji i analizie żywności. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2009, **42** (2), 224-230.
- [21] Karim A.A., Norziah M.H., Seow C.C.: Methods for the study of starch retrogradation. *Food Chem.*, 2000, **71** (1), 9-36.
- [22] Karim A.A., Oo P.S., Seow C.C.: Pulsed NMR measurements of freeze/thaw-induced retrogradation of corn and wheat starch gels: Correlation with rheological measurements. *Food Hydrocoll.*, 2007, **21** (7), 1041-1045.
- [23] Kaur M., Singh N., Sodhi N.: Some properties of potatoes and their starches II. Morphological, thermal and rheological properties of starches. *Food Chem.*, 2002, **79** (2), 183-192.
- [24] Keetels C.J.A.M., Oostergetel G.T., van Vliet T.: Recrystallization of amylopectin in concentrated starch gels. *Carbohydr. Polym.*, 1996, **30** (1), 61-64.
- [25] Kim J.-O., Kim W.-S., Shin M.-S.: A comparative study on retrogradation of rice starch gels by DCS, X-ray and α -amylase methods. *Starch/Stärke*, 1997, **49** (2), 71-75.
- [26] Kim Y.-R., Yoo B.-S., Cornillon P., Lim S.-T.: Effect of sugars and sugar alcohols on freezing behavior of corn starch gel as monitored by time domain ^1H NMR spectroscopy. *Carbohydr. Polym.*, 2004, **55** (1), 27-36.
- [2] Kowalski S., Sikora M., Tomasik P., Krystijan M.: Starch polysaccharide hydrocolloid gels. *Poli-mery*, 2008, **53** (6), 457-464.
- [28] Krysińska P., Gałkowska D., Fortuna T.: Charakterystyka układów skrobi modyfikowanych uzyskanych z kukurydzy woskowej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **60** (5), 9-23.
- [29] Krystijan M., Adameczyk G., Sikora M., Tomasik P.: Long-term storage stability of selected potato starch – non-starchy hydrocolloid binary gels. *Food Hydrocoll.*, 2013, **31** (2), 270-276.
- [30] Krystijan M., Sikora M., Adameczyk G.: Retrogradacja żeli skrobiowych z dodatkiem gumy ksantanowej. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, 2011, **z. 566**, 109-124.
- [31] Lewandowicz G., Soral-Śmietana M.: Starch modification by iterated syneresis. *Carbohydr. Polym.*, 2004, **56** (4), 403-413.
- [32] Lewen K.S., Paeschke T., Reid J., Molitor P., Schmidt S.J.: Analysis of the Retrogradation of Low Starch Concentration Gels Using Differential Scanning Calorimetry, Rheology, and Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *J. Agric. Food. Chem.*, 2003, **51** (8), 2348-2358.
- [33] Lu S., Chen J.-J., Chen J.-K., Lii C.-Y., Chen H.-H.: Water mobility, rheological and textural properties of rice starch gel. *J. Cereal Sci.*, 2011, **53** (1), 31 – 36.
- [34] Macomber R. S.: A complete introduction to modern NMR spectroscopy. A Wiley – Interscience Publication, USA, 2011, pp. 1-5.

- [35] Matalanis A.M., Campanella O.H., Hamaker B.R.: Storage retrogradation behavior of sorghum, maize and rice starch pastes related to amylopectin fine structure. *J. Cereal Sci.*, 2009, **51** (1), 74-81.
- [36] Morris V.J.: Weak and strong polysaccharide gels. In: *Food Polymers, gels and colloids*. Ed. Dickinson E., R. Soc. Chem., 1991, 310-321.
- [37] Pałacha Z., Sitkiewicz I. (Red.): *Właściwości fizyczne żywności*. WNT, Warszawa 2010, pp. 49-52.
- [38] Parker R. Ring S.G.: Aspects of the physical chemistry of starch. *J. Cereal Sci.*, 2001, **34** (1), 1-17.
- [39] Perera C., Hoover R.: Influence of hydroxypropylation on retrogradation properties of native, defatted and heat-moisture treated potato starches. *Food Chem.*, 1999, **64** (3), 361-375.
- [40] Pietrzyk S.: Retrogradacja skrobi i metody jej oznaczania. *Laboratorium*, 2010, (9-10), 40-43.
- [41] Pietrzyk S., Fortuna T.: Wpływ rodzaju skrobi i warunków jej utleniania na retrogradację. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **43** (2), 23-32.
- [42] Pongsawatmanit R., Temsiripong T., Suwonsichon T.: Thermal and rheological properties of tapioca starch and xyloglucan mixtures in the presence of sucrose. *Food Res. Int.*, 2007, **40** (2), 239-248.
- [43] Sae-kang V., Suphantharika M.: Influence of pH and xanthan gum addition on freeze-thaw stability of tapioca starch pastes. *Carbohydr. Polym.*, 2006, **65** (3), 371-380.
- [44] Sandhu K.S., Singh N., Kaur M.: Characteristics of the different corn types and their grain fractions: physicochemical, thermal, morphological, and rheological properties of starches. *J. Food Eng.*, 2004, **64** (1), 119-127.
- [45] Sandhu K.S., Singh N.: Some properties of corn starches II: Physicochemical, gelatinization, retrogradation, pasting and gel textural properties. *Food Chem.*, 2007, **101** (4), 1499-1507.
- [46] Sikora M., Kowalski S.: Interakcje skrobi różnego pochodzenia botanicznego z hydrokoloidami polisacharydowymi. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2003, **10** (1), 40-55.
- [47] Sikora M., Kowalski S., Tomasik P.: Binary hydrocolloids from starches and xanthan gum. *Food Hydrocoll.*, 2008, **22** (5), 943-952.
- [48] Sikora M., Krystyjan M.: Interakcje skrobi różnego pochodzenia botanicznego z nieskrobiowymi hydrokoloidami polisacharydowymi. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **15** (1), 23-40.
- [49] Silverio J., Fredriksson H., Andersson R., Eliasson A.-C., Aman P.: The effect of temperature cycling on the amylopectin retrogradation of starches with different amylopectin unit-chain length distribution. *Carbohydr. Polym.*, 2000, **42** (2), 175-184.
- [50] Singh J., Singh N.: Studies on the morphological, thermal and rheological properties of starch separated from some Indian potato cultivars. *Food Chem.*, 2001, **75** (1), 67-77.
- [51] Sitkiewicz I., Dnoch S.: Właściwości reologiczne oraz retrogradacja wybranych skrobi modyfikowanych kukurydzy woskowej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **46** (1), 143-151.
- [52] Swinkels J.J.M.: Composition and properties of commercial native starches. *Starch/Stärke*, 1985, **37** (1), 1-5.
- [53] Tegge G.: *Skrobia i jej pochodne*. Oddz. Małopolski PTTŻ. Kraków 2010, ss. 16-18, 51-53.
- [54] Tomasik P.: *Wybrane zagadnienia z chemii żywności*. Wyd. AR w Krakowie, Kraków 1997, 45-55.
- [55] Vandeputte G.E., Vermeylen R., Geeroms J., Delcour J.A.: Rice starches. III. Structural aspects provide insight in amylopectin retrogradation properties and gel texture. *J. Cereal Sci.*, 2003, **38** (1), 61-68.

**RETROGRADATION OF STARCH WITH AND WITHOUT NON-STARCH
POLYSACCHARIDE HYDROCOLLOIDS ADDED – MEASUREMENT METHODS
AND APPLICATION THEREOF**

S u m m a r y

In the paper, the classification of those measurement methods was presented, which were applied to measure a retrogradation phenomenon of starch with and without non-starch polysaccharide hydrocolloids (NHP) added; among those methods, some macroscopic and molecular techniques were highlighted. The following macroscopic methods were characterised: differential scanning calorimetry (DSC), texture profile analysis, oscillatory measurements, turbidimetry, and measurements of gel syneresis; also, some examples of their current applications were given. Of all the molecular techniques used to study the retrogradation, the most frequently used methods were specifically pointed out: a nuclear magnetic resonance (NMR) and an X-ray diffractometry. Furthermore, there were specified limitations of applying other methods to study the process of starch retrogradation.

Key words: retrogradation, starch, non-starch polysaccharide hydrocolloids, methods to study starch retrogradation, starch gel stability ☒

DANUTA JAWORSKA, WIESŁAW PRZYBYLSKI

THE EFFECT OF SELECTED FACTORS ON SENSORY QUALITY OF PORK

S u m m a r y

This manuscript presents results of authors' research regarding selected factors influencing sensory pork quality. In the manuscript the role of breed, genes (RYR1^T, RN⁺, CAST), slaughter weight as well as meatiness is comprised. Additionally, the role of intramuscular fat, ultimate pH and heat treatment on pork quality is discussed. It was stated that the optimization of the sensory aspects of the pork quality should not be limited to one aspect only but it should include the practical use of a number of dependent determinants. Obtaining high eating quality depends also on the quality of the raw material and the way of thermal processes (temperature, time, method of thermal process).

Key words: pork, sensory quality, determinants

Introduction

According to the data concerning meat consumption in Europe, pork is the dominant kind of meat and half of the amount is purchased by consumers as a culinary meat and then processed in households. Therefore it is essential to produce the high quality fresh meat which complies with the consumers' requirements. Intensification of meat production could cause the decrease of pork quality because of using breeds with high lean meat content in crossbreeding [14]. Pork quality is a complex property, which is influenced by multiple factors interacting with each other. The factors include breed, genotype, feeding, pre-slaughter handling, stunning, and slaughter method, chilling as well as meat aging [33].

The pork industry faces the dilemma of producing meat with a minimal amount of visible fat in order to take into consideration the consumers' health [29]. However, at

Dr inż. D. Jaworska, prof. dr hab. W. Przybylski, Katedra Technologii Gastronomicznej i Higieny Żywności, Wydz. Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-766 Warszawa. Kontakt: danuta_jaworska@sggw.pl

the same time, sufficient intramuscular fat – IMF (fat located throughout skeletal muscle and responsible for the marbling) should be guaranteed so as to meet consumer expectation as for eating quality. Special attention should be paid to attributes such as tenderness and flavour [13, 49], which are connected with the amount of fat in meat [47]. In case of raw meat the share of different tissues is important and the most significant features of visual quality are colour (tone and its homogeneity), visible fat amount and drip loss [34] whereas in case of processed meat such features as water holding capacity, emulsifying capacity, ability to protein gellification, flavour and texture determine the quality [20, 43]. Meat features are strongly related to *post mortem* changes which depend indirectly on its glycolytic potential and level and degradation tempo in the glycolysis process. The ultimate pH has a great impact on numerous meat attributes such as juiciness, tenderness and water holding capacity (WHC) [15]. The aim of the review was to present and discuss results of authors' research regarding selected factors influencing sensory quality of pork.

Genetic factors

Breed

Proper breed selection is a very important part of pork production in relation to economics. Depending on the demanded proportions of the two major components of the carcass - meat and fat. Palka et al. [31] stated that the breed selection is connected with aspects such as ratio and diameter of muscle fibers, the content of intramuscular fat and the ability of water absorption, which is related to the quality traits such as palatability, juiciness and tenderness. The examples of a popular breeds in Poland are Large White and Polish Landrace. Pigs of both races provide good quality meat. Carcasses are well-muscled. Breed Żłotnicka and Puławska are the examples of types with higher level of fat [37]. Another example is the Pietrain, which as a pure-breed, is rarely slaughtered due to inappropriate meat qualities - susceptibility to stress associated with the presence of the halotate gene ($R_{YR_1}^T$), significant acidification and consequences in unfavorable colour and high drip loss. However, there are also some advantages – this breed has not the biggest daily gains but it achieves the highest meat percentage in the carcass and the largest dorsi muscle [33]. The comparison of sensory quality of meat from the Neckar and P76 lines indicates a higher quality of meat from Neckar line, which is characterized by significantly higher tenderness and juiciness and higher intensity of positive flavour attributes in the tested samples (Fig. 1). The result was probably associated with significantly higher levels of marbling in comparison with meat coming from P76 line. Numerous studies have confirmed a significant and positive impact of the increased marbling on sensory attributes such as tenderness, juiciness and flavour [11, 13, 19, 20].

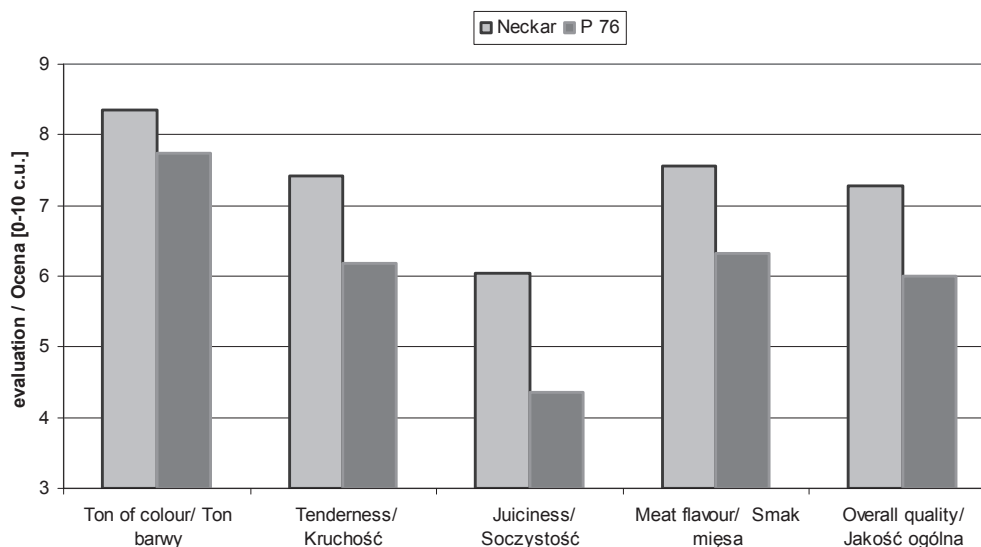


Fig. 1. Sensory pork quality of two different genetic lines- prepared on the basis of [21].

Rys. 1. Jakość sensoryczna mięsa tuczników dwóch linii genetycznych - opracowano na podstawie [21].

Many reports present the meat from Duroc pigs in a favorable light. In a study comparing 10 breeds, Duroc had high scores for texture, juiciness, and flavor and the highest scores for overall liking [46]. Other studies have found that compared to Landrace and Large White pork from Duroc pigs is also more palatable [48]. The occurrence of differences in meat quality among breeds could be explained by differences in pork characteristics, particularly in the high IMF content [48].

Genes

The genetic influence on pork quality comprises differences among breeds as well as differences among animals within the same breed. These differences can be caused by a large number of genes triggering small effects, known as polygenic effects, and in principle most traits of interest for pork quality have a multifactorial background [2]. However, pork quality attributes can also be associated with large monogenic effects. A gene can be considered a major one, when the difference between the mean value of the individuals homozygous for the gene and that of individuals not carrying this gene is equal to or greater than one phenotypic standard deviation of the trait of interest [39]. The proper selection of breeds is mainly determined by carcass structure, proportions and diameter of the fibers in the muscles, intramuscular fat, the degree of acidification of muscle tissue and losses in thermal processes. These features depend on the breed and influence of main genes which adversely affect meat quality, causing the occurrence of defective meat [39].

Most evidence points to the calpains as the main proteomes involved in *post-mortem* tenderization [9]. Although their precise actions remain uncertain it is thought that calpains act by degrading structural and structural proteins of the cytoskeletal network such as titin, nebulin and desmin. The rate of calpastatin degradation and inactivation is related to the rate of proteolysis and tenderization observed in meat and affects meat quality in a direct way. However, the exact factors or sets of conditions that regulate the degradation of calpastatin by calpain are not known [16].

The results of presented study regarding the impact of gene calpastatine (CAST/RsaI) on the pork quality show that the gene calpastatin (CAST/RsaI) affected the eating quality. Pork obtained from variants of polymorphic gene CAST: CC, CD and DD differed in tenderness (Fig. 2).

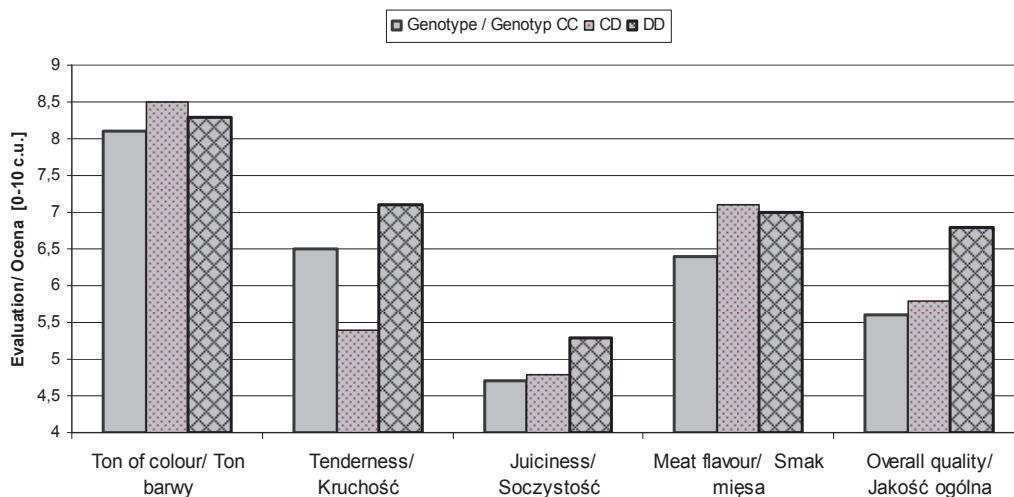


Fig. 2. Effect of polymorphic calpastatin gene CAST variants: CC, CD and DD on pork quality (unpublished data).

Rys. 2. Wpływ wariantów genetycznych CC, CD, DD genu kalpastatyny na jakość wieprzowiny (dane niepublikowane).

The main defect decreasing the sensory meat quality is PSE (pale, soft, exudative). This defect is related to gene RYR_1^T responsible for higher susceptibility to stress. It occurs most commonly in meat breeds and their meat is affected by low pH in the initial period of *post-mortem* changes and 24 hours after slaughter.

The biggest problem for the sensory quality of PSE meat is significant liquid loss during heat treatment and unfavorable light color [35]. It should be noted that the problem of excessive drip loss also applies to the type of ASE meat (acid, soft, exudative) as well as RSE (reddish, soft, exudative). Glycolytic metabolism in ASE meat is slower

than in the PSE type, however, it also leads to the bright colour composition and soft consistency with the excessive drip loss [25].

Acid meat after cooking is characterized by the lowest level of juiciness, marbling and palatability. RSE meat is also watery, but its colour is not changed as much as in case of ASE or PSE meat. Faulty ASE meat connected with gene RN⁻ has a low level of juiciness and palatability. DFD meat (dark, firm, dry) rarely occurs as far as pork is concerned, but its appearance always disqualifies the meat as the culinary one [25].

DFD meat also has a very high susceptibility to changes determined microbiologically; a significant relationship between pH₄₈ after 12 days of storage and the total number of bacteria ($r = 0.74$) in the study of [22] was demonstrated.

Different characteristics of faulty meat quality is presented in Fig. 3.

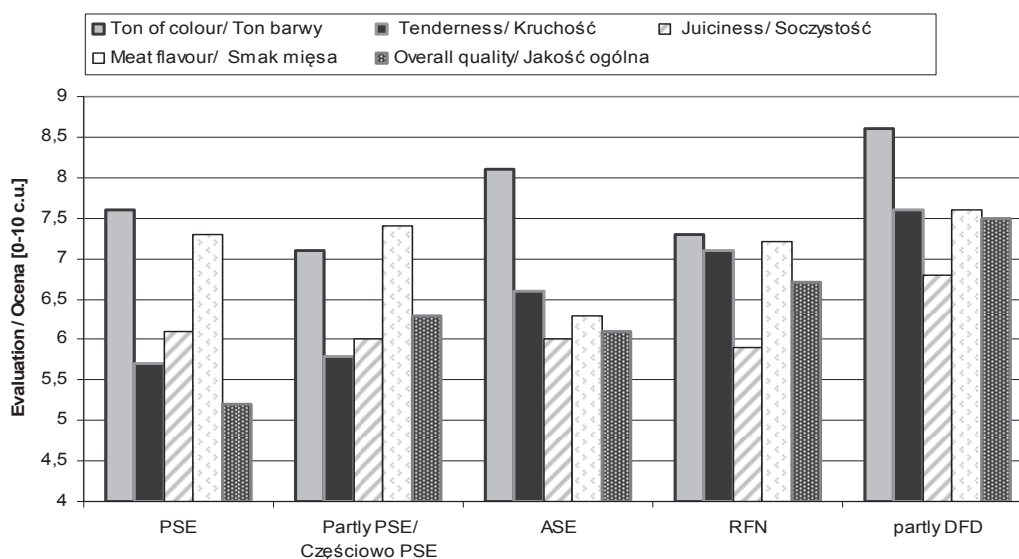


Fig. 3. Characteristic of pork characterized by different quality - prepared on the basis of [34].

Rys. 3. Charakterystyka mięsa wieprzowego różnej jakości - opracowano na podstawie [34].

The DFD raw meat was the least acceptable before heating but after heat treatment it was evaluated as tender and juicy. PSE meat was characterized by the lowest quality due to the lowest tenderness and juiciness. However, heat-treated meat of the RFN and partially DFD type was characterized by favorable values of sensory quality. ASE meat was characterized by high intensity of colour, low intensity of meat flavour, low juiciness and tenderness (Fig. 4). Another study [50] also confirms a lower technological quality of PSE and acid meat. The muscle protein profile showed significantly higher quantity of μ -calpain in PSE and acid meat compared to normal meat. Additionally, lower quantity of polypeptides with molecular sizes 31 and 29 kDa, which were

products of CK (creatinine kinase) degradation, was observed in faulty meat. The lower quantity of myofibrillar proteins (myosin LC1, TnT, and TnC) in meat with higher glycogen levels and lower pH showed higher rates of proteolysis.

Meatiness

In accordance with the requirements of the market, in recent years (2005 - 2011), the average meatiness of carcass has increased (from 52.5 to 55.0 %) [38]. Nowadays breeding is focused on meatiness increase and fat tissue decrease, which resulted in many cases in IMF reduction [26, 45]. Greater efficiency in meat has increased the efficiency of the most valuable elements of lean meat, which are most preferred by consumers. The rate of weight gain has a direct impact on reducing the period of fattening pigs. Muscle growth is dependent on the rate of deposition of protein and fat, which is determined by genotype and environmental factors. Increasing slaughter weight of pigs results in a more intense color of meat, higher intramuscular fat content, lower drip loss. However, production of heavier carcasses is required for numerous meat products, such as raw sausages, fermented hams or the products intended for the Japanese market, where marbled meat is more preferable.

In the study of [40] it was stated that meat obtained from the carcasses classified into class S (according to EUROP) characterized by lower IMF in comparison to class U. However, in the content of dry matter, total protein and ash in meat coming from the carcasses classified into S, E and U. Meat from the carcasses classified into class S was characterized by a significantly higher drip loss than the one from the carcasses classified into class E but no significant differences were observed between mean values of pH₂₄ and pH₄₈, WHC, thermal drip, water-soluble protein content and meat colour parameters. There was a significantly higher frequency in occurrence of PSE and partly PSE meat in carcasses qualified for the class S [40]. Other authors [12] indicated that meat obtained from carcasses of class S and E did not differ in colour and technological value, also sensory attributes were not different. They claimed that meat obtained from carcasses with meatiness above 60 % characterized higher frequency of PSE occurrence. The value of culinary meat depends to a great extent on the decrease of intramuscular fat, which is responsible for sensory quality formation especially tenderness, juiciness sensation as well as meat palatability. Meat from class U was characterized by lower visual quality of raw meat in comparison to the class S (although the difference was not statistically significant). However, the quality of the meat after heat treatment of the U class was characterized by a significantly higher overall quality associated with a significantly higher tenderness and higher juiciness (Fig. 4).

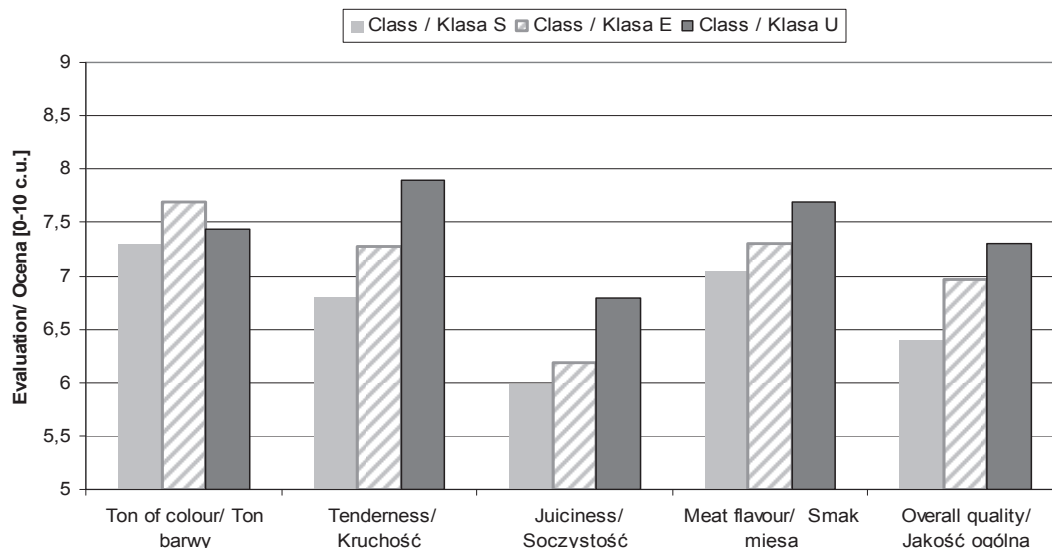


Fig. 4. Sensory pork ork quality obtained from different meatiness classes - prepared on the basis of [18].

Rys. 4. Jakość sensoryczna wieprzowiny z różnych klas mięsności - opracowano na podstawie [18].

Intramuscular fat

The amount of visible fat is the strongest visual discriminative stimulus determining the consumer's decision and therefore loin chops with a low or medium amount of marbling received higher acceptability [13]. The level of IMF is dependent on breed, MI^+ gene, meatiness, slaughter weight and also feeding of animals in the growing period [39]. The relationship between IMF and pork tenderness is controversial – some researchers report a positive relationship [11, 13], whereas others did not find it [14]. IMF in pork has been reported to positively influence juiciness, tenderness and flavour [4]. Presently improvement of pork quality by increasing IMF level in muscles is one of main breeders' purposes in European countries [39] as improvement of meatiness has caused decreasing its sensory quality. The results presented in this paper indicated that the level of IMF has a significant effect on sensory acceptance in visual quality and eating quality (Fig. 5).

The acceptability of pork at the purchase stage was significantly higher if the level of IMF was below 2.0 %, whereas tenderness, juiciness, meat flavour and overall quality in cooked meat were higher if IMF was above 2.0 %. According to [44] recommended IMF contents for acceptable palatability in pork range from 2 % to 4 %, other researchers [4, 8] suggest that acceptable pork eating quality requires a minimum IMF of 2.5 % to 3.0 %. Higher values are associated with a risk of pork rejection by

consumers. The minimum level of 1.5 % IMF was found as necessary to ensure a pleasing eating experience [13].

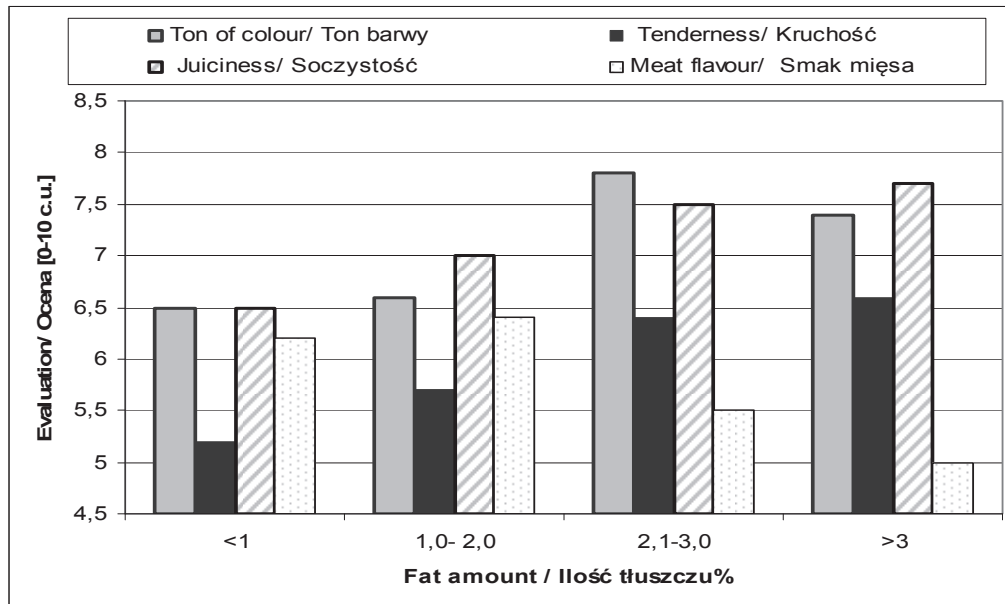


Fig. 5. Sensory pork characteristic in relation to different IMF level - prepared on the basis of [5].

Rys. 5. Jakość sensoryczna wieprzowiny o różnym poziomie tłuszczu śródmięśniowego – opracowano na podstawie [5].

pH value

To monitor changes in muscle tissue after slaughter, a good indicator is the measurement of pH. The pH of the meat measured after slaughter enables to follow all changes in the muscle tissue after slaughter and diagnose any defects. Additionally, pH is one of the main determinants of the sensory meat quality. Achieving an appropriate pH value of slaughtered meat ensures proper water absorption, the formation of favorable colour, tenderness and flavour [17, 20]. According to [26], pH is the most important parameter which determines the sensory quality and technological value of meat. As it was mentioned by many authors [5, 11, 36] the technological traits are characterized by adequate technological value (described by pH, WHC, technological yield, drip loss), as well as appropriate sensory quality- light red colour, with a little fat cover, without visible marbling and a low level of drip loss [4, 21]. These authors indicated that a high intramuscular fat content, a high level of pH after slaughter and minimum losses during heat treatment result in appropriate tenderness, juiciness and flavour.

In order to guarantee a high sensory quality culinary meat should have pH_{24} and pH_{48} in the range >5.50 to 5.80 [36].

The relationship between pH value and sensory quality is presented on Fig. 6.

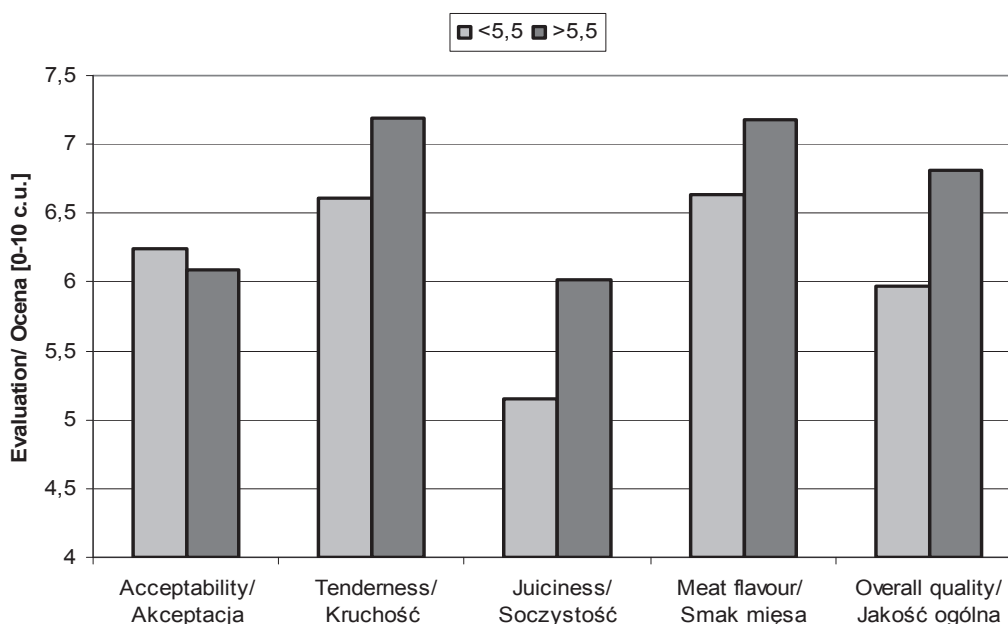


Fig. 6. Sensory pork characteristic characterized by different ultimate pH level (unpublished data).

Rys. 6. Jakość sensoryczna wieprzowiny o różnym poziomie pH końcowego (dane niepublikowane).

In Fig. 6 the meat quality with pH value below 5.5 was characterized by lower tenderness, juiciness and flavor in comparison to meat where the ultimate pH was higher than in case of pH above 5.5.

The other authors [30] claimed that the ultimate pH is a meat characteristic difficult to control with precision. However, contradictory findings in juiciness and tenderness results, also need to be clarified.

Processed meat – eating quality

It is well known that different cooking methods, core temperatures and types of muscle result in different eating qualities of pork. Physicochemical processes that occur in the meat tissue during heating cause significant changes and influence texture, colour, flavour and the final properties of the heated meat. The method of heating has an important effect on the eating quality of meat. Meat is heated using different media for heat transfer, such as dry heat methods (roasting, broiling or pan frying), moist

heating methods (boiling or braising) or microwave cooking. The heating method should be chosen to be appropriate for the type of meat (the amount of connective tissue, size). The temperature gradient influences the rate and extent of the changes of protein structure in the meat, whereas the method of heat transfer influences the odour, flavour and colour. **Colour** is influenced by heat treatment and endpoint temperature. Increase of endpoint temperature will increase the brown colour on the surface. Dry heat methods, especially pan-frying, influence the surface colour: a brownish colour is achieved. **Flavour** is a combination of taste and aroma. Flavour comprises a combination of nonvolatile and volatile compounds. Flavour is generated from reactions of various flavour precursors, including reducing monosaccharides and inosine monophosphate (IMP), during heating. Several odours and flavours are produced through the heat-induced changes in amino acids, carbohydrates and fat. Dry heat methods, especially pan-frying, increase the amount of Maillard reaction, and moist heat methods prevent the reactions from taking place [27]. In addition to the Maillard reaction, lipid degradation products are responsible for developing meat flavour during heating. In study of [49] it is showed that pork flavour increased as the core temperature increased from 65 to 80 °C while both juiciness and tenderness decreased. Texture consists of many features out of which the most important ones are tenderness and juiciness. The effect of core temperature on **tenderness** depends on the pork cut (content of meat and connective tissue). In selecting the optimal core temperature, special attention must be paid to the muscle and the cooking method. Generally the tenderness decreases when the core temperature increases from 65 to 75 °C. Heating at low temperatures in an oven increases the overall tenderness of the meat compared with the use of medium and high oven temperatures [3].

The effect of core temperature on **juiciness** depends more on the cooking method than on the amount of connective tissue in the meat. The cooking loss is generally larger when roasting compared to pan-frying because of the longer cooking time. Increasing the oven temperature results in less juicy meat at the same core temperature. At 65 °C core temperature there is no difference between roasting and frying. With increasing core temperature, the decrease in juiciness is faster when the meat is prepared in an oven compared with frying, irrespectively of the portion size [1, 3].

In general, optimal tenderness and juiciness and minimum cooking loss in meat are achieved when it is heated from low to moderate temperatures.

The characteristic of two roasted pork samples up to different end temperatures is presented on Fig. 7. The roasted meat up to 80 °C is characterized by higher intensity of odour and flavour meat notes in comparison to sample roasted to lower temperature. With increasing core temperature, the decrease in juiciness was observed. The differences in tenderness were not significant.

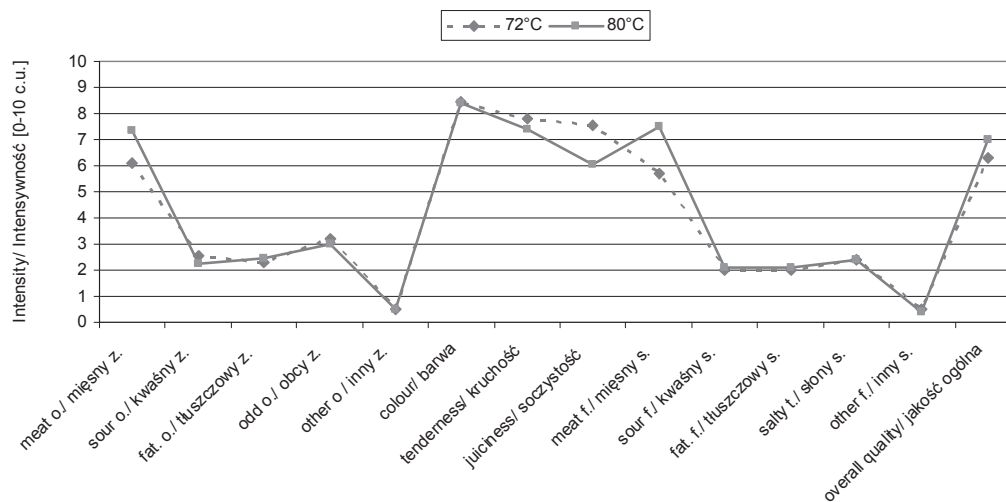


Fig. 7. Sensory pork quality of roasted samples; o. – odour, f. – flavour, t. – taste (unpublished data).

Rys. 7. Jakość sensoryczna pieczonej wieprzowiny; z. – zapach, s. – smak (dane niepublikowane).

On the one hand thermal changes affect loss ps in solubility due to aggregation of the myofibrillar proteins, and on the other hand lead to an increase in solubility as a result of the degradation of tertiary protein structures of intramuscular collagen. Further effects of heating are gel formation in most meat products, hydrolytic changes, alteration in the rate of proteolysis, and modification of the nutritive value. As the endpoint temperature increases, there is a significant reduction in fibre diameter. As the heating temperature is raised, the sarcomere length decreases. There is a high negative correlation between changes in cooking losses and sarcomere length during heating of meat [32]. Oxidative processes are known to be the major cause of meat quality deterioration, affecting nutritional composition [7]. The Maillard reaction is important to obtain a browning surface of meat during frying and roasting. Yet it also induces the formation of several carcinogenic heterocyclic amines. High heated proteins could also cause aggregation which has an influence on protein digestion and their nutritional value [41, 42].

However, for experimental purposes, the method must be standardized, strictly controlled and must not overshadow the treatment effects [32].

Final remarks

Different genes can affect the appearance of defective meat. It occurs most commonly in animals of special breeds or genotype and its meat affected by low pH in the initial period of *post-mortem* changes and 24 hours after slaughter. It is claimed that

pH₂₄ and pH₄₈ ranging from 5.50 to 5.80 and the carcass meatiness in the range of 55 - 58 % is related to higher eating quality. The IMF level of 2 - 3 % guarantees higher juiciness and tenderness. Numerous studies indicate that several aspects of the thermal processes of raw material (temperature, time, method of thermal process) have a critical influence on the eating quality of pork. However, the optimization of sensory pork quality should be considered as a complex issue as is determined by a set of connected factors depending on unstable consumers' expectation. Factors to be considered depend on the end use of the meat and the way meat is heat treated.

References

- [1] Aaslyng M.D., Bejerholm C., Ertbjerg P., Bertram H.C., Andersen. H.J.: Cooking loss and juiciness of pork in relation to raw meat quality and cooking procedure. *Food Qual. Prefer.*, 2003, **14**, 277-288.
- [2] Andersson L.: Genetic dissection of phenotypic diversity in farm animals. *Nat. Rev. Genet.* 2001, **2**, 130-138.
- [3] Bejerholm C., Aaslyng M.D.: Cooking of meat. In: Jensen W.K., Devine C., Dikeman M.: *Encyclopedia of Meat Sciences*, Elsevier LTD, Oxford, UK, 2004.
- [4] Channon H.A., Kerr M.G., Walker P.J.: Effect of Duroc content, sex and ageing period on meat and eating quality attributes of pork loin. *Meat Sci.*, 04, **66**, 1- 88.
- [5] Czarniecka-Skubina E., Przybylski W., Jaworska D., Wachowicz I., Urbańska I., Niemyjski S.: Charakterystyka jakości mięsa wieprzowego o zróżnicowanej zawartości tłuszczu śródmięśniowego. *Żywność. Nauka. Technologia, Jakość*, 2007, **6 (55)**, 285-294.
- [6] D'Souza D.N., Mullan B.P.: The effect of genotype, sex and management strategy on the eating quality of pork. *Meat Sci.*, 2002, **60**, 95-101.
- [7] Dikeman M., Devine C.: Sensory and Meat Quality. Optimization of Sensory Assessment of Men. In: Jensen W.K., Devine C., Dikeman M.: *Encyclopedia of Meat Sciences*, Elsevier LTD, Oxford, UK, 2004.
- [8] De Vries A.G., Faucitano L., Sosnicki A., Plastow G.S.: The use of gene technology for optimal development of pork meat quality. *Food Chem.*, 2000, **69**, 397-405.
- [9] Dransfield E.: Modelling post-mortem tenderization. Role of calpains and calpastatin in conditioning. *Meat Sci.*, 1993, **34**, 217-234.
- [10] Ellis M., Lymparty C., Haley C.S., Brown I., Warkup C.C.: The eating quality of pork from Meishan and Large White pigs and their reciprocal crosses. *Animal Sci.*, 1995, **60**, 125-131.
- [11] Fernandez X., Monin G., Talmant A., Mourot J., Lebret B.: Influence of intramuscular fat content on the quality of pig meat-2 – Consumer acceptability of m. *longissimus lumborum*. *Meat Sci.*, 1999, **53**, 1, 67-72.
- [12] Florowski T., Pisula A., Kamyczek M.: Ocena wpływu wysokiej mięsności na jakość mięsa świń wolnych od genu RYR1T, *Med. Weter.*, 2007, **63**, 3, 326- 329.
- [13] Fortin A., Robertson W.M., Tong A.K.W.: The eating quality of Canadian pork and its relationship with intramuscular fat. *Meat Sci.*, 2005, **69**, 297-305.
- [14] Goransson A., von Seth G., Tornberg E.: Influence of intramuscular fat on the eating quality of pork. In: *Proceedings 38th International Congress of Meat Science and Technology*, 23-28 VIII, Clermont Ferrand, France, 1992, pp. 245-248.

- [15] Hocquette J.F., Ortigues-Martya I., Pethick D., Herpinc P., Fernandez X.: Nutritional and hormonal regulation of energy metabolism in skeletal muscles of meat-producing animals, *Livestock Prod. Sci.*, 1998, **56**, 115-143.
- [16] Huff Lonergan E., Zhang W., Lonergan S.M.: Biochemistry of postmortem muscle – Lessons on mechanisms of meat tenderization. *Meat Sci.*, 2010, **86**, 184-195.
- [17] Huff-Lonergan E., Baas T.J., Malek M., Dekkers J.C.M., Prusa K., Rothschild M.F.: Correlations among selected pork quality traits. *J. Anim. Sci.*, 2002, **80**, 617-62
- [18] Jaworska D., Przybylski W., Czarniecka-Skubina E., Wachowicz I.: Jakość sensoryczna mięsa wieprzowego pochodzącego od tuczników o zróżnicowanej mięsności. *Rocz. Inst. Przem. Mięs. Tłuszcz.*, 2007, **XLV**, 53-62.
- [19] Jaworska D., Przybylski W., Kajak-Siemaszko K., Czarniecka-Skubina E.: Sensory quality of culinary pork meat in relation to slaughter and technological value. *Food Sci. Technol. Res.*, 2009, **15** (1), 65-74.
- [20] Jaworska D., Przybylski W., Kołożyn-Krajewska D., Czarniecka-Skubina E., Wachowicz I., Trzaskowska M., Kajak K., Lech A., Niemyski S.: The assessment of relationships between characteristics determining technological and sensory quality of pork. *Anim. Sci. Pap. Rep.*, 2006, **24** (2), 121- 135.
- [21] Jaworska D., Przybylski W., Kajak-Siemaszko K., Olczak E., Skierka E., Niemyski S.: Evaluation of technological value and sensory quality of pork meat, originated from two paternal PenArLan lines. *Roczn. Nauk. Pol. Tow. Zootech.*, 2009, **5**, 3, 105-113.
- [22] Kajak-Siemaszko 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), 26-34.
- [23] Kajak-Siemaszko K., Aubry L., Peyrin F., Bax M.L., Gatellier P., Astruc T., Przybylski W., Jaworska D., Gaillard-Martinie B., Santé-Lhoutellier V.: Characterization of protein aggregates following a heating and freezing process. *Food Res. Int.*, 2011, **44**, 3160-3166.
- [24] Karamucki T., Rybarczyk A., Jakubowska M., Gardzielewska J.: The slaughter value and meat quality traits of pork carcasses within a weight range of 70.1-80.0 and 80.1-90.0 kg depending on pork sex. *Anim. Sci. Pap. Rep.*, 2006, **24** (2), 137-150.
- [25] Koćwin-Podsiadła M., Krzecio E., Przybylski W.: Pork quality and methods of its evaluation- a review. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2006, **15/56**, 3, 241-248.
- [26] Lonergan S.M., Stalder K.J., Huff-Lonergan E., Knight T.J., Goodwin R.N., Prusa K.J., Beitz D.C.: Influence of lipid content on pork sensory quality within pH classification. *J. Anim. Sci.*, 2007, **85**, 1074-1079.
- [27] Meinert L., Tikk K., Tikk M., Brockhoff P.B., Bejerholm C., Aaslyng M.D.: Flavour formation in pork semimembranosus: Combination of pan-temperature and raw meat quality *Meat Sci.*, 2008, **80**, 249-258.
- [28] Migdał W.: Wykastrować zapach? *Magazyn Przem. Mięs.*, 2009, **11-12**, 44-46.
- [29] Ngapo T.M., Martin J.F., Dransfield E.: International preferences for pork appearance: II. Factors influencing consumer choice. *Food Qual. Pref.*, 2007, **18**, 139-158.
- [30] Ngapo T.M., Gariépy C.: Factors affecting the eating quality of pork. *Critic. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2008, (48) 7, 599-633.
- [31] Palka K., Migdał W., Wojtysiak D., Natonek-Wiśniewska M., Dudkiewicz A., Muzyczka K., Wantuch M., Bauerek E.: Wpływ rasy i wieku świń na właściwości modelowych farszów mięsnych i kielbas. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **1** (68), 80-92.
- [32] Palka K.: Heat effects on meat. In: Jensen W.K., Devine C., Dikeman M.: *Encyclopedia of Meat Sciences*, Elsevier LTD, Oxford, UK, 2004.
- [33] Pisula A., Pospiech E. (Red.): *Mięso - podstawy nauki i technologii*. Wyd. SGGW, Warszawa 2011.

- [34] Połom A., Barylko-Pikielna N.: Analiza czynników decydujących o preferencjach polskich konsumentów mięsa wieprzowego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **3 (40)**, 5-23.
- [35] Przybylski W., Jaworska D., Boruszewska K., Borejko M., Podsiadły W.: Jakość technologiczna i sensoryczna wadliwego mięsa wieprzowego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **1 (80)**, 116-127.
- [36] Przybylski W., Jaworska D., Czarniecka-Skubina E., Kajak-Siemaszko K.: Ocena możliwości wyodrębniania mięsa kulinarnego o wysokiej jakości z uwzględnieniem mięsności tuczników, pomiaru barwy i pH z zastosowaniem analizy skupień. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **4 (59)**, 43-51.
- [37] Przybylski W., Niemyjski S., Pospiech E., Rzościńska E., Czyżak-Runowska G.: Ocena przydatności wybranych grup genetycznych świń do produkcji ciężkich tuczników mięsnych. *Rocz. Inst. Przem. Mięś. Tuszcz.*, 2005, **42/43**, 7-16.
- [38] Przybylski W.: Trzoda chlewna. W: Pisula A., Pospiech E. (Red.): *Mięso-podstawy nauki i technologii*. Wyd. SGGW, Warszawa 2011.
- [39] Rosenvold K., Andersen H.J.: Factors of significance for pork quality – a review. *Meat Sci.*, 2003, **64**, 219-237.
- [40] Rybarczyk A., Kmiec M., Gardzielewska J., Karamucki T., Jakubowska M., Terman A., Polasik D.: Effect of carcass meatiness level on meat quality of pigs monomorphic at genes RYR1 AND LEP. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2009, **59 (4)**, 325-328.
- [41] Santé-Lhoutellier V., Aubry L., Gatellier P.: Effect of oxidation on in vitro digestibility of skeletal muscle myofibrillar proteins. *J. Agric. Food Chem.*, 2007, **55 (13)**, 5343-5348.
- [42] Traore S., Aubry L., Gatellier P., Przybylski W., Jaworska D., Kajak-Siemaszko K., Sante-Lhoutellier V.: Effect of heat treatment on protein oxidation in pig meat. *Meat Sci.*, 2012, **91**, 14-21
- [43] Troy D.J., Kerry J.P.: Consumer perception and the role of science in the meat industry. *Meat Sci.*, 2010, **86**, 214-226.
- [44] Verbeke W., van Oeckel M.J., Warnants N., Viaene J., Boucqué Ch.V.: Consumer perception, facts and possibilities to improve acceptability of health and sensory characteristics of pork. *Meat Sci.*, 1999, **53**, 77-99.
- [45] Wajda S., Daszkiewicz T., Borzuta K., Winarski R.: Jakość mięsa z tusz świń tuczników zakwalifikowanych do różnych klas w systemie EUROP. *Rocz. Inst. Przem. Mięś. i Tuszcz.*, 2005, **XLII (III)**, 73-77.
- [46] Warriss P.D., Kestin S.C., Brown S.N., Nute G.R.P.: The quality of pork from traditional pig breeds. *Meat Focus Int.*, May/June, 1996, pp. 179-182.
- [47] Webb E.C., O'Neill H.A.: The animal fat paradox and meat quality. *Meat Sci.*, 2008, **80**, 28-36.
- [48] Wood J.D., Brown S.N., Nute G.R., Whittington F.M., Perry A.M., Johnson S.P., Enser M.: Effect of breed, feed level and conditioning time on the tenderness of pork. *Meat Sci.*, 1996, **44**, 105-112.
- [49] Wood J.D., Enser M., Fisher A.V., Nute G.R., Richardson R.I., Sheard P.R.: Manipulating meat quality and composition. *Proc. Nutr. Soc.*, 1999, **58**, 363-370.
- [50] Żelechowska E., Przybylski W., Jaworska D., Santé-Lhoutellier V.: Technological and sensory pork quality in relation to muscle and drip loss protein profile. *Eur. Food Res. Technol.*, 2012, **234 (5)**, 883-894.

**WPLYW WYBRANYCH CZYNNIKÓW WARUNKUJĄCYCH JAKOŚĆ SENSORYCZNĄ
WIEPRZOWINY****Streszczenie**

W pracy przedstawiono wybrane wyniki badań autorów pracy w zakresie wybranych czynników determinujących sensoryczną jakość wieprzowiny. Zamieszczono charakterystykę wpływu rasy, genów (RYR1T, RN- i CAST), masy tuszy, mięsności w odniesieniu do jakości sensorycznej mięsa. Omówiono wpływ zawartości tłuszczu śródmięśniowego, wartości pH, warunków obróbki cieplnej na jakość mięsa. Stwierdzono, że optymalizacja sensorycznych cech jakości mięsa nie powinna być traktowana jednokierunkowo, powinna obejmować praktyczne wykorzystanie szeregu wzajemnie powiązanych determinantów. Otrzymanie mięsa kulinarnego wysokiej jakości jest uzależnione także od jakości surowca oraz od sposobu prowadzenia procesów cieplnych (temperatura, czas, metoda).

Słowa kluczowe: wieprzowina, jakość sensoryczna, determinanty 

DAGMARA GŁÓD, MAREK ADAMCZAK, WŁODZIMIERZ BEDNARSKI

WYBRANE ASPEKTY ZASTOSOWANIA NANOTECHNOLOGII W PRODUKCJI ŻYWNOŚCI

Streszczenie

Nanotechnologia to jedna z nowatorskich technologii obejmująca charakterystykę, wytwarzanie i/lub sterowanie strukturami, urządzeniami lub materiałami, w których co najmniej jeden wymiar wynosi od 1 do 100 nanometrów [12].

W pracy przedstawiono osiągnięcia nanotechnologii i możliwości jej zastosowania w przemyśle spożywczym. Omówiono zagadnienia związane głównie z podwyższaniem jakości żywności, rozwojem inteligentnej żywności i opakowań, jak również wykorzystaniem nanosensorów do wykrywania zanieczyszczeń bakteryjnych i obecności pestycydów. Zasygnalizowano ryzyko stosowania nanomateriałów dla zdrowia człowieka i środowiska. Przedstawiono także regulacje prawne i wskazano na konieczność ich dostosowania do specyfiki nanomateriałów.

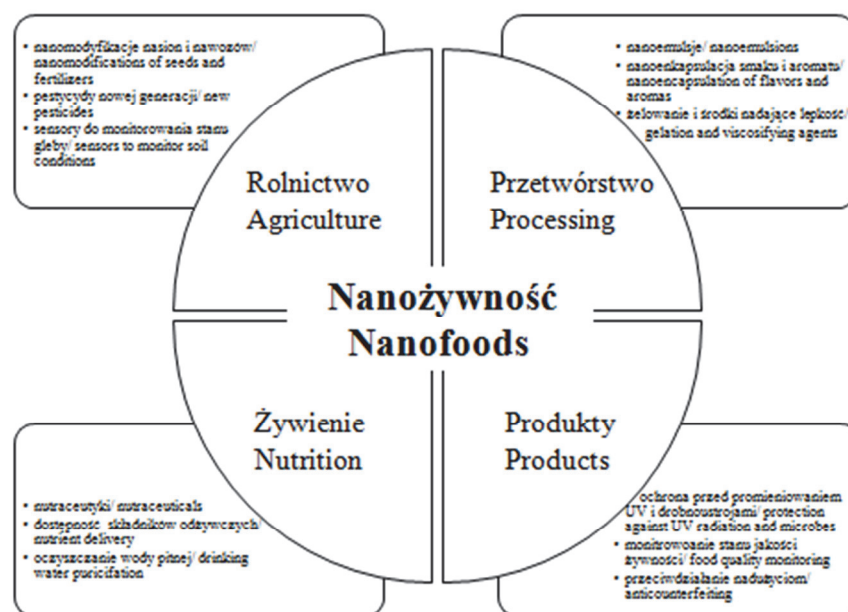
Słowa kluczowe: nanotechnologia, nanożywność, nanostruktury, biosensory

Wprowadzenie

Nanotechnologia to nowoczesna i innowacyjna dziedzina nauki, w której poznaje się możliwości oddziaływania na właściwości atomów, molekuł i struktur molekularnych o rozmiarach nanometrycznych [59]. Struktury wytwarzane w skali *nano* produkowane są na wzór nanostruktur występujących w przyrodzie, takich jak: białka, DNA, membrany i inne naturalne biomolekuły [51]. Gdy wielkość cząstek zmniejsza się poniżej ich wartości progowej, uzyskany materiał wykazuje fizyczne i chemiczne właściwości znacznie odmienne od tych, które cechują ich odpowiedniki makroskopowe [59]. Z powodu korzystnego stosunku powierzchni do jednostki masy oczekuje się, że nanocząstki będą bardziej aktywne biologicznie niż makrocząstki o tym samym składzie chemicznym. Wiele elementów zachowuje się odmiennie w skali molekularnej

Mgr D. Głód, dr hab. inż. M. Adamczak prof. nadzw., prof. dr hab. W. Bednarski, Katedra Biotechnologii Żywności, Wydz. Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, ul. Oczapowskiego 7, 10-719 Olsztyn. Kontakt: dagmara.glod@uwm.edu.pl

w porównaniu ze skalą makroskopową. Ważne jest, aby odróżnić właściwości zmieniające się „gładko” podczas serii redukcji wielkości od właściwości zmieniających się drastycznie poniżej wielkości krytycznej. Właściwość ta jest źródłem możliwości aplikacyjnych w przemyśle spożywczym, a zmiana właściwości to podstawa nowoczesnej nanotechnologii. Krytyczna wielkość zależy od właściwości materiału, stąd trudność w definiowaniu górnego zakresu wielkości nanostruktur [13]. Udoskonalenie technologii mikromacierzy DNA, systemów mikroelektromechanicznych i mikrofluidowych przyczyniło się do rozwoju sektorów przemysłowych i konsumenckich, które stały się niszą nowej „rewolucji przemysłowej” [7, 57]. Postęp w takich dziedzinach nauki, jak elektronika i informatyka oraz rosnące zastosowanie zintegrowanych urządzeń może bezpośrednio wpłynąć na przemysł spożywczy w obszarach bezpieczeństwa żywności, jej autentyczności i redukcji zanieczyszczeń [13].



Rys. 1. Kierunki zastosowań nanotechnologii w przemyśle spożywczym.

Fig. 1. Areas of nanotechnology applications in food industry.

Źródło: / Source: opracowano na podstawie [12] / elaborated based on [12].

Zastosowanie nanotechnologii w produkcji żywności jest przedsięwzięciem nowym w porównaniu z jej aplikacjami m.in. w medycynie, farmaceutyce i elektronice. Ze względów ekonomicznych jej wdrażanie w przemyśle spożywczym jest dużo wolniejsze niż np. w przemyśle zbrojeniowym [59]. Wartość światowej produkcji sektora spożywczego szacowana jest na ponad 4 tryliony dolarów rocznie [10]. Głównym ce-

lem badań jest możliwość zmniejszenia użycia konserwantów, soli, tłuszczów i środków powierzchniowo czynnych w produktach żywnościowych, a także opracowanie nowych lub ulepszonych smaków i tekstury poprzez przetwarzanie surowców w skali *nano*.

Ważną dziedziną nauki o żywności są badania dotyczące doskonalenia opakowań nowej generacji. Globalny rynek opakowań żywności wyprodukowanych z wykorzystaniem nanocząstek i nanotechnologii wyniósł 5,8 mld USD w 2012 r., [21], a w 2014 r. szacowany jest na poziomie 7,3 mld USD [24]. Jest to prawdopodobnie związane z większą akceptacją badań, w których nanocząstki nie są dodawane bezpośrednio do żywności [24]. Nanotechnologia ukierunkowana jest także na produkcję żywności funkcjonalnej [34]. Obecny poziom zastosowań nanotechnologii w żywności i w sektorach pokrewnych jest jednak wciąż na etapie prac badawczo-rozwojowych [24]. Zastosowania nanotechnologii wskazywane są niemal w każdym segmencie przemysłu rolno-spożywczego, np. w rolnictwie (produkcja pestycydów, nawozów, wykrywanie patogenów roślin i zwierząt), w przetwórstwie żywności (np. enkapsulacja składników smaku, polepszenie zapachu, zmiana cech reologicznych i poprawa jakości) i doskonaleniu opakowań (sensory, nanourządzenia, ochrona przed promieniowaniem UV, silniejsze i nieprzepuszczalne powłoki polimerowe), a także w produkcji suplementów diety (np. nutraceutyki o wyższej stabilności i biodostępności) oraz ukierunkowanej inżynierii genetycznej [12]. Wybrane kierunki zastosowania nanotechnologii w przemyśle spożywczym przedstawiono na rys. 1.

Chociaż możliwości zastosowania nanotechnologii są duże, to jej akceptacja może zależeć od określenia ewentualnej akumulacji nanocząsteczek w organizmie oraz poznania zagrożeń dla zdrowia człowieka i środowiska naturalnego [13].

Nanomateriały oraz metody ich produkcji

Zgodnie z definicją Komisji Europejskiej [66] termin nanomateriał oznacza naturalny, powstały przypadkowo lub wytworzony materiał zawierający cząstki w stanie swobodnym lub w formie agregatu bądź aglomeratu, w którym co najmniej 50 % lub więcej cząstek w liczbowym rozkładzie wielkości cząstek ma jeden lub więcej wymiarów w zakresie 1 nm- 100 nm. W określonych przypadkach, uzasadnionych względami ochrony środowiska, zdrowia, bezpieczeństwa lub konkurencyjności, zamiast wartości progowej liczbowego rozkładu wielkości cząstek wynoszącej 50 % można przyjąć wartość z zakresu 1 - 50 %. Na zasadzie odstępstwa, za nanomateriały należy uznać fulereny, płatki grafenowe oraz jednościenne nanorurki węglowe o co najmniej jednym wymiarze poniżej 1 nm [66].

Znane są dwie główne metody produkcji nanomateriałów: „z góry w dół” (ang. *top down*) i „z dołu do góry” (ang. *bottom up*) [59]. Wytwarzanie materiałów metodą „z góry w dół” polega na miniaturyzacji istniejących materiałów do wymiarów nano-

metrycznych za pomocą metod fizycznych lub chemicznych. Przykładem procedury „z góry w dół” jest obróbka mechaniczna [13] np. technologia suchego mielenia stosowana m.in. w celu uzyskania mąki pszennej charakteryzującej się małą wielkością cząstek, a tym samym dużą zdolnością wiązania wody [53]. Suche mielenie stosowane jest również w produkcji otrąb pszennych jako potencjalnie bioaktywnego składnika żywności, choć nie jest ono obecnie szeroko stosowane. Przyczyną braku rozwoju technologii suchego mielenia jest charakter polimeru i niedostateczny rozwój urządzeń. Działanie antyoksydacyjne zielonej herbaty zostało również udoskonalone za pomocą technologii umożliwiającej redukcję wymiarów cząstek [5]. Innym procesem redukcji wielkości cząstek metodą „z góry w dół” jest homogenizacja. Jest to dobrze poznany proces stosowany w przemyśle mleczarskim w celu zmniejszenia rozmiaru wielkości kuleczek tłuszczu [27].

Alternatywną metodą produkcji nanomateriałów jest sposób „z dołu do góry”, który można podzielić na dwie grupy ze względu na proces syntezy, tj. (1) powstałe w reakcji chemicznej w fazie gazowej, ciekłej lub stałej oraz (2) w procesie osadzania i wzrostu nanocząstek w ściśle kontrolowanych warunkach. Proces ten polega na ciągłym kontakcie reagentów z równoczesnym podgrzewaniem układu w celu łatwiejszej dyfuzji atomów. Podejście „z dołu do góry” pozwala na wytwarzanie bardziej skomplikowanych struktur na podstawie samoorganizacji związków biologicznych i polega na organizowaniu cząstek krok po kroku do uzyskania cząstek o specyficznych cechach. Wśród metod „z dołu do góry” wyróżniono krystalizację, osadzanie warstwa po warstwie, ekstrakcję rozpuszczalnikami, tzw. samodzielny montaż (ang. *self-assembly*), syntezę mikrobiologiczną i reakcje z zastosowaniem biomasy. Przykładem samodzielnego montażu biologicznych jednostek prowadzącego do wytworzenia stabilnego nanomateriału są: micela kazeinowa [57], a także procesy związania białek globularnych i agregatów białek. Samoorganizację w skali nanometrycznej można osiągnąć także przez ustalenie równowagi między różnymi siłami niekowalencyjnymi [53].

Szerokie zastosowanie w przemyśle spożywczym mają nanoemulsje, otrzymywane metodami mechanicznymi (homogenizacja wysokociśnieniowa, mikrofluidyzacja, ultradźwięki) i niemechanicznymi [2, 60]. Niewielki rozmiar kropeł, w których stopień rozdrobnienia fazy wewnętrznej wynosi mniej niż 100 - 500 nm, nadaje nanoemulsjom unikatowe właściwości reologiczne [56]. Stosowanie nanoemulsji umożliwia otrzymanie produktów charakteryzujących się mniejszą zawartością tłuszczu i stabilizatorów oraz dobrą kremowością. Przykładami produktów tego typu są: niskotłuszczowy i nanostrukturyzowany majonez oraz lody [8].

Nanotechnologia umożliwia redukcję rozmiarów cząstek bioaktywnych składników, zwiększając ich dostępność, ułatwiając transport i rozpuszczalność. Dzięki temu obserwowane jest zwiększenie aktywności biologicznej, która zależy od zdolności transportu substancji z błon jelitowych do krwi [9, 52].

Postępy technologii w skali *nano* umożliwiają zwiększanie stabilności mikroelementów podczas ich przetwarzania, przechowywania i dystrybucji [9], co uzyskano w przypadku kwasów tłuszczowych omega-3, niektórych gatunków bakterii probiotycznych, likopenu, witaminy D₂ i β-karotenu [40].

Nanokapsułkowanie składników żywności stosowane jest w celu zapewnienia bariery ochronnej, maskowania smaku i zapachu, podwyższenia dostępności biologicznej, kontrolowania uwalniania oraz lepszej dyspersji w systemach wodnych nierozpuszczalnych w wodzie składników i dodatków do żywności [8, 37]. Proces ten stosowany jest w przemyśle piekarskim do kapsułkowania oleju rybnego (źródła kwasu tłuszczowego omega-3) w celu zamaskowania jego nieprzyjemnego smaku [8]. Białkiem używanym w nanotechnologii jest izolowana z kukurydzy zeina. Nanomateriały uzyskiwane z zeiny mają zdolność tworzenia sieci rurek odpornych na działanie mikroorganizmów [57]. Innym przykładem są nanorurki zbudowane z α-laktoalbuminy, które mogą umożliwić wiązanie takich składników żywności, jak witaminy i enzymy [58]. W powszechnym użyciu są liposomy, umożliwiające m.in. zamykanie i uwalnianie naturalnych składników rozpuszczalnych w wodzie, tłuszczach oraz składników amfifilowych [35]. Podobnie jak nanoemulsje, liposomy to kinetycznie stabilne struktury, które mogą być produkowane na skalę przemysłową przy użyciu naturalnych składników. Pęcherzyki lipidowe charakteryzują się zdolnością do wychwytywania substancji z różną rozpuszczalnością [36], a ich zawartość może być regulowana w miejscu docelowym na zewnątrz i wewnątrz ciała [37].

Kierunki zastosowania nanotechnologii w przemyśle spożywczym

Większość badań z zakresu nanotechnologii koncentruje się na ocenie możliwości zastosowania w produkcji materiałów opakowaniowych oraz kontroli jakości i bezpieczeństwa żywności [57].

W niniejszym opracowaniu omówiono przykłady stosowania nanotechnologii w doskonaleniu i ocenie jakości żywności oraz w produkcji opakowań. Przybliżono także problematykę zastosowania biosensorów, materiałów i biorobotów w skali *nano* do wykrywania obecności mikroorganizmów i pestycydów oraz do sterowania procesami wewnątrzkomórkowymi i do kontroli nad nimi.

Biosensory

Kontrola i monitorowanie jakości żywności odnosi się przede wszystkim do zastosowania miniatury biosensorów służących m.in. do identyfikacji obcego DNA (np. GMO), białek, metabolitów i skażeń biologiczno-chemicznych. Ze względu na możliwość skrócenia czasu pomiaru z dni do minut lub sekund nanobiosensory mogą być z powodzeniem stosowane w przemyśle rolno-spożywczym do monitorowania procesów chemicznych, biochemicznych, mikrobiologicznych i genetycznych [4].

Zanieczyszczenia żywności można identyfikować za pomocą macierzy składających się z tysięcy nanocząstek emitujących promieniowanie fluorescencyjne podczas kontaktu z określonymi patogenami żywności. Takie nanosensory wprowadza się bezpośrednio do materiału opakowaniowego, w którym służą jako elektroniczny język lub nos do detekcji związków chemicznych uwalnianych podczas psucia się żywności [19, 27].

Nanosensory mogą być stosowane do określania jakości takich produktów spożywczych, jak: kawa, soki, mleko i wino. Urządzenia składają się z makrocząstek ułożonych warstwa po warstwie, o dużej powierzchni aktywnej, powodując 10 000-krotny wzrost czułości detekcji w porównaniu z ludzkim językiem [13]. Ghasemi-Varnamkhistia i wsp. [20] przedstawili możliwość użycia elektronicznego nosa i języka w browarnictwie do oceny jakości piwa, szczególnie na etapie fermentacji. Elektroniczny nos zastosowano do identyfikacji zanieczyszczenia ziarna zbóż grzybami, wykrywania żywności zepsutej i obecności *Ganoderma boninense* na pniach palmy olejowej [1].

Typ nanosensorów polegający na zintegrowanych systemach mikrofluidowych umożliwia skonstruowanie nanomikrofluidowych czujników (chipów) do detekcji patogenów w czasie rzeczywistym [3]. Główną zaletą tych systemów jest przede wszystkim miniaturowy rozmiar i zdolność do wykrywania w badanym materiale obecności substancji rzędu nawet pikolitra [32], dzięki czemu znalazły powszechne zastosowanie w medycynie, biologii i chemii [33, 63]. Technologia mikro- i nanomacierzy pozwala na miniaturyzację większej liczby analiz w jednym elemencie (tzw. „Lab-on-a-chip”), tj. od etapu izolacji DNA poprzez reakcje sekwencjonowania aż do analizy danych. System ten ma zastosowanie w biotechnologii „czerwonej” (medycyna), „zielonej” (rolnictwo) i „białej” (produkcja żywności i ochrona środowiska) [17, 32].

Miniaturyzacja urządzeń i automatyzacja metod pomiarowych pozwoliła na zastosowanie genomiki, proteomiki i metabolomiki w systemach nanoelektromechanicznych (NEMS). System NEMS polega na tworzeniu nanowłókien, nanoporów i bioaktywnych powierzchni o grubości nanometrów. Rozwiązanie to może mieć zastosowanie w monitorowaniu bezpieczeństwa żywności w zakresie „białej” biotechnologii, a także służyć przy opracowywaniu metod utrwalania żywności i kontroli warunków przechowywania. Przykładem urządzenia do detekcji *trans* kwasów tłuszczowych w żywności jest DTS (ang. *Digital Transform Spectrometer*) produkowany przez Polychromix (Wilmington, MA, USA) [48].

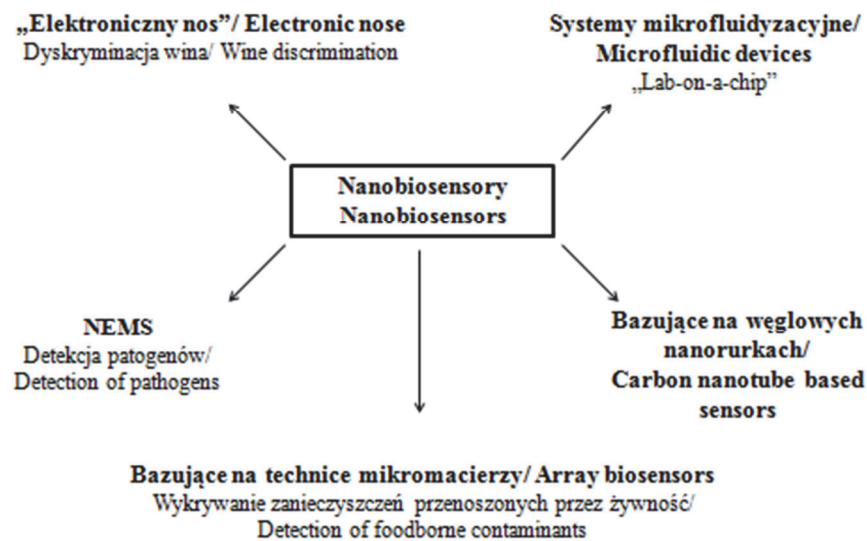
Nanowsporniki (ang. *nanocantilevers*) są przykładem innowacyjnych biosensorów, w których detekcja polega na rozpoznawaniu specyficznych interakcji antygen - przeciwciało, enzym - substrat lub kofaktor - receptor - ligand [22]. Biosensory te charakteryzują się zdolnością rozpoznawania białek i patogennych bakterii oraz wirusów [26]. Stosowane są w badaniach oddziaływań międzycząsteczkowych, wykrywa-

nia zanieczyszczeń chemicznych i toksyn, a także pozostałości antybiotyków w produktach spożywczych [47].

Innymi przykładem nanourządzeń są bardzo czułe i specyficzne immunosensory z nanodrutu polipirolowego do detekcji wirusów. Zastosowanie tych sensorów w wykrywaniu bakteriofagów stwarza szerokie możliwości w ochronie zdrowia, ze szczególnym uwzględnieniem bezpieczeństwa żywności [54].

Nanosensory mogą być stosowane także do wykrywania obecności pestycydów. Ze względu na ich dobrą rozpuszczalność w wodzie, wysoką toksyczność i szerokie zastosowanie w rolnictwie, istnieje zapotrzebowanie na czułe metody analityczne do określania pozostałości środków ochrony roślin [62]. Użycie materiałów w skali *nano*, takich jak nanocząteczeni metali, półprzewodników czy nanorurek węglowych, charakteryzujących się doskonałymi właściwościami optycznymi i elektrycznymi, pozwala na czułą detekcję pestycydów [30].

Typy nanosensorów i przykłady ich zastosowania w produkcji żywności przedstawiono na rys. 2.



Rys. 2. Typy nanosensorów i przykłady ich zastosowania w przemyśle spożywczym.

Fig. 2. Types of nano-sensors and examples of their applications to food industry.

Źródło: / Source: opracowano na podstawie [57] / elaborated based on [57].

Wśród polskich osiągnięć w dziedzinie nanotechnologii na uwagę zasługuje patent autorstwa Oczkowskiego i Filipiaka [41] pt. „Startery, elektrochemiczny biosensor DNA oraz sposób wykrywania mikroorganizmu *Listeria monocytogenes* w substancjach organicznych, zwłaszcza w żywności”. Opracowany biosensor składa się z elek-

trody roboczej, na powierzchni której osadzono jednoniciowy oligonukleotyd DNA, elektrody referencyjnej oraz elektrody odnośnikowej. Przedmiotem zgłoszenia patentowego jest także elektrochemiczny biosensor DNA do wykrywania specyficznych fragmentów kwasów DNA. Zastrzeżony patentem, autorstwa Ligaja, Filipiaka i Tichoniuka [29], sposób posłużył do wykrywania fragmentów kwasów nukleinowych odpowiedzialnych za zdolność tolerancji na herbicydy fosfotricynowe w genetycznie zmodyfikowanych roślinach oraz żywności uzyskanej z przetworzenia tych roślin.

Opakowania żywności

Największy postęp w zastosowaniu nanotechnologii nastąpił w produkcji nowoczesnych opakowań żywności [6]. Znaczna część tradycyjnych opakowań wytwarzana jest z niedegradowalnych materiałów, które przyczyniają się do zanieczyszczenia środowiska, a do ich produkcji zużywane są paliwa kopalne. Jednak obecne na rynku folie biodegradowalne stanowią słabą barierę przed zanieczyszczeniami i charakteryzują się niewystarczającymi właściwościami mechanicznymi, stąd poszukiwane są materiały mogące zastąpić tradycyjne tworzywa sztuczne [6, 61].

Opisano dwa główne sposoby produkcji nanomateriałów polimerowych, tj. wytwarzanie materiałów polimerowych w nanoskali i umieszczanie nanomateriałów w matrycy polimerowej w celu uzyskania bionanokompozytów [16, 25].

Bionanokompozyty są to biodegradowalne nanostruktury, które charakteryzują się korzystniejszymi właściwościami mechanicznymi i termicznymi niż klasyczne materiały opakowaniowe [25]. Chronią żywność i przedłużają okres jej przydatności do spożycia, a zarazem przyczyniają się do ochrony środowiska naturalnego poprzez zmniejszenie zużycia sztucznych materiałów opakowaniowych oraz mniejsze zużycie paliw kopalnych [57]. Stosowanie nanokompozytów polimerowych zawierających np. krzemiany warstwowe wyeliminowało jedną z głównych wad opakowań polietylenowych i polipropylenowych tj. przepuszczalność gazów, w tym tlenu, który odpowiada za utlenianie składników żywności [31]. Wśród nanomateriałów stosowanych najczęściej w opakowaniach żywnościowych, wyróżnia się metale i ich tlenki. Nanocząstki glinu znalazły zastosowanie w kompozytach polimerowych w celu uzyskania bariery gazowej, nanocząstki ditlenku tytanu – w ochronie przed promieniowaniem UV, zaś nanocząstki azotku tytanu – w zwiększeniu wytrzymałości mechanicznej. Istotnym kierunkiem poszukiwań jest zastosowanie nanocząstek srebra w produkcji materiałów opakowaniowych do żywności w celu inaktywacji drobnoustrojów [35]. Zastosowanie nanosrebra jako dodatku antybakteryjnego do mąki pszennej zostało opatentowane [43]. Na powierzchniach mających kontakt z żywnością i w zastosowaniu do jej pakowania użyto nanokrzemionki. Wskazuje się też jej przydatność w procesie klarowania piwa lub wina [7]. Do zwiększenia biodegradowalności opakowań wykorzystuje się hybrydowe systemy organiczno-nieorganiczne, osadzone w matrycy polimerowej.

Stosując różne ilości rozpuszczalników można zrównoważyć stabilność i biodegradowalność opakowań, a ponadto poszerzyć zakres stosowania jadalnych i biodegradowalnych folii [28].

Ważną cechą opakowań do żywności jest ich zdolność przeciwdziałania przepływowi masy w produktach spożywczych. Składnikami biodegradowalnych folii o takich właściwościach są zazwyczaj polisacharydy i/lub lipidy [44].

Materiały opakowaniowe, które zdolne są do uwalniania w nanoskali związków przeciwbakteryjnych, przeciwutleniaczy i/lub środków smakowo-zapachowych w celu poprawy trwałości lub właściwości sensorycznych żywności, określa się mianem aktywnych. Połączenie materiałów stosowanych do opakowań żywności i substancji czynnych jest nowym sposobem ograniczania zanieczyszczeń mikrobiologicznych na powierzchni żywności, dzięki czemu wzrasta jej bezpieczeństwo i trwałość, co wpływa na zmniejszenia ilości odpadów przemysłu spożywczego.

Znane są opakowania inteligentne, mające w swojej matrycy nanobiosensory służące identyfikacji mikroorganizmów i/lub zanieczyszczeń chemicznych [40]. Koncern Kraft Foods opracował elektroniczny język składający się z szeregu nanosensorów wrażliwych na działanie gazów uwalnianych przez psującą się żywność, a zmiana barwy paska wskazuje na przydatność produktu do spożycia. Stosowanie biosensorów umożliwia także rejestrację zmiany warunków przechowywania żywności w odpowiedzi na bodziec, którym może być zmiana wartości pH lub ciśnienia, obecność gazów, cieczy lub produktów metabolizmu drobnoustrojów, zmiana temperatury czy natężenia światła [42]. Inteligentne nanomateriały stosowane są więc do monitorowania biologicznego bezpieczeństwa produktów. Zgodnie z założeniem terminu przydatności do spożycia zakłada się, że produkt będzie składowany w odpowiednich warunkach środowiska w całym okresie przechowywania w łańcuchu dystrybucji. Odchylenia od zalecanych warunków mogą prowadzić do przedwczesnego obniżenia jakości żywności, w tym jego bezpieczeństwa mikrobiologicznego. Do kontroli stosuje się nanoczuJNIKI wykrywające specyficzne wskaźniki metabolizmu patogenów i informujące konsumenta o historii produktu ze wszystkimi niezbędnymi parametrami. W niektórych przypadkach, możliwe jest zatem wyeliminowanie potrzeby stosowania terminów przydatności do spożycia na rzecz dokładniejszej oceny jakości spożywanej żywności. Stosowanie nanoczuJNIKÓW tego typu nie jest powszechne w Europie ze względu na wysokie koszty i ograniczenia prawne związane ze związkami chemicznymi (np. barwnikami) używanymi w nanoczuJNIKACH, które nie są dopuszczone do kontaktu z żywnością [11].

Wprowadzone do produktów żywnościowych nanosensory mogą działać również jako elektroniczne kody kreskowe określające autentyczność spożywanych produktów [6]. Emitowany przez nie sygnał pozwala kontrolować jakość żywności od pola do konsumenta. Z kolei amerykańscy naukowcy zastosowali folię fotosensoryczną wy-

tworzoną z nanoskalowych warstw hydrofobowego polistyrenu oraz hydrofilowej poli-2-winylopirydyny. Poddanie przezroczystej folii wpływom różnych substancji powodowało zmianę jej barwy na niebieską (pod wpływem tiocyjanianu), zieloną (jodu), żółtą (azotanu), pomarańczową (bromu) oraz czerwoną (chloru), co może mieć zastosowanie w produkcji etykiet kontrolujących świeżość produktów spożywczych [38].

Oddział Szkła i Materiałów Budowlanych w Krakowie we współpracy z Vitrosilicon S.A opatentował sposób nanoszenia nanostrukturalnych, refleksyjnych, barwnych i/lub neutralnych powłok na szkło użytkowe (nr zgłoszenia patentowego 394566, Urząd Patentowy RP). Nowością tego projektu jest modyfikacja właściwości i funkcji użytkowych opakowań szklanych dzięki zastosowaniu nanopowłok z tlenków metali na trwale związanych z podłożem. Zastosowanie metody pirolizy z użyciem roztworów soli kompleksowych w postaci acetyloacetonianów metali pozwoliło na modyfikację właściwości optycznych, tj. mniejszą przenikalność promieniowania UV i NIR oraz poprawę odporności chemicznej i odporności na zarysowanie powierzchni wyrobów szklanych [67].

Zalety oraz zagrożenia towarzyszące nanotechnologii

Zaletą wynikającą z wdrażania nanotechnologii jest możliwość stosowania bardziej wydajnych metod produkcji żywności poprzez mniejsze zużycie środków agrochemicznych (np. pestycydów, biocydów, antybiotyków, leków weterynaryjnych). Nanotechnologia umożliwia produkcję żywności i pasz charakteryzujących się wysoką jakością poprzez wzbogacanie materiałami i dodatkami w skali *nano*, m.in. przeciwbakteryjnymi i odtruwającymi. Dodatkowo, cechują się one bezpieczeństwem stosowania poprzez ograniczenie chorób przenoszonych drogą pokarmową, a stosowanie nanobiosensorów umożliwia szybką diagnostykę chorób zwierzęcych. Przykładowo, nanocząstki polistyrenu połączone z glikolem polietylenowym i mannozą mogą wiązać i usuwać patogeny przenoszone w paszach dla zwierząt [46].

Zastosowanie m.in. nanoporowatych materiałów do filtracji i usuwania niepożądanych smaków, aromatów i alergenów umożliwia produkcję żywności o korzystniejszych cechach sensorycznych. Żelazo jest przykładem nanomateriału, który badany jest w kierunku przydatności do odkażania wody. Nanotechnologia umożliwia wydłużenie okresu przechowywania produktów spożywczych, przyczyniając się do zmniejszenia strat żywności, zaś stosowanie inteligentnych etykiet zapewnia produktom autentyczność i bezpieczeństwo [7].

Foltynowicz i wsp. [15] opatentowali pochłaniacz tlenu, który może zapobiegać szybkiemu psuciu się żywności. Istota wynalazku polega na uwalnianiu nanożelaza w reakcji redukcji soli tetraborowodoru sodu, które wykazuje właściwości wiązania tlenu w każdym środowisku, także bezwodnym. Taki typ pochłaniacza może być stosowany do usuwania tlenu z opakowań oraz stabilizowania atmosfery wewnątrz opa-

kowania, wiążąc tlen przenikający przez materiał opakowaniowy do jego wnętrza. Z kolei Spółka Stella Pack, specjalizująca się w produkcji opakowań i wyrobów z tworzyw sztucznych, zaprojektowała produkty, w których stosowane są m.in. cząstki nanosrebra skutecznie hamujące rozwój mikroorganizmów i redukujące nieprzyjemny zapach [65]. Innym przykładem są szczepionki dla roślin NANO-GRO® (Agrarius). Zasada ich działania polega na zamknięciu w oligosacharydowej granulce siarczanów pierwiastków: żelaza, kobaltu, glinu, magnezu, niklu i srebra występujących w stężeniu nanomolowym, które po rozpuszczeniu w wodzie i przyswojeniu przez roślinę aktywują jej przeciwstresowy mechanizm obronny, przyczyniając się m.in. do 30-procentowego zwiększenia plonów i odporności roślin na choroby [64].

Stosowanie nanomateriałów ma wiele zalet, jednak nie można wykluczyć ewentualności narażenia zdrowia konsumentów żywności i napojów zawierających niektóre nierozpuszczalne i niepodlegające rozkładowi nanocząstki (określane jako „twarde” nanomateriały). Komitet Naukowy Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) wskazał na dwie główne przeszkody w określeniu ryzyka stosowania nanomateriałów, tj. trudności w charakterystyce i detekcji oraz niedostateczne informacje o ich toksyczności [14]. Obawy dotyczące bezpieczeństwa konsumentów dotyczą zagrożeń długoterminowych lub nowych i nieprzewidywalnych skutków stosowania nanomateriałów, np. nagromadzone w organizmie reaktywne nanocząstki o dużej powierzchni mogą przekroczyć bariery, takie jak nabłonek jelita, przeniknąć do krwioobiegu, a następnie dotrzeć do organów docelowych i tam się gromadzić [18]. Nanododatki mogą także ulegać transformacjom w żywności i w przewodzie pokarmowym z powodu procesów aglomeracji, agregacji, wiązania z innymi składnikami żywności, reakcji z kwasem żołądkowym czy enzymami. Takie przemiany mogą prowadzić do utraty ich właściwości *nano*. Z powodu braku szczegółowej wiedzy na temat wchłaniania, rozprowadzania i wydalania z organizmu nanocząstek, niezmiernie ważnym aspektem jest opracowanie szczegółowej charakterystyki i przeprowadzenie indywidualnej oceny ryzyka stosowania nanomateriałów [18].

W zależności od stopnia bezpieczeństwa nanożywność podzielono na trzy grupy:

- o najmniejszym niebezpieczeństwie – czyli produkty spożywcze, które zawierają przetworzone nanostruktury, trawione lub rozpuszczane w przewodzie pokarmowym; nie są biotrwale,
- o umiarkowanym niebezpieczeństwie – czyli nanokapsułkowane dodatki, które mają zdolność migracji w przewodzie pokarmowym,
- o szczególnym niebezpieczeństwie – czyli produkty spożywcze zawierające nierozpuszczalne, nietrawione i biotrwale nanododatki (np. metale i ich tlenki) lub funkcyjne nanomateriały.

Opakowania do żywności produkowane w nanotechnologii są ważnym kierunkiem ich wykorzystania w sektorze spożywczym. Simon i wsp. [39] przedstawili mo-

del, który przewiduje i wylicza migrację nanocząstek z opakowań. Stwierdzono, że szybkość migracji zwiększa się wraz ze zmniejszaniem lepkości dynamicznej polimerów i redukcją wielkości nanocząstek [55]. Wyniki te wskazują na potencjał migracji nanocząstek z opakowań i konieczność ilościowej oceny ryzyka. W 2008 r. EFSA wydała pozytywną opinię o bezpieczeństwie stosowania nanocząstek azotku tytanu w ilości 20 mg/kg w butelkach typu PET [39]. Z drugiej strony, badania nad przydatnością komercyjnie dostępnych torebek polietylenowych, w których zastosowano m.in. skaningową mikroskopię elektronową połączoną z dyspersją energii promieniowania rentgenowskiego, potwierdziły migrację cząstek nanosrebra do żywności, która zwiększała się wraz z czasem przechowywania i temperaturą [23]. Wynik ten może mieć negatywny wpływ na upowszechnianie tego rodzaju opakowań.

Regulacje prawne

W Międzynarodowej Organizacji Normalizacyjnej ISO opracowano przepisy prawne dotyczące stosowania urządzeń i układów elektrycznych oraz elektronicznych w nanotechnologii. W Polsce do 30 grudnia 2011 r. problemami normalizacji nanotechnologii zajmowały się dwa komitety techniczne: KT 207 Obróbki Ubytkowej i Przyrostowej oraz KT 60 Energoelektroniki i Przyrządów Półprzewodnikowych. Wraz ze wzrastającą liczbą prac normalizacyjnych w grudniu 2011 r. powołano KT 314 Nanotechnologii, który przejął obowiązki prowadzone w KT 207 odnośnie do nanotechnologii. Zakres tematyczny KT 314 obejmuje m.in. zastosowanie i właściwości materiałów w nanoskali do wytwarzania ulepszonych materiałów, urządzeń i systemów, terminologię i nomenklaturę oraz metrologię i oprzyrządowanie [45].

Nanomateriały spełniają definicję zawartą w rozporządzeniu REACH (WE) Nr 1907/2006 [50] w sprawie rejestracji, oceny, udzielania zezwoleń i stosowanych ograniczeń w zakresie chemikaliów [50]. Podlegają również przepisom rozporządzenia (WE) 1272/2008 [49] w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin.

Rozporządzenie REACH nr 1907/2006, obowiązujące od 1 czerwca 2007 r., uwzględnia problem ekotoksyczności, ale dotyczy substancji produkowanych i przywożonych w ilości ponad 10 ton rocznie. Biorąc pod uwagę rozmiar nanomateriałów, jest bardzo prawdopodobne, że nie przekroczą one progu tonażu wymaganego w rozporządzeniu. Innym przykładem niejasności jest przepis o wymogu zgłaszania substancji wzbudzających szczególnie duże obawy i znajdujących się na liście substancji kwalifikujących się jako niebezpieczne i występujących w stężeniach powyżej 0,1 % (m/m) w produkcie, w całkowitej masie stanowiącej ponad jedną tonę w tych produktach na producenta rocznie. Obecnie żaden materiał w skali *nano* nie kwalifikuje się na tak sformułowaną listę substancji niebezpiecznych [34]. W rezolucji przyjętej w kwietniu 2009 r., Parlament Europejski zwrócił się o zwiększenie kontroli nad nano-

technologią, szczególnie w zagadnieniach dotyczących produkcji kosmetyków i żywności, a także bezpieczeństwa pracy, ochrony zdrowia pracowników oraz bezpieczeństwa środowiska i odpadów. Od grudnia 2014 r. obowiązywać będzie rozporządzenie łączące dwie poprzednie dyrektywy w sprawie „etykietowania, prezentacji i reklamy środków spożywczych” (2000/13/EC) i „etykietowania dotyczącego wartości odżywczej produktów spożywczych” (90/496/EEC). Rozporządzenie to będzie regulować wymóg etykietowania składników w postaci nanomateriałów (materiał oraz słowo *nano* w nawiasie). Zgodnie z REACH producenci, importerzy i użytkownicy muszą zapewnić, że nanomateriały nie wpłyną negatywnie na zdrowie człowieka oraz środowisko naturalne. W związku z tym, dużym wyzwaniem jest wdrożenie metod i przyrządów służących wykrywaniu, charakteryzowaniu i analizie nanomateriałów, a także opracowanie metod oceny stopnia zagrożenia.

Według raportu CIEL (ang. The Center for International Environmental Law) REACH nie jest w stanie zapewnić odpowiedniej ochrony ze względu na niedostosowanie wielu przepisów do zapewnienia skutecznej kontroli prawnej nanomateriałów. Europejska Agencja Chemikaliów opracowała projekt strategii badawczych w celu określenia właściwości fizykochemicznych, w przypadku których nie mogą być stosowane standardowe metody badawcze oraz zalecenia dotyczące informacji toksykologicznych. W 2012 r. projekt ten uzupełniono o ocenę bezpieczeństwa chemicznego, tj. wpływu dawki nanomateriałów na ludzkie zdrowie oraz na środowisko.

Podsumowanie

Postęp w dziedzinie nanotechnologii jest źródłem wielu korzyści w zakresie nowych, innowacyjnych produktów, m.in. przez zmniejszenie zawartości tłuszczu, soli i innych dodatków oraz podwyższenie jakości, higieny i bezpieczeństwa produktów żywnościowych. Wdrażanie nowych rozwiązań w produkcji żywności jest trudne z uwagi na to, że większość propozycji jest wciąż na etapie badań. Głównym czynnikiem hamującym rozwój tej technologii jest niepełna wiedza o właściwościach, mechanizmach działania i skutkach stosowania nanomateriałów, głównie nierozpuszczalnych i potencjalnie biotrwałych. W związku z tym szczególną uwagę należy zwrócić na rzetelne metody analizy nanożywności z uwzględnieniem problematyki bezpieczeństwa, zdrowia konsumentów i ochrony środowiska naturalnego poprzez precyzyjnie sformułowane rozporządzenia i skuteczny nadzór prawny. Dodatkowo, niezbędna jest edukacja społeczeństwa uwzględniająca korzyści i ewentualne ryzyko stosowania nanotechnologii w produkcji żywności.

Literatura

- [1] Abdullah A.H., Adom A.H., Shakaff A.Y., Ahmad M.N., Saad M.A., Tan E.S., Fikri N.A., Markom M.A., Zakaria A.: Electronic nose system for Ganoderma detection. *Sens. Lett.*, 2011, **9**, 353-358.

- [2] Anton N., Saulnier P., Béduneau A., Benoit J.P.: Salting-out effect induced by temperature cycling on a water/nonionic surfactant/oil system. *J. Phys. Chem. B*, 2007, **111**, 3651-3657.
- [3] Baeummer A.: Nanosensors identify pathogens in food. *Food Technol.*, 2004, **58**, 51-55.
- [4] Bhattacharya, S., Jang J., Yang L., Akin D., Bashir R.: Biomems and nanotechnology based approaches for rapid detection of biological entities. *J. Rapid Methods Autom. Microbiol.*, 2007, **15**, 1-32.
- [5] Brody A.L., Bugusu B., Han J.H., Koelsch Sand C., McHugh T.H.: Innovative food packaging. *J. Food Sci.*, 2008, **73** (8), 107-117.
- [6] Chaudhry Q., Castle L., Watkins R.: Nanotechnologies in the Food Arena: New Opportunities, New Questions, New Concerns. *Nanotechnologies in food*. Royal Society of Chemistry Publishers, 2010.
- [7] Chaudhry Q., Castle L.: Food applications of nanotechnologies: An overview of opportunities and challenges for developing countries. *Trends Food Sci. Technol.*, 2011, **22**, 595-603.
- [8] Chaudhry Q., Scotter M., Blackburn J., Ross B., Boxall A., Castle L., Aitken R., Watkins R.: Applications and implications of nanotechnologies for the food sector. *Food Addit. Contam. Part A: Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 2008, **25** (3), 241-258.
- [9] Chen H., Weiss J., Shahidi F.: Nanotechnology in nutraceuticals and functional foods. *J. Food Technol.*, 2006, **60**, 30-36.
- [10] Cientifica Report 2006. Nanotechnologies in the food industry. [online]. Dostęp w Internecie [10.06.2013]: <http://www.cientifica.com/www/details.php?id=47>
- [11] Cushen M., Kerry J., Morris M., Cruz- Romero M., Cummins E.: Nanotechnologies in the food industry- Recent developments, risk and regulation. *Trends Food Sci. Technol.*, 2012, **24**, 30-46.
- [12] Dunkan T.V.: Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: Barrier materials, antimicrobials and sensors. *J. Colloid Interface Sci.*, 2011, **363** (1), 1-24.
- [13] Duran N., Marcato P.D.: Nanobiotechnology perspectives. Role of nanotechnology in the food industry: a review. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2013, **48**, 1127-1134.
- [14] European Food Safety Authority. Scientific opinion on 'the potential risks arising from nanoscience and nanotechnologies on food and feed safety'. *The EFSA J.*, 2009, **958**, 1-39.
- [15] Foltynowicz Z., Kozak W., Stoińska J., Urbańska M.: Nanożelazowy pochłaniacz tlenu. Zgłoszenie patentowe UP RP 2010, P. 393511.
- [16] Foltynowicz Z.: Nanomateriały, nanobiznes – nowe trendy w towaroznawstwie. W: *Nowe trendy w metodologii nauk ekonomicznych i możliwości ich wykorzystania w procesie kształcenia akademickiego. Problemy szczegółowe metodologii nauk ekonomicznych*. A. Grzelak i K. Pająk (Red.). Wyd. UE w Poznaniu, Poznań 2011, tom 2, ss. 134-148.
- [17] Freitas Jr R.A.: The future of nanofabrication and molecular scale devices in nanomedicine. *Studies in Health Technology and Informatics*, 2002, **80**, 45-59.
- [18] Fundacja Wspierania Nanonauk i Nanotechnologii. Dostęp w Internecie [07.12.2013]: www.nanonet.pl/index.php/nanobiznes/nanoryzyka/1395-zalety-i-wady-nanozywnosci
- [19] García M., Aleixandre M., Gutiérrez J., Horrillo M.C.: Electronic nose for wine discrimination. *Sens. Actuators B.*, 2006, **113**, 911-916.
- [20] Ghasemi-Varnamkhasia M., Mohtasebi S.S., Rodriguez-Mendez M.L., Siadat M., Ahmadi H., Razavi S.H.: Electronic and bioelectronic tongues, two promising analytical tools for the quality evaluation of non alcoholic beer. *Trends Food Sci. Technol.*, 2011, **22**, 245-248.
- [21] Grochowicz J., Bień A.: Nanotechnologie i inne aktualne problemy badawcze w inżynierii żywności. *IPS*, 2013, **2/4** (6), 5-8.
- [22] Hall R.H.: Biosensor technologies for detecting microbiological food borne hazards. *Microbes Infect.*, 2002, **4**, 425-432.

- [23] Huang Y., Chen S., Bing X., Gao C., Wang T., Yuan B.: Nanosilver migrated into food-simulating solutions from commercially available food fresh containers. *Packag. Technol. Sci.*, 2011, **24** (5), 291-297.
- [24] Innovative Research and Products Inc. Nano-enabled Packaging for the Food and Beverage Industry - A Global Technology Industry and Market Analysis. [online]. Dostęp w Internecie [05.02.2013]: http://www.innoresearch.net/report_summary.aspx?id=68&pg=107&rcd=FT 102&pd=7/1/2009
- [25] Jakubiak P., Foltynowicz Z.: Nanokompozyty polimerowe – nowoczesne rozwiązania na rynku opakowań. *Opakowanie*, 2004, **6**, 6-9.
- [26] Kumar C.S.: *Nanomaterials for Biosensors*. Wiley-VCH Weinheim, 2006.
- [27] Lange, D., Hagleitner C., Hierlemann A., Brand O., Baltes H.: Complementary metal oxide semiconductor cantilever arrays on a single chip: mass-sensitive detection of volatile organic compounds. *Anal. Chem.*, 2002, **74**, 3084-3095.
- [28] Li X., Kang T., Cho W.J., Lee J.K., Ha C.S.: Preparation and characterization of poly (butyleneterephthalate)/ organoclay nanocomposites. *Macromol. Rapid Commun.*, 2001, **22**, 1306-1312.
- [29] Ligaj M., Filipiak M., Tichoniuk M.: Biosensor DNA i sposób wykrywania specyficznych fragmentów kwasów nukleinowych oraz zastosowanie biosensora DNA. Zgłoszenie patentowe UP RP 2008, P. 382226.
- [30] Liu S., Yuan L., Yue X., Zheng Z., Tang Z.: Recent advances in nanosensors for organophosphate pesticide detection. *Adv. Powder Technol.*, 2008, **19**, 419-441.
- [31] Łopacka J.: Nanocząstki wykorzystywane w celu poprawy właściwości fizycznych kompozytów polimerowych stosowanych jako materiały opakowaniowe do żywności. *Polimery*, 2013, **58** (11-12), 864-868.
- [32] Lowe R.C.: *Nanobiotechnology: Concepts, Application and Perspectives*. Ed. Niemayer C.M, Mirkin C.A, Wiley-VCH 2004.
- [33] Mabeck J.T., Malliaras G.G.: Chemical and biological sensors based on organic thin-film transistors. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2006, **384**, 343-353.
- [34] Market Attitude Research Services, Australian Community Attitudes about Nanotechnology - trends 2005-2011. [online] Department of Industry, Innovation, Science and Research, Australia. Dostęp w Internecie [12.05.2013]: www.innovation.gov.au/Industry/Nanotechnology/PublicAwarenessandEngagement/Documents/NanotechnologyPublicAwareness2011.pdf
- [35] Mozafari M.R., Johnson C., Hatziantoniou S., Demetzos C.: Nanoliposomes and their applications in food nanotechnology. *J. Liposome Res.*, 2008, **18** (4), 309-327.
- [36] Mozafari M.R., Khosravi-Darani K.: An overview of liposome- derived nanocarrier technologies. In: *Nanomaterials and Nanosystems for Biomedical Applications*. Ed. Springer, Dordrecht, The Netherlands, 2007, pp. 113-123.
- [37] Mozafari R.M., Flanagan J., Matia-Merino L., Awati A., Omri A., Suntres E.Z., Singh H.: Recent trends in the lipid-based nanoencapsulation of antioxidants and their role in foods. *J. Sci. Food Agric.*, 2006, **86**, 2038-2045.
- [38] Nanotechnologia w czujnikach świeżości pożywienia? Na podstawie informacji European Plastics News, *Opakowanie*, 2013, **2**, 16-17.
- [39] National Nanotechnology Initiative: National nanotechnology initiative: Research and development leading to a revolution in technology and industry. Supplement to President's FY 2010 Budget, 2009.
- [40] Neethirajan S., Jayas D.: Nanotechnology for the food and bioprocessing industries. *Food Bioprocess Technol.*, 2011, **4** (1), 39-47.
- [41] Oczkowski T, Filipiak M.: Startery, elektrochemiczny biosensor DNA oraz sposób wykrywania mikroorganizmu *Listeria monocytogenes* w substancjach organicznych, zwłaszcza w żywności. Patent PL 200797 B1.

- [42] Otlés S., Yalcin B.: Intelligent food packaging. *LogForum*, 2008, **4(4)**, 1-9.
- [43] Park K.H.: Preparation method antibacterial wheat flour by using silver nanoparticles. Korea. Patent Korea 2005, 1020050065126.
- [44] Pereira de Abreu D.A., Losada P.P., Angulo I, Cruz J.M.: Development of new polyolefin films with nanoclays for application in food packaging. *Macromol. Nanotechnol.*, 2007, **43**, 2229-2243.
- [45] Nanotechnologia i innowacje- Polski Komitet Normalizacyjny. Dostęp w Internecie [07.12.2013]: www.pkn.pl/nanotechnologia-i-innowacje
- [46] Qu L., Luo P.G., Taylor S., Lin Y., Huang W., Tzeng T.R.J., Stutzenberger F., Latour R.A., Sun Y.P.: Visualizing adhesion-induced agglutination of *Escherichia coli* with mannosylated nanoparticles. *J. Nanosci. Nanotechnol.*, 2005, **5**, 319-322.
- [47] Ramirez F.N.: Cantilever biosensors. *Biotechnol. Appl.*, 2006, **23**, 320-323.
- [48] Ritter S.K.: An eye on food. *Chem. Eng. News*, 2005, **83**, 28-34.
- [49] Rozporządzenie (WE) nr 1272/2008 Parlamentu Europejskiego i Rady w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniające i uchylające dyrektywy 67/548/EEC i 1999/45/WE oraz zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1907/2006. *Dz. Urz. UE L 353 z 31.12.2008.*
- [50] Rozporządzenie (WE) nr 1907/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 18 grudnia 2006 r. w sprawie rejestracji, oceny, udzielania zezwoleń i stosowanych ograniczeń w zakresie chemikaliów (REACH), zmieniające dyrektywę 1999/45/WE oraz uchylające Rozporządzenie Rady (EWG) nr 793/93 i rozporządzenie Komisji (WE) nr 1488/94, jak również dyrektywę Rady 76/769/EWG i dyrektywę Komisji 91/155/EWG, 93/67/EWG, 93/105/WE i 2000/21/WE. *Dz. Urz. UE L 396 z 30.12.2006* oraz sprostowanie w *Dz. Urz. UE L 136 z 29.05.2007.*
- [51] Sanguansri P., Augustin M.A.: Nanoscale materials development- a food industry perspective. *Trends Food Sci. Technol.*, 2006, **17**, 547-556.
- [52] Shegokar R., Muller R.H.: Nanocrystals: industrially feasible multifunctional formulation technology for poorly soluble actives. *Int. J. Pharm.*, 2010, **399 (1 - 2)**, 129-139.
- [53] Shibata T.: Method for producing green tea in microfine powder. USA. United States Patent US 2002, 6416803B1.
- [54] Shirale D.J., Bangar M.A., Park M. Yates M.V., Chen W., Myung N.V., Mulchandani A.: Label-free chemiresistive immunosensors for viruses. *Environ. Sci. Technol.*, 2010, **44**, 9030-9035.
- [55] Simon P., Chaudhry Q., Bakos D.: Migration of engineered nanoparticles from polymer packaging to food a physicochemical view. *J. Food Nutr. Res.*, 2008, **47 (3)**, 105-113.
- [56] Sonneville-Aubrun O., Simonnet J.T., L'Alloret F.: Nanoemulsions: a new vehicle for skincare products. *Adv. Colloid Interface Sci.*, 2004, **108-109**, 145-149.
- [57] Sozer N., Kokini J.L.: Nanotechnology and its applications in the food sector. *Trends Biotechnol.*, 2009, **27 (2)**, 82-87.
- [58] Srinivas P.R., Philbert M., Vu T Q., Huang Q., Kokini J.L., Saos E., Chen H., Peterson C.M., Friedl K.E., McDade-Ngutter C., Hubbard V., Starke-Reed P., Miller N., Betz J.M., Dwyer J., Milner J., Ross S.A.: Nanotechnology research: applications in nutritional sciences. *J. Nutr.*, 2010, **140 (1)**, 119-124.
- [59] Szewczyk P.: Nanotechnologie aspekty techniczne, środowiskowe i społeczne. Monografia, Wyd. Politechniki Śląskiej, Gliwice 2011.
- [60] Tadros T., Izquierdo P., Esquena J., Solans C.: Formation and stability of nano-emulsions. *Adv Colloid Interface Sci.*, 2004, **108-109**, 303-318.
- [61] Tharanathan R.N.: Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. *Trends Food Sci. Technol.*, 2003, **14**, 71-78.
- [62] Valdes M.G., Gonzalez A.C.V., Calzon J.A.G., Diaz-Garcia M.E.: Analytical nanotechnology for food analysis. *Microchim. Acta*, 2009, **166**, 1-19.


- [63] Vo-Dinh T., Cullum B.M., Stokes D.L.: Nanosensors and biochips: frontiers in biomolecular diagnostics. *Sens. Actuators, B*, 2001, **74**, 2-11.
- [64] Wirtualna Giełda Kooperacyjna NanoBroker -wielopłaszczyznowa platforma wymiany informacji pomiędzy instytucjami badawczymi, przemysłem i organizacjami. Dostęp w Internecie [07.12.2013]:
www.nanobroker.org/index.php?option=com_content&view=category&id=5&Itemid=30&lang=pl
- [65] Wirtualna Giełda Kooperacyjna NanoBroker- wielopłaszczyznowa platforma wymiany informacji pomiędzy instytucjami badawczymi, przemysłem i organizacjami. Dostęp w Internecie [15.12.2013]:
www.nanobroker.org/index.php?option=com_content&view=article&id=249%3Astellapacksa&catid=5%3Apolaska&Itemid=30&lang=pl
- [66] Zalecenie Komisji Europejskiej 2011/696/UE z dnia 18 października 2011 r. dotyczące definicji nanomateriału. *Dz. Urz. UE L 275/38*, s. 3 z 20.10.2011.
- [67] Żelazowska E., Pichniarczyk P., Zawila J., Sacha S.: Technologia nanoszenia nanostrukturalnych powłok na szkło opakowaniowe. *Opakowanie*, 2013, **3**, 16-18.

SELECTED ASPECTS OF NANOTECHNOLOGY APPLICATIONS IN FOOD PRODUCTION

S u m m a r y

Nanotechnology is one of the innovative technologies, which includes the characterization and fabrication of, and/or manipulation with structures, devices, or materials that have at least one dimension of approximately 1 - 100 nm in length.

In the paper, the achievements of nanotechnology are presented as are its possible applications to the food industry. There are discussed issues connected, mainly, with increasing the food quality, developing intelligent food and packaging, as well as with using nano-sensors to detect the bacterial contamination and the presence of pesticides. Potential human health and environmental risks are shown, which are involved in using nano-materials. Moreover, pertinent legal provisions are described; it is stressed that those provisions must be adjusted to the specificity of nano-materials.

Key words: nanotechnology, nano-food, nanostructures, biosensors 

ZYGMUNT LITWIŃCZUK, MARIUSZ FLOREK, PIOTR DOMARADZKI,
PAWEŁ ŻÓŁKIEWSKI

WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNE MIĘSA BUHAJKÓW TRZECH RODZIMYCH RAS – POLSKIEJ CZERWONEJ, BIAŁOGRZBIETEJ I POLSKIEJ CZARNO-BIAŁEJ ORAZ SIMENTALSKIEJ I POLSKIEJ HOLSZTYŃSKO-FRYZYJSKIEJ

Streszczenie

Celem badań była ocena właściwości fizykochemicznych mięsa buhajków trzech rodzimych ras: polskiej czerwonej (PC), białogrzbietej (BG) i polskiej czarno-białej (PCB) i ich porównanie z cechami mięsa buhajków ras: simentalskiej (SIM) i polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej (PHF). Zwierzęta opasano w tych samych gospodarstwach systemem półintensywnym, głównie paszami z trwałych użytków zielonych. W próbach mięsa pobranych z półtuszy 50 buhajków (po 10 z każdej rasy), w 2. i 7. dniu *post mortem* wykonano pomiary pH, przewodności elektrycznej właściwej, barwy (wg CIE $L^*a^*b^*$), siły i energii cięcia oraz oceniono wodochłonność mięsa (wyciek naturalny i termiczny oraz wodę wolną), określono wartość TBARS i zawartość barwników hemowych.

Stwierdzono istotnie wyższe pH mięsa buhajków rasy PC w 2. dniu *p.m.* w porównaniu z BG i PCB (5,73 vs. 5,51 i 5,52), a w 7. dniu – w porównaniu ze wszystkimi pozostałymi rasami (5,79 vs. 5,57 - 5,62). Istotnie większe ubytki cieplne wystąpiły w mięsie buhajków rasy SIM i PHF 7. dnia *p.m.* (31,6 i 31,8 %) w porównaniu z 3 polskimi rasami rodzimymi (28,1 - 28,9 %). Najmniejszą siłę i energię cięcia stwierdzono w mięsie buhajków rasy PHF i PCB 2. dnia (84,9 N i 0,31 J oraz 89,0 N i 0,34 J) i 7. dnia *p.m.* (58,8 N i 0,23 J oraz 58,3 N i 0,27 J). Mięso buhajków rasy PHF i SIM charakteryzowało się istotnie ($p \leq 0,01$) mniejszą koncentracją barwników hemowych (133 i 149 ppm) i większą jasnością 2. dnia *p.m.* ($L^* = 40,8$ i $42,8$) i 7. dnia *p.m.* ($L^* = 41,9$ i $42,9$). Mięso buhajków rasy PC charakteryzowało się natomiast 2. i 7. dnia *p.m.* istotnie ($p \leq 0,01$) najwyższym udziałem barwy czerwonej ($a^* = 24,8$ i $27,1$) i najniższym udziałem barwy żółtej ($b^* = 0,9$ i $2,6$). Największą stabilność oksydacyjną tłuszczu śródmięśniowego stwierdzono 2. i 7. dnia *p.m.* w mięsie buhajków rasy SIM (0,24 i 0,25 mg MDA kg^{-1}) i rodzimej rasy PC (0,24 i 0,27 mg MDA kg^{-1}).

Słowa kluczowe: bydło, rasy rodzime, buhajki, jakość mięsa

Prof. dr hab. Z. Litwińczuk, dr inż. P. Żółkiewski, Katedra Hodowli i Ochrony Zasobów Genetycznych Bydła, dr hab. M. Florek, dr inż. P. Domaradzki, 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

Wstęp

Różnice rasowe w obrębie cech produkcyjnych bydła są istotnym elementem genetycznego doskonalenia efektywności produkcji mięsa wołowego oraz jego jakości [6]. Najbardziej widoczne różnice wartości rzeźnej bydła są obserwowane między rasami mlecznymi i mięsnymi. W wielu krajach świata, szczególnie w Europie środkowej, większość mięsa wołowego pozyskuje się z bydła ras ogólnoużytkowych (w typie kombinowanym), które utrzymuje się przede wszystkim w celu produkcji mleka. W Polsce do takiego typu zalicza się 4 rasy rodzime tj. polską czerwoną, białogrzbiętą, polską czarno-białą i polską czerwono-białą, które objęte są programem ochrony zasobów genetycznych oraz rasę simentalską [19]. Badania Żurkowskiego i wsp. [26] oraz Litwińczuka i wsp. [13] wskazują, że w obrębie rodzimych ras, np. polskiej czerwonej i białogrzbiętej, występuje większa zmienność genetyczna związana m.in. z występowaniem u tych zwierząt tzw. genów specyficznych. Ze wszystkich krajowych ras bydła rasy polskiej czerwonej ma najslabiej zaznaczone cechy użyteczności mięsnej, jakkolwiek w niektórych badaniach z lat 70. XX w. wskazywano na dobrą jakość mięsa zwierząt tej rasy [23]. Rasa białogrzbieta to druga, obok polskiej czerwonej, rodzima rasa bydła utrzymywana od wieków na terenach Polski, głównie w dorzeczu Wisły i Bugu. W dostępnym piśmiennictwie brak jest informacji dotyczących jakości mięsa pozyskiwanego ze zwierząt tej rasy [14].

Ocena tuszy i jakości mięsa bydła rodzimych ras lub mieszańców z ich udziałem mogłaby dostarczyć cennych informacji na temat ich potencjalnej przydatności do produkcji mięsa wołowego [24].

Celem pracy było porównanie wybranych właściwości fizykochemicznych mięsa buhajków trzech rodzimych ras – polskiej czerwonej, białogrzbiętej, polskiej czarno-białej z cechami mięsa buhajków ras: simentalskiej i polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej, utrzymywanych w gospodarstwach niskonakładowych środkowo- i południowo-wschodniej Polski.

Material i metody badań

Badaniami objęto 50 buhajków pięciu ras bydła (po 10 osobników), utrzymywanych w dwóch gospodarstwach południowo-wschodniej Polski. W pierwszym utrzymywano zwierzęta rasy polskiej czerwonej (PC), simentalskiej (SIM) i polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej (PHF), a w drugim – rasy białogrzbiętej (BG) i polskiej czarno-białej (PCB). Buhajki po okresie odchowu (do wieku ok. 6 miesięcy) kierowano na około 12-miesięczny opas kontrolny, a następnie poddawano ubojowi. Zwierzęta w obu gospodarstwach utrzymywano na uwięzi i żywiono paszami gospodarskimi, tzn. w lecie zielonką z traw i kiszzonką z kukurydzy, a w zimie sianokiszonką

i kiszonką z kukurydzy. W ostatnim okresie opasu dawki pokarmowe uzupełniano dodatkiem własnej paszy treściwej (śruty zbożowej).

W dniu uboju buhajki przewożono do zakładów mięsnych pojazdami przystosowanymi do przewozu bydła z zachowaniem dobrostanu zwierząt. Całkowity czas czynności związanych z załadunkiem, transportem i wyładunkiem zwierząt nie przekraczał 90 min. W trakcie rozbioru technologicznego 50 wychłodzonych (24 h, 2 °C) prawych półtuszy wycinano mięsień najdłuższy z odcinka lędźwiowego – MLL (*musculus longissimus lumborum*) oraz mięsień półścięgnisty – MST (*musculus semitendinosus*). Z każdego mięśnia pobierano 2 odcinki równej długości, które ważono, a następnie pakowano próżniowo w worki z folii PA/PE. Ogółem pobrano 100 próbek, które przechowywano w temp. 2 °C do momentu wykonania oceny właściwości fizykochemicznych mięsa w 2. i 7. dniu *post mortem* (*p.m.*).

Za pomocą aparatu PQM I-KOMBI, firmy INTEK GmbH, oznaczano pH i przewodność elektryczną właściwą – EC [$\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$] bezpośrednio w tkance mięśniowej. Pomiarów barwy dokonywano na świeżym przekroju próbek mięsa, przeciętych w poprzek włókien mięśniowych i poddanych 30-minutowej ekspozycji na tlen atmosferyczny w temp. 4°C. Pomiarów wykonywano miernikiem nasycenia barwy Minolta CR-310 (iluminacja/projekcja D65/10°). Wyniki podano w systemie barw CIE $L^*a^*b^*$ [2], gdzie: L^* – jasność metryczna, a^* – barwa czerwona, b^* – barwa żółta.

Wyciek naturalny określano na podstawie różnicy masy próbki przed 24-godzinnym przechowywaniem w temp. 4 °C i po nim. Wyciek termiczny określano na podstawie różnicy masy próbki przed 60-minutową obróbką termiczną w łaźni wodnej w temp. 70 °C i po niej. Zawartość wody wolnej [mg] oznaczano metodą bibułową [8] na podstawie pomiarów powierzchni [cm^2] zeskanowanych obrazów naważki mięsa i całkowitego wycieku za pomocą programu komputerowej analizy obrazu MultiScan Base ver. 14.

Pomiar maksymalnej siły cięcia [N] i energii cięcia [J] próbek mięsa poddanego obróbce termicznej wykonywano za pomocą jednokolumnowej maszyny wytrzymałościowej Zwick/Roell Proline B0.5 przy użyciu noża szerometrycznego Warner-Bratzlera (V-blade). Przygotowanie próbek mięsa do badań polegało na ich obróbce termicznej w łaźni wodnej w temp. 70 °C przez 1 h. Następnie próbki chłodzono w bieżącej wodzie przez 1 h i przechowywano w temp. 4 °C przez 24 h. Cięcie próbek o wym. 10×10×50 mm wykonywano poprzecznie do przebiegu włókien. Za wynik końcowy pomiaru siły cięcia i energii cięcia przyjmowano średnią wartość obliczoną z 8 pomiarów.

Ogólną zawartość barwników hemowych [ppm] oznaczano metodą Hornseya [9] przy długości fali $\lambda = 640 \text{ nm}$ za pomocą spektrofotometru Varian Cary 300 Bio. Stalność oksydacyjną lipidów (wartość TBARS) określano metodą Witte'a i wsp. [25]

przy długości fali $\lambda = 530$ nm za pomocą spektrofotometru Varian Cary 300 Bio. Wyniki wyrażano w mg dialdehydu malonowego (MDA) w kg mięsa.

Uzyskane wyniki oceny właściwości fizykochemicznych mięsa buhajków (jako wartości średnie z dwóch mięśni) opracowano statystycznie w programie Statistica ver. 6 [22]. Wpływ rasy weryfikowano jednoczynnikową analizą wariancji, a istotność różnic pomiędzy średnimi grup wyznaczano testem Tukeya ($p \leq 0,05$ i $p \leq 0,01$).

Wyniki i dyskusja

Wykazano istotne ($p \leq 0,01$) zróżnicowanie wartości pH mięsa buhajków ocenianych ras w 2. i 7. dniu *post mortem* (tab. 1). Wyższą wartość pH stwierdzono w mięsie buhajków rasy PC 2. dnia *p.m.* w porównaniu z mięsem buhajków ras BG i PCB (odpowiednio: 5,73 vs. 5,51 i 5,52), a w 7. dniu – w porównaniu ze wszystkimi pozostałymi rasami (odpowiednio 5,79 vs. 5,57-5,62).

Przewodność elektryczna właściwa (EC) może pośrednio wskazywać na wielkość wycieku naturalnego (WN) soku mięśniowego. Tkanka mięśniowa o nienaruszonych błonach komórkowych wykazuje niską EC. Wartość EC natomiast wzrasta wraz ze zwiększaniem się ilości wolnej wody wewnątrz mięśnia, co związane jest ze zjawiskiem osłabienia błon strukturalnych w trakcie zaawansowanych przemian poubojowych. Istnieje więc możliwość wykorzystania tego parametru do oceny jakości mięsa i diagnozowania wad, zwłaszcza wodnistości [4]. Istotnie ($p \leq 0,01$) największą EC i wielkość WN, zarówno w 2. (12,3 mS cm⁻¹ i 2,1 %), jak i w 7. (15,4 mS cm⁻¹ i 4,2 %) dniu *p.m.* stwierdzono w mięsie buhajków rasy PCB w porównaniu z mięsem zwierząt pozostałych ras (tab. 1). Najmniejszą EC i WN stwierdzono natomiast w mięsie buhajków rasy PHF, odpowiednio w 2. dniu 6,5 mS cm⁻¹ i 1,2 % oraz w 7. dniu 10,0 mS cm⁻¹ i 2,5 %.

Najmniejszy wyciek termiczny (WT) 2. dnia *p.m.* stwierdzono w przypadku mięsa buhajków rasy PHF (26,9 %), przy czym istotnie ($p \leq 0,05$) różnił się on jedynie od wielkości wycieku z mięsa zwierząt rasy SIM (30,5 %). Z kolei 7. dnia *p.m.* wykazano większe ubytki masy po obróbce termicznej z mięsa buhajków rasy SIM i PHF (31,6 i 31,8 %) w porównaniu z trzema rasami rodzimymi (28,1 ÷ 28,9 %).

Najmniejszą siłę i energię cięcia stwierdzono w mięsie buhajków rasy PHF i PCB zarówno 2. (odpowiednio: 84,9 N i 0,31 J oraz 89,0 N i 0,34 J), jak i 7. dnia *p.m.* (odpowiednio: 58,8 N i 0,23 J oraz 58,3 N i 0,27 J). Najwyższe wartości tych parametrów stwierdzono 2. i 7. dnia *p.m.* w mięsie buhajków BG (odpowiednio: 108,9 N i 0,39 J oraz 73,4 N i 0,33 J) (tab. 1). Według Destefanisa i wsp. [3] instrumentalna siła cięcia „kruchego” mięsa wołowego nie może być większa niż 42,9 N. Podobnie Shackelford i wsp. [21] proponują wartość progową siły cięcia wołowiny wynoszącą 45,1 N. W badaniach własnych stwierdzona siła cięcia w 7. dniu *p.m.* wskazuje, że badane mięso można określić jako pośrednie lub twarde. Jakkolwiek przy dalszym przecho-

wywaniu (dojrzwaniu) mięsa, np. przez kolejne 7 dni, można założyć poprawę jego kruchości. Wyniki badań innych autorów [1, 7, 15, 20] wskazują bowiem na zmniejszenie siły cięcia różnych mięśni szkieletowych bydła po próżniowym chłodniczym przechowywaniu.

Tabela 1. Wartości pH, przewodności elektrycznej właściwej, wyróżników wodochłonności i tekstury mięsa buhajków w zależności od rasy w 2. i 7. dniu *post mortem*.

Table 1. Breed-dependent mean values of pH, electrical conductivity, water holding capacity and texture parameters of young bulls meat on 2nd and 7th day *post mortem*.

Wyszczególnienie Specification	Rasy rodzime Native breeds			Grupy odniesienia Reference groups		Ogółem Total $\bar{x} \pm s / SD$
	PC	BG	PCB	PHF	SIM	
2. dzień / 2 nd day						
pH	5,73 ^B	5,51 ^A	5,52 ^A	5,60 ^{AB}	5,54 ^{AB}	5,57 ± 0,22
EC [mS·cm ⁻¹]	6,6 ^A	8,5 ^A	12,3 ^B	6,5 ^A	7,4 ^A	8,5 ± 4,22
Wyciek naturalny [%] Natural drip	1,6 ^{AB}	1,8 ^B	2,1 ^B	1,2 ^A	1,7 ^{AB}	1,7 ± 0,80
Wyciek termiczny [%] Thermal drip	28,8 ^{ab}	28,0 ^a	28,8 ^{ab}	26,9 ^a	30,5 ^b	28,5 ± 4,15
Woda wolna [mg] Free water	63,6 ^B	53,9 ^A	50,3 ^A	62,3 ^B	77,3 ^C	59,3 ± 12,57
Siła cięcia W-B [N] Shear force	92,2 ^{ab}	108,9 ^b	89,0 ^a	84,9 ^a	97,7 ^{ab}	96,0 ± 33,44
Energia cięcia [J] Shear energy	0,35 ^{ab}	0,39 ^b	0,34 ^{ab}	0,31 ^a	0,36 ^{ab}	0,36 ± 0,13
7. dzień / 7 th day						
pH	5,79 ^B	5,58 ^A	5,62 ^A	5,60 ^A	5,57 ^A	5,62 ± 0,20
EC [mS cm ⁻¹]	11,6 ^A	10,8 ^A	15,4 ^B	10,0 ^A	12,4 ^A	11,9 ± 3,98
Wyciek naturalny [%] Natural drip	3,5 ^{AB}	3,9 ^B	4,2 ^B	2,5 ^A	3,8 ^B	3,6 ± 1,77
Wyciek termiczny [%] Thermal drip	28,1 ^a	28,7 ^{ab}	28,9 ^{ab}	31,8 ^c	31,6 ^{bc}	29,8 ± 5,08
Woda wolna [mg] Free water	65,9 ^C	46,6 ^A	44,4 ^A	58,0 ^{BC}	54,5 ^B	52,4 ± 12,78
Siła cięcia W-B [N] Shear force	72,9 ^{ab}	73,4 ^b	58,3 ^a	58,8 ^a	72,9 ^{ab}	66,8 ± 25,56
Energia cięcia [J] Shear energy	0,29 ^{ab}	0,33 ^b	0,27 ^a	0,23 ^a	0,28 ^{ab}	0,29 ± 0,11

Objaśnienia: / Explanatory notes:

PC – mięso buhajków rasy polskiej czerwonej / PR - meat from young bulls of Polish Red breed; BG – mięso buhajków rasy białogrzbiętej / WB - meat from young bulls of White-Backed breed; PCB – mięso buhajków rasy czarno-białej / PBW – meat from young bulls of Polish Black-White breed; PHF - mięso buhajków rasy polskiej holsztyńsko-fryzyskiej odmiany czarno-białej / PHF – meat from young bulls of Polish Holstein-Friesian, Black-White breed; SIM – mięso buhajków rasy simentalskiej / SIM – meat from young bulls of Simmental breed; $\bar{X} \pm s / SD$ – wartość średnia \pm odchylenie standardowe / mean value \pm standard deviation; $n = 100$; wartości średnie oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się statystycznie istotnie: a, b, c – $p \leq 0,05$; A, B, C – $p \leq 0,01$ / mean values in rows and denoted by different letters differ statistically significantly: a, b, c – $p \leq 0.05$; A, B, C – $p \leq 0.01$.

Wykazano istotny wpływ rasy buhajków na zawartość barwników hemowych i parametry barwy mięsa (tab. 2). Istotnie ($p \leq 0,01$) niższą koncentrację barwników hemowych oznaczono w mięsie buhajków rasy PHF i SIM (odpowiednio 133 i 149 ppm) w porównaniu z mięsem zwierząt rasy PCB (179 ppm). Mniejsza koncentracja barwników mięśniowych mogła wpłynąć na istotnie ($p \leq 0,01$) większą jasność mięsa buhajków rasy PHF i SIM zarówno 2. dnia *p.m.* (odpowiednio $L^* = 40,8$ i $42,8$), jak i 7. dnia *p.m.* (odpowiednio $L^* = 41,9$ i $42,9$). W przypadku rasy PHF stwierdzono także istotnie ($p \leq 0,01$) najniższy udział barwy czerwonej w kolejnych dniach oznaczeń (odpowiednio $a^* = 21,4$ i $21,5$). Należy również podkreślić, że mięso buhajków rasy PC charakteryzowało się 2. i 7. dnia *p.m.* istotnie ($p \leq 0,01$) największym udziałem barwy czerwonej (odpowiednio $a^* = 24,8$ i $27,1$) i najmniejszym udziałem barwy żółtej (odpowiednio $b^* = 0,9$ i $2,6$), co wyraźnie odróżniała mięso zwierząt tej rasy od mięsa buhajków pozostałych ras. Mogło to być również pośrednio związane z wysokim pH tkanki mięśniowej lub z mniejszą zawartością tłuszczu śródmięśniowego (marmurkowatością) zwierząt tej rasy [16]. Faustman i Cassens [5] oraz Insausti i wsp. [10] podają, że mięso bydła ras mlecznych ma mniej stabilną barwę w porównaniu z mięsem zwierząt typu mięsnego. Jednak późniejsze badania McKenna i wsp. [17] oraz Jeonga i wsp. [12] dowodzą, że o stabilności barwy mięśni wołowych decyduje raczej typ włókien mięśniowych, zawartość mioglobiny, pH, czy koncentracja endogennych anty- i prooksydantów modyfikujących stopień oksydacji mioglobiny i lipidów.

Oksydacja mioglobiny i tworzenie się metmioglobiny w czasie przechowywania mięsa są bezpośrednio związane z oksydacją lipidów mięśniowych, którą można określić za pomocą wartości TBARS [11]. McKenna i wsp. [17] wykazali ujemną korelację pomiędzy wartością a^* i wartością TBARS. Również w badaniach własnych mięso buhajków rasy PHF charakteryzowało się istotnie najniższym udziałem barwy czerwonej (a^*) przy jednocześnie istotnie najwyższej wartości TBARS. Największą stabilność oksydacyjną tłuszczu śródmięśniowego (najniższa wartość TBARS) stwierdzono 2. i 7. dnia *p.m.* w mięsie buhajków rasy SIM ($0,24$ i $0,25$ mg MDA kg^{-1}) i rodzimej rasy PC

(0,24 i 0,27 mg MDA kg⁻¹). McKenna i wsp. [17] podają wartość TBARS mięsa wołowego (*m. longissimus lumborum* i *semitendinosus*) w zakresie od 0,3 do 0,4.

Tabela 2. Zawartość barwników hemowych, parametry barwy wg CIE L*a*b* i wartość TBARS mięsa buhajków w zależności od rasy w 2. i 7. dniu *post mortem*.

Table 2. Content of haem pigments, colour indices acc. to CIE L*a*b. and breed-dependent TBARS values of meat from young bulls on 2nd and 7th day *post mortem*

Wyszczególnienie Specification	Rasy rodzime Native breeds			Grupy odniesienia Reference groups		Ogółem Total $\bar{x} \pm s$
	PC	BG	PCB	PHF	SIM	
Barwniki hemowe [ppm] Haem pigments	159 ^{AB}	156 ^{AB}	179 ^B	133 ^A	149 ^A	154 ± 33,9
2. dzień / 2 nd day						
CIE						
L*	39,6 ^{AB}	38,3 ^A	37,5 ^A	40,8 ^{BC}	42,8 ^C	39,4 ± 3,87
a*	24,8 ^C	23,7 ^B	24,0 ^B	21,4 ^A	24,4 ^{BC}	23,5 ± 2,12
b*	0,9 ^A	4,6 ^B	4,8 ^B	3,6 ^B	4,8 ^B	4,0 ± 2,26
TBARS [mg MDA kg ⁻¹]	0,24 ^a	0,36 ^b	0,35 ^b	0,53 ^c	0,24 ^a	0,36 ± 0,20
7. dzień / 7 th day						
CIE						
L*	40,4 ^{AB}	38,7 ^A	38,3 ^A	41,9 ^B	42,9 ^B	40,1 ± 3,88
a*	27,1 ^C	25,2 ^B	25,7 ^B	21,5 ^A	25,4 ^B	24,7 ± 2,62
b*	2,6 ^A	5,8 ^C	6,1 ^C	4,3 ^B	5,2 ^{BC}	5,03 ± 2,00
TBARS [mg MDA kg ⁻¹]	0,27 ^{ab}	0,42 ^{bc}	0,39 ^b	0,79 ^d	0,25 ^a	0,46 ± 0,29

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

Min i wsp. [18] do najważniejszych czynników wpływających na wzrost wartości TBARS surowego mięsa wołowego zaliczają ilość mioglobiny (zwłaszcza formy ferrytmoglobiny), w mniejszym zakresie natomiast żelazo niehemowe czy skład kwasów tłuszczowych. W badaniach własnych wszystkie oznaczone wartości były poniżej przyjętego poziomu progowego (równego 1), służącego do stwierdzenia występowania odchył zapachów związanych z jęlczeniem oksydacyjnym [17].

Wnioski

1. Rasa buhajków istotnie różnicowała wszystkie oceniane właściwości fizykochemiczne tkanki mięśniowej w 2. i 7. dniu od uboju.
2. Najniższą siłę cięcia wykazywało mięso buhajków rasy polskiej czarno-białej i polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej.

3. Istotnie najmniejszą stabilność oksydacyjną lipidów mięśniowych stwierdzono w mięsie buhajków rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej.
4. W zakresie wybranych właściwości fizykochemicznych mięsa stwierdzono ich zbliżone wartości w przypadku mięsa buhajków rasy białogrzbiętej i polskiej czarno-białej. Mięso buhajków rasy polskiej czerwonej istotnie odróżniało się od mięsa zwierząt pozostałych ras w zakresie pH i barwy, co można wiązać z innym pochodzeniem filogenetycznym tej rasy.

Badania zrealizowano w ramach projektu "BIOŻYWNOŚĆ – innowacyjne, funkcjonalne produkty pochodzenia zwierzęcego" nr POIG.01.01.02-014-090/09 współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka 2007 – 2013.

Literatura

- [1] Byrne C.E., Troy D.J., Buckley D.J.: *Post mortem* changes in muscle electrical properties of bovine *m. longissimus dorsi* and their relationship to meat quality attributes and pH fall. *Meat Sci.*, 2000, **54**, 23-34.
- [2] CIE: *Colorimetry*. (3rd ed.). Commission International de l'Eclairage. Vienna, Austria, 2004, pp. 16-20.
- [3] Destefanis G., Brugiapaglia A., Barge M.T., Dal Molin E.: Relationship between beef consumer tenderness perception and Warner-Bratzler shear force. *Meat Sci.*, 2008, **78**, 153-156.
- [4] Domaradzki P., Florek M.: Mięso i przetwory mięsne. W: *Towaroznawstwo surowców i produktów zwierzęcych z podstawami przetwórstwa*. Red. Z. Litwińczuk. PWRiL, Warszawa 2012, ss. 287-392.
- [5] Faustman C., Cassens R.G.: The biochemical basis for discoloration in fresh meat: A review. *J. Muscle Foods*, 1990, **1**, 217-243.
- [6] Florek M.: Genetyczne i środowiskowe uwarunkowania jakości wołowiny. Obecne problemy produkcji mleka i wołowiny w Polsce i na świecie. IZ PIB Kraków, 2013, ss. 31-36.
- [7] Florek M., Litwińczuk A., Skąlecki P., Ryszkowska-Siwko M.: The changes of physicochemical properties of bullocks and heifers meat during 14 days of ageing under vacuum. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2007, **57** (3), 281-288.
- [8] Grau R., Hamm R.: Eine einfache Methode zur Bestimmung der Wasserbindung im Muskel. *Naturwissenschaft.*, 1953, **40**, 29.
- [9] Hornsey H.C.: The colour of cooked cured pork I. Estimation of the nitric oxide-haem pigments. *J. Sci. Food Agric.*, 1956, **7**, 534-540.
- [10] Insausti K., Beriain M.J., Purroy A., Alberti P., Lizaso L., Hernandez B.: Colour stability of beef from different Spanish native cattle breeds stored under vacuum and modified atmosphere. *Meat Sci.*, 1999, **53**, 241-249.
- [11] Insausti K., Beriain M.J., Purroy A., Alberti P., Gorraiz C., Alzueta M.J.: Shelf life of beef from local Spanish cattle breeds stored under modified atmosphere. *Meat Sci.*, 2001, **57**, 273-281.
- [12] Jeong J.Y., Hur S.J., Yang H.S., Moon S.H., Hwang Y.H., Park G.B., Joo S.T.: Discoloration characteristics of 3 major muscles from cattle during cold storage. *J. Food Sci.*, 2009, **74** (1), C1-C5.

- [13] Litwińczuk Z., Chabuz W., Stanek P., Sawicka W.: Genetic potential and reproductive performance of Whitebacks-Polish native breed of cows. *Arch. Tierz., Dummerstorf*, 2006, **49**, 289-296.
- [14] Litwińczuk Z., Chabuz W., Domaradzki P., Jankowski P.: Slaughter value of Polish Black and White, Whiteback, Polish Holstein-Friesian and Limousine bullocks from semi-intensive fattening. *Ann. Anim. Sci.*, 2012, **12**, 2, 159-168.
- [15] Maher S.C., Mullen A.M., Moloney A.P., Drennan M.J., Buckley D.J., Kerry J.P.: Colour, composition and eating quality of beef from the progeny of two Charolais sires. *Meat Sci.*, 2004, **67**, 73-80.
- [16] Mancini R.A., Hunt M.C.: Current research in meat color. *Meat Sci.*, 2005, **71**, 100-121.
- [17] McKenna D.R., Mies P.D., Baird B.E., Pfeiffer K.D., Ellebracht J.W., Savell J.W.: Biochemical and physical factors affecting discoloration characteristics of 19 bovine muscles. *Meat Sci.*, 2005, **70**, 665-682.
- [18] Min B., Nam K.C., Cordray J., Ahn D.U.: Endogenous factors affecting oxidative stability of beef loin, pork loin, and chicken breast and thigh meats. *J. Food Sci.*, 2008, **73**, C439-C446.
- [19] Ochrona zasobów genetycznych zwierząt gospodarskich i dziko żyjących. Red. Z. Litwińczuk. PWRiL, Warszawa 2011.
- [20] Oliete B., Carballo J.A., Varela A., Moreno T., Monserrat L., Sanchez L.: Effect of weaning status and storage time under vacuum upon physical characteristics of meat of the Rubia Gallega breed. *Meat Sci.*, 2006, **73**, 102-108.
- [21] Shackelford S.D., Morgan J.B., Cross H.R., Savell J.W.: Identification of threshold levels for Warner-Bratzler shear force in beef top loin steaks. *J. Muscle Foods*, 1991, **2**, 289-294.
- [22] Statsoft Inc., Statistica, data analysis software system, ver. 6., 2003, www.statsoft.com.
- [23] Trela J., Choroszy Z., Choroszy B.: Uwarunkowania genetyczne i żywieniowe wpływające na jakość żywca wołowego. *Biul. Inf. Inst. Zoot. Balice*, 1992, 1-21.
- [24] Wheeler T.L., Cundiff L.V., Shackelford S.D., Koochmaraie M.: Characterization of biological types of cattle (Cycle VIII): carcass, yield, and longissimus palatability traits. *J. Anim. Sci.*, 2010, **88**, 3070-3083.
- [25] Witte V.C., Krause G.F., Bailey M.E.: A New extraction method for determining 2-thiobarbituric acid values of pork and beef during storage. *J. Food Sci.*, 1970, **35**, 582-585.
- [26] Żurkowski M., Niemczewski C., Zwierzchowski L., Zięba G., Litwińczuk Z.: Określenie zmienności struktury genetycznej bydła polskiego czerwonego i białogrzbietego na podstawie polimorfizmu 24 sekwencji mikrosatelitarnych DNA. *Prace Mat. Zoot.*, 2004, **62**, 59-72.

PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF MEAT FROM YOUNG BULLS OF 3 NATIVE BREEDS: POLISH RED, WHITE-BACKED, AND POLISH BLACK-AND-WHITE, AS WELL AS OF SIMMENTAL AND POLISH HOLSTEIN-FRESIAN BREEDS

S u m m a r y

The objective of the study was to assess the physicochemical properties of meat from young bulls of three native breeds: Polish Red (PR), White-Backed (WB), Polish Black-and-White (PBW) and to compare them with the properties of meat from young Simmental (SIM) and Polish Holstein-Friesian (PHF) breed bulls. The animals were fed in the same farms using a semi-intensive system, the feed consisted primarily of plants grown on permanent grasslands. The following parameters of the meat samples taken from carcasses of 50 young bulls (10 samples of each breed) were measured or assessed on the 2nd and 7th day *post mortem*: pH, electrical conductivity, colour (CIE L*a*b*), shear force and shear energy, water holding capacity (natural drip and thermal drip), TBARS values and content of haem pigments.

Significantly higher pH values of the meat from the young bulls of PR breed were reported on the 2nd day *post mortem* compared to the WB and PBW breed bulls, and on the 7th day *post mortem* compared to all other breeds analyzed (5.73 vs. 5.51 - 5.52). The meat of young bulls of SIM and PHF breeds showed significantly higher cooking losses on the 7th day *post mortem*. (31.6 % and 31.8 %) compared to the 3 native breeds (28.1 - 28.9 %). The lowest shear force and shear energy were reported in the meat from young bulls of PHF and PBW breeds on the 2nd day *post mortem* (84.9 N and 0.31 J; 89.0 N and 0.34 J) and on the 7th day *post mortem* (58.8 N and 0.23 J; 58.3 N and 0.27 J). The meat of PHF and SIM young bulls was characterized by a significantly ($P \leq 0.01$) lower content of haem pigments (133 and 149 ppm) and a higher lightness on the 2nd day *post mortem* ($L^* = 40.8$ and 42.8) and on the 7th day *post mortem* ($L^* = 41.9$ and 42.9). On the 2nd and 7th day *post mortem*, the colour of the meat of young bulls of PR breed was characterized by the significantly ($p \leq 0.01$) highest percent content of redness ($a^* = 24.8$ and 27.1) and the significantly lowest percent content of yellowness ($b^* = 0.9$ and 2.6). The highest oxidative stability of intramuscular fat was found on the 2nd and 7th day *post mortem* in the meat of young bulls of SIM breed (0.24 and 0.25 mg MDA kg⁻¹) and of the native PR breed (0.24 and 0.27 mg MDA kg⁻¹).

Key words: cattle, native breeds, young bulls, meat quality 



UNIA EUROPEJSKA
EUROPEJSKI FUNDUSZ
ROZWOJU REGIONALNEGO



KRZYSZTOF SZKUCIK, MICHAŁ GONDEK, ZBIGNIEW BELKOT,
KRYSTYNA KURSA

ZAWARTOŚĆ SELENU W MIĘŚNIACH I NARZĄDACH WEWNĘTRZNYCH KONI RZEŹNYCH W ZALEŻNOŚCI OD ICH WIEKU I PŁCI

Streszczenie

Celem pracy było oznaczenie zawartości selenu w wybranych tkankach koni rzeźnych oraz określenie jej zmienności w zależności od wieku i płci zwierząt.

Materiał do badań stanowiły trzy mięśnie oraz narządy wewnętrzne (nerki, płuca i wątroba) pochodzące ze 117 tusz koni rzeźnych zakwalifikowanych do drugiej klasy jakościowej. W doborze materiału doświadczalnego uwzględniono zwierzęta obu płci oraz dwie grupy wiekowe: konie młode (od 6 do 18 miesięcy) i stare (od 10 do 13 lat). Pobrane próbki po wstępnym przygotowaniu poddano mineralizacji. Zawartość selenu w uzyskanych mineralizatach oznaczono przy użyciu spektrometru absorpcji atomowej ze wzbudzeniem elektrotermicznym i deuterową korekcją tła Zeeman, Spektra 220Z firmy Varian.

Wykazano statystycznie istotne ($p \leq 0,01$) różnice zawartości selenu pomiędzy wszystkimi badanymi tkankami. Najwięcej selenu stwierdzono w nerkach (0,487 ppm), istotnie ($p \leq 0,01$) mniejszą zawartość tego pierwiastka oznaczono w wątrobie (0,177 ppm), a jeszcze mniejszą – w płucach (0,062 ppm). Najmniej badanego pierwiastka było w tkance mięśniowej (0,039 ppm). Uwzględniając wiek koni, w nerkach i mięśniach zwierząt młodych wykazano statystycznie większą ($p \leq 0,01$) zawartość selenu. Płeć miała niewielki wpływ na zawartość selenu zarówno w narządach wewnętrznych, jak i w mięśniach. Istotne ($p \leq 0,01$) różnice dotyczyły jedynie nerek.

Z trzech badanych mięśni najwięcej selenu oznaczono w mięśniu nadgrzebieniowym (*m. supraspinatus*), a nieznacznie mniej, ale w wymiarze statystycznie istotnym ($p \leq 0,01$), w mięśniach: najdłuższym (*m. longissimus pars thoracis*) i półbłoniastym (*m. semimembranosus*). Różnice te dotyczyły jedynie mięśni zwierząt młodych. W grupie tej stwierdzono także istotne ($p \leq 0,01$) różnice pod względem zawartości selenu w zależności od rodzaju mięśnia i płci. Najmniej selenu zawierały mięśnie zwierząt powyżej 10. roku życia. W tej grupie zwierząt nie wykazano istotnych ($p \leq 0,01$) różnic pomiędzy badanymi mięśniami, a także nie wykazano istotnego wpływu płci na zawartość selenu.

Słowa kluczowe: selen, konina, mięśnie, wątroba, płuca, nerki

Prof. dr hab. K. Szucik, lek. wet. M. Gondek, dr n.wet. Z. Belkot, Katedra Higieny Żywności Zwierzęcego Pochodzenia, lek. wet. K. Kurska, Zakład Toksykologii i Ochrony Środowiska, Wydz. Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Akademicka 12, 20-950 Lublin
Kontakt: krzysztof.szucik@up.lublin.pl

Wprowadzenie

Selen jest mikroelementem niezbędnym do funkcjonowania organizmów żywych. W odróżnieniu od innych mikroelementów selen jest pierwiastkiem o bardzo małym zakresie ilościowym między niedoborem, stanem prawidłowym i dawką toksyczną, stąd wynika zainteresowanie nim.

Większość selenu obecnego w tkankach oraz we krwi wbudowana jest w selenobiałka, tylko niewielka ilość selenu występuje w formie wolnej. Selenobiałka obecne są prawie w każdej komórce organizmu. Najważniejszym białkiem jest selenozależna peroksydaza glutationowa, której głównym zadaniem jest usuwanie toksycznych dla tkanek nadtlenków organicznych i nadtlenku wodoru poprzez ich redukcję do związków hydroksylowych – wody lub alkoholu [9]. Do selenozależnych białek należy też dejodynaza jodotyroninowa typu I i III. Główną funkcją białka typu I jest udział w syntezie hormonów tarczycowych, zaś typu III – udział w metabolizmie hormonów tarczycy [5, 17].

Selen wykazuje także zróżnicowany wpływ na system immunologiczny. Działanie to zależne jest od stężenia pierwiastka w organizmie: w dużych dawkach wykazuje działanie immunosupresyjne, zaś w małych – immunostymulujące [2]. Selen, pełniący rolę „komórkowego wygaszacza wolnych rodników”, pośrednio chroni organizm przed toksycznym działaniem metali ciężkich: arsenu, kadmu, rtęci i ołowiu, jak również żelaza i cis-platyny, tworząc z nimi selenki, które charakteryzują się niską rozpuszczalnością i w związku z tym zostają wyłączone z procesów biochemicznych i wydalone z organizmu. Pierwiastek ten ma również właściwości przeciwbakteryjne i przeciwwirusowe, łagodzi przebieg choroby u pacjentów zarażonych wirusem HIV i wirusowym zapaleniem wątroby, w tym również zapaleniom wątroby typu pokarmowego HAV i HEV.

Niedobór selenu w organizmach żywych jest konsekwencją coraz większego zubożenia środowiska naturalnego w zakresie występowania tego pierwiastka wskutek stosowania nowoczesnych technologii w rolnictwie i przemyśle spożywczym. Zmniejszona podaż wynika z pogłębiającej się erozji gleb, zakwaszania związkami siarki i azotu („kwaśne deszcze”) oraz z zanieczyszczenia metalami ciężkimi. Procesy te tłumaczą zjawisko hamowania przyswajalności selenu przez rośliny. Ograniczony transport selenu z gleby poprzez rośliny i zwierzęta do człowieka objawia się coraz mniejszą jego zawartością w produktach spożywczych [18].

Deficyt selenu w żywieniu jest problemem w Chinach, Nepalu, Australii i Centralnej Afryce [16]. Niedobór selenu grozi zwyrodnieniem wielu narządów i tkanek człowieka. Najbardziej znaną chorobą spowodowaną brakiem tego pierwiastka jest choroba Keshan – kardiomiopatia młodzieńcza – endemiczna choroba mięśnia sercowego [6, 10, 12, 19]. Drugą, związaną z niedoborem selenu w środowisku naturalnym, jest choroba Kasin-Beck. Jest to endemiczna choroba układu kostno-stawowego, po-

wodująca zaburzenia w kostnieniu oraz deformację stawów [19]. Wskazuje się również, że deficyt selenu występuje w chorobie Friedreicha (FRDA), tzn. dziedzicznej atazji (bezładzie) rdzeniowej [6]. Wykazano związek między niedoborem selenu w organizmie a obniżeniem aktywności enzymów odpowiedzialnych za czynności błon komórkowych, osłabienie odporności i powstawanie nowotworów [7]. Brak selenu prowadzi ponadto do martwicy wątroby i trzustki, zmniejszenia płodności [13] i dystrofii mięśniowej [20].

Źródłem selenu są zarówno produkty pochodzenia roślinnego, jak i zwierzęcego. Podejmuje się badania nad wzbogaceniem żywności w selen [15]. Selen w formie nieorganicznej, czyli selenianów(IV) lub (VI), jest wchłaniany przez rośliny z gleby, następnie przekształcany do form organicznych, głównie do selenometioniny oraz selenocysteiny. Ta druga forma dominuje w produktach pochodzenia zwierzęcego. W tej postaci selen jest spożywany przez ludzi [1, 16]. Zawartość selenu w organizmach zwierzęcych jest zróżnicowana i wynosi od setnych części do kilku mg/kg danej tkanki. Najwięcej selenu gromadzi się w warstwie korowej nerek, trzustce, przysadce i wątrobie, również w sierści, piórach i rogach [4]. Związki selenu są dobrze wchłaniane z przewodu pokarmowego (60 %) i poprzez układ oddechowy, a chlorek selenyłu – przez skórę.

Celem pracy było oznaczenie zawartości selenu w wybranych tkankach koni rzeźnych i określenie jego zmienności w zależności od wieku oraz płci. W badaniach uwzględniono trzy mięśnie szkieletowe oraz narządy wewnętrzne, które zaliczane są do ubocznych surowców jadalnych, takie jak: płuca, wątroba i nerki.

Material i metody badań

Badania przeprowadzono na 702 próbkach mięsa pochodzących ze 117 tusz koni rzeźnych obu płci. Zwierzęta pochodziły z rejonu Polski południowo-wschodniej oraz centralnej. Do badań przeznaczono konie rzeźne zakwalifikowane do drugiej klasy jakościowej. Na podstawie sanitarno-weterynaryjnego badania przed- i poubojowego zwierząt tusze i narządy wewnętrzne oceniono jako zdatne do spożycia. Klacze i samce (wałachy) należały do dwóch grup wiekowych. Pierwszą grupę stanowiły konie młode w wieku od 6 do 18 miesięcy. Drugą grupą były konie stare w wieku od 10 do 13 lat. Z każdej tuszy pobierano próbki tkanki mięśniowej pochodzące z trzech mięśni szkieletowych: najdłuższego (*m. longissimus pars thoracis*), nadgrzebieniowego (*m. supraspinatus*) i półbłoniastego (*m. semimembranosus*). Dodatkowo z każdego zwierzęcia pobierano do badań próbki wątroby (płat ogoniasty), płuc (płat przeponowy) i lewą nerkę (tab. 1).

Tabela 1. Liczba próbek mięśni koni rzeźnych i ich narządów wewnętrznych pobranych do badania.

Table 1. Number of samples of muscles and internal organs of slaughter horses taken for analysis.

Rodzaj tkanki Type of tissue		Zwierzęta młode Young animals		Zwierzęta stare Old animals	
		♀	♂	♀	♂
Mięśnie Muscles	Najdłuższy <i>longissimus pars thoracis</i>	30	29	30	28
	Nadgrzebienny <i>supraspinatus</i>	30	29	30	28
	Półbłoniasty <i>semimembranosus</i>	30	29	30	28
Wątroba / Liver		30	29	30	28
Płuca / Lungs		30	29	30	28
Nerki / Kidneys		30	29	30	28

Przed przystąpieniem do analizy próbki poddawano wstępnej obróbce (ważenie, mycie pod bieżącą wodą, 3-krotne płukanie wodą redestylowaną, suszenie, suszenie w wagosuszarce do uzyskania stałej masy), następnie prowadzono rozkład próbek na mokro z kwaśną mieszaniną utleniającą w piecu mikrofalowym Multiwave 3000, firmy Anton Paar. Zawartość selenu w mineralizatach oznaczano przy użyciu spektrometru absorpcji atomowej ze wzbudzeniem elektrotermicznym i deuterową korekcją tła Zeeman, Spektra 220Z firmy Varian.

Wyniki poddano analizie statystycznej, wyliczając wartości średnie i odchylenia standardowe. Istotność różnic pomiędzy badanymi parametrami i badanymi czynnikami zmienności określono testem wielokrotnych przedziałów ufności t-Tukeya na poziomie istotności $p \leq 0,01$.

Wyniki i dyskusja

Zawartość selenu w mięśniach koni była statystycznie istotnie ($p \leq 0,01$) zróżnicowana (tab. 2). Zdecydowanie większą zawartość selenu stwierdzono w narządach wewnętrznych niż w tkance mięśniowej. Podobne dane dotyczące akumulacji selenu w organizmie podają inni autorzy [8, 11, 21]. Najwięcej selenu oznaczono w nerkach – średnio 0,487 ppm, ale wystąpiły duże wahania zawartości – od 0,414 do 0,672 ppm w zależności od wieku i płci koni. W porównaniu z nerkami blisko trzykrotnie mniej tego pierwiastka stwierdzono w wątrobie, a jeszcze mniej – w płucach (0,062 ppm).

Jak podają Oh i wsp. [14], jagnięta żywione paszą ubogą w selen miały zawsze więcej selenu w nerkach niż w wątrobie, podobnie w przypadku koni dieta o małej zawartości selenu mogła wpłynąć na ilość badanego pierwiastka w poszczególnych narządach.

Tabela 2. Zawartość selenu w mięśniach oraz w wybranych narządach wewnętrznych koni, w zależności od ich wieku i płci [mg/kg].

Table 2. Content of selenium in muscles and selected internal organs of horses depending on their age and sex [mg/kg].

Rodzaj tkanki Type of tissue	Razem Mean ($\bar{x} \pm s / SD$)	Zwierzęta młode Young animals ($\bar{x} \pm s / SD$)		Zwierzęta stare Old animals ($\bar{x} \pm s / SD$)	
		♀	♂	♀	♂
Mięśnie Muscles	0,039 ^a ± 0,006	0,042 ^{aA} ± 0,007	0,050 ^{aA} ± 0,006	0,031 ^{aB} ± 0,004	0,032 ^{aB} ± 0,008
Wątroba Liver	0,177 ^c ± 0,010	0,193 ^{cA} ± 0,017	0,196 ^{cA} ± 0,021	0,159 ^{cA} ± 0,011	0,181 ^{cA} ± 0,015
Nerki Kidneys	0,487 ^d ± 0,039	0,672 ^{dA} ± 0,063	0,414 ^{dB} ± 0,052	0,455 ^{dB} ± 0,041	0,427 ^{dB} ± 0,039
Płuca Lungs	0,062 ^b ± 0,009	0,063 ^{bA} ± 0,007	0,074 ^{bA} ± 0,011	0,052 ^{bA} ± 0,008	0,074 ^{bA} ± 0,009

Objaśnienia: / Explanatory notes:

$\bar{x} \pm s / SD$ – wartość średnia ± odchylenie standardowe / mean value ± standard deviation; a, b, c, d – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie w pionie przy $p \leq 0,01$ / mean values denoted by different letters differ statistically significantly in vertical direction at $p \leq 0,01$; A, B – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie w poziomie przy $p \leq 0,01$ / mean values denoted by different letters differ statistically significantly in horizontal direction at $p \leq 0,01$.

Najmniej selenu oznaczono w tkance mięśniowej (średnio 0,039 ppm), ale jego poziom wahał się od 0,031 do 0,050 ppm. W grupach zwierząt różniących się wiekiem, jak i płcią, zaobserwowano zbliżone tendencje w zakresie zawartości selenu w badanych tkankach. W przypadku klaczy, jak i osobników męskich największą zawartość selenu stwierdzono w nerkach, dużo mniejszą w wątrobie, a najmniejszą – w płucach i mięśniach.

Wykazano, że wiek koni istotnie ($p \leq 0,01$) wpływał na poziom selenu w badanych narządach i mięśniach. W tkankach zwierząt młodych oznaczono większą zawartość badanego pierwiastka, ale statystycznie istotne ($p \leq 0,01$) różnice dotyczyły selenu zawartego w nerkach i mięśniach klaczy. Największą średnią zawartość selenu stwierdzono w nerkach zwierząt młodych (0,543 ppm), równie dużo tego pierwiastka było w nerkach zwierząt starych – średnio 0,441 ppm. W tkance mięśniowej zwierząt starych zaobserwowano najmniejszą zawartość badanego pierwiastka – 0,032 ppm, a nieznacznie większą – 0,046 ppm – w mięśniach zwierząt młodych. Porównując poziom selenu w płucach zwierząt starych i młodych stwierdzono, że zawierały one po-

dobne ilości tego pierwiastka. Trzykrotnie większą zawartość selenu, w porównaniu z płucami, wykazano w wątrobie zwierząt młodych.

Płeć miała niewielki wpływ na zawartość selenu zarówno w narządach wewnętrznych, jak i w mięśniach, bowiem statystycznie istotne ($p \leq 0,01$) różnice dotyczyły jedynie nerek (tab. 2). Poziom selenu w nerkach osobników żeńskich był istotnie ($p \leq 0,01$) wyższy w porównaniu z nerkami samców. Istotny wpływ na to zróżnicowanie miała największa (0,672 ppm) zawartość selenu w nerkach samic młodych. Nie wykazano wpływu płci na zawartość badanego pierwiastka w wątrobie i płucach. W tych narządach samców wykazano nieznacznie wyższy poziom selenu, ale nie były to różnice statystycznie istotne ($p \leq 0,01$). Zawartość selenu w tkance mięśniowej klaczy była nieznacznie mniejsza w porównaniu z mięśniami wałachów, ale w ocenie sumarycznej nie wykazano istotnych ($p \leq 0,01$) różnic, pomimo zróżnicowania w zależności od wieku.

W porównaniu z badanymi narządami zawartość selenu w tkance mięśniowej była najmniejsza. Ponadto wykazano zróżnicowanie poziomu tego pierwiastka w zależności od rodzaju mięśnia. W ocenie ogólnej trzech badanych mięśni najwyższy poziom selenu stwierdzono w mięśniu nadgrzebieniowym, a mniejszy i statystycznie istotny ($p \leq 0,01$) w mięśniach: najdłuższym i półbłoniastym. Należy podkreślić, że większą zawartość selenu wykazano w mięśniu nadgrzebieniowym zwierząt młodych. Nie stwierdzono różnic pod względem zawartości selenu w mięśniach: najdłuższym i półbłoniastym (tab. 3). Podobnie, w badaniach nad wpływem różnych form selenu na jego retencję w tkankach jagniąt, nie wykazano różnic zawartości tegoż pierwiastka pomiędzy mięśniami najdłuższym i półbłoniastym [3].

Tabela 3. Zawartość selenu w wybranych mięśniach koni, w zależności od ich wieku i płci [mg/kg].

Table 3. Content of selenium in selected muscles of horses depending on their age and sex [mg/kg].

Rodzaj mięśnia Type of muscle	Razem Total ($\bar{x} \pm s / SD$)	Zwierzęta młode Young animals ($\bar{x} \pm s / SD$)		Zwierzęta stare Old animals ($\bar{x} \pm s / SD$)	
		♀	♂	♀	♂
Najdłuższy <i>Longissimus pars thoracis</i>	0,036 ^{aA} ± 0,0023	0,036 ^{aA} ± 0,0023	0,047 ^{aB} ± 0,0021	0,029 ^{aC} ± 0,0017	0,031 ^{aC} ± 0,0012
Nadgrzebieniowy <i>Supraspinatus</i>	0,044 ^{bA} ± 0,0051	0,048 ^{bA} ± 0,0051	0,056 ^{bB} ± 0,0043	0,033 ^{aC} ± 0,0039	0,034 ^{aC} ± 0,0045
Półbłoniasty <i>Semimembranosus</i>	0,037 ^{aA} ± 0,0023	0,038 ^{aA} ± 0,0034	0,049 ^{aB} ± 0,0067	0,031 ^{aC} ± 0,0053	0,033 ^{aC} ± 0,0079

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

W dostępnym piśmiennictwie brak jest danych na temat wpływu wieku i płci koni na zawartość selenu w mięśniach. W badaniach własnych wykazano, że najmniej selenu było w mięśniach zwierząt powyżej 10. roku życia (0,029 do 0,033 ppm). W tej grupie zwierząt nie wykazano istotnych ($p \leq 0,01$) różnic pomiędzy badanymi mięśniami. Nie wykazano również istotnego wpływu płci na poziom selenu w tej grupie zwierząt.

Zdecydowanie inaczej kształtowała się zawartość selenu w mięśniach zwierząt młodych, w wieku od 6 do 18 miesięcy. Wykazano istotne ($p \leq 0,01$) różnice w poziomie tego pierwiastka w zależności od rodzaju mięśnia i płci. Istotnie ($p \leq 0,01$) większą zawartością selenu cechował się mięsień nadgrzebieniowy (średnio 0,052 ppm) w porównaniu z mięśniem najdłuższym (średnio 0,042 ppm) i półbłoniastym (średnio 0,046 ppm). Nie wykazano istotnych ($p \leq 0,01$) różnic pod względem zawartości selenu pomiędzy mięśniem najdłuższym i półbłoniastym. W grupie zwierząt młodych wykazano także istotne ($p \leq 0,01$) różnice zawartości selenu w zależności od płci. Badania wykazały zarówno w ocenie ogólnej, jak i w każdym z badanych mięśni istotnie ($p \leq 0,01$) większą zawartość selenu u osobników męskich.

Wnioski

1. W tkankach koni rzeźnych występuje zróżnicowana zawartość selenu. Zróżnicowanie to dotyczy zarówno narządów wewnętrznych, jak i mięśni.
2. Wiek i płeć w ograniczonym stopniu wpływają na retencję selenu w mięsie koni. W mięśniach i nerkach zwierząt młodych zawartość tego pierwiastka jest większa.
3. W nerkach młodych kłaczy stwierdzono najwyższy poziom selenu. Natomiast w mięśniach młodych samców stwierdzono większą zawartość selenu w porównaniu z mięśniami samic.

Literatura

- [1] Albert M., Demesmay C., Rocca J.L.: Analysis of organic and non-organic arsenious or selenious compounds by capillary electrophoresis. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1995, **351**, 426.
- [2] Bednarek B.: Rola selenu w procesach odpornościowych u zwierząt. *Nowa Weterynaria*, 1999, **13**, 18-21.
- [3] Chałabis-Mazurek A., Wałkuska G.: Wpływ różnych form selenu na jego retencję w wybranych tkankach jagniąt. *Med. Weter.*, 2008, **64 (11)**, 1324-1326.
- [4] Daun Ch., Akesson B.: Glutathione peroxidase activity and content of total and soluble selenium in five bovine and porcine organs used in meat production. *Meat Sci.*, 2004, **66**, 801-807.
- [5] Dejenka W., Sworcak K., Obołończak Ł., Łukasiak J., Czarnobaj K.: Stężenie selenu w surowicy krwi u kobiet ze schorzeniami tarczycy. *Roczn. PZH* 2005, **56**, 77-81.
- [6] Fryer M.J.: Rationale for clinical trials of selenium as an antioxidant for the treatment of the cardiomyopathy of Friedreich's ataxia. *Med. Hyp.*, 2002, **58**, 127-132.
- [7] Furowicz A.J., Czernomysy-Furowicz D., Dąbrowski W.: Właściwości biologiczne selenu i witaminy E. *Cz. I. Selen*, *Med. Weter.*, 1993, **49**, 304-306.

- [8] Hardy G., Hardy I.: Selenium: the Se-XY nutraceutical. *Nutrition*, 2004, **20**, 590-593.
- [9] Holben D.H., Smith A.M.: The diverse role of selenium within selenoproteins: a review. *J. Am. Diet. Assoc.*, 1999, **99**, 836-843.
- [10] Hordyjewska A., Pasternak K.: Selen i jego rola w organizmie człowieka. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2004, **37**, 9-18.
- [11] Kuczyńska J., Biziuk M.: Biogeochemia selenu i jego monitoring w materiałach biologicznych pochodzenia ludzkiego. *Ecol. Chem. Engin.*, 2007, **14**, 47-65.
- [12] Marzec Z., Marzec A., Zaręba S.: Mięso i jego przetwory jako źródło selenu w całodobowych racjach pokarmowych. *Med. Weter.*, 2002, **58 (9)**, 705-707.
- [13] Masłowska J., Janiak J.: Badanie poziomu selenu w drożdżach selenowych, surowcach stosowanych do ich produkcji oraz odpadach poprodukcyjnych. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 1991, **24**, 221-226.
- [14] Oh S., Sunde R., Pope A., Hoekstra W.: Glutathione peroxidase response to selenium intake in lambs fed a tourlabased, artificial milk. *J. Anim. Sci.*, 1976, **42**, 977-983.
- [15] Patelski P., Dziekońska U.: Wpływ selenianu(IV) sodu na wzrost i aktywność fermentacyjną drożdży piekarskich. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **3 (82)**, 132-142.
- [16] Pezzarossa B., Petruzzelli G., Malorgio F., Ferri T.: Absorption of selenium by *Lactuca sativa* as affected by carboxymethylcellulose. *Chemosphere*, 2007, **67**, 322-329.
- [17] Rosłowska-Huszcz D.: Selen a metabolizm hormonów tarczycy. *Żyw. Człow. Metab.*, 1999, **24**, 264-272.
- [18] Smrkolj P., Pograjc L., Hlastan-Ribić C., Stibilj V.: Selenium content in selected Slovenian food-stuffs and estimated daily intakes of selenium. *Food Chem.* 2005, **90**, 691-697.
- [19] Umińska R.: Selen w środowisku człowieka. *Roczn. PZH*, 1990, **41**, 25-33.
- [20] Woźniak J.: Selen – pierwiastek życia. *Farm. Pol.*, 1997, **53**, 546-548.
- [21] Zawierta J., Wieczorek P., Machaliński B.: Selen pierwiastek niezbędny i toksyczny. *Biul. Magnezol.*, 1997, **2**, 130-138.

CONTENT OF SELENIUM IN MUSCLES AND INTERNAL ORGANS OF SLAUGHTER HORSES DEPENDING ON THEIR AGE AND SEX

Summary

The objective of the study was to determine the content of selenium in selected tissues of slaughter horses and to define its variability depending on the age and sex of the animals.

The research material consisted of three muscles and internal organs (kidneys, lungs, and liver) from 117 carcasses of slaughter horses classified into the second quality class. The experimental material selected comprised animals of two sexes and of two age groups: a group of young horses (6 to 18 month old) and a group of old horses (aged between 10 and 13 years). The samples taken were initially prepared and, next, mineralized. The content of selenium in the mineralisates produced was determined using an atomic absorption spectrometer with inductively coupled electro-thermal and deuterium background correction (Zeeman, Varian Spectra 220Z).

Significant differences in the contents of selenium were proved to exist among all the tissues tested. The highest content of selenium was found in the kidneys (0.487 ppm), a significantly lower content of that element was determined in the liver (0.177 ppm), and even lower in the lungs (0.062 ppm). The muscle tissue contained the lowest amount of selenium (0.039 ppm). When considering the age of the horses, a statistically significantly ($p \leq 0.01$) higher amount of selenium was found in the kidneys and muscles of the young animals. The sex had a minor effect on the content of selenium both in the internal organs and in the muscles. The statistically significant ($p \leq 0.01$) differences were found only in the kidneys.

Of the three examined muscles, the highest levels of selenium were determined in the *supraspinatus* muscle, a bit lower but statistically significant ($p \leq 0.01$) amounts in the *longissimus* and *semimembranosus* muscles. Those differences were found only in the muscles of the young animals. Furthermore, in that group, significant ($p \leq 0.01$) differences were found in the content of selenium depending on the type of muscle and sex of the animals. The muscles of the animals aged more than 10 years contained the lowest level of selenium. In that group of animals, no significant ($p \leq 0.01$) differences were found among the muscles analyzed; no significant impact of the sex on the content of selenium was found either.

Key words: selenium, horse meat, muscles, liver, kidney, lungs ☒

ANDRZEJ TYBURCY, IWONA ŚCIBISZ, EWELINA ROSTEK,
ANNA PASIERBIEWICZ, TOMASZ FLOROWSKI

PRZECIWIUTLENIAJĄCE WŁAŚCIWOŚCI SOKÓW Z ŻURAWINY I Z RÓŻY W PRODUKTACH Z MIĘSA ROZMROŻONEGO

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu dodatku soku z żurawiny błotnej (*Oxycoccus palustris*) i z róży pomarszczonej (*Rosa rugosa*) oraz mieszaniny tych soków do burgerów wieprzowych – poddanych obróbce cieplnej, wychładzanych jedną dobę, pakowanych próżniowo i przechowywanych w temp. $3 \div 7$ °C przez 7 dób – na zachodzące w nich zmiany oksydacyjne. Do masy mięsnej dodano 5 % soku z żurawiny lub z róży (w stosunku do masy mięsa) lub 5 % mieszaniny (1 : 1) tych soków. Określono także wpływ dodatku takich samych soków do surowego farszu z mięsa wołowego – po przechowywaniu w temp. $4 - 6$ °C przez 3 lub 5 dób z równoczesnym naświetlaniem światłem fluorescencyjnym o natężeniu 600 lux – na parametry jego barwy. Badane produkty przygotowano z mięsa mielonego, zamrażalniczo składowanego nie dłużej niż 3 miesiące, a następnie rozmrożonego. W burgerach oznaczano m.in. wskaźnik TBARS, parametry barwy i pH. Wykazano, że sok z róży zawierał więcej kwasu L-askorbinowego (200-krotnie) i substancji polifenolowych (o 13 %) niż sok z żurawiny. Dlatego bardziej efektywnie wpływał na hamowanie procesu utleniania burgerów wieprzowych. Dodatek 5 % tego soku obniżał wskaźnik TBARS burgerów 9-krotnie w porównaniu z próbą kontrolną, natomiast analogiczny dodatek soku z żurawiny tylko 2 - 3-krotnie. Zaletą soku z róży była również mniejsza kwasowość niż soku z żurawiny, dzięki czemu nie wpływał on istotnie na obniżenie wydajności burgerów po obróbce cieplnej ($84,2 \pm 1,0$ % w porównaniu z $87,2 \pm 1,9$ % w próbie kontrolnej). Sok ten wpływał jednak na pociemnienie barwy burgerów. Sok z róży był słabszym stabilizatorem barwy farszu wołowego niż sok z żurawiny. Stwierdzono, że mechanizm stabilizacji barwy mięsa przez sok z żurawiny jest złożony, wykraczający poza jego działanie przeciwutleniające.

Słowa kluczowe: sok z róży, sok z żurawiny, burgery wieprzowe, farsz wołowy, parametry barwy, wskaźnik TBARS

*Dr hab. inż. A. Tyburcy, dr inż. I. Ścibisz, mgr inż. E. Rostek, mgr inż. A. Pasierbiewicz, dr inż. T. Florowski, Katedra Technologii Żywności, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa.
Kontakt: andrzej_tyburcy@sggw.pl*

Wprowadzenie

Dodatek ekstraktów roślinnych zawierających związki przeciwutleniające do produktów mięsnych może być wykorzystany w celu zahamowania niekorzystnych zmian przechowalniczych lipidów i barwników mięśniowych. Bogatym źródłem naturalnych przeciwutleniaczy są m.in. żurawina i pseudoowoce róży. W owocach żurawiny występują związki polifenolowe: antocyjany, flawonole, kwasy fenolowe i proantocyjandyny [10]. Pseudoowoce róży obok związków polifenolowych zawierają również znaczne ilości (nawet od 840 do 3500 mg/100 g) witaminy C [6]. Ekstrakty pochodzące z obu roślin próbowano stosować jako przeciwutleniacze w produktach mięsnych [9, 15, 23]. Ekstrakt etanolowy z wycieków żurawinowych dodawano do mięsa uzyskanego mechanicznie z indyka [15], ekstrakt etanolowy z dzikiej róży (*Rosa canina*) – do kotlecików wieprzowych [9], a ekstrakt wodny z dzikiej róży (*Rosa canina*) do parówek wieprzowych niezawierających azotanu(III) [23]. Dodatek soku z żurawiny (*Vaccinium macrocarpon*) na poziomie 4,4 % do surowego farszu z mięsa wołowego zwiększał stabilność jego barwy podczas naświetlania i przechowywania chłodniczego [22]. Dotychczas nie porównywano jednak efektywności przeciwutleniającego oddziaływania soków pochodzących z żurawiny błotnej (*Oxycoccus palustris*) i róży pomarszczonej (*Rosa rugosa*) w produktach mięsnych. Nie stosowano również ich łącznego dodatku. Interesujące było także sprawdzenie oddziaływania dodatku tych soków na stabilność przechowalniczą barwy surowego produktu garmażeryjnego wytworzonego z mielonego mięsa wołowego (ang. *meat preparation* – rozdrobnione surowe mięso z dodatkami).

Celem pracy było określenie: wpływu dodatku soku z żurawiny błotnej (*Oxycoccus palustris*) lub z róży pomarszczonej (*Rosa rugosa*) oraz mieszaniny tych soków do burgerów przygotowanych z rozmrożonego mięsa wieprzowego na zachodzące w nich zmiany oksydacyjne oraz wpływu dodatku takich samych soków na parametry barwy surowego farszu z mrożonego mięsa wołowego, przechowywanego w warunkach chłodniczych z dostępem światła fluorescencyjnego o natężeniu 600 lux.

Material i metody badań

Doświadczenie technologiczne

W doświadczeniach użyto pasteryzowanych soków z róży pomarszczonej (*Rosa rugosa*) i żurawiny błotnej (*Oxycoccus palustris*), firmy Polska Róża. Według deklaracji producenta nie zawierały one żadnych dodatków. Po otwarciu opakowania soki mogły być przechowywane tylko kilka dni w warunkach chłodniczych. Z tego względu rozlano je do słoików i zamrożono w porcjach po około 100 cm³. Surowcem mięsnym były: karkówka wieprzowa (doświadczenie 1) oraz drobne mięso wołowe (doświadczenie 2). Mięso zakupiono w handlu detalicznym. Partię karkówki wieprzowej o ma-

sie około 3 kg rozdrabniano w wilku z siatką o otworach oczek 4,5 mm. Rozdrobnione mięso mieszano 3 min i pakowano próżniowo w porcjach po 1 kg. Mięso zamrażano i przechowywano (-18 °C) nie dłużej niż przez 3 miesiące. W drugim doświadczeniu użyto drobnego mięsa wołowego (3 kg) klasy 90/10, tj. zawierającego około 10 % tłuszczu. Mięso to rozdrabniano, następnie pakowano próżniowo w porcje po około 1 kg i zamrażano w identycznych warunkach jak mięso wieprzowe. Użycie mięsa wołowego było uzasadnione tym, że zmiany barwy tego gatunku mięsa podczas przechowywania są bardziej wyraźne niż mięsa wieprzowego [1].

Doświadczenie 1

Zapakowane próżniowo porcje rozdrobnionej wieprzowiny rozmrażano przez około 0,5 h w strumieniu wody wodociągowej, a porcję soku w temp. 3 - 7 °C przez 16 h. Wytwarzano cztery warianty farszów (w trzech powtórzeniach doświadczenia) przeznaczonych do produkcji burgerów: 1 – kontrolny (mięso z dodatkiem 10 % wody), 2 – mięso z dodatkiem 5 % soku z żurawiny i 5 % wody, 3 – mięso z dodatkiem 5 % soku z róży i 5 % wody i 4 – mięso z dodatkiem po 2,5 % obu soków i 5 % wody. Ilość składników suchej masy wprowadzanych do burgerów z sokiem żurawinowym była kilkakrotnie mniejsza niż dodawana przez Wu i wsp. [25]. Cytowani autorzy stwierdzili, że dodatek 2,5 - 5 % koncentratu soku żurawinowego (*Vaccinium macrocarpon*) o zawartości około 50 % s.m. [7] nie wpłynął istotnie na wygląd, smak i zapach pieczonych burgerów wołowych.

Masa mięsa użyta do przygotowania próbek burgerów w każdym wariantcie doświadczenia wynosiła 200 g. Do każdego farszu dodawano 1 % NaCl (bez dodatku związków jodu). Sól rozpuszczano w wodzie lub mieszaninie soków z wodą, a następnie mieszano z farszem w mieszarce Kenwood przez 5 min. Z każdego wariantu farszu, na płytkach Petriego wyłożonych folią aluminiową, formowano dwa burgery o masie 90 g. Burgery owinięte folią aluminiową pieczono w dwóch turach (po jednym burgerze z poszczególnych wariantów w każdej) w piekarniku w temp. 180 °C przez 25 min do osiągnięcia w centrum geometrycznym wyrobu temp. $88,5 \pm 1,4$ °C. Następnie burgery chłodzono przez 1 dobę w temp. 4 - 6 °C. Po tym czasie określano ich wydajność (stosunek masy po 1 dobie składowania do masy początkowej). Następnie w jednym burgerze z każdego wariantu (i każdego powtórzenia doświadczenia) oznaczano parametry fizykochemiczne. Pozostałe burgery pakowano próżniowo i przechowywano kolejne 7 dób w chłodziarce w temp. 3 - 7 °C. Po tym czasie (łącznie 8 dób przechowywania – 1 doba bez opakowania i 7 w opakowaniu próżniowym) oznaczano w nich wskaźnik TBARS.

Doświadczenie 2

Mięso wołowe i porcje soków rozmrażano w warunkach identycznych jak w doświadczeniu 1. Z mięsa wołowego wytwarzano cztery warianty farszu (w trzech powtórzeniach doświadczenia) o składzie analogicznym jak w doświadczeniu 1. Farszami napełniano płytki Petriego (50 g farszu na jednej płytce, dwie płytki z każdego wariantu farszu) i mierzono parametry barwy w pięciu punktach na powierzchni każdej próbki. Następnie płytki owijano folią z PCV (Stella pack) o wysokiej przepuszczalności tlenu ($24600 \text{ cm}^3/\text{m}^2/24\text{h}$). Pomiędzy folią a powierzchnią farszu pozostawała wolna przestrzeń, co sprzyjało utlenianiu mioglobiny podczas przechowywania. Płytki z farszami umieszczano w chłodni w temp. $4 - 6 \text{ }^\circ\text{C}$ i naświetlano światłem fluorescencyjnym o natężeniu 600 lux przez 3 lub 5 dób.

Metody badań

W sokach po rozmrożeniu oznaczano zawartość ekstraktu przy użyciu refraktometru Abbego, kwasowość ogólną metodą potencjometryczną i pH [8]. Pomiaru barwy dokonywano w systemie CIE $L^*a^*b^*$ (L^* – jasność, a^* , b^* – wartości dodatnie odpowiadają odpowiednio barwie czerwonej i żółtej) przy użyciu kolorymetru Konica Minolta CM-3600d. Pomiar wykonywano w świetle przechodzącym, umieszczając badany sok w kuwetach szklanych o grubości 2 mm, przy źródle światła D65 i ustawieniu obserwatora pod kątem 10° .

Zawartość kwasu L-askorbinowego oraz antocyjanów w sokach oznaczano metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej za pomocą zestawu chromatograficznego firmy Shimadzu, wyposażonego w detektor UV-VIS, piec, degazer (odpowietrzacz) oraz autosampler (automatyczny podajnik próbek) współpracujący z programem gromadzenia danych LCsolution. Do oznaczenia antocyjanów stosowano kolumnę Luna C18 ($250 \text{ mm} \times 4,6 \text{ mm}$; $5 \text{ }\mu\text{m}$). Fazę ruchomą stanowiły: woda/kwas mrówkowy (90 : 10, v/v) – odczynnik A oraz mieszanina acetonitrylu/kwasu mrówkowego (90 : 10, v/v) – odczynnik B. Analizę wykonywano metodą gradientową (1 min 6 % B, 7 min 10 % B, 14 min 30 % B, 15 min 6 % B, 25 min 6 % B) przy długości fali $\lambda = 520 \text{ nm}$. Do oznaczenia zawartości kwasu L-askorbinowego stosowano kolumnę Cosmosil 5C18-PAQ ($4,6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$). Fazę ruchomą stanowił roztwór kwasu fosforowego o stężeniu $20 \text{ mmol}/\text{dm}^3$. Analizę chromatograficzną prowadzono w temp. $30 \text{ }^\circ\text{C}$, przy $\lambda = 245 \text{ nm}$. Ogólną zawartość związków polifenolowych w sokach oznaczano przy użyciu odczynnika Folina-Ciocalteu'a [14, 19]. Absorbancję mierzono spektrofotometrycznie przy $\lambda = 765 \text{ nm}$ po 1 h od dodania odczynnika. Wynik wyrażano w przeliczeniu na kwas galusowy [mg kwasu galusowego/ 100 cm^3 badanego soku]. Ze względu na dużą zawartość kwasu askorbinowego w soku z róży, podczas oznaczania w nim związków polifenolowych odejmowano od ogólnego odczytu wartość absorbancji, którą uzyskiwano w wyniku reakcji tego kwasu z odczynnikiem Folina-

Ciocalteu'a, przy stężeniu odpowiadającym jego zawartości w soku, określonej wcześniej metodą chromatograficzną. Analizy przeprowadzono w trzech równoległych powtórzeniach.

W burgerach poddanych obróbce cieplnej, a następnie wychłodzonych oznaczano: zawartość wody – metodą suszenia próbki wymieszanej z piaskiem w temp. 105 °C przez 3 h, zawartość tłuszczu – metodą Soxhleta na podstawie ubytku masy wysuszonej próbki po ekstrakcji eterem naftowym [16]), parametry barwy (L^* , a^* , b^*) – przy użyciu kolorymetru Minolta CR-200 oraz kwasowość czynną i wskaźnik TBARS. Kwasowość czynną mierzono przy użyciu pH-metru po zmieszaniu 10 g rozdrobnionego burgera z 30 g wody. Wskaźnik TBARS oznaczano zmodyfikowaną metodą Shahidi [18] – próbkę 2 g rozdrobnionego burgera mieszano przez 2 min szklaną bagietką w probówce wirówkowej z 5 cm³ 10-procentowego roztworu kwasu trichlorooctowego. Następnie dodawano 5 cm³ 0,02-molowego roztworu kwasu 2-tiobarbiturowego i wytrząsano probówkę przez 2 min. Zawiesinę wirowano przy przyspieszeniu 1717 g i sączono do szklanych probówek. Zamknięte probówki przetrzymywano bez dostępu światła przez 24 h w temp. 20 ± 2 °C. Absorbancję roztworów mierzono przy $\lambda = 532$ nm. Zawartość aldehydu malonowego (MDA) obliczano na podstawie krzywej wzorcowej wykonanej przy użyciu 1,1,3,3-tetrametoksypropanu. Na podstawie eksperymentu wstępnego ustalono, że żaden z użytych soków dodany w ilości 5 % masy naważki pobranej z wariantu kontrolnego burgerów nie wpłynął na wartość absorbancji przy oznaczaniu wskaźnika TBARS. Zawartość wody i tłuszczu oraz wskaźnik TBARS oznaczano w dwóch próbkach, pH – w jednej próbce, a parametry barwy – w trzech punktach na przekroju każdego burgera.

W celu scharakteryzowania rozmrożonego mięsa wołowego oznaczano w nim zawartość wody i tłuszczu (w dwóch próbkach). W poszczególnych wariantach farszu oznaczano kwasowość czynną. Jedną z płytek zawierających poszczególne warianty farszu wykorzystywano do oznaczeń parametrów barwy po trzech dobach, a drugą – po pięciu. Podobny czas przechowywania w warunkach chłodniczych rozdrobnionego mięsa z dodatkiem substancji przeciwutleniających (5 - 6 dób) zastosowali w swoich doświadczeniach również inni autorzy [3, 11]. Z pięciu pomiarów wykonanych na każdej próbce farszu obliczano wartość średnią poszczególnych parametrów barwy oraz całkowitą zmianę barwy (ΔE) po upływie 3 lub 5 dób przechowywania, w stosunku do barwy początkowej [22]. Po 3 i 5 dobach przechowywania dokonano także semikonsumenckiej oceny barwy farszów. Wykonano łącznie 15 ocen każdego wariantu farszu (po 5 w każdym z trzech powtórzeń doświadczenia) przy zmiennym składzie zespołu oceniającego, który tworzyli studenci i pracownicy związani z nauką o żywności. Przed oceną byli oni informowani o celu i zakresie doświadczenia. Oceniano barwę w skali od 1 – barwa najbardziej odpowiadająca oczekiwaniom w stosunku do

świeżego mięsa, do 5 – barwa najbardziej zmieniona i odbiegająca od barwy świeżego mięsa.

Analiza statystyczna

W przypadku zmiennych o większej liczności wyników w poszczególnych grupach, tj. wydajności ($n = 6$), parametrów barwy przed przechowywaniem ($n = 6$) i oceny barwy ($n = 15$), przeprowadzono badanie normalności rozkładu za pomocą testu Shapiro-Wilka (program Statistica 10 PL) i jednorodności wariancji przy użyciu testów Cochra i Barletta (program Statgraphics Plus 4.1). Liczba n odnosząca się do wydajności wynikała z tego, że burgery w każdym powtórzeniu doświadczenia 1. pieczono w dwóch turach, a każdy burger potraktowano jako jednostkę statystyczną. W przypadku parametrów barwy przed przechowywaniem jako jednostkę statystyczną przyjęto porcję farszu na jednej płycie. W przypadku spełnienia założeń o normalności rozkładu i jednorodności wariancji zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji i test Tukeya HSD. Przy stwierdzeniu braku zgodności z rozkładem normalnym posłużono się nieparametrycznym testem Kruskala-Wallisa (program Statgraphics Plus 4.1). W przypadku pozostałych zmiennych, gdy $n = 3$, obliczono tylko wartości średnie i odchylenia standardowe.

Wyniki i dyskusja

Charakterystyka soków

Soki z żurawiny i z róży różniły się pod względem barwy, kwasowości i składu chemicznego (tab. 1). Sok z róży charakteryzował się większą jasnością barwy L^* , mniejszą wartością parametru a^* oraz większą wartością parametru b^* niż sok z żurawiny. Na barwę owoców róży (*Rosa rugosa*) wpływają głównie likopen i β -karoten, a w mniejszym stopniu ksantofile [5, 17]. Barwę soku z żurawiny kształtują głównie antocyjany. Ich ilość oraz wzajemne proporcje oznaczone w badaniach własnych były zbliżone do określonych przez Bazinet i wsp. [4] w 100-procentowym pasteryzowanym soku z żurawiny. Sok z żurawiny charakteryzował się większą kwasowością miareczkową niż sok z róży. Kwasowość czynna (pH) soku z żurawiny była zbliżona do wartości 2,6, oznaczonej przez Bazinet i wsp. [4].

Większa zawartość ekstraktu w soku z róży wynikała prawdopodobnie z większej zawartości cukrów. Mikulic-Petkovsek i wsp. [13] stwierdzili, że pseudoowoce *Rosa canina*, przy podobnej zawartości sacharozy, zawierały więcej glukozy i fruktozy niż owoce żurawiny wielkoowocowej. Zawartość kwasu L-askorbinowego była prawie 200-krotnie większa w soku z róży niż w soku z żurawiny. Według Babis i Kucharskiej [2] zawartość kwasu L-askorbinowego w owocach *Rosa rugosa* może wynosić nawet 444 mg/100 g ś.m., podczas gdy w owocach żurawiny błotnej tylko 19 mg/100 g ś.m. [10].

Tabela 1. Wybrane cechy fizykochemiczne soków.
Table 1. Selected physical and chemical properties of juices.

Badana cecha Analyzed feature		Sok z żurawiny Cranberry juice	Sok z róży Rose juice
Zawartość ekstraktu [°Brix] Content of Soluble Solids [°Brix]		8,9 ± 0,8	16,2 ± 0,9
Kwasowość miareczkowa [g kwasu cytrynowego/100 cm ³] Titrable acidity [g of citric acid/100 cm ³]		2,0 ± 0,2	1,1 ± 0,2
pH		3,82 ± 0,2	2,49 ± 0,2
Parametry barwy Colour parameters	L*	47,63 ± 0,6	76,50 ± 1,4
	a*	54,46 ± 1,2	10,54 ± 2,2
	b*	22,01 ± 0,9	58,39 ± 2,7
Zawartość antocyjanów [mg cyjanidyno-3- glukozydu/100 cm ³] Content of individual anthocyanins [mg cya- nidin-3-glucoside /100 cm ³]	cyjanidyno-3-galaktozyd cyanidin-3-galactoside	4,1 ± 0,5	Nie oznaczano Not determined
	cyjanidyno-3-glukozyd cyanidin-3-glucoside	0,55 ± 0,1	
	cyjanidyno-3-arabinozyd cyanidin-3-arabinose	2,31 ± 0,4	
	peonidyno-3-galaktozyd peonidin-3-galactoside	6,05 ± 0,7	
	peonidyno-3-glukozyd peonidin-3-glucoside	0,96 ± 0,1	
	peonidyno-3-arabinozyd peonidin-3- arabinose	2,03 ± 0,4	
Zawartość kwasu L-askorbinowego [mg/100 cm ³] Content of L-ascorbic acid [mg/100 cm ³]		1,3 ± 0,8	259,2 ± 1,9
Zawartość polifenoli ogółem [mg kwasu galusowego/100 cm ³] Total phenol content [mg of gallic acid /100 cm ³]		373,6 ± 2,8	423,7 ± 3,2

Objaśnienie: / Explanatory note:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values ± standard deviations.

Zawartość polifenoli ogółem w soku z róży była o około 13 % większa niż w soku z żurawiny. Podobną tendencję obserwowali również Mikulic-Petkovsek i wsp. [13], którzy w owocach dzikiej róży (*Rosa canina*) oznaczyli związki polifenolowe w ilości 477,3 mg/100 g ś.m., a w owocach żurawiny wielkoowocowej – 452,2 mg/100 g ś.m. Witkowska i Zujko [24] oznaczyły 322 mg/100 g ś.m. tych związków w owocach żurawiny błotnej.

Doświadczenie 1

W burgerach z dodatkiem soku z żurawiny lub mieszanki obu soków obserwowano większy wzrost kwasowości (zmniejszenie wartości pH) w porównaniu z próbą kontrolną (bez dodatku soków) niż w przypadku dodatku samego soku z róży (tab. 2). Wzrost kwasowości burgerów wpływał na zmniejszenie zdolności białek mięśniowych do utrzymywania wody, co powodowało zmniejszenie wydajności i zawartości wody w produkcie oraz zwiększenie zawartości tłuszczu. W wariantach burgerów z dodatkiem soku z żurawiny i mieszanki (1 : 1) obu soków wydajność była istotnie ($p < 0,05$) mniejsza niż w próbie kontrolnej (tab. 2).

Tabela 2. Wybrane cechy burgerów wieprzowych z dodatkiem soków z żurawiny i z róży.

Table 2. Selected properties of pork burgers with cranberry and rose juices added.

Cecha / Feature	K	Ż	R	RŻ
pH	6,56 ± 0,06	6,29 ± 0,07	6,40 ± 0,07	6,36 ± 0,09
Wydajność / Yield [%]	87,2 ^a ± 1,9	78,6 ^b ± 2,5	84,2 ^a ± 1,0	80,3 ^b ± 2,7
Woda / Moisture [%]	66,8 ± 0,6	64,0 ± 1,6	65,5 ± 0,6	64,5 ± 0,8
Tłuszcz / Fat [%]	12,1 ± 0,4	13,1 ± 1,7	12,5 ± 1,3	12,9 ± 1,2
Jasność barwy L* / L* colour lightness	61,6 ± 1,2	62,5 ± 1,2	59,0 ± 1,6	60,2 ± 0,8
Parametr a* barwy / a* colour value	10,9 ± 2,5	9,8 ± 0,7	8,6 ± 0,6	8,2 ± 0,3
Parametr b* barwy / b* colour value	8,6 ± 0,9	8,5 ± 0,5	8,2 ± 0,6	7,9 ± 0,3
Wskaźnik TBARS po 1 dobie [mg MDA*/kg produktu] TBARS level after 1 day [mg MDA*/kg of product]	4,87 ± 0,74	1,44 ± 0,15	0,51 ± 0,16	0,44 ± 0,07
Wskaźnik TBARS po 8 dobach [mg MDA*/kg produktu] TBARS level after 8 days [mg MDA*/kg of product]	3,51 ± 0,84	1,47 ± 0,30	0,40 ± 0,01	0,61 ± 0,14

Objaśnienia: / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values ± standard deviations; n = 3 z wyjątkiem wydajności, gdzie n = 6 / n = 3 except for yield, where n = 6).

Warianty burgerów: / Burger formulation: K – kontrolny / control; Ż – z sokiem z żurawiny (5 %) / with cranberry juice (5 %); R – z sokiem z róży (5 %) / with rose juice (5 %); RŻ – z mieszaniną soków z żurawiny (2,5 %) i z róży (2,5 %) / with mixture of cranberry (2.5 %) and rose (2.5 %) juices;

*MDA – aldehyd malonowy / malon aldehyde.

a, b – wartości średnie wydajności oznaczone tą samą literą wskazują na grupy homogenne wyznaczone za pomocą analizy wariancji (ANOVA) i testu Tukeya HSD ($p > 0,05$) / – mean values of yield denoted by the same letter indicate homogeneous groups separated by analysis of variance (ANOVA) and Tukey's HSD test ($p > 0.05$).

Barwa burgerów z dodatkiem soku z róży charakteryzowała się mniejszą jasnością i wartością parametru a^* niż barwa próby kontrolnej (tab. 2). Prawdopodobnie było to wynikiem reakcji nieenzymatycznego brunatnienia, które mogły zachodzić w obecności cukrów redukujących zawartych w soku z róży. Mikulic-Petkovsek i wsp. [13] stwierdzili, że ich zawartość jest większa w owocach dzikiej róży niż w owocach żurawiny.

Zarówno po 1 jak i po 8 dobach przechowywania wartość wskaźnika TBARS burgerów była wyraźnie mniejsza w przypadku produktów zawierających soki niż w wariancie kontrolnym (w przypadku burgerów z dodatkiem 5 % soku z żurawiny lub 5 % soku z róży, odpowiednio: około 2-3-krotnie lub 9-krotnie) – tab. 2. Sok z róży charakteryzował się większą efektywnością przeciwutleniającą w porównaniu z sokiem z żurawiny, co związane było prawdopodobnie z silnym zróżnicowaniem zawartości kwasu L-askorbinowego w porównywanych sokach. Sok z róży zawierał ponadto więcej związków polifenolowych (tab. 1). Zastosowanie mieszaniny (1 : 1) obu soków powodowało obniżenie wartości TBARS burgerów do podobnego poziomu ($0,44 \pm 0,61$ mg/kg) jak dodatek samego soku z róży ($0,40 \pm 0,51$ mg/kg).

Wartość wskaźnika TBARS burgerów wariantu kontrolnego była wyraźnie mniejsza po 8 dobach przechowywania niż po 1 dobie (tab. 2). Prawdopodobnie wynikało to z wpływu pakowania próżniowego. Podczas redukcji ciśnienia mogła nastąpić desorpcja z produktu lotnych produktów oksydacji, co powodowało zmniejszenie wartości TBARS. Kwas 2-tiobarbiturowy reaguje m.in. z tworzącymi się w wyniku oksydacji lipidów 2,4-heksadienem i 2,4-heptadienem [21]. Są to związki lotne. Oznaczano je w fazie nadpowierzchniowej próbki po inkubacji w temp. 40 °C [12].

Doświadczenie 2

Wołowina użyta w doświadczeniu zawierała średnio $69,5 \pm 2,2$ % wody i $10,3 \pm 1,2$ % tłuszczu. Dodatek soków nie wpłynął istotnie ($p > 0,05$) na parametry barwy farszów przed przechowywaniem (tab. 3). Soki charakteryzowały się intensywnym zabarwieniem, ale ich dodatek w stosunku do mięsa był niewielki. Ponadto Xi i wsp. [26] zwrócili uwagę, że barwniki antocyjanowe obecne w żurawinie, które w kwaśnym środowisku mają wyraźne czerwone zabarwienie, mogą przy przesunięciu pH w kierunku wyższych wartości (co miało miejsce po zmieszaniu soku z mięsem) ulegać odbarwieniu. Zatem na barwę farszu wpływała przede wszystkim zawarta w mięsie mioglobina.

Uważa się, że mechanizm zmiany barwy surowego rozdrobnionego mięsa polega m.in. na utlenianiu żelaza hemowego (ze stopnia utlenienia Fe^{2+} do stopnia Fe^{3+}) przy udziale produktów utlenienia lipidów. Następuje przy tym przemiana jasnoczerwonej oksymoglobiny do brązowej metmioglobiny [9]. Zjawisku temu towarzyszy obniżanie parametru a^* barwy. Substancje o działaniu przeciwutleniającym hamują ten proces

[11]. Po 3 i 5 dobach przechowywania zaobserwowano tendencję do większej wartości parametru a^* farszów z dodatkiem soków (tab. 4) w porównaniu z próbkami kontrolnymi. Po obu okresach przechowywania największą średnią wartością tego parametru charakteryzowały się próby z dodatkiem 5 % soku z żurawiny.

Tabela 3. Parametry barwy i kwasowość czynna (pH) farszów wołowych z dodatkiem soków z żurawiny i z róży, przed przechowywaniem.

Table 3. Colour parameters and active acidity (pH) of beef stuffing with cranberry and rose juices added, prior to storage.

Wariant Formulation	L* (n = 6)	a* (n = 6)	b* (n = 6)	pH (n = 3)
K	42,1 ^A ± 2,3	29,0 ^a ± 3,1	5,7 ^a ± 0,9	5,78 ± 0,02
Ż	43,6 ^A ± 2,5	27,0 ^a ± 2,9	5,5 ^a ± 0,9	5,53 ± 0,02
R	42,7 ^A ± 2,3	25,9 ^a ± 2,1	5,2 ^a ± 1,4	5,69 ± 0,04
RŻ	42,8 ^A ± 3,5	25,0 ^a ± 3,4	5,2 ^a ± 1,3	5,61 ± 0,06

Objaśnienia: / Explanatory notes:

a, A – wartości średnie oznaczone tą samą literą w tej samej kolumnie wskazują na grupy homogenne wyznaczone za pomocą analizy wariancji (ANOVA) i testu Tukeya HSD lub testu Kruskala-Wallisa, odpowiednio duża lub mała litera ($p > 0,05$) / mean values in the same column and denoted by the same letter indicate homogeneous groups separated by analysis of variance (ANOVA) and Tukey's HSD test or Kruskal-Wallis test, capital or small letter, respectively ($p > 0.05$)

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

Stabilizującego wpływu soków na barwę farszów dowodziła całkowita zmiana barwy (ΔE), która w przypadku prób z ich dodatkiem była około 2-krotnie mniejsza niż w przypadku wariantu kontrolnego zarówno po 3, jak i po 5 dobach przechowywania. Hamowanie zmian barwy farszów przez dodatek soków zostało również potwierdzone w ocenie semikonsumenckiej. Oceniający zaobserwowali, że największą efektywnością pod tym względem, zarówno po 3, jak i 5 dobach przechowywania, charakteryzował się sok z żurawiny dodany w ilości 5 % (tab. 4).

Sok z róży, który efektywniej zmniejszał wartość wskaźnika TBARS w burgerach wieprzowych (doświadczenie 1), okazał się słabszym stabilizatorem barwy surowego farszu wołowego niż sok z żurawiny. Mogło to wynikać ze składu obu dodatków. W soku z żurawiny, oprócz substancji przeciwutleniających, zawarte są składniki mające działanie przeciwbakteryjne, np. kwasy organiczne (w tym benzoesowy), myrcetyna, kwercetyna i procyjanidyny [20]. Ponadto 5-procentowy dodatek soku z żurawiny najsilniej zwiększał kwasowość farszu w porównaniu z próbkami kontrolnymi (zmniejszał wartość pH o 0,25 jednostki – tab. 3). Mikroorganizmy mogą zużywać tlen i wpływać na jego stężenie w powierzchniowych warstwach mięsa oraz wytwarzać

metabolity łączące się z grupą hemową mioglobiny. Wpływają więc na zmiany barwy mięsa [3].

Tabela 4. Parametr barwy a*, całkowita zmiana barwy (ΔE) i ocena barwy po 3 i 5 dobach przechowywania farszów wołowych z dodatkiem soków z żurawiny i z róży.

Table 4. a* colour parameter, total change in colour (ΔE), and discoloration score after 3 and 5 days of storing beef stuffing, with cranberry and rose juice added.

Wariant Formulation	Po 3 dobach / After 3 days			Po 5 dobach / After 5 days		
	a* colour parameter (n = 3)	ΔE Total change in colour (n = 3)	Ocena barwy Discolour- ation score (n = 15)	a* colour pa- rameter (n = 3)	ΔE Total change in colour (n = 3)	Ocena barwy Discolouration score (n = 15)
K	18,9 ± 1,7	10,5 ± 1,8	3,9 ^a ± 0,5	13,2 ± 2,6	16,1 ± 3,0	4,7 ^a ± 0,4
Ż	22,8 ± 1,7	4,4 ± 1,9	1,7 ^c ± 0,7	18,9 ± 2,5	8,7 ± 2,2	1,7 ^c ± 0,6
R	21,1 ± 1,8	5,0 ± 0,9	2,9 ^b ± 0,8	17,4 ± 0,8	9,0 ± 1,4	3,0 ^b ± 0,9
RŻ	22,2 ± 0,8	4,0 ± 2,7	1,9 ^b ± 0,6	17,8 ± 1,0	8,3 ± 3,5	2,4 ^b ± 0,9

Objaśnienia: / Explanatory notes:

a, b, c – średnie oceny barwy w tej samej kolumnie oznaczone tą samą literą wskazują na grupy homogenne wyznaczone za pomocą testu Kruskala-Wallisa ($p > 0,05$) / mean discoloration scores thin the same column and denoted by the same letter indicate homogeneous groups separated by Kruskal-Wallis test ($p > 0.05$).

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

Wnioski

1. Dodatki soku z róży lub mieszaniny soku z róży i z żurawiny do burgerów wieprzowych wpływały na hamowanie w nich zmian oksydacyjnych bardziej efektywnie niż dodatek soku z żurawiny. Wynikało to z większej zawartości kwasu L-askorbinowego i związków polifenolowych w soku z róży.
2. Zaletą soku z róży jako dodatku do burgerów był brak wpływu na wydajność po obróbce cieplnej, natomiast wadą to, że powodował ciemnienie barwy wyrobów.
3. Sok z żurawiny uznano za lepszy stabilizator barwy surowego farszu z mięsa wołowego niż sok z róży. Wskazuje to, że mechanizm stabilizacji barwy w przypadku tego soku obejmuje nie tylko działanie przeciwutleniające.

Literatura

- [1] Antoniewski, M.N., Barringer, S.A., Knipe, C.L., Zerby, H.N.: Effect of a gelatin coating on the shelf life of fresh meat. *J. Food Sci.*, 2007, **72**, E382-E387.
- [2] Babis A., Kucharska A.Z.: Przydatność owoców *Rosa spinosissima* i *Rosa hybryda* do produkcji wysokowitaminowych soków mętnych. *Biul. Wydz. Farm. AMW*, 2004, **3**, 18-24.

- [3] Balentine C.W., Crandall P.G., O'Bryan C.A., Duong D.Q., Pohlman F.W.: The pre- and post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef. *Meat Sci.*, 2006, **73**, 413-421.
- [4] Bazinet L., Brianceau S., Dubé P., Desjardins Y.: Evolution of cranberry juice physico-chemical parameters during phenolic antioxidant enrichment by electro dialysis with filtration membrane. *Separation and Purification Technol.*, 2012, **87**, 31-39.
- [5] Bruun H.H.: *Rosa rugosa* Thunb. ex Murray. *J. Ecology*, 2005, **93**, 441-470.
- [6] Cendrowski A., Kalisz S., Mitek M.: Właściwości i zastosowanie owoców róży w przetwórstwie spożywczym. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **4 (83)**, 24-31.
- [7] Cranberry concentrate. [online]. Ocean Spray ITG. Dostęp w Internecie [9.08.2014]: www.oceansprayitg.com/products/cranberry-concentrate.aspx
- [8] Drzazga B.: Analiza techniczna w przetwórstwie owoców i warzyw, WSiP, Warszawa 1995.
- [9] Ganhão R., Morcuende D., Estévez M.: Protein oxidation in emulsified cooked burger patties with added fruit extracts: Influence on colour and texture deterioration during chill storage. *Meat Sci.*, 2010, **85**, 402-409.
- [10] Mazur B., Borowska E.J., Polak M.: Zawartość witaminy C i pojemność przeciwutleniająca owoców i przecierów z żurawiny błotnej i wielkoowocowej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, **2 (63)**, 130-137.
- [11] Mc Carthy T.L., Kerry J.P., Kerry J.F., Lynch P.B., Buckley D.J.: Assessment of the antioxidant potential of natural food and plant extracts in fresh and previously frozen pork patties. *Meat Sci.*, 2001, **57**, 177-184.
- [12] Mijasaki T., Hamaguchi M., Yokoyama S.: Change of volatile compounds in fresh fish meat during ice storage. *J. Food Sci.*, **76**, C1319-C1325.
- [13] Mikulic-Petkovsek M., Schmitzer V., Slatnar A., Stampar F., Veberic R.: Composition of sugars, organic acids and total phenolics in 25 wild or cultivated berry species. *J. Food Sci.*, 2012, **77**, C1064-C1070.
- [14] Peri C., Pompei C.: An assay of different phenolic fractions in wines. *Am. J. Enol. Vitic.*, 1971, **22 (2)**, 55-58.
- [15] Raghavan S., Richards M.P.: Comparison of solvent and microwave extracts of cranberry press cake on the inhibition of lipid oxidation in mechanically separated turkey. *Food Chem.*, 2007, **102**, 818-826.
- [16] Ratusz K.: Oznaczanie zawartości tłuszczu oraz liczb tłuszczowych w produktach spożywczych. W: *Analiza żywności*. Red. M. Klepacka. Wyd. SGGW, Warszawa 1996, ss. 51-59.
- [17] Razungles A., Oszmianski J., Sapis I.C.: Determination of carotenoids in fruits of *Rosa* sp. (*Rosa canina* and *Rosa rugosa*) and of chokeberry (*Aronia melanocarpa*). *J. Food Sci.*, 1989, **54**, 774-775.
- [18] Shahidi F.: The 2-thiobarbituric acid (TBA) methodology for the evaluation of warmed-over flavour and rancidity in meat products. 36th Int. Conf. Meat Sci. Technol., Havana, Cuba 1990, pp. 1008-1014.
- [19] Singleton V.L., Rossi J.A.: Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.*, 1965, **16**, 144-158.
- [20] Stobnicka A., Gniewosz M.: Możliwości wykorzystania właściwości żurawiny (*Oxycoccus*) we współczesnej medycynie. *Postępy Fitoterapii*, 2010, **3**, 170-175.
- [21] Sun Q., Faustman C., Senecal A., Wilkinson A.L., Furr H.: Aldehyde reactivity with 2-thiobarbituric acid TBARS in freeze-dried beef during accelerated storage. *Meat Sci.*, 2001, **57**, 55-60.
- [22] Tyburecy A., Krajewska S., Florowski T.: Antioxidant properties of various cranberry-derived ingredients in precooked and raw meat patties. *Fleischwirtschaft Int.*, 2013, **28 (3)**, 61-64.

- [23] Vossen E., Utrera M., De Smet S., Morcuende D., Estévez M.: Dog rose (*Rosa canina* L.) as functional ingredient in porcine frankfurters without added sodium ascorbate and sodium nitrite. *Meat Sci.*, 2012, **92**, 451-457.
- [24] Witkowska A., Zujko M.E.: Aktywność antyoksydacyjna owoców leśnych. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2009, **42** (3), 900-903.
- [25] Wu V.C.H, Qiu X., de los Reyes B., Lin C., Pan Y.: Application of cranberry concentrate (*Vaccinium macrocarpon*) to control *Escherichia coli* 0157:H7 in ground beef and its antimicrobial mechanism related to downregulated *slp*, *hdeA*, and *cfa*. *Food Microbiol.* 2009, **26**, 32-38.
- [26] Xi Y., Sullivan G.A., Jackson A.L., Zhou G.H., Sebranek J.G.: Effects of natural antimicrobials on inhibition of *Listeria monocytogenes* and on chemical, physical and sensory attributes of naturally-cured frankfurters. *Meat Sci.*, 2012, **90**, 130-138.

ANTIOXIDATIVE PROPERTIES OF CRANBERRY AND ROSE JUICES IN MEAT PRODUCTS MADE OF DEFROSTED MEAT

S u m m a r y

The objective of the research study was to determine the effect of cranberry (*Oxycoccus palustris*) and rose (*Rosa rugosa*) juices, and the mixture thereof added to pork burgers, which were thermally processed, chilled for 1 day, vacuum packed, and stored for 7 days at a temperature of 3 to 7 °C, on oxidative changes occurring in those products. To the meat mass, either a cranberry or a rose juice was added in the amount of 5 % (of the meat weight) or a mixture thereof (1:1), also in the amount of 5%. Furthermore, the effect was determined of the similar juices added to a raw beef stuffing and, then, stored at a temperature of 4 to 6 °C for 3 to 5 days under 600 lux fluorescent lighting, on the colour parameters of the stuffing. The products analyzed were made of minced meat that was previously frozen and stored for a period not exceeding 3 months, and, next, defrosted. In the burgers, there were determined, among other things: TBARS, colour parameters, and pH. It was proved that the rose juice contained more L-ascorbic acid (by 200-fold more) and more phenolics (by 13 %) than the cranberry juice. Therefore, its effect on the process of inhibiting oxidative changes in the pork burgers was stronger. A 5% addition of the rose juice caused TBARS of burgers to decrease by 9 times the value of the control sample, whereas the same amount of the cranberry juice added caused TBARS to decrease only twice or by 3 times the value of the control sample. A higher pH was also a plus point of the rose juice compared to the cranberry juice; owing to this fact, the rose juice did not significantly affect the yield of burgers after their thermal treatment (84.2 ± 1.0 % vs. 87.2 ± 1.9 % of the control sample). However, the rose juice caused the colour of the burgers to turn darker. The rose juice proved to be a weaker colour stabilizer of the raw beef stuffing than the cranberry juice. It was found that the meat colour stabilization mechanism in the case of cranberry juice was complex and covered more than only its antioxidative activity.

Key words: rose juice, cranberry juice, pork burgers, beef stuffing, colour parameters, TBARS ☒

KRYSTYNA GUTKOWSKA, PAWEŁ JANKOWSKI, MARTA SAJDAKOWSKA,
SYLWIA ŻAKOWSKA-BIEMANS, IWONA KOWALCZUK

KRYTERIA RÓŻNICUJĄCE ZACHOWANIA KONSUMENTÓW WOBEC PRODUKTÓW ŻYWNOŚCIOWYCH NA PRZYKŁADZIE MIĘSA I PRZETWORÓW MIĘSNYCH

Streszczenie

Konsumenci zachowują się w sposób zróżnicowany wobec poszczególnych produktów spożywczych. Żywność stanowi bowiem środek do zaspokajania nie tylko potrzeb podstawowych, ale również wtórnych, warunkowanych m.in. uznawanymi wartościami i stylem życia. W celu określenia kryteriów zróżnicowania zachowań konsumentów wobec produktów żywnościowych, na przykładzie mięsa i przetworów mięsnych, przeprowadzono badanie wśród 1000 mieszkańców Polski w wieku od 15 lat, o zróżnicowanej charakterystyce socjodemograficznej.

Badanie wykonano z użyciem zmodyfikowanego kwestionariusza wyboru żywności (FCQ - Food Choice Questionnaire), zawierającego zestaw stwierdzeń odzwierciedlających możliwe motywy wyboru żywności. Po przeprowadzeniu statystycznej analizy wyników stwierdzono, że udzielone w ramach kwestionariusza FCQ odpowiedzi polskich konsumentów nie pozwalają wyodrębnić istotnie zróżnicowanych skupień konsumentów, dowodząc tym samym, że w polskich realiach narzędzie to w zastosowanej wersji nie pozwala wyodrębnić dostatecznie zróżnicowanych segmentów konsumentów w odniesieniu do mięsa i przetworów mięsnych. Wykazano natomiast, że kryterium różnicującym postawy polskich konsumentów wobec mięsa i produktów mięsnych jest deklarowana przez nich częstość spożycia wybranych gatunków mięsa i jego przetworów. Wyodrębnione na tej podstawie skupienia konsumentów poddano socjodemograficznej charakterystyce. Wykazano związki między poziomem i strukturą spożycia mięsa a płcią, wiekiem, wykształceniem, dochodami i miejscem zamieszkania konsumentów, jak również poziomem innowacyjności konsumentów oraz ich skłonnością do płacenia wyższej ceny za mięso i produkty mięsne wysokiej jakości. Relatywnie największe nasilenie postaw innowacyjnych stwierdzono wśród skupień konsumentów deklarujących ogólnie rzadkie spożycie mięsa, parówek, kielbas oraz średnie – wędlin luksusowych.

Prof. dr hab. K. Gutkowska, dr inż. M. Sajdakowska, dr inż. S. Żakowska-Biemans, dr hab. I. Kowalczyk, Katedra Organizacji i Ekonomiki Konsumpcji, Wydz. Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, dr P. Jankowski, Katedra Ekonometrii i Statystyki, Wydz. Zastosowań Informatyki i Matematyki, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa. Kontakt: krystyna_gutkowska@sggw.pl

Słowa kluczowe: kwestionariusz wyboru żywności (FCQ), częstość spożycia, innowacyjność konsumentów, mięso i przetwory mięsne, skłonność do zapłacenia wyższej ceny

Wprowadzenie

Wybór żywności jest wynikiem interakcji pomiędzy takimi czynnikami, jak: charakterystyka towaroznawcza produktów żywnościowych, w tym zwłaszcza cechy sensoryczne, charakterystyka socjoekonomiczna i demograficzna konsumentów i ich preferencje wobec określonych produktów żywnościowych, charakterystyka otoczenia społeczno-gospodarczego, w tym czynniki środowiskowe, kulturowe i tzw. czynniki tła [7, 24]. W coraz większym stopniu na wybory dotyczące żywności wpływa osobowość konsumenta, właściwy mu system wartości i styl życia [1, 11, 16], co tworzy motyw wyboru określonej żywności. Kryteria te mają swoje odpowiedniki w semantycznym profilowaniu określonych typów czy segmentów konsumentów (np. segmentacja VALS) [18, 21]. Rozpoznanie motywów wyboru żywności jest ważne zarówno do skutecznego planowania działań z zakresu komunikacji rynkowej, jak również ma znaczenie ogólnospołeczne w kreowaniu polityki z zakresu żywności i żywienia.

Badania nad motywami wyboru żywności stanowią przedmiot zainteresowania wielu badaczy, ale niewiele jest narzędzi, które miałyby wymiar uniwersalny, czyli pozwalałyby na adekwatną diagnozę determinant wyboru żywności w różnych kontekstach kulturowych. Jedną z prób stworzenia takiego narzędzia badawczego o wymiarze ponadkulturowym podjęli Steptoe, Pollard i Wardle [24]. Opracowali oni tzw. kwestionariusz wyboru żywności (*Food Choice Questionnaire* – FCQ) służący do określenia hierarchii motywów wyboru żywności. W pierwotnej wersji obejmował on 68 czynników. W wyniku analiz statystycznych wybrano 36 stwierdzeń, wobec których badani wyrażają określony stopień zgodności co do ich ważności przy zakupie żywności. Stwierdzenia te można pogrupować w 9 głównych motywów: zdrowie, wygoda, cena, nastrój, atrybuty sensoryczne, naturalność składu, kontrolowanie masy ciała, znajomość produktu, atrybuty etyczne. Narzędzie to wykorzystywane było w badaniach w różnych krajach i pozwoliło na uzyskanie satysfakcjonujących rezultatów [5, 12, 19, 20, 24]. Dzięki zastosowaniu tego narzędzia w badaniach międzykulturowych można m.in. dowieść uniwersalnych wartości związanych z żywnością lub też właściwych dla danej kultury i uwarunkowań społeczno-gospodarczych danego kraju czy regionu, motywując zamieszkałych tam konsumentów do wyboru jednych produktów i odrzucenia innych. Zakłada się jednocześnie, że ważność nadawana przez konsumentów poszczególnym wartościom związanym z żywnością odzwierciedla się w ich preferencjach wobec konkretnych produktów żywnościowych, wybieranych np. ze względu na kryteria zdrowotne, podążanie za określoną modą, ekonomiczną racjonalność konsumentów, ich przywiązanie do wygody czy przyzwyczajenie do produktu [20].

Celem pracy było określenie przydatności kwestionariusza wyboru żywności (FCQ) w wyodrębnieniu zróżnicowanych segmentów konsumentów mięsa i jego przetworów.

Material i metody badań

Badania realizowano z zastosowaniem metody wywiadu bezpośredniego wśród 1000 mieszkańców Polski w wieku od 15 lat, o zróżnicowanej strukturze socjodemograficznej, reprezentatywnej dla populacji Polski. Jednak do opracowania uwzględniono wyniki uzyskane od konsumentów w wieku 19 lat i więcej ($n = 917$), uznając ich za osoby bardziej predysponowane do bycia konsumentami odpowiedzialnymi lub współodpowiedzialnymi za zakup i przygotowywanie żywności w ramach gospodarstwa domowego (tab. 1).

Tabela 1. Struktura socjodemograficzna respondentów [%].

Table 1. Socio-demographic structure of respondents [%].

Wyszczególnienie / Specification			
Płeć: / Gender:		Wiek: / Age:	
kobiety / women	50,9	19 - 24 lata / years	10,7
mężczyźni / men	49,1	25 - 29 lat / years	12,2
Wykształcenie: / Education:		30 - 39 lat / years	
podstawowe / primary	10,3	40 - 49 lat / years	18,3
zasadnicze zawodowe lower vocational education	19,5	50 - 59 lat / years	14,7
średnie / secondary education	40,3	ponad 60 lat / more than 60 years	22,1
wyższe / higher education	29,9		
Miesięczny dochód gospodarstwa domowego: Monthly income per household:		Miejsce zamieszkania: / Place of residence:	
brak dochodu / no income	9,7	wieś / rural areas	31,3
do / to 1000 zł	24,5	miasto do / city up to 20 tys./ thousand	13,6
1001 - 1600 zł	38,8	20 - 100 tys. / thousand	20,7
1601 - 2500 zł	16,0	100 - 500 tys. / thousand	13,8
ponad 2500 zł / more than 2500 zł	11,1	ponad 500 tys. / more than 500 thousand	20,6
Region:			
północny / northern	16,7		
wschodni / eastern	15,3		
zachodni / western	10,4		
centralny / central	22,9		
południowy / southern	34,6		

W celu określenia kryteriów zróżnicowania zachowań polskich konsumentów wobec produktów pochodzenia zwierzęcego, spełniających przyjęte w badaniach kry-

teria, założono wykorzystanie 22 stwierdzeń z narzędzia badawczego Food Choice Questionnaire, które względnie adekwatnie odzwierciedlają uwarunkowania wyboru żywności wśród polskich konsumentów.

Pierwszym etapem analizy było wyznaczenie grup stwierdzeń podobnie ocenianych przez konsumentów. W tym celu uwzględniono dwa podejścia. W pierwszym – grupy powiązanych stwierdzeń wyznaczano za pomocą analizy czynnikowej metodą składowych głównych (Principal Component Analysis – PCA). W drugim podejściu dokonywano podziału stwierdzeń na grupy odpowiadające 6 motywom dotyczącym wyboru żywności, a mianowicie: dbałości o masę ciała, trosce o zdrowie, stosunkowi do ceny, skłonności do wygody, ocenie sensorycznej żywności, stosunkowi do etycznych aspektów produkcji żywności. Kolejnym etapem analizy była weryfikacja spójności grup pytań za pomocą współczynnika alfa Cronbacha [2].

W żadnym z zastosowanych podejść wyznaczone lub z góry założone grupy stwierdzeń nie wykazały dostatecznej spójności odpowiedzi konsumentów. W przypadku każdej z grup wartość współczynnika alfa Cronbacha wynosiła, zgodnie z kryterium Nunnally'ego, powyżej wymaganej minimalnej wartości 0,7 [19].

Stwierdzono, że zastosowana 5-punktowa skala zgodności była zbyt wąska, a 10 % respondentów wyraziło ten sam poziom zgodności ze wszystkimi stwierdzeniami. Jedynie 30 % badanych użyło więcej niż 3 możliwych odpowiedzi. Odzwierciedlono tym samym bardziej zróżnicowane rangowanie poszczególnych wartości związanych z żywnością. Ponadto wykazano mały zakres średnich poziomów zgodności z poszczególnymi stwierdzeniami – od 3,95 do 4,30 oraz istotną, chociaż niską korelację każdego stwierdzenia z każdym [15]. W związku z tym żadna z grup stwierdzeń nie była wyróżniona w stosunku do pozostałych. Świadczyć to może o relatywnie wysokim poziomie deklaratywizmu polskich konsumentów, co łączy się ze stwierdzanymi w odniesieniu do wyników różnych badań niewspółmiernymi skalami wartości. Zjawisko to dowodzi istnienia rozbieżności między wartościami tzw. uroczystymi, a więc tymi, które Polacy zwykli traktować jako ważne w ich życiu ze względu na przyjęte normy społeczne a wartościami realizowanymi, czyli tymi, które faktycznie determinują zachowania człowieka. Ujęte w sekwencji stwierdzeń wartości miały charakter wartości uroczystych, których ważności Polacy nie różnicują. Zdecydowano, że na podstawie materiału empirycznego należy, w celu realizacji założonych celów badawczych, określić inne adekwatne kryterium wyodrębniania skupień konsumentów. W wyniku kolejnych analiz wyników uznano, że takim kryterium będzie deklarowana częstość spożycia mięsa i przetworów mięsnych.

Wykorzystano odpowiedzi z trzech zestawów pytań. Pierwszy z nich opisywał częstość spożycia trzech gatunków mięsa: wołowego, wieprzowego i drobiowego oraz ich przetworów: parówek, kiełbas i wędlin luksusowych (m.in. szynki i polędwicy). Częstość spożycia oceniano w 5-punktowej skali, w której 1 pkt oznaczał „bardzo

rzadko” a 5 pkt – „bardzo często”. Drugi zestaw pytań opisywał postawy konsumentów wobec produktów mięsnych spełniających kryteria żywności wysokiej jakości, o walorach prozdrowotnych i funkcjonalnych. Ponownie użyto 5-punktowej skali, w której 1 pkt oznaczał: „całkowicie się nie zgadzam”, a 5 – „całkowicie się zgadzam”. Ostatni zestaw pytań opisywał innowacyjność konsumentów oraz ich skłonność do zapłacenia wyższej ceny za produkty o wysokiej jakości, charakteryzujące się walorami prozdrowotnymi lub podwyższoną wartością odżywczą. Innowacyjność konsumentów badano z użyciem skali 5-punktowej. W przypadku badania skłonności do zapłacenia wyższej ceny za produkt charakteryzujący się specyficznymi atrybutami założonymi w projekcie konsument mógł zadeklarować skłonność do zapłaty ceny porównywalnej do obecnej bądź ceny o około 25 lub 50 % wyższej niż obecna.

Do klasyfikacji konsumentów ze względu na ich preferencje związane z częstotliwością spożycia uwzględnionych w badaniu gatunków mięsa i przetworów zastosowano hierarchiczną analizę skupień, z użyciem metody Warda z metryką euklidesową. Do oceny poprawności podziału konsumentów na skupienia posłużono się wykresem sylwetkowym (ang. *silhouette plot*) [23]. Do oceny różnic między wydzielonymi skupieniami zastosowano analizę ANOVA z testem wielokrotnego porównania metodą Tukeya, tablice krzyżowe oraz test χ^2 . Wszystkie obliczenia wykonano w programie Matlab wersja 6.5.0 (The MathWorks, Inc. 1998 - 2002).

Wyniki i dyskusja

Analiza skupień pozwoliła wyróżnić 6 grup konsumentów (tab. 2). Po przeprowadzeniu analizy ANOVA z testem wielokrotnych porównań oraz testem χ^2 wykazano, że w przypadku każdego produktu mięsnego różnice między deklarowaną częstotliwością spożycia tego produktu przez konsumentów należących do różnych skupień były statystycznie istotne ($p < 0,001$). Skupieniom można przypisać następujące cechy zachowań konsumentów (tab. 2):

- skupienie 1. (4,7 % próby): bardzo rzadkie spożycie mięsa,
- skupienie 2. (15,2 % próby): rzadkie spożycie mięsa,
- skupienie 3. (27,4 % próby): częste spożycie mięsa,
- skupienie 4. (36,2 % próby): bardzo częste spożycie mięsa,
- skupienie 5. (11,4 % próby): bardzo rzadkie spożycie mięsa, rzadkie – parówek i kielbas, średnie – wędlin luksusowych,
- skupienie 6. (5,2 % próby): bardzo rzadkie spożycie wołowiny, bardzo częste pozostałych mięs.

Stwierdzona struktura socjodemograficzna i ekonomiczna wyodrębnionych skupień dobrze odzwierciedla przedstawiane w innych badaniach, również tych wykorzystujących indywidualne wyniki z badań budżetów gospodarstw domowych, powszech-

ne spożycie mięsa wieprzowego i drobiowego, co wynika m.in. z przekonania polskich konsumentów o nieodzowności mięsa w codziennej diecie [8].

Tabela 2. Średnia częstość spożycia mięsa i wybranych produktów mięsnych w poszczególnych skupieniach konsumentów.

Table 2. Average consumption frequency of meat and selected meat products in individual clusters of consumers.

Produkt mięsny Meat product	Ogółem Total	Skupienie / Cluster					
		1	2	3	4	5	6
Mięso wołowe / Beef meat	3,04	1,56 ^d	2,96 ^c	3,70 ^b	4,20 ^a	1,50 ^d	1,44 ^d
Mięso wieprzowe / Pork meat	3,23	1,51 ^e	3,38 ^d	3,61 ^c	4,32 ^a	1,45 ^e	4,00 ^b
Mięso drobiowe / Poultry meat	3,34	2,02 ^d	3,38 ^c	3,65 ^b	4,31 ^a	2,09 ^d	4,19 ^a
Parówki wieprzowe Vienna pork sausages	3,32	1,91 ^d	2,96 ^c	3,84 ^b	4,14 ^a	2,68 ^c	4,19 ^{Ab}
Parówki drobiowe Vienna poultry sausages	3,21	1,65 ^e	2,86 ^c	3,83 ^b	4,08 ^a	2,21 ^d	3,83 ^{Ab}
Kielbasy wołowe / Beef sausages	3,32	1,65 ^e	3,21 ^c	3,79 ^b	4,14 ^a	2,71 ^d	3,75 ^b
Kielbasy wieprzowe / Pork sausages	3,05	1,67 ^d	2,51 ^c	3,71 ^b	4,13 ^a	2,46 ^c	1,19 ^d
Kielbasy drobiowe / Poultry sausages	3,31	2,21 ^d	2,55 ^d	3,67 ^b	4,23 ^a	3,11 ^c	4,08 ^a
*Wędliny luksusowe wołowe Luxury processed beef meat (cold) products	3,37	2,05 ^e	3,11 ^d	3,42 ^c	4,22 ^a	3,69 ^{bc}	3,98 ^{Ab}
*Wędliny luksusowe wieprzowe Luxury processed pork meat (cold) products	3,13	1,49 ^d	2,75 ^c	3,39 ^b	4,23 ^a	3,41 ^b	1,27 ^d
*Wędliny luksusowe drobiowe Luxury processed poultry meat (cold) products	3,40	1,74 ^d	2,99 ^c	3,55 ^b	4,26 ^a	3,79 ^b	4,17 ^a

Objaśnienia: / Explanatory notes:

* Wędliny luksusowe: szynka, polędwica / Luxury processed meat (cold) products: ham, tenderloin.

Objaśnienie skupień: / Cluster explanation: 1 – bardzo rzadkie spożycie mięsa / very rare meat consumption; 2 – rzadkie spożycie mięsa / rare meat consumption; 3 – częste spożycie mięsa / frequent meat consumption; 4 – bardzo częste spożycie mięsa / very frequent meat consumption; 5 – bardzo rzadkie spożycie mięsa, rzadkie spożycie parówek i kiełbas, średnie spożycie wędlin luksusowych / very rare meat consumption, rare consumption of Vienna sausages and other, average consumption level of luxury processed (cold) meats; 6 – bardzo rzadkie spożycie wołowiny, bardzo częste spożycie pozostałych mięs / very rare beef consumption, very frequent consumption of other meats.

Indeksy literowe oznaczają podział skupień na grupy jednorodne metodą Tukeya, niezależny dla każdego z produktów / Letter designations mean that clusters are divided, independently for each product, into homogenous groups using Tukey method.

Charakterystykę socjodemograficzną wyodrębnionych skupień konsumentów przedstawiono w tab. 3.

Tabela 3. Charakterystyka socjodemograficzna skupień [%].

Table 3. Socio-demographic profile of clusters [%].

Wyszczególnienie Specification	Istotność testu χ^2 Significance of χ^2 test	Ogółem Total	Skupienie/Cluster					
			1	2	3	4	5	6
Płeć: / Gender:								
kobiety / women	0,089	51	67	47	53	48	57	44
mężczyźni / men		49	33	53	47	52	43	56
Wykształcenie: / Education:								
podstawowe / primary	0,050	10	5	8	13	11	6	10
zasadnicze / lower vocational education		19	21	20	17	22	13	29
średnie / secondary education		40	30	39	43	38	5	46
wyższe / higher education		30	44	34	27	29	36	15
Wiek: /Age:								
19 - 24 lata / years	5,9E-6	11	16	19	7	5	28	6
25 - 29 lat / years		12	7	11	12	14	10	17
30 - 39 lat / years		22	14	18	24	24	19	25
40 - 49 lat / years		18	19	21	19	18	15	13
50 - 59 lat / years		15	16	13	15	14	15	15
ponad 60 lat / more than 60 years		22	28	19	22	26	13	25
Dochód: / Income:								
nie ma dochodów / no income	0,011	10	19	14	7	6	16	15
do 1000 zł		25	21	21	26	24	25	31
1001 - 1600 zł		39	30	38	41	42	30	31
1601 - 2500 zł		16	12	11	17	16	22	13
2501 i więcej / and more zł		11	19	16	9	11	7	10
Miejsce zamieszkania: / Place of residence:								
wieś / rural areas	3,6E-9							
miasto do 20 tys. / city with max 20 thousand residents		31	33	26	32	32	31	38
miasto 20 - 100 tys. / city with 20 to 100 thousand residents		14	19	13	13	9	23	23
miasto 100 - 499 tys. / city with 100 to 499 thousand residents		21	23	14	19	26	12	27
miasta ponad 500 tys. / cities with over 500 thousand residents		14	21	22	10	9	24	13
	21	5	24	25	25	10	0	
Region: / Region:								
północny / northern	0,00	17	12	15	16	20	19	6
wschodni / eastern		15	28	26	14	5	28	27
zachodni / western		10	0	6	15	15	2	0
centralny / central		23	9	20	21	26	12	58
południowy / southern		35	51	34	35	35	39	8

Zaobserwowano różnice między skupieniami w proporcjach osób z różnym wykształceniem ($p \leq 0,05$). Skupienie: „bardzo rzadkie spożycie mięsa” charakteryzuje się mniejszym niż badana populacja udziałem osób z wykształceniem podstawowym i średnim, a większym udziałem osób z wykształceniem wyższym. Wykazana zależność między deklarowaną przez badanych konsumentów częstotliwością spożywania mięsa a poziomem ich wykształcenia znajduje potwierdzenie w opiniach tych badaczy, którzy twierdzą, że poziom wiedzy żywieniowej zależy wprost proporcjonalnie od poziomu wykształcenia [4, 6]. Można więc sądzić, że wyższy poziom wykształcenia i towarzyszący mu wyższy poziom wiedzy żywieniowej sprzyjają możliwości substytuowania różnych kategorii produktów żywnościowych i uzyskiwania podobnej podaży składników odżywczych.

Skupienie 5. wyróżnia się mniejszym niż badana populacja udziałem osób o wykształceniu podstawowym i zawodowym, przy dominacji osób o wykształceniu średnim i wyższym. Z kolei skupienie 6., składające się z osób bardzo rzadko spożywających wołowinę, obejmuje znacznie mniejszą liczbę osób z wyższym wykształceniem niż próba przy nieznacznie zwiększonym udziale osób z wykształceniem średnim i znacznie większym udziale osób z wykształceniem zawodowym, co potwierdza wyniki analiz indywidualnych danych z badań budżetów gospodarstw domowych na temat struktury i poziomu spożycia poszczególnych rodzajów mięsa w różnych typach gospodarstw domowych [8].

Różnice w strukturze wiekowej wyodrębnionych skupień konsumentów wystąpiły na poziomie istotności $p < 0,001$. Najsilniejszymi, wyraźnie ukierunkowanymi preferencjami charakteryzowały się osoby najmłodsze (wiek 19 - 24 lata). Osoby te miały najliczniejszy udział w skupieniu 5. Tę postempiryczną konkluzję potwierdzają wyniki innych badań przeprowadzonych wśród młodych konsumentów na temat ich postaw wobec żywności. Z badań tych wynika umiarkowane zainteresowanie tej grupy konsumentów ofertą mięs i wędlin, przy czym zauważa się, że im starsi konsumenci z tego segmentu, tym większe zainteresowanie wyższą jakością produktów żywnościowych, co odzwierciedla się w badanym przypadku w postaci wyższej częstotliwości spożywania tzw. wędlin luksusowych [10, 25]. Również skupienia 1. i 2. charakteryzowały się większym udziałem osób najmłodszych niż badana populacja konsumentów. Z drugiej strony, skupienia 3., 4. i 6. charakteryzowały się mniejszym niż badana populacja udziałem osób w wieku 19 - 24 lat. Osoby najstarsze (wiek powyżej 60 lat) charakteryzowały się większym niż przeciętnie udziałem w skupieniu 1., a więc obejmującym konsumentów o najrzadszym spożyciu mięsa i zmniejszonym udziale w skupieniu 5., a więc obejmującym konsumentów spożywających głównie wędliny luksusowe. Ponadto osoby w wieku 25 - 39 lat miały niższy niż przeciętny udział w skupieniu 1., natomiast konsumenci w wieku 25 - 29 dominowali w skupieniu 6.

Zaobserwowane różnice w strukturze dochodów reprezentantów poszczególnych skupień charakteryzują się statystyczną istotnością na poziomie $p < 0,05$. Osoby nieposiadające dochodów dominowały wyraźnie w skupieniach 1., 2. i 5. (charakteryzujących się relatywnie niską częstością spożycia mięsa) oraz w skupieniu 6. charakteryzującym się rzadkim spożyciem wołowiny. Niedobór tych konsumentów w porównaniu z badaną populacją zaobserwowano w skupieniach 3. i 4., charakteryzujących się relatywnie częstym spożyciem mięsa. Również osoby o najwyższych dochodach tj. powyżej 2500 zł na osobę dominowały w skupieniach 1. i 2. Skupienie 1. wyróżniało się natomiast mniejszym relatywnie udziałem konsumentów o dochodach do 2500 zł. Skupienie 2. charakteryzowało się niewielkim udziałem osób o dochodach do 1000 zł i w przedziale 1600 - 2500 zł. Konsumentów uzyskujących dochód w przedziale 1000 do 1600 zł w niewielkim stopniu występowało w skupieniach 5. i 6. Stwierdzono dominację osób o dochodach do 1000 zł w skupieniu 6., a osób o dochodach między 1600 a 2500 zł w skupieniu 5. Zaobserwowane różnice w występowaniu w poszczególnych skupieniach badanych konsumentów deklarujących określoną częstotliwość spożycia mięsa i przetworów w zależności od ich sytuacji finansowej wynikają z odmiennych powodów. Można przypuszczać, że mniej zasobni konsumenci rezygnują z częstego spożywania mięsa, a zwłaszcza droższych jego rodzajów, ze względu na odczuwane ograniczenia finansowe, tymczasem bardziej zasobni poszukują często ekskluzywnych, a więc oryginalnych i droższych produktów nie tylko, by dostarczyć organizmowi podstawowych składników odżywczych, ale również dla podkreślenia swojego społecznego statusu [9].

Różnice w strukturze skupień pod względem proporcji konsumentów zamieszkujących na wsi lub w miastach różnych wielkości okazały się także bardzo silne, na poziomie istotności $p < 0,001$. Kierunek zauważonych prawidłowości wykazał pewne analogie w stosunku do wyników analizy indywidualnych danych z badań budżetów gospodarstw domowych, wskazujących na fakt, że mieszkańcy wsi oraz mniejszych miast rzadziej niż przeciętnie spożywali mięso wołowe, a mieszkańcy aglomeracji - relatywnie częściej. W dużej mierze można to tłumaczyć małym samozaopatrzeniem w wiejskich gospodarstwach domowych w zakresie wołowiny, której zakup jest rzadki również z uwagi na ograniczenia finansowe znacznie częściej występujące wśród mieszkańców wsi i małych miast niż wśród mieszkańców aglomeracji.

Zaobserwowano również istotne różnice ($p < 0,001$) między skupieniami w proporcjach osób zamieszkujących różne regiony kraju. Skupienie 1., osób spożywających mięso najrzadziej, miało znaczny udział konsumentów ze wschodu i południa Polski. Udział konsumentów z zachodu kraju wyniósł w tym skupieniu 0 %. Skupienie 2., osób spożywających mięso rzadko, charakteryzowało się zwiększonym udziałem konsumentów z regionu wschodniego. Większy udział konsumentów z zachodu kraju odnotowano w skupieniach 3. i 4., o częstym spożyciu mięsa. Ponadto w skupieniu 4., o najczęstszym spożyciu produktów mięsnych, wykazano niższy niż średnio udział

mieszkańców wschodniego regionu. Skupienie 5., osób rzadko spożywających produkty mięsne, ale sięgających zwłaszcza po wędliny luksusowe, charakteryzowało się większym udziałem konsumentów z regionu wschodniego i mniejszym niż badana populacja udziałem osób z zachodu kraju. W skupieniu 6., osób unikających wołowiny, stwierdzono większy udział konsumentów zamieszkujących centralną i wschodnią Polskę. Udział w tym skupieniu osób z pozostałych regionów był bardzo ograniczony, a w przypadku konsumentów z zachodu kraju wyniósł 0 %. Zauważone różnice mogą mieć różnorakie źródła, które najogólniej można przyporządkować regionalnym zwyczajom żywieniowym, determinowanym lokalnymi wzorami zachowań żywieniowych, dodatkowo wzmacnianym lub osłabianym makroekonomicznymi wskaźnikami dla tych regionów kraju.

Pod względem poziomu innowacyjności konsumentów dowiedziono, że najbardziej innowacyjni respondenci znaleźli się w skupieniach 2. i 5. (tab. 4), co potwierdza znane z literatury przedmiotu opinie odnośnie do socjodemograficznych uwarunkowań innowacyjności [13, 14, 17, 22]. Konsumenty w skupieniu 2. wyróżniali się innowacyjnością w stosunku do zakupu mięsa oraz wędlin luksusowych zaś konsumenci w skupieniu 5. byli najbardziej innowacyjni w stosunku do kielbas. Najmniej innowacyjni byli natomiast konsumenci w skupieniu 6., których charakterystyka socjoekonomiczna i demograficzna wykazywała typowe cechy „maruderów” i nie predysponowała do zachowań innowacyjnych [13, 14].

Zaobserwowano również, że respondenci z wyodrębnionych skupień różnili się statystycznie istotnie pod względem skłonności do zapłacenia wyższej ceny za produkty mięsne charakteryzujące się uwzględnionymi w badaniu atrybutami. Najmniej skłonni do ponoszenia większych kosztów za produkty mięsne o wysokiej jakości oraz podwyższonej wartości odżywczej byli konsumenci ze skupień 4. i 6. Nie zaobserwowano natomiast różnicy między skupieniami w chęci płacenia wyższej ceny za produkty o wysokich walorach zdrowotnych (tab. 5), co może wynikać z tendencji Polaków do postrzegania zdrowia jako naczelnej wartości [3]. Sądzić można, że zauważone różnice, a w zasadzie swoista ambiwalencja w deklarowanej skłonności do płacenia wyższej ceny za innowacyjne, funkcjonalne produkty żywnościowe pochodzenia zwierzęcego, spełniające kryteria żywności o podwyższonej jakości, wartości odżywczej i walorach prozdrowotnych, wynikać może z kilku przyczyn. Jednym z możliwych wyjaśnień jest wcześniej zauważona dominująca ranga zdrowia w hierarchii wartości Polaków, przy jednocześnie niskiej świadomości znaczenia i rozumienia wartości odżywczej. Stąd też większa skłonność do płacenia wyższej ceny za konkretną i ważną „korzyść”, zgodnie z istotą marketingu mix w zmodyfikowanej wersji 4C zamiast 4P. W marketingu 4C cena jest rozumiana jako ekwiwalent korzyści dla konsumenta, podczas gdy w klasycznej wersji 4P – jako ekwiwalent korzyści dla producenta, generujący jego zysk [8].

Tabela 4. Innowacyjność konsumentów z poszczególnych skupień [%].
Table 4. Innovativeness of consumers from individual clusters [%].

Wyszczególnienie / Item	Ogółem Total	Istość Significance	Skupienie / Cluster					
			1	2	3	4	5	6
Który z podanych opisów zachowań wobec nowych (ulepszonych, nowocześniejszych) produktów mięsnych pojawiających się w sklepach jest najbliższy Pani/Pana postępowaniu? Which of the following descriptions of behaviours referring to the novel (improved, upgraded) meat products in stores is the closest to the way you act?								
Mięso / Meat								
Średnie oceny / Mean scores	3,30	0,037*	3,33 ^{ab}	3,14 ^b	3,23 ^{ab}	3,37 ^{ab}	3,22 ^{ab}	3,79 ^a
Kupuję od razu, jak tylko staje się dostępny I buy it as soon as it becomes available.	9		9	10	8	10	14	0
Kupuję stosunkowo szybko, choć po pewnym zastanowieniu. I buy relatively quickly, although on second thoughts.	19		26	23	17	16	24	19
Kupuję, gdy niektórzy znajomi już go wypróbowali i pozytywnie ocenili. I buy when some of my acquaintances have already tasted and positively assessed it.	27	9,0E-6**	16	31	38	23	19	19
Kupuję, gdy większość znajomych go wypróbowala i pozytywnie ocenila. I buy when the majority of my acquaintances have already tasted and positively assessed it.	22		21	15	20	29	11	27
Niechętnie kupuję nowe produkty żywnościowe. I reluctantly buy novel food products.	23		28	21	18	23	31	35
Parówki / Vienna sausages								
Średnie oceny / Mean scores	3,33	0,13*	3,56 ^a	3,26 ^a	3,24 ^a	3,36 ^a	3,30 ^a	3,75 ^a
Kupuję od razu, jak tylko staje się dostępny. I buy as soon as it becomes available.	9		5	8	9	11	12	0
Kupuję stosunkowo szybko, choć po pewnym zastanowieniu. I buy relatively quickly, although on second thoughts.	18	0,0017**	19	19	19	16	18	25
Kupuję, gdy niektórzy znajomi go wypróbowali i pozytywnie ocenili. I buy when some of my acquaintances have already tasted and positively assessed it.	27		28	33	32	23	26	15

Kupuję, gdy większość znajomych go wypróbowała i pozytywnie ocenila. I buy when the majority of my acquaintances have already tasted and positively assessed it.	22		14	19	19	30	15	21
Niechętnie kupuję nowe produkty żywnościowe. I reluctantly buy novel food products.	24		35	21	21	21	29	40
Kiełbasy / Sausages								
Średnie oceny / Mean scores	3,31	0,0037*	3,49 ^{ab}	3,16 ^{ab}	3,34 ^{ab}	3,38 ^a	2,98 ^b	3,73 ^a
Kupuję od razu, jak tylko staje się dostępny I buy it as soon as it becomes available.	9		5	8	8	8	16	0
Kupuję stosunkowo szybko, choć po pewnym zastanowieniu. I buy relatively quickly, although on second thoughts.	18		23	22	15	17	25	23
Kupuję, gdy niektórzy znajomi go wypróbowali i pozytywnie ocenili. I buy when some of my acquaintances have already tasted and positively assessed it.	27	0,00058**	23	34	31	24	21	17
Kupuję, gdy większość znajomych go wypróbowała i pozytywnie ocenila. I buy when the majority of my acquaintances have already tasted and positively assessed it.	26		16	18	27	31	21	25
Niechętnie kupuję nowe produkty żywnościowe. I reluctantly buy novel food products.	21		33	18	19	20	17	35
Wędliny luksusowe/Luxury processed (cold) meat products								
Średnie oceny / Mean scores	3,28	0,0035*	3,23 ^{ab}	3,03 ^b	3,32 ^{ab}	3,39 ^a	3,03 ^{ab}	3,63 ^a
Kupuję od razu, jak tylko staje się dostępny I buy it as soon as it becomes available.	9		9	12	6	8	14	0
Kupuję stosunkowo szybko, choć po pewnym zastanowieniu. I buy relatively quickly, although on second thoughts.	19		21	28	17	14	25	25
Kupuję, gdy niektórzy znajomi go wypróbowali i pozytywnie ocenili. I buy when some of my acquaintances have already tasted and positively assessed it.	27	0,00066**	28	24	33	26	20	21
Kupuję, gdy większość znajomych go wypróbowała i pozytywnie ocenila. I buy when the majority of my acquaintances have already tasted and positively assessed it.	27		21	18	27	32	26	21
Niechętnie kupuję nowe produkty żywnościowe. I reluctantly buy novel food products.	19		21	19	17	20	15	33

Tabela 5. Struktura respondentów ze względu na skłonność do zapłacenia wyższej ceny za produkty mięsne charakteryzujące się wybranymi atrybutami z uwzględnieniem rodzaju skupienia, reprezentowanego przez respondentów [%].

Table 5. Structure of respondents according to their propensity to pay higher price for meat products showing particular attributes including type of cluster as represented by respondents [%].

Wyszczególnienie / Item	Ogółem Total	Istotność Significance	Skupienie / Cluster					
			1	2	3	4	5	6
Jaka cenę byłaby/by Pani/Pan skłonna/y zapłacić za produkty pochodzenia mięsnego o wymienionych cechach? What price would you be willing to pay for the products of meat origin and showing attributes as listed below?								
Produkty o wysokiej jakości: / High quality products:								
Średnie oceny / Mean scores	1,38	0,0042*	1,33 ^{ab}	1,49 ^a	1,38 ^{ab}	1,32 ^b	1,50 ^a	1,29 ^{ab}
cenę porównywalną do obecnej / price comparable to the current one	65		70	57	66	70	53	71
cenę wyższą o około 25 % / price higher by ca. 25 %	32	0,029**	28	37	30	28	43	29
cenę wyższą o około 50 % / price higher by ca. 50 %	3		2	6	4	2	4	0
Produkty o walorach prozdrowotnych: / Product showing health enhancing attributes:								
Średnie oceny / Mean scores	1,45	0,20*	1,47 ^a	1,52 ^a	1,48 ^a	1,41 ^a	1,50 ^a	1,33 ^a
cenę porównywalną do obecnej / price comparable to the current one	59		60	54	57	62	55	71
cenę wyższą o około 25 % / price higher by ca. 25 %	37	0,39**	33	39	38	36	39	25
cenę wyższą o około 50 % / price higher by ca. 50 %	4		7	6	5	2	6	4
Produkty o podwyższonej wartości odżywczej: / Products having increased nutritional value:								
Średnie oceny / Mean scores	1,39	5,48E-5*	1,40 ^{abc}	1,50 ^a	1,47 ^a	1,30 ^{bc}	1,46 ^{ab}	1,17 ^c
cenę porównywalną do obecnej / price comparable to the current one	65		67	59	59	72	59	83
cenę wyższą o około 25 % / price higher by 25 %	30	0,00072**	26	33	35	26	36	17
cenę wyższą o około 50% / price higher by 50 %	4		7	9	6	2	5	0

Wnioski

1. Food Choice Questionnaire, jako narzędzie określania zróżnicowanych typów konsumentów w zastosowanej w badaniu wersji, nie spełnił funkcji kryterium różnicowania zachowań konsumentów wobec mięsa i jego przetworów.
2. Uznano, że kryterium różnicującym zachowania nabywcy konsumentów w stosunku do mięsa i jego przetworów może być częstotliwość spożycia wymienionych produktów, służąca do wyodrębniania skupień konsumentów, charakteryzowanych czynnikami socjodemograficznymi.
3. Wykazano związki między poziomem i strukturą spożycia mięsa a płcią, wiekiem, wykształceniem, dochodami i miejscem zamieszkania konsumentów, potwierdzając wyniki analiz indywidualnych danych z badań budżetów gospodarstw domowych w odniesieniu do poziomu i struktury spożycia mięsa w różnych typach polskich gospodarstwach domowych.
4. Stwierdzono, że wyodrębnione skupienia różnią się między sobą deklarowaną skłonnością do płacenia wyższej ceny za produkty spełniające kryteria żywności wyższej jakości, o cechach funkcjonalnych i podwyższonej wartości odżywczej oraz walorach prozdrowotnych. Największą i względnie powszechną skłonność do wyrażania takiej opinii konsumenci deklarowali w odniesieniu do produktów o podwyższonych walorach zdrowotnych, co potwierdza ważność wartości zdrowia w hierarchii wartości polskich konsumentów.
5. Deklarowana częstotliwość spożycia poszczególnych rodzajów mięsa i jego przetworów stanowi dobre kryterium różnicowania zachowań konsumentów wobec innowacyjnych produktów mięsnych.

Badania zrealizowano w ramach projektu "BIOŻYWNOŚĆ – innowacyjne, funkcjonalne produkty pochodzenia zwierzęcego" nr POIG.01.01.02-014-090/09 współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka 2007 - 2013.

The research study was realized under the "BIOFOOD – innovative, functional products of animal origin" Project No. POIG.01.01.02-014-090/09 that was co-financed by the European Union from the European Regional Development Fund within the Innovative Economy Operational Programme 2007 - 2013.

Literatura

- [1] Brunsø K. Scholderer J., Grunert KG.: Closing the gap between values and Behaviour-means-end theory of lifestyle. *J. Bus Res*, 2004, **57**, 665-670.

- [2] Cronbach L.J.: Współczynnik alfa a struktura wewnętrzna testów. W: Brzeziński J. (Red.). Trafność i rzetelność testów psychologicznych. Wybór tekstów. Gdańskie Wyd. Psychol., Gdańsk 2005, ss. 177-212.
- [3] Dąbrowska A, Gutkowska K, Janoś-Kresło M, Ozimek I.: Serwicyzacja konsumpcji w polskich gospodarstwach domowych: uwarunkowania i tendencje. Difin, Warszawa 2010.
- [4] De Vriendt T., Matthys C., Verbeke W., Pynaert I., de Henauw S.: Determinants of nutrition knowledge in young and middle-aged Belgian women and the association with their dietary behaviour. *Appetite*, 2009, **52**, 788-792.
- [5] Eertmans A., Victoir A., Notelaers G., Vansant G., van den Bergh O.: The Food Choice Questionnaire: Factorial invariant over western urban populations? *Food Qual. Prefer.* 2006, **17**, 344-352.
- [6] Grunert K.G., Wills J., Celemín L.F., Lähteenmäki L., Scholderer J., Genannt Bonsmann S.S.: Socio-demographic and attitudinal determinants of nutrition knowledge of food shoppers in six European countries. *Food Qual. Prefer.*, 2012, **26**, 166-177.
- [7] Gutkowska K.: Zachowania konsumentów w kontekście teorii konfliktu niewspółmiernych skal wartości. W: Konsument, Gospodarstwo Domowe, Rynek. AE w Katowicach, Katowice 2007, ss. 78-102.
- [8] Gutkowska K. (Red.): *Możliwości rozwoju rynku wołowiny w Polsce w kontekście zachowań konsumentów wobec mięsa – odniesienia międzynarodowe*. Wyd. SGGW, Warszawa 2012.
- [9] Gutkowska K., Jeżewska M.: Żywność to nie tylko jedzenie. *Gospodarstwo Domowe w kraju i na świecie*, 1993, **3**, 27-29.
- [10] Gutkowska K., Ozimek I.: *Zachowania młodych konsumentów na rynku żywności*. Wyd. SGGW, Warszawa 2008.
- [11] Haverstock K., Forgays D.K.: To eat or not to eat. A comparison of current and former animal product limiters. *Appetite*, 2012, **58**, 1030-1036.
- [12] Hersleth M., Næs T., Rødbotten M., Lind V., Monteleone E.: Lamb meat — Importance of origin and grazing system for Italian and Norwegian consumers. *Meat Sci*, 2012, **90**, 899-907.
- [13] Jeżewska-Zychowicz M., Kowalczyk I.: Uwarunkowania innowacyjności polskich konsumentów. *Handel Wewnętrzny*, 2009, **3**, 34-45.
- [14] Kowalczyk I.: *Innowacyjność żywności w opinii konsumentów i producentów*. Rozprawy i monografie. Wyd. SGGW, Warszawa 2011.
- [15] Kowalczyk I., Gutkowska K., Sajdakowska M., Żakowska-Biemans S., Kozłowska A., Olewnik-Mikołajewska A.: Innowacyjny konsument żywności pochodzenia zwierzęcego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, **5 (90)**, 177-194.
- [16] Lindeman M., Sirelius M.: Food choice ideologies: the modern manifestations of normative and humanist views of the world. *Appetite*, 2001, **3**, 175-184.
- [17] Mazurek-Łopacińska K.: *Zachowania nabywców i ich konsekwencje marketingowe*. PWE, Warszawa 2003.
- [18] Mitchell A.: *The nine American lifestyles: Who we are and where are we going*. Macmillan, New York 1983.
- [19] Nunnally J.C.: *Psychometric Theory*. McGraw-Hill Book Company, Nowy Jork 1976.
- [20] Prescott J., Young O., O'Neill L., Yau N.J.N., Stevens R.: Motives for food choice: a comparison of consumers from Japan, Taiwan, Malaysia and New Zealand. *Food Qual. Prefer.*, 2002, **13**, 489-495.
- [21] Riche M.F.: VALS 2^o, *American Demographics*, 1989, 25, July.
- [22] Rogers E.M.: *Diffusion of innovations*. The Free Press, New York 1995.
- [23] Rousseeuw P.J.: Silhouettes A: Graphical Aid to the Interpretation and Validation of Cluster Analysis. *Comput Appl Math*, 1987, **20**, 53-65.
- [24] Steptoe A., Pollard T.M., Wardle J.: Development of a measure of the motives underlying the selection of food: the Food Choice Questionnaire. *Appetite*, 1995, **25**, 267-284.
- [25] Walkowiak M.: *Zachowania konsumentów na rynku mięsa i przetworów mięsnych oraz wynikające z nich rekomendacje dla producentów i handlowców*. Praca doktorska. SGGW Wydz. Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji. Warszawa 2007.

DIFFERENTIATION CRITERIA OF CONSUMER BEHAVIOUR TOWARDS FOOD PRODUCTS EXEMPLIFIED BY MEAT

S u m m a r y

Consumer behaviour towards individual food products varies. Food constitutes a means of meeting not only fundamental needs, but, also, secondary needs determined by, among other things, commonly accepted values and lifestyle. In order to set down the differentiation criteria of consumer behaviour towards food products, exemplified by meat and meat products, a survey research was carried out among 1,000 Polish residents aged 15 and more, who showed diverse socio-demographic characteristics.

The survey research was performed using a modified Food Choice Questionnaire (FCQ) comprising a set of statements, which reflected possible food selection motivations. Based on the statistical analysis of the results obtained, it was found that the responses given by the Polish consumers in FCQs did not make it possible to make out significantly differentiated clusters of consumers, and, at the same time, this fact provided evidence that, under the present reality of Poland, it was impossible to identify satisfactorily differentiated segments of consumers as regards meat and meat products. However, it was confirmed that the consumption frequency of selected types of meat and meat products as declared by the respondents was a criterion to differentiate the attitudes of Polish consumers towards meat and meat products. Identified on this basis consumer clusters were socio-demographically characterized. It was proved that the level and structure of meat consumption correlated with the gender, age, education level, income, and place of residence of the consumers surveyed, as well as with their level of innovativeness and their willingness to pay higher prices for high quality meat and meat products. The relatively highest intensification of innovative attitudes was found within the clusters of consumers who declared to usually rarely eat meat, Vienna sausages, and other sausages, and to eat luxury processed meat products moderately often.

Key words: food choice questionnaire (FCQ), consumption frequency, consumer innovativeness, meat and meat products, willingness to pay higher price ☒

MAGDALENA STANEK, ZBIGNIEW BOREJSZO, JANUSZ DĄBROWSKI,
BOGDAN JANICKI

WYBRANE PARAMETRY JAKOŚCI MIĘSA BABKI SZCZUPEJ (*NEOGOBIUS FLUVIATILIS* PALLAS) ODŁOWIONEJ Z WISŁY

Streszczenie

Celem pracy było określenie wybranych parametrów jakości mięsa babki szczupłej (*Neogobius fluviatilis* Pallas) – gatunku ryb obcych dla polskiej ichtiofauny – odłowionej z Wisły. Ryby podzielono na trzy grupy wiekowe. Do badań pobrano nadosiową część mięśnia bocznego wielkiego ze środkowej części tułowia wraz ze skórą. W mięsie oznaczono zawartość: białka, tłuszczu, kwasów tłuszczowych, wody oraz cholesterolu całkowitego. Średnia zawartość tłuszczu wahała się od 1,04 do 1,13 %, a cholesterolu – od 74,28 do 79,94 mg·100 g⁻¹. W przypadku tych dwóch parametrów nie stwierdzono statystycznie istotnych ($p \leq 0,05$) różnic pomiędzy osobnikami o różnej długości ciała. Różnice statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) wystąpiły pomiędzy średnimi zawartościami białka (18,52 ÷ 21,06 %) oraz wody (77,98 ÷ 78,74 %) w mięsie ryb o różnych długościach ciała. Największy udział stanowiły kwasy PUFA (od 39,90 do 40,80 % wszystkich kwasów tłuszczowych), zaś w najmniejszych ilościach oznaczono MUFA (od 25,98 do 28,78 %). W grupie SFA największy udział miał kwas C16:0, wśród MUFA – C18:1 *n*-9, a spośród PUFA w największych ilościach oznaczono kwas C20:5 *n*-3. Współczynnik *n*-3/*n*-6 wynosił od 1,33 do 1,44 i nie stwierdzono różnic statystycznie istotnych (przy $p \leq 0,05$) pomiędzy osobnikami o różnej długości ciała. Wartości AI i TI wynosiły odpowiednio: od 0,39 do 0,42 i od 0,31 do 0,32.

Słowa kluczowe: babka szczupła, cechy morfologiczne, mięso, białko, tłuszcz, kwasy tłuszczowe, cholesterol

Wprowadzenie

Spośród około 80 gatunków ryb opisanych w atlasie „Ryby słodkowodne w Polsce” prawie 35 % stanowią gatunki obce dla krajowej ichtiofauny [2]. Szczególnie

Dr inż. M. Stanek, prof. dr hab. inż. B. Janicki, Zakład Biochemii i Toksykologii Środowiska, dr hab. inż. J. Dąbrowski, prof. nadzw., Zakład Ekologii, Wydz. Hodowli i Biologii Zwierząt, Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy, ul. Ks. A. Kordeckiego 20, 85-225 Bydgoszcz, dr inż. Z. Borejszo, Katedra Towaroznawstwa i Badań Żywności, Wydz. Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, ul. Heweliusza 6, 10-957 Olsztyn. Kontakt: janicki@utp.edu.pl

dominujące są gatunki pochodzące ze zlewisk innych mórz, takie jak trawianka (*Percottus glenii*) oraz ryby z rodziny *Gobiidae* (ryby babkowate z rodzaju *Neogobius*), których ekspansję obserwuje się w polskich rzekach od lat 90. XX w. [13]. Jedną z przyczyn rozprzestrzeniania się ryb babkowatych jest ich znaczna tolerancja na czynniki środowiska, co związane jest ze specyficzną historią geologiczną regionu pontokaspjskiego, w którym w okresie zlodowaceń częste były transgresje i regresje morza, a okresowo słone wody morskie mieszały się ze słodkimi wodami z topniejących lodowców [12]. W Polsce babka szczupła występuje od 1997 r. Wówczas w Bugu na odcinku Terespol – Mężenin złowiono około 50 osobników różnej wielkości. W maju 2002 r. stwierdzono obecność tych ryb w Zbiorniku Włocławskim, wiosną 2003 r. w Bugu poniżej Włodawy i w Zalewie Zegrzyńskim, a w roku 2004 gatunek ten dotarł w Wiśle na wysokość 15 km od ujścia do Bałtyku [6, 10]. Niewątpliwie babki w Wiśle i jej dopływach są gatunkami inwazyjnymi. Odżywiają się głównie mięczakami i skorupiakami, ale nie wyklucza się, że zjadają także ikrę, wylęg i narybek rodzimych gatunków. Babka szczupła żywi się pokarmem głównie z dna. Nie jest ona ostatnim ogniwem łańcucha pokarmowego, gdyż zjadana jest przez ryby drapieżne [33].

W kuchniach niektórych krajów europejskich za przysmak uznaje się gatunki małych ryb, jak: słonecznica, stynka czy kiełb. W warunkach polskich taką rybą może stać się babka szczupła. Niewątpliwie jest to ryba mała, nie przekracza kilkunastu centymetrów, lecz łatwo ją oczyścić z łusek i sprawnie wypatroszyć. Równocześnie, mając na uwadze konieczność ochrony rodzimej ichtiofauny w rzekach, należy dążyć do sensownej redukcji obcego gatunku. Efektem zrealizowania tych zamierzeń będzie opracowanie sposobu pozyskiwania (poławiania) babki szczupłej oraz opracowanie technologii jej przetwarzania. Prace technologiczne powinny być jednak poprzedzone określeniem cech morfologicznych ryb i właściwości fizykochemicznych mięsa tego gatunku.

Celem pracy było określenie wybranych parametrów jakości babki szczupłej (*Neogobius fluviatilis* Pallas) – gatunku ryb obcych dla polskiej ichtiofauny.

Material i metody badań

Babki szczupłe odławiano na wędkę w pierwszej i drugiej dekadzie sierpnia 2012 r., po prawobrzeżnej stronie Wisły w okolicach Torunia, na wysokości Portu Drzewnego, przy niskim stanie wody w rzece. Tarło babki szczupłej trwa od maja do lipca [33]. Ryby pobrane do badań w 80 % stanowiły samice, u których spotykano w jajnikach jeszcze od kilku do kilkunastu jaj. Badaniom poddano łącznie 84 ryby. Każdego osobnika mierzono, uzyskując: długość całkowitą (*total length*, TL), długość standardową (*standard length*, SL) – z dokładnością do $\pm 0,1$ cm oraz masę ciała (BW) – z dokładnością do $\pm 0,01$ g.

Do badań fizykochemicznych pobierano nadosiową część mięśnia bocznego wielkiego ze środkowej części tułowia wraz ze skórą. Ze względu na małe ilości mięsa uzyskiwanego z pojedynczych ryb, materiał pochodzący z 3 - 8 sztuk (o zbliżonej długości ciała) łączono w jedną próbkę. Mięso liofilizowano w liofilizatorze typu GT2 (firmy Finn-Aqua, Finlandia) w ciągu 48 h, w temp. -40°C i przy ciśnieniu $6 \cdot 10^{-2}$ mbar, a następnie oznaczano w nim zawartość: wody, białka ogółem, tłuszczu i cholesterolu całkowitego oraz profil kwasów tłuszczowych.

Zawartość wody oznaczono zgodnie z normą PN-ISO 1442:2000 [21].

Zawartość białka oznaczano metodą Kjeldahla zgodnie z normą PN-EN ISO 5983-1 [22].

Zawartość tłuszczu oznaczano zmodyfikowaną metodą Folcha i wsp. [4]. W tym celu odważano około 2 g zliofilizowanej próbki, z której ekstrahowano tłuszcz, używając 30 cm^3 mieszaniny o składzie chloroform – metanol (2 : 1). Po wytrząsaniu, przesączeniu i odparowaniu próbki obliczano procentową zawartość tłuszczu w świeżej masie.

Zawartość cholesterolu oznaczano zmodyfikowaną metodą kolorymetryczną Liebermanna-Burchardta [29] przy użyciu spektrofotometru Shimadzu (Japonia). Odważano ok. 0,25 g zliofilizowanej próbki, dodawano 15 cm^3 chloroformu i ekstrahowano cholesterol. Po przesączeniu roztwór uzupełniano chloroformem w kolbie miarowej do objętości 25 cm^3 . Do 2 cm^3 uzyskanego przesącza dodawano 1 cm^3 bezwodnika octowego i $0,25 \text{ cm}^3$ kwasu siarkowego(VI). Po 5 min mierzono wartość absorbancji i wobec próby zerowej, przy długości fali $\lambda = 620 \text{ nm}$. Wyniki podano w $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ świeżej masy.

Analizę kwasów tłuszczowych w postaci estrów metylowych wykonywano metodą kapilarnej chromatografii gazowej z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (Hewlett-Packard, USA). Temperatura dozownika wynosiła 225°C , detektora – 250°C , a w kolumnie chromatograficznej – 180°C . Objętość dozowanej próbki wynosiła $1 \mu\text{l}$ (split 1 : 50). Oznaczenia prowadzono z użyciem kolumny Supelcowax10 ($30 \text{ m} \times 0,32 \text{ mm} \times 0,25 \mu\text{m}$). Gazem nośnym był hel o prędkości przepływu $1 \text{ cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$. Tłuszcz pochodził z ekstrakcji metodą Folcha i wsp. [4]. Estry metylowe kwasów tłuszczowych wykonywano zgodnie z metodą Peiskera [32] z użyciem mieszaniny chloroform : metanol : kwas siarkowy (100 : 100 : 1 v/v). Estry metylowe kwasów tłuszczowych identyfikowano za pomocą wzorca Supelco 37 component FAME Mix (Supelco, USA).

Obliczano wartości średnie i odchylenia standardowe (s) analizowanych cech. Istotność różnic między wartościami średnimi zawartości tłuszczu i cholesterolu całkowitego w mięsie weryfikowano jednoczynnikową analizą wariancji. Zastosowano test Tukeya (Statistica 8.0, StatSoft, USA), a różnice statystycznie istotne szacowano przy $p \leq 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Wyniki pomiarów morfologicznych babki szczupłej przedstawiono w tab. 1. Ze względu na brak statystycznie istotnych różnic (przy $p \leq 0,05$) pod względem zawartości oznaczanych składników pomiędzy osobnikami różnej płci, dokonano podziału analizowanych ryb tylko na trzy grupy wiekowe (tab. 1).

Tabela 1. Wyniki pomiarów morfologicznych ryb – babki szczupłej (*Neogobius fluviatilis* Pallas) – odłowionych z Wisły.

Table 1. Results of morphological measurements of pontian monkey goby (*Neogobius fluviatilis* Pallas) fish fished in the Vistula River.

Numer grupy Group number	n_i	n	Długość całkowita [cm] Total length [cm]	Długość standardowa [cm] Standard length [cm]	Masa ciała [g] Body weight [g]
			Zakres / Range Wartość średnia / Mean value		
Grupa I Group I	31	4	7,5 - 9,0 8,72	6,4 - 7,9 7,58	4,4 - 9,0 6,85
Grupa II Group II	41	4	9,2 - 11,2 10,11	8,1 - 9,9 8,84	9,1 - 15,3 10,89
Grupa III Group III	12	4	11,9 - 13,6 12,57	10,4 - 11,9 10,98	19,8 - 30,7 23,67

Objaśnienia: / Explanatory notes:

n_i – liczba analizowanych osobników / quantity of individuals analyzed; n – liczba analizowanych prób / number of samples analyzed.

Zawartość tłuszczu i kwasów tłuszczowych w mięsie ryb jest różna i zależy m.in. od gatunku ryby, sposobu odżywiania, miejsca oraz sezonu odłowu, wieku i rozmiaru ryb oraz warunków środowiskowych, tj. lokalizacji geograficznej zbiornika, temperatury, zasolenia oraz stanu czystości wody [11].

Mięso zwierząt rzeźnych zawiera około 18,5 % białka, a w świeżym mięsie ryb zawartość białka jest zróżnicowana i waha się od 13 do 24 %. Wartości te zależą od gatunku, wieku, płci, stanu odżywienia oraz rodzaju tkanki poddanej analizie [24]. W mięsie babki szczupłej stwierdzono różnice statystycznie istotne (przy $p \leq 0,05$) pod względem zawartości białka pomiędzy osobnikami o różnej długości ciała. Wartości te zawierały się w zakresie od 18,52 do 21,06 % (tab. 2). Zbliżone wartości (18,01 %) uzyskali Jankowska i wsp. [8] w mięsie sandacza (*Sander lucioperca* L.) pozyskanego z jeziora Tałty-Ryńskiego.

Tabela 2. Zawartość tłuszczu, cholesterolu, białka oraz wody w mięsie babki szczupłej (*Neogobius fluviatilis* Pallas) odłowionej z Wisły.Table 2. Content of fat, cholesterol, protein, and water in meat of pontian monkey goby (*Neogobius fluviatilis* Pallas) fished in the Vistula River.

Składniki Components	Mięso babki szczupłej (<i>Neogobius fluviatilis</i> Pallas) Meat of pontian monkey goby (<i>Neogobius fluviatilis</i> Pallas)		
	grupa I group I (n = 4)	grupa II group II (n = 4)	grupa III group III (n = 4)
Tłuszcz / Fat [%]	1,04 ^a ± 0,07	1,13 ^a ± 0,06	1,05 ^a ± 0,15
Cholesterol / Cholesterol [mg·100g ⁻¹]	79,94 ^a ± 6,63	74,28 ^a ± 2,88	79,46 ^a ± 4,68
Białko / Protein [%]	21,06 ^a ± 1,18	19,58 ^{a,b} ± 1,21	18,52 ^b ± 0,31
Woda / Water [%]	78,10 ^{a,b} ± 0,12	77,98 ^a ± 0,34	78,74 ^b ± 0,50

Objaśnienia: / Explanatory notes:

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

n – liczba analizowanych prób / number of samples analyzed; wartości zaznaczone w jednym wierszu różnymi literami różnią się statystycznie istotnie na poziomie $p \leq 0,05$ / mean values in the same row and denoted by different letters differ statistically significantly at $p \leq 0.05$.

Zawartość tłuszczu w mięsie ryb zależy w dużym stopniu od gatunku, sezonu ich odłowu oraz dostępności pokarmu, a różnice pod względem ilości tłuszczu w mięsie ryb odłowionych w różnych sezonach mogą wynosić nawet 10 % [14]. Mięso okonia może zawierać od 0,7 do 2,6 % tłuszczu [23]. W mięsie badanej babki szczupłej tłuszcz stanowił od 1,04 do 1,13 % (tab. 2) i nie stwierdzono różnic statystycznie istotnych (przy $p \leq 0,05$) pomiędzy osobnikami o różnej długości ciała. Zbliżone wyniki w mięsie okonia uzyskali González i wsp. [5] (1,39 %), Stanek i wsp. [25] (od 1,06 % wiosną do 1,36 % jesienią). Stanek [27] wykazała, że w mięsie okonia ze Zbiornika Włocławskiego tłuszcz stanowił 0,45 % (samice) i 0,42 % (samce), a w mięsie osobników z jeziora Gopło – 0,40 % (samice) i 0,37 % (samce). Podobne wyniki uzyskano w mięsie okonia odłowionego z jeziora Gopło w 2006 roku [26]. Z kolei w mięsie sandacza z jeziora Tałty-Ryńskiego tłuszcz stanowił 0,96 % [8], a w mięsie sandacza odłowionego z jeziora Beysehır (Turcja) zawartość tłuszczu wahała od 0,58 do 1,26 % [7].

Zawartość cholesterolu w mięsie ryb jest cechą zależną od gatunku [18], ale niezależną od zawartości tłuszczu [20]. W mięsie ryb zależy od wieku, płci, sezonu odłowu [3]. Zawartość cholesterolu w mięsie okonia wynosi 92 mg·100 g⁻¹ (przy zawartości tłuszczu 1,4 %), zaś w mięsie pstrąga tęczowego – 58,6 ÷ 65,0 mg·100 g⁻¹ (przy zawartości tłuszczu 12,6 ÷ 14,3 %) [20]. Według Luzia i wsp. [14] ilość cholesterolu w mięsie ryb waha się od 66,8 do 165 mg·100 g⁻¹. W mięsie babki szczupłej zawartość cholesterolu całkowitego wynosiła od 74,28 do 79,94 mg·100 g⁻¹ (tab. 2) i nie stwierdzono

różnic statystycznie istotnych (przy $p \leq 0,05$) pomiędzy osobnikami o różnej długości ciała. W mięsie okonia ze Zbiornika Włocławskiego zawartość cholesterolu wynosiła od 33,34 mg·100 g⁻¹ wiosną do 43,00 mg·100 g⁻¹ jesienią [25] i od 46,60 mg·100 g⁻¹ (samce) do 49,60 mg·100 g⁻¹ (samice) [27]. Stanek i wsp. [26] wykazali, że zawartość cholesterolu wahała się od 49,63 mg·100 g⁻¹ (samce) do 57,44 mg·100 g⁻¹ (samice).

Tłuszcz ryb jest bogatym źródłem wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, w tym głównie kwasu eikozapentaenowego (EPA) i dokozaheksaenowego (DHA) [15, 17]. Kwasy te, w przeciwieństwie do kwasów tłuszczowych nasyconych i jednonienasyconych, nie są syntetyzowane w organizmie człowieka i większości zwierząt. Odgrywają one bardzo ważną rolę w wielu procesach biochemicznych, tj. w syntezie prostaglandyn, prostacyklin, w transporcie i utlenianiu cholesterolu [1]. Mięso ryb słodkowodnych zawiera duże ilości C18 PUFA i mniejsze ilości *n*-3 PUFA oraz DHA w porównaniu z organizmami morskimi. Ryby słodkowodne są bogatym źródłem kwasów PUFA z szeregu *n*-6, szczególnie kwasu linolowego (C18:2 *n*-6) oraz arachidonowego (C20:4 *n*-6) [16, 19].

W badaniach własnych, wśród oznaczonych kwasów tłuszczowych w mięsie babki stwierdzono obecność kwasów: nasyconych (SFA) (C12:0, C14:0, C15:0, C16:0, C17:0, C18:0, C20:0), jednonienasyconych (MUFA) (C14:1 *n*-5, C16:1 *n*-7, C18:1 *n*-9, C18:1 *n*-7, C20:1 *n*-9, C20:1 *n*-7) oraz wielonienasyconych (PUFA) (C18:2 *n*-6, C18:3 *n*-3, C18:3 *n*-6, C18:4 *n*-3, C20:2 *n*-6, C20:4 *n*-6, C20:5 *n*-3-EPA, C22:5 *n*-3, C22:6 *n*-3-DHA).

W mięsie babki szczupłej największy udział miały kwasy PUFA (od 39,90 do 40,80 % wszystkich kwasów tłuszczowych), zaś najmniejszy – MUFA (od 25,98 do 28,78 %) (tab. 3). Największy udział w grupie SFA stanowił kwas C16:0, wśród MUFA C18:1 *n*-9, a spośród PUFA w największych ilościach oznaczono kwas C20:5 *n*-3. Były to wyniki zbliżone do rezultatów analizy mięsa okonia pozyskanego z różnych zbiorników. W mięsie okonia (*Perca fluviatilis*) odłowionego z jeziora Dgał Wielki (Pojezierze Mazurskie) zawartość SFA, MUFA i PUFA wynosiły odpowiednio: 27,78, 29,29 i 42,02 % [9]. Podobnie jak w mięsie babki szczupłej, w największych ilościach oznaczono kwas C16:0 (20,13 %), C18:1 *n*-9 (13,74 %) i C20:5 *n*-3 (7,29 %). González i wsp. [5] badali jakość mięsa okonia żółtego (*Perca flavescens*) odłowionego z Wielkich Jezior (USA). Wykazali, że głównym kwasem tłuszczowym był kwas DHA, który stanowił 32,3 % sumy kwasów tłuszczowych. Ryby słodkowodne wykazują zdolność syntezy kwasu arachidonowego (C20:4 *n*-6) i dokozaheksaenowego (C22:6 *n*-3) w procesie enzymatycznej desaturacji i elongacji odpowiednio kwasu linolowego (C18:2 *n*-6) i α -linolenowego (C18:3 *n*-3) [28].

Tabela 3. Zawartość kwasów tłuszczowych w mięsie babki szczupłej (*Neogobius fluviatilis* Pallas) odłowionej z Wisły [% sumy kwasów tłuszczowych].Table 3. Content of fatty acids in meat of pontian monkey goby (*Neogobius fluviatilis* Pallas) fished in the Vistula River [% of total acids].

Kwasy tłuszczowe Fatty acids	Mięso babki szczupłej (<i>Neogobius fluviatilis</i> Pallas) Meat of pontian monkey goby (<i>Neogobius fluviatilis</i> Pallas)		
	grupa I group I	grupa II group II	grupa III group III
SFA	($\bar{x} \pm s / SD$)		
C12:0	0,14 ^a ± 0,06	0,10 ^a ± 0,04	0,11 ^a ± 0,03
C14:0	2,02 ^a ± 0,09	2,34 ^{a,b} ± 0,23	2,48 ^b ± 0,32
C15:0	0,59 ^a ± 0,05	0,77 ^a ± 0,21	0,76 ^a ± 0,07
C16:0	19,34 ^a ± 0,60	19,07 ^a ± 0,45	18,58 ^a ± 0,69
C17:0	0,85 ^a ± 0,09	0,88 ^a ± 0,09	0,84 ^a ± 0,06
C18:0	7,16 ^a ± 0,40	6,76 ^a ± 0,01	6,83 ^a ± 0,19
C20:0	0,35 ^a ± 0,09	0,34 ^a ± 0,08	0,27 ^a ± 0,04
Σ SFA	30,42 ^a ± 0,94	33,98 ^a ± 4,29	31,66 ^a ± 2,91
MUFA	($\bar{x} \pm s / SD$)		
C14:1 <i>n</i> -5	0,25 ^a ± 0,10	0,15 ^a ± 0,07	0,70 ^a ± 0,49
C16:1 <i>n</i> -7	6,71 ^a ± 0,44	7,57 ^a ± 1,16	8,21 ^a ± 0,95
C18:1 <i>n</i> -9	13,78 ^a ± 0,70	13,29 ^a ± 0,30	13,24 ^a ± 1,08
C18:1 <i>n</i> -7	7,16 ^a ± 0,70	7,86 ^a ± 0,20	7,35 ^a ± 0,21
C20:1 <i>n</i> -9	0,32 ^a ± 0,08	0,34 ^a ± 0,08	0,31 ^a ± 0,12
C20:1 <i>n</i> -11	0,51 ^a ± 0,12	0,52 ^a ± 0,11	0,42 ^a ± 0,18
Σ MUFA	28,78 ^a ± 1,22	25,98 ^a ± 4,72	28,45 ^a ± 4,89
PUFA	($\bar{x} \pm s / SD$)		
C18:2 <i>n</i> -6	7,34 ^a ± 0,92	7,68 ^a ± 0,49	7,17 ^a ± 0,56
C18:3 <i>n</i> -3	0,53 ^a ± 0,07	0,54 ^a ± 0,07	0,51 ^a ± 0,04
C18:3 <i>n</i> -6	4,02 ^a ± 0,52	4,50 ^a ± 0,30	4,34 ^a ± 0,87
C18:4 <i>n</i> -3	1,07 ^a ± 0,08	1,38 ^b ± 0,18	1,52 ^b ± 0,13
C20:2 <i>n</i> -6	0,31 ^a ± 0,06	0,10 ^b ± 0,01	0,09 ^b ± 0,03
C20:4 <i>n</i> -6	5,07 ^a ± 0,79	4,95 ^a ± 1,32	5,39 ^a ± 1,05
C20:5 <i>n</i> -3	16,30 ^a ± 0,63	14,39 ^{a,b} ± 0,66	14,03 ^b ± 1,43
C22:5 <i>n</i> -3	3,29 ^a ± 0,25	3,53 ^a ± 0,49	3,21 ^a ± 0,57
C22:6 <i>n</i> -3	2,88 ^a ± 0,51	2,99 ^a ± 1,58	3,64 ^a ± 0,82
Σ PUFA	40,80 ^a ± 1,66	40,05 ^a ± 1,97	39,90 ^a ± 2,30
	($\bar{x} \pm s / SD$)		
Σ <i>n</i> -3	24,07 ^a ± 0,97	22,83 ^a ± 1,88	22,91 ^a ± 2,13
Σ <i>n</i> -6	16,73 ^a ± 0,69	17,23 ^a ± 1,43	16,98 ^a ± 0,27
<i>n</i> -3/ <i>n</i> -6	1,44 ^a ± 0,03	1,33 ^a ± 0,18	1,35 ^a ± 0,11
	($\bar{x} \pm s / SD$)		
AI	0,39 ^a ± 0,02	0,43 ^a ± 0,02	0,42 ^a ± 0,02
TI	0,31 ^a ± 0,02	0,32 ^a ± 0,02	0,32 ^a ± 0,03

Objaśnienia: / Explanatory notes:

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

wartości średnie zaznaczone w jednym wierszu różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy poziomie istotności $p \leq 0,05$ / mean values in the same row and denoted by different letters differ statistically significantly at $p \leq 0.05$.

W analizie właściwości prozdrowotnych mięsa ryb ważne jest określenie stosunku $n-3$ PUFA do $n-6$ PUFA. Zazwyczaj w przypadku ryb słodkowodnych proporcja $n-3/n-6$ mieści się w zakresie od 1 do 4 [28]. W mięsie babki szczupłej współczynnik zawierał się w zakresie od 1,33 do 1,44 (tab. 3) i nie stwierdzono różnic statystycznie istotnych (przy $p \leq 0,05$) w poziomie tego wskaźnika pomiędzy osobnikami o różnej długości ciała. Stosunek $n-3/n-6$ w mięsie okonia ze Zbiornika Włocławskiego, z Wielkich Jezior Mazurskich, z jeziora Dgał Wielki oraz Wielkich Jezior (USA) wynosił odpowiednio: od 0,57 do 0,62 [25], 2,75 [15], od 2,22 do 4,56 [9] i 2,72 [5]. W mięsie sandacza odłowionego z jeziora Beysehir (Turcja) wartość tego wskaźnika wahała się od 1,49 (wiosną) do 0,72 (latem) [7]. W mięsie sandacza z jeziora Tałty-Ryńskiego stosunek $n-3/n-6$ wynosił 3,25 [8].

Jakość tłuszczu określają również dwa dodatkowe indeksy: aterogeniczny (AI) oraz trombogeniczny (TI). Ich wartość wynika z zawartości poszczególnych grup kwasów tłuszczowych i wskazują na wartość dietetyczną lipidów i ich potencjalny wpływ na powstawanie choroby wieńcowej u człowieka [30]. W próbach pobranych z mięsa babki szczupłej wartości AI i TI wynosiły odpowiednio: od 0,39 do 0,42 i od 0,31 do 0,32 (tab. 3). W przypadku obu tych parametrów nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic (przy $p \leq 0,05$) pomiędzy osobnikami o różnych długościach ciała. W mięsie dziko żyjącego okonia z jeziora Dgał Wielki (Pojezierze Mazurskie) indeks AI wynosił 0,38, zaś wskaźnik TI był niższy (0,24) [31].

Wyniki analiz mięsa babki szczupłej wykazały jego cenne walory odżywcze ze względu na małą zawartość tłuszczu i cholesterolu oraz duży udział kwasów wielonienasyconych, w tym korzystnego dla zdrowia kwasu EPA. Wstępne badania potwierdziły założenie, że gatunek ten może być pozyskiwany na szerszą skalę ze względu na wartościowe składniki odżywcze mięsa.

Wnioski

1. Mięso babki szczupłej (*Neogobius fluviatilis*), będące przedmiotem badań, było bardzo zbliżone pod względem odżywczym do innych gatunków ryb drapieżnych powszechnie spożywanych w Polsce, np. okoni (*Perca fluviatilis* i *Perca flavescens*) czy sandacza (*Sander lucioperca* L.).
2. Pomimo drobnych rozmiarów i niewielkiej zawartości tłuszczu (ok. 1 %) mięso babki szczupłej może stanowić wartościowy składnik diety, gdyż wśród oznaczonych kwasów tłuszczowych największy udział stanowiły cenne dla zdrowia kwasy PUFA (w tym kwas eikozapentaenowy – C20:5 $n-3$).

Praca badawcza finansowana ze środków na badania statutowe Zakładu Biochemii i Toksykologii Środowiska Uniwersytetu Technologiczno-Przyrodniczego w Bydgoszczy.

Literatura

- [1] Bieniarz K., Kołdras M.: Kwasy tłuszczowe i cholesterol w mięsie ryb. Komun. Ryb., 2000, **6**, 25-29.
- [2] Brylińska M.: Ryby słodkowodne Polski. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2000.
- [3] Donmez M.: Determination of fatty acid compositions and cholesterol levels of some freshwater fish living in Porsuk Dam, Turkey. Chem. Natural Comp., 2009, **1 (45)**, 14-17.
- [4] Folch J., Lees M., Sloane Stanley G.H.: A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J. Biol. Chem., 1957, **226**, 497-509.
- [5] González S., Flick G.J., O'Keefe S.F., Duncan S.E., McLean E., Craig S.R.: Composition of farmed and wild yellow perch (*Perca flavescens*). J. Food Comp. Anal., 2006, **19**, 720-726.
- [6] Grabowska J., Witkowski A., Kotusz J.: Inwazyjne gatunki ryb w polskich wodach – zagrożenie dla rodzimej ichtiofauny. Użytkownik Rybacki – Nowa Rzeczywistość, PZW, 2008, ss. 90-96.
- [7] Guler G.O., Aktumsek A., Cital O.B., Arslan A., Torlak E.: Seasonal variations on total fatty acid composition of fillets of zander (*Sander lucioperca*) in Beyşehir Lake (Turkey). Food Chem., 2007, **103**, 1241-1246.
- [8] Jankowska B., Zakęś Z., Żmijewski T., Szczepkowski M.: Fatty acid profile and meat utility of wild and cultured zander, *Sander lucioperca* (L.). EJPAU., 2003, **6 (1)**, 1-10.
- [9] Jankowska B., Zakęś Z., Żmijewski T., Szczepkowski M.: Fatty acids profile of muscles, liver and mesenteric fat in wild and reared perch (*Perca fluviatilis* L.). Food Chem., 2010, **118**, 764-768.
- [10] Kakareko T., Żbikowski J., Żytkowicz J.: Diet partitioning in summer of two syntopic neogobies from two different habitats of the Lower Vistula River, Poland. J. Appl. Ichthyol., 2005, **21**, 292-295.
- [11] Kalyoncu L., Kissal S., Aktumsek A.: Seasonal changes in the total fatty acids composition of *Vimba vimba* tenella (Nordmann, 1840) in Eğirdir Lake, Turkey. Food Chem., 2009, **116**, 728-730.
- [12] Kostrzewa J., Grabowski M.: Babka szczupła, *Neogobius fluviatilis* (Pallas, 1811), w Wiśle – fenomen inwazji pontokaspjskich Gobiidae. Przegl. Zool., 2002, **3-4**, 235-242.
- [13] Kostrzewa J., Grabowski M., Zięba G.: New invasive fish species in polish waters. Arch. Pol. Fish., 2004, **12 (2)**, 21-34.
- [14] Luzia L.A., Sampaio G.R., Castellucci C.M.N., Torres E.A.F.S.: The influence of season on the lipid profiles of five commercially important species of Brazilian Fish. Food Chem., 2003, **83**, 93-97.
- [15] Łuczyńska J., Borejszo Z., Łuczyński M.J.: The composition of fatty acids in muscles of six freshwater fish species from Mazurian Great Lakes (north-eastern Poland). Arch. Pol. Fish., 2008, **16 (2)**, 167-178.
- [16] Łuczyńska J., Tońska E., Borejszo Z.: Zawartość makro- i mikroelementów oraz kwasów tłuszczowych w mięśniach łososia (*Salmo salar* L.), pstrąga tęczowego (*Oncorhynchus mykiss* Walb.) i karpia (*Cyprinus carpio* L.). Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2011, **3 (76)**, 162-172.
- [17] Marciniak-Łukasiak K.: Rola i znaczenie kwasów tłuszczowych omega-3. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2011, **6 (79)**, 24-35.
- [18] Mathew S., Ammu K., Viswanathan Nair P.G., Devadasan K.: Cholesterol content of Indian fish and shellfish. Food Chem., 1999, **66**, 455-461.
- [19] Özogul Y., Özogul F., Alagoz S.: Fatty acids profiles and fat contents of commercially important seawater and freshwater fish species of Turkey: A comparative study. Food Chem., 2007, **102**, 217-223.
- [20] Piironen V., Toivo J., Lampi A.-M.: New data for cholesterol contents in meat, fish, milk, eggs and their products consumed in Finland. J. Food Comp. Anal., 2002, **15**, 705-713.
- [21] PN-EN ISO 1442:2000. Oznaczanie zawartości wody metodą wagową.

- [22] PN-EN ISO 5983-1. Oznaczanie zawartości azotu i obliczanie zawartości białka ogólnego. Metoda Kjeldahla.
- [23] Sikorski Z.E.: Ryby i bezkręgowce morskie. Pozyskiwanie, właściwości i przetwarzanie. WNT, Warszawa 2004, ss. 79-80.
- [24] Sikorski Z.E.: Chemia żywności. Lipidy. WNT, Warszawa 2007, ss. 73-144.
- [25] Stanek M., Dąbrowski J., Roślewska A., Kupcewicz B., Janicki B.: Impact of different fishing seasons on the fatty acids profile, cholesterol content, and fat in the muscles of perch, *Perca fluviatilis* L. from the Włocławski Reservoir (central Poland). Arch. Pol. Fish., 2008, **16** (2), 213-220.
- [26] Stanek M., Dąbrowski J., Roślewska A., Janicki B.: Estimation of content of fat and cholesterol in the muscles of females and males of perch (*Perca fluviatilis*) from Gopło Lake. Folia Pomer. Univ. Technol. Stein., 2009, **271** (10), 5-10.
- [27] Stanek M.: Zawartość tłuszczu i cholesterol w mięsie wybranych gatunków ryb z centralnej Polski. Komun. Ryb., 2010, **2**, 5-7.
- [28] Steffens W., Wirth M.: Freshwater fish – an important source of n-3 polyunsaturated fatty acids: a review. Arch. Pol. Fish., 2005, **13** (1), 5-16.
- [29] Strzeżek J., Wołos A.: Steroidy. Ćwiczenia z biochemii. Wyd. ART, Olsztyn 1997, s. 121.
- [30] Ulbricht T.L.V., Southgate D.A.T.: Coronary disease seven dietary factors. Lancet, 1991, **338**, 985-992.
- [31] Zakęś Z., Jankowska B., Żmijewski T., Szczepkowski M.: Porównanie składu chemicznego wybranych części ciała dzikiego i hodowlanego okonia. Komun. Ryb., 2010, **2**, 22-24.
- [32] Żegarska Z., Jaworski J., Borejszo Z.: Evaluation of the Peisker modified method for extracting methyl esters from fatty acids. Acta Acad. Agric. Techno. Olsten., 1991, **24**, 25-33.
- [33] Żukov P.I.: Ryby Belorussii. Izd. Nauka i Technika, Mińsk, 1965, ss. 394-397.

SELECTED MEAT QUALITY PARAMETERS OF PONTIAN MONKEY GOBY (*NEOGOBIUS FLUVIATILIS* PALLAS) FISHED IN THE VISTULA RIVER

S u m m a r y

The objective of the study was to determine some parameters of the meat quality of pontian monkey goby (*Neogobius fluviatilis* Pallas), an alien fish species in the Polish ichthyofauna, fished in the Vistula River. The fish were divided into age-based groups. Muscle samples (flesh and skin) for analyses were taken from the large side muscle of the fish body above the lateral line. The content of protein, fat, fatty acids, cholesterol, and water were determined in the meat. The mean content of fat was between 1. and 1.13 % and that of total cholesterol between 74.28 and 79.94 mg·100 g⁻¹. In the case of those two parameters, no statistically significant differences ($p \leq 0.05$) were reported among the fish individuals showing different body length. Statistically significant differences ($p \leq 0.05$) were determined in the mean content values of protein (18.52 - 21.06 %) and water (77.98 - 78.74 %) in the meat of fish of different body length. The percent content of PUFA was the highest (from 39.90 to 40.80 % of all the fatty acids); the content of the MUFA determined was the lowest (from 25.98 to 28.78 %). In the group of SFA, the content of C16:0 acid was the highest, in the group of MUFA, the highest content was that of C18:1 *n*-9, and in the group of PUFA that of C20:5 *n*-3. The *n*-3 / *n*-6 ratio ranged from 1.33 and 1.44 and no statistically significant differences (at $p \leq 0.05$) were found between the individuals of different body length. The AI and TI values ranged from 0.39 to 0.42 and from 0.31 to 0.32, respectively.

Key words: pontian monkey goby, morphological characteristics, meat, protein, fat, fatty acids, cholesterol ☒

TOMASZ KRZYWIŃSKI, ZDZISŁAW DOMISZEWSKI,
GRZEGORZ TOKARCZYK, GRZEGORZ BIENKIEWICZ

OCENA PRZYDATNOŚCI MIĘSA RYB MAŁOCENNYCH DO PRODUKCJI ŻYWNOSCI PRZEKĄSKOWEJ

Streszczenie

Płóć (*Rutilus rutilus*) jest marginalnie wykorzystywana w przemyśle rybnym. Gospodarczo zaliczana jest do ryb małowartościowych pomimo wartości odżywczej jaką charakteryzuje się jej mięso. Celem niniejszej pracy było określenie wpływu dodatku 10 i 20 % mięsa z płoci odkostnionego mechanicznie (MOM), surowego i przemywanego, do ciasta pszennego, na jego przydatność do produkcji przekąski przypominającej tradycyjne solone paluszki.

W paluszkach oznaczono zawartość białka i tłuszczu, profil kwasów tłuszczowych, zawartość błonnika pokarmowego rozpuszczalnego (SDF) i nierozpuszczalnego (IDF) oraz skrobi opornej. Oznaczono również twardość i kruchość paluszków po wypieku. Dodatek MOM z płoci do ciasta wpłynął na zwiększenie zawartości białka ogólnego w paluszkach od około 15 do 30 % (w zależności od wariantu doświadczenia) w porównaniu z próbą kontrolną. Spowodował on również zwiększenie zawartości tłuszczu w produkcie przekąskowym, przy czym najwięcej tłuszczu było w wariantach paluszków z udziałem surowego MOM (odpowiednio: 16,7 i 16,4 %). Zarówno dodatek surowego, jak i przemywanego MOM wpłynął na wzbogacenie paluszków w kwasy tłuszczowe z rodziny *n-3* i *n-6*. We frakcji lipidowej paluszków dominowały głównie kwasy: oleinowy (C 18:1 *n-9*) – średnio 56 %, linolowy (C 18:2 *n-6*) – średnio 20 % oraz α -linolenowy (C 18:3 *n-3*) – średnio 10 %. Podczas wypieku paluszków nastąpił przyrost zawartości skrobi opornej od 7,7 do 17,0 % (w zależności od wariantu doświadczenia). Paluszki o wyższej jakości (zwłaszcza pod względem tekstury) uzyskano z przemywanego MOM, jednak zarówno surowe, jak i przemywane mięso odkostnione mechanicznie z płoci stanowi dobry surowiec do produkcji wyrobów przekąskowych o dużej zawartości białka i korzystnym profilu kwasów tłuszczowych.

Słowa kluczowe: ryby małowartościowe, płóć, żywność przekąskowa, kwasy tłuszczowe *n-3* i *n-6*, skrobia oporna, błonnik pokarmowy, kruchość, twardość

Dr inż. T. Krzywiński, dr inż. G. Tokarczyk, Katedra Technologii Żywności, dr inż. Z. Domiszewski, dr inż. G. Bienkiewicz, Zakład Towaroznawstwa i Oceny Jakości, Wydz. Nauk o Żywności i Rybactwa, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, ul. Papieża Pawła VI 3, 71-459 Szczecin.
Kontakt: krzywy-t@o2.pl

Wprowadzenie

Spożywanie ryb w poszczególnych krajach uwarunkowane jest względami kulturowymi, dietą oraz zwyczajami i tradycjami konsumenckimi [22, 25]. W Polsce ryby spożywa się nadal okazjonalnie i są to głównie ryby morskie. Wyjątkowo mała jest konsumpcja ryb słodkowodnych. Najczęściej jest to karp spożywany głównie w okresie świąt Bożego Narodzenia [31]. Ryby słodkowodne odławiane z zalewów są jednak atrakcyjnym produktem, mogącym poszerzyć asortyment wyrobów przemysłu rybnego. Połowy ryb słodkowodnych rozkładają się dość równomiernie w cyklu rocznym, chociaż występują okresowe zakazy połowów, zwłaszcza w czasie tarła. Nie dotyczy to jednak ryb gatunków uznawanych za mało wartościowe pod względem technologicznym lub przemysłowym, które określane są jako „małocenne” lub jako „chwast rybny” [35]. Już w latach 90. XX w. FAO podejmowało temat wykorzystywania przez przetwórstwo rybne mniej cennych gatunków ryb i zastępowania nimi gatunków tradycyjnych, dziś mało już dostępnych [9].

Gatunki takich ryb, jak: płoć (*Rutilus rutilus*), krąp (*Blicca bjoerkna*), rozpiór (*Abramis ballerus*), jazgarz (*Gymnocephalus cernuus*) czy ukleja (*Alburnus alburnus*), określane potocznie „drobnicą”, stanowią od 25 do 40 % masy odłowów całkowitych w polskich jeziorach przez gospodarstwa rybackie. Dotychczas nie ma technologii racjonalnego wykorzystania tego rodzaju surowca w Polsce [21].

Mięso płoci charakteryzuje się dużą zawartością białka (ok. 20 g/100 g mięsa) oraz niską kalorycznością (ok. 94 kcal/100 g mięsa), co wiąże się z małą ilością tłuszczu (średnio 1,5 g/100 g mięsa). Dodatkowo zawiera dużo potasu (330 mg/100 g mięsa), fosforu (252 mg/100 g mięsa) oraz wapnia (96 mg/100 g mięsa) [4]. Skład i profil kwasów tłuszczowych również może decydować o jej przydatności. Frakcja lipidowa mięsa płoci zawiera ok. 30 % PUFA, w tym ok. 11 % to DHA (kwas dokozaheksaenowy), a ok. 8 % to EPA (kwas eikozapentaenowy). W przeliczeniu na 100 g mięsa ilość kwasu DHA wynosi ok. 150 mg, a kwasu EPA ok. 110 mg, jakkolwiek przed okresem tarła może wynieść odpowiednio: ok. 400 mg i 250 mg [2]. Dodatkowo za wykorzystaniem płoci przemawia powszechna dostępność w wodach słodkich (jeziora, stawy, rzeki), łatwość w dostawie w zależności od regionu kraju, niska cena, brak limitów połowowych oraz brak okresów ochronnych podczas tarła. Jednym ze sposobów wykorzystania płoci może być produkcja farszu otrzymanego metodą mechanicznej separacji (MOM), umożliwiającej dokładne oddzielenie mięsa od skóry, kości i ości z dalszym przeznaczeniem do wykorzystania w przemyśle rybnym. Płoć (sortyment S i M) charakteryzuje się dużą wydajnością tusz wynoszącą ponad 70 % w stosunku do masy całej ryby. Po separacji tusz wydajność farszu sięga ok. 65 %, co stanowi 48 % w stosunku do całej masy ryby [15]. Uzyskane MOM można poddawać różnym modyfikacjom fizycznym np. przemywaniu, dzięki czemu usuwa się białka sarkoplazmatyczne, hemoglobinę oraz enzymy własne. Zabieg ten w znacznym stopniu poprawia barwę

farszu, który może być wykorzystany do produkcji wyrobów przekąskowych. Do najczęściej spożywanych i lubianych przekąsek zaliczyć można chipsy ziemniaczane, chrupki oraz solone paluszki [17].

Celem pracy było określenie wpływu dodatku 10 i 20 % MOM surowego i przemywanego z płoci do ciasta drożdżowego na jego przydatność do produkcji przekąski przypominającej tradycyjne solone paluszki.

Materialy i metody badań

Płocie (*Rutilus rutilus* L.) odłowiono w Zalewie Szczecińskim i dostarczono do laboratorium w stanie zalodowanym, w skrzynkach ze spienionego polistyrenu (Atlantic Styro A/S) o pojemności 25 kg, zgodnie z normą PN-74/A-86761 [26], w ciągu 7 godzin od momentu wyłowienia. Po odlodowaniu i odrzuceniu osobników niewymiarowych lub uszkodzonych mechanicznie, płoć odgławiano cięciem prostym, patroszono i myto. Po opłukaniu w bieżącej wodzie tusze układano na perforowanych tacach grzbietem do góry i pozostawiano na 20 min w celu odcieknięcia. Po wykonaniu tych czynności tusze przepuszczano przez separator bębnowy typu NF 13DX (Bibun, Japonia) o średnicy otworów w bębnie 4 mm, a następnie poddawano doczyszczaniu w separatorze ślimakowym (Steinerze) typu SUM 420 (Bibun, Japonia) o średnicy otworów w sicie 2,5 mm. W ten sposób otrzymano czyste mechanicznie odkostnione mięso (MOM). Przemycanie MOM wykonywano dwukrotnie wodą wodociągową o temp. $5 \div 7$ °C w stosunku wagowym 1 : 3 (MOM : woda) w ciągu 10 min, a następnie w celu usunięcia nadmiaru wody wirowano w wirówce koszonej typu 16 x 10 KEW (Bibun, Japonia).

Przekąskę otrzymywano poprzez połączenie surowego lub przemywanego MOM z płoci (w ilości 10 i 20 %) z mąką pszenną (część mąki pszennej w zależności od wariantu zastąpiono odpowiednią ilością MOM) oraz dodatkiem drożdży (2 %), proszku do pieczenia (2 %), soli (1,5 %) i oleju (13 %). W celu uzyskania odpowiedniej konsystencji do produktu dodawano wodę. Wszystkie składniki mieszano i wytłaczano w wytłaczarce do makaronów typu P3 (La Monferrina, Włochy), ze zmodyfikowaną matrycą do wytłaczania. Po wytłoczeniu paluszków ciasto poddawano rozrostowi w temp. 32 °C przez 15 min, w komorze Unox S.P.A., typ XL 091 (Włochy), a następnie wypiekano w piecu elektrycznym Unox S.P.A., typ XF (Włochy) w temp. 220 °C przez 7 min. Wykonano 5 wariantów modelowych paluszków.

W paluszkach oznaczano zawartość: wody metodą suszarkową, azotu ogólnego – metodą Kjeldahla oraz tłuszczu całkowitego – metodą ekstrakcji eterem wg AOAC 1990 [1]. Zawartość błonnika pokarmowego oznaczano zgodnie z PN-A-79011-15 [27], natomiast skrobi opornej – jako frakcję błonnika pokarmowego nierozpuszczalnego według metody Champa [3]. Określano również skład i profil kwasów tłuszczowych w wypieczonych paluszkach metodą chromatografii gazowej według metodyki opisaną przez Domiszewskiego i Bienkiewicza [6]. Interpretację jakościową chroma-

togramów prowadzono porównując czas retencji poszczególnych estrów metylowych kwasów tłuszczowych (EMKT) badanej próbki z czasem retencji analogicznych wzorców EMKT firmy Sigma (Lipid Standard). Wszystkie analizy fizykochemiczne wykonywano w trzech powtórzeniach. Twardości i kruchość otrzymanych przekąsek oznaczano za pomocą aparatu Texture Analyser – XT2/25[®] firmy Stable Micro Systems[®] (Anglia), sprzężonego z komputerem PC za pomocą własnej karty rozszerzeń. Zastosowano test łamliwości przekąsek o następujących warunkach: prędkość trzpienia w czasie testu: 1,0 mm·s⁻¹, dystans pracy trzpienia: 5 mm, wartość progowa: 0,005 N, próbkowanie: 200 pkt·s⁻¹. Wykonano 8 - 10 pomiarów każdej próby. Twardość określano jako maksymalną siłę potrzebną do złamania produktu (wierzchołek pik), natomiast kruchość jako pierwszy górny wierzchołek obciążenia podczas ściskania próby w momencie naruszania jej struktury [19, 34].

Wyniki opracowano statystycznie za pomocą programu Statistica 9.0, testem Tukeya HSD, na poziomie istotności $p \leq 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Dodatek surowego MOM znacząco wpłynął na zwiększenie zawartości białka w wypieczonych paluszkach w porównaniu z próbą kontrolną (tab. 1). Natomiast paluszki z dodatkiem przemywanego MOM charakteryzowały się nieznacznie mniejszą zawartością białka w gotowym produkcie w porównaniu z pozostałymi próbkami z dodatkiem MOM. Spowodowane to było usunięciem białek sarkoplazmatycznych w czasie przemywania MOM z płoci [16]. Największą zawartością białka charakteryzował się wariant C (13,75 %) oraz E (13,69 %). Dodatek 20 % surowego oraz przemywanego MOM (wariant C i E) zwiększył zawartość białka o ponad 30 % w porównaniu z próbą kontrolną. Z kolei dodatek 10 % surowego MOM (wariant B) do ciasta zwiększył zawartość białka w paluszkach o ok. 20 %, a 10-procentowy dodatek przemywanego MOM (wariant D) – o ponad 15 %. Yu i Kaur [36] wykorzystywali mięso trzozona indyjskiego (*Decapterus russelli* Rupp) w ilości 16 % do wytwarzania biszkoptów rybnych. Tak wzbogacone biszkopty charakteryzowały się dużą zawartością białka (21,5 %) oraz tłuszczu (23,9 %). Z kolei Wianecki [33] wytwarzał przekąski skrobiowe wzbogacone w mięso ryb, wykorzystując ekstruzję ciepłą (pośrednią). Stosował MOM z płoci, leszcza oraz dorsza w ilości 30 % z nośnikami skrobiowymi. Autor stwierdził, że dodatek mięsa ryb powodował wzrost zawartości białka w gotowych ekstrudatach od kilku do kilkudziesięciu procent. Gotowe ekstrudaty z dodatkiem MOM z płoci zawierały 10,42 % białka, z MOM z leszcza – 9,80 % a z MOM dorsza – 9,73 %. Kołakowska i Kołakowski [14] sugerują, że białko ryb z powodzeniem może być wykorzystywane do uzupełniania składu białek mniej wartościowych, np. roślinnych. King [12] podkreśla szerokie zastosowanie mięsa odkostnionego z ryb małowartościowych do produkcji ciasteczek rybnych jako przekąski zawierającej pełnowartościowe białko.

Tabela 1. Skład chemiczny paluszków wypieczonych z ciasta pszennego z dodatkiem MOM oraz skład użytych surowców podstawowych [%].
Table 1. Chemical composition of sticks baked from wheat flour dough with MSR and composition of basic components used [%].

Wariant Variant	Białko Protein	Tłuszcz Fat	Woda Water	Zw. miner. w postaci popiołu Mineral compounds in form of ash	Błonnik pokarmowy Dietary fibre			Błonnik ogółem Total fibre
					Rozpuszczalny Soluble (SDF)	Nierozpuszczalny Insoluble (IDF)	Skrobia oporna Resistant starch	
A	9,22 ^a ± 0,12	12,61 ^a ± 0,13	5,37 ^a ± 0,14	3,02 ^a ± 0,28	0,60 ^a ± 0,04	3,10 ± 0,02	0,32 ± 0,04	4,02 ± 0,01
B	11,45 ^b ± 0,11	16,73 ± 0,24 ^b	4,57 ± 0,10	3,20 ± 0,30 ^b	0,68 ± 0,02 ^b	2,35 ^a ± 0,03	0,27 ^{ab} ± 0,02	3,30 ± 0,02
C	13,75 ^{bc} ± 0,18	16,45 ^b ± 0,38	5,40 ± 0,24 ^a	3,22 ± 0,07 ^b	0,56 ± 0,02 ^a	2,90 ± 0,03 ^b	0,26 ^{ab} ± 0,04	3,72 ± 0,02
D	11,18 ^b ± 0,07	12,50 ^a ± 0,51	5,24 ± 0,11 ^a	3,05 ^a ± 0,12	0,62 ^a ± 0,02	2,92 ± 0,03 ^b	0,28 ^a ± 0,03	3,82 ^a ± 0,01
E	13,69 ^{bc} ± 0,40	11,11 ± 0,03	5,29 ^a ± 0,16	3,29 ^b ± 0,05	0,58 ^a ± 0,04	2,95 ^b ± 0,02	0,29 ^a ± 0,02	3,82 ^a ± 0,02
MOM MSR	19,5 ^b ± 0,29	2,12 ± 0,50	76,8 ± 0,15	1,27 ± 0,05	-	-	-	-
MOM przemycane Washed MSR	14,5 ^{bcd} ± 0,36	1,66 ± 0,13	83,8 ± 0,23	0,55 ^c ± 0,02	-	-	-	-
Mąka pszenna Wheat flour	9,15 ^a ± 0,08	-	14,37 ± 0,15	0,53 ^c ± 0,02	0,42 ± 0,04	2,95 ^b ± 0,04	0,24 ^b ± 0,02	3,61 ± 0,01

Objaśnienia: / Explanatory notes:

A – próba kontrolna (bez dodatku MOM) / Control sample (without MSR added); B – paluszki z dodatkiem 10 % MOM / sticks with 10 % of MSR added; C – paluszki z dodatkiem 20 % MOM / sticks with 20% of MSR added; D – paluszki z dodatkiem 10 % przemycanego MOM / sticks with 10% of washed MSR added; E – paluszki z dodatkiem 20 % przemycanego MOM / sticks with 20 % of washed MSR added; wartość średnia ± odchylenie standardowe / mean value ± standard deviation/ mean value ± standard deviation; n = 3; a, b, c – wartości średnie w kolumnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$ / mean values in column and denoted using the same letters do not differ statistically significantly at $p \leq 0,05$.

Dodatek MOM spowodował zwiększenie zawartości tłuszczu w produkcie, stąd najwięcej było go w wariantach B i C (odpowiednio: 16,7 i 16,4 %). Proces przemiany mięsa wpłynął natomiast na zmniejszenie zawartości tłuszczu w porównaniu z innymi wariantami oraz próbą kontrolną (wariant A) (tab. 1).

Tabela 2. Zawartość kwasów tłuszczowych we frakcji lipidowej paluszków wypieczonych z ciasta pszennego z dodatkiem MOM [g/100 g lipidów].

Table 2. Contents of fatty acids in lipid fraction of sticks baked from wheat flour dough with MSR added [g/100 g of lipids].

Kwasy tłuszczowe Fatty acids	Warianty prób / Sample variants				
	A	B	C	D	E
C 14:0	0,040	0,070 ^a	0,070 ^a	0,055	0,071 ^a
C 16:0	5,170	5,412 ^a	5,412 ^a	5,405 ^a	5,534
C 16:1	0,210	0,469 ^a	0,469 ^a	0,335	0,541
C 18:0	1,615 ^a	1,607 ^a	1,607 ^a	1,580 ^b	1,582 ^b
C 18:1 <i>n-9</i>	56,640	56,181 ^a	56,181 ^a	56,335	56,097 ^a
C 18:1 <i>n-11</i>	3,840	4,121 ^a	4,121 ^a	4,115 ^a	4,146
C 18:2 <i>n-6</i>	21,015	20,795 ^a	20,795 ^a	20,960	20,767 ^a
C 20:0	0,590	0,545 ^a	0,545 ^a	0,530 ^b	0,533 ^a
C 18:3 <i>n-3</i>	10,220 ^a	10,218 ^a	10,218 ^a	10,120	10,081
C 22:0	0,335	0,307 ^a	0,307 ^a	0,290 ^b	0,294 ^b
C 22:1	0,330	0,303 ^a	0,303 ^a	0,280 ^b	0,278 ^a
EPA <i>n-3</i>	-	0,027 ^a	0,027 ^a	0,027 ^a	0,020
DHA <i>n-3</i>	-	0,024 ^a	0,024 ^a	0,024 ^a	0,057
<i>n-6</i> PUFA	21,015	20,795 ^a	20,795 ^a	20,96	20,77 ^a
<i>n-3</i> PUFA	10,22	10,27 ^a	10,27 ^a	10,12	10,16
<i>n-6/n-3</i>	0,486	0,493^a	0,493^a	0,482	0,489

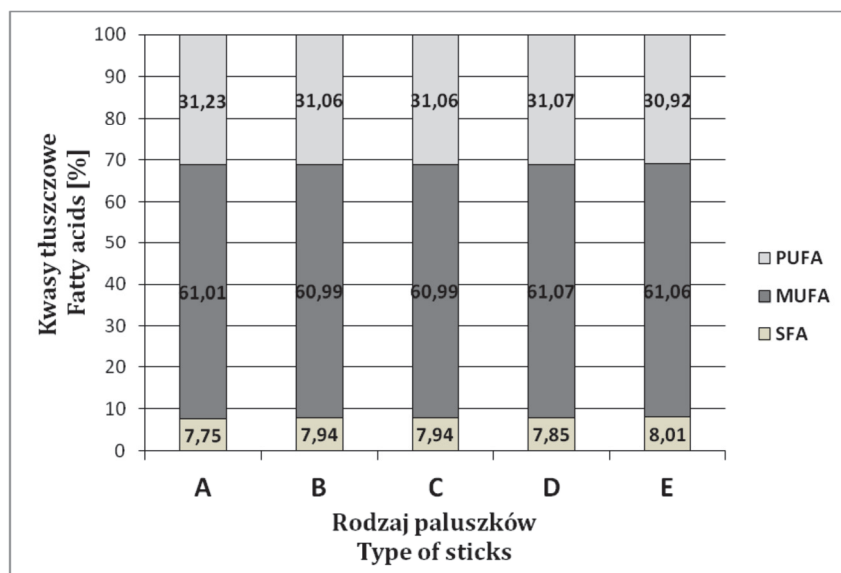
Objaśnienie: / Explanatory note:

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

We frakcji lipidowej paluszków dominowały głównie kwasy: oleinowy (C 18:1 *n-9*) – średnio 56 %, linolowy (C 18:2 *n-6*) – średnio 20 % oraz α -linolenowy (C 18:3 *n-3*) – średnio 10 % (tab. 2). Tavella i wsp. [32] oznaczyli zawartość kwasów tłuszczowych w paluszkach o smaku serowym, krakersach, ciastkach, chrupkach kukurydzianych oraz chipsach ziemniaczanych i stwierdzili podobną tendencję. Dodatek komponentu w postaci mięsa rybnego wpłynął również na końcową zawartość EPA i DHA

w przekąskach. Największą zawartość EPA oznaczono w wariantach B, C oraz D (po 0,027 g/100 g lipidów). Z kolei największą zawartość DHA stwierdzono w wariantach E (0,057 g/100 g lipidów) (tab. 2).

W wypieczonych paluszkach stwierdzono korzystny stosunek kwasów tłuszczowych *n-6* do *n-3*, wynoszący od 0,482 do 0,493 (tab. 2). Radzymińska i wsp. [28] badali stosunek kwasów tłuszczowych z rodziny *n-6* do *n-3* oraz udział poszczególnych grup kwasów tłuszczowych w tłuszczu całodziennych posiłków dzieci (wiek 10 - 12 lat), uczniów (wiek 13 - 15 lat) i studentów (wiek 19 - 25 lat), w zależności od rodzaju diety (wiosenna lub jesienna). Autorzy stwierdzili w posiłkach nieprawidłowy stosunek kwasów z rodziny 18:2 *n-6* do 18:3 *n-3*, co może być przyczyną niedoborów, jak również zaproponowali wzbogacanie całodziennych posiłków dzieci i młodzieży w ryby, będące źródłem wielonienasyconych kwasów z rodziny *n-3*.



Rys. 1. Udział poszczególnych grup kwasów tłuszczowych we frakcji lipidowej paluszków wypieczonych z ciasta pszennego z dodatkiem MOM.

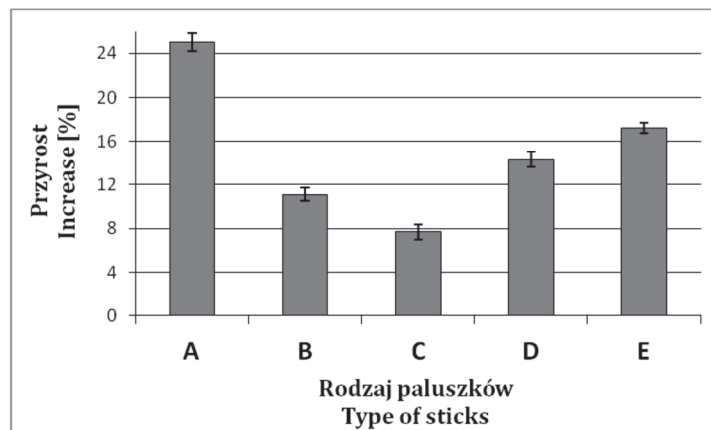
Fig. 1. Percent content of individual groups of fatty acids in the lipid fraction of sticks made from wheat flour dough with MSR added.

Paluszki charakteryzowały się małą zawartością SFA (nasyconych kwasów tłuszczowych) we frakcji tłuszczowej, wynoszącą średnio $7,9 \pm 0,1$ %, natomiast dużą zawartością MUFA (jednonienasyconych kwasów tłuszczowych) – ok. $61 \pm 0,03$ %. Zawartość PUFA (wielonienasyconych kwasów tłuszczowych) wynosiła ok. $31 \pm 0,1$ % (rys. 1). Daniewski i wsp. [5] wykazali, że zawartość SFA w wyrobach ciastkarskich kształtowała się w granicach $24,5 \div 72,4$ %, MUFA – $16,3 \div 64,7$ %, a PUFA –

2,60 ÷ 40,4 %. Parcerisa i wsp. [23] badali skład kwasów tłuszczowych w przekąskowych produktach cukierniczych (pączki, pączki z czekoladą, herbatniki czekoladowe i ciastka czekoladowe) i stwierdzili dużą zawartość SFA, wynoszącą od 45,65 % (pączki) do 74,54 % (herbatniki czekoladowe). Zawartość MUFA kształtowała się od 11,67 % (herbatniki czekoladowe) do 34,97 % (pączki), natomiast zawartość PUFA od 6,58 % (pączki nadziewane czekoladą) do 11,11 % (pączki). Z kolei San Juan [29] poddał analizie chipsy ziemniaczane, chrupki serowe, popcorn, ciastka i herbatniki. Oznaczona przez niego zawartość SFA w chipsach ziemniaczanych wynosiła 24 %, w chrupkach serowych – 51 %, w popcornie – 12 %, a w herbatnikach i ciastkach – ponad 60 %. Udział MUFA we frakcji tłuszczowej badanych produktów wynosił: w chipsach ziemniaczanych – 29 %, w chrupkach serowych – 23 %, w popcornie – 36 %, w ciastkach – 31 %, herbatniki – 28 %. Zawartość PUFA stanowiła odpowiednio [%]: 45, 24, 51, 25 oraz ponad 8.

Mąka użyta w doświadczeniu zawierała 3,27 g błonnika pokarmowego całkowitego w 100 g produktu, z czego 2,35 g/100 g produktu stanowiła frakcja nierozpuszczalna, a 0,68 g/100 g frakcja rozpuszczalna, co jest zgodne z wynikami uzyskanymi przez innych badaczy [11]. Mąka pszenna, poza błonnikiem, zawierała śladowe ilości skrobi odpornej (0,24 g/100 g produktu). Podobną zawartość skrobi odpornej w mące pszennej oznaczyli m.in. Goñi i wsp. [10] oraz Piecyk i wsp. [24]. Obecnie za skrobię oporną uważa się tę frakcję, która nie ulega strawieniu przez enzymy amylolityczne w ciągu 16 h. Skrobia oporna ma właściwości fizjologiczne podobne do błonnika pokarmowego, tj. zwiększa masę i objętość kału, skraca czas przejścia treści przez przewód pokarmowy i obniża poziom glukozy we krwi [8]. Czynniki sprzyjające powstawaniu skrobi odpornej to rodzaj obróbki termicznej (pieczenie, smażenie, gorąca ekstruzja) oraz czas i cykle ogrzewania [18]. Największą zawartość skrobi odpornej zaobserwowano w próbie kontrolnej A (0,32 g/100 g produktu). W pozostałych wariantach jej ilość była zbliżona i wynosiła od 0,26 g/100 g produktu (wariant C i E) do 0,28 g/100 g produktu (wariant D). Wariant B zawierał 0,27 g/100 g produktu skrobi odpornej. Znacznie większe ilości skrobi odpornej oznaczyli Marlett i Longacre [20] w ciastkach, herbatnikach i babeczkach (muffinkach). Zawartość tego składnika w herbatnikach i babeczkach wyniosła ok 1g/100 g produktu, natomiast w ciastkach – ok. 1,79 g/100 g produktu.

We wszystkich wariantach po wypieku zaobserwowano zwiększenie skrobi odpornej w ilości od kilku do kilkunastu procent w porównaniu z mąką pszenną (rys. 2). Największy przyrost skrobi odpornej zaobserwowano w wariacie A (25 %). W pozostałych wariantach jej przyrost był mniejszy i wyniósł od 7,7 % (wariant C), 11,1 % (wariant B), 14,3 % (wariant D) do ponad 17 % (wariant E). Warianty B i C charakteryzowały się najmniejszym przyrostem skrobi odpornej. Można to tłumaczyć



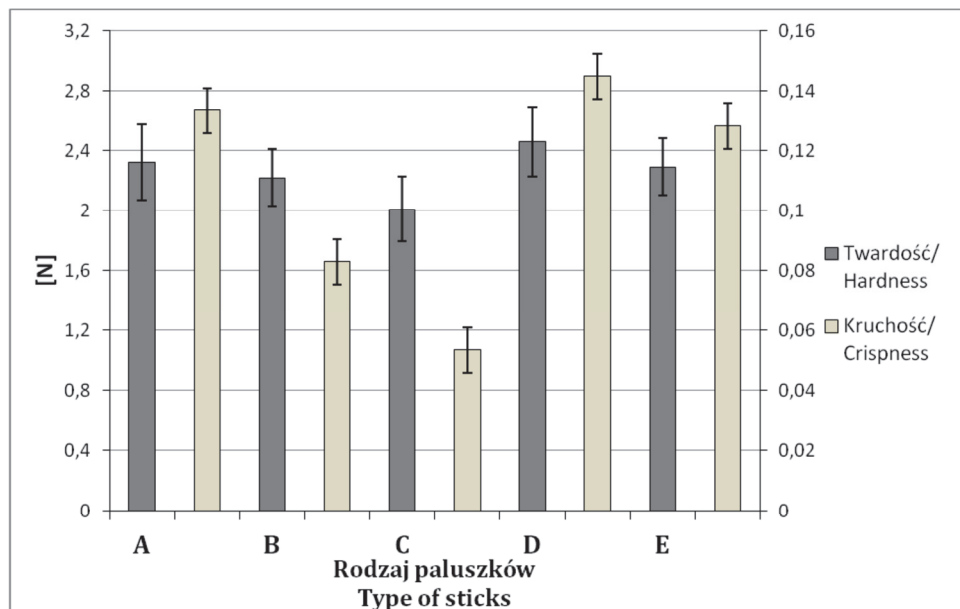
Rys. 2. Przyrost skrobi odpornej w paluszkach wypieczonych z ciasta pszennego z dodatkiem MOM.

Fig. 2. Increase in content of resistant starch in sticks baked from wheat flour dough with MSR added.

obecnością lipidów. Dodatek tłuszczu do mąki wpływa na hamowanie przyrostu skrobi odpornej po wypieku produktu [7]. Warianty B i C, w których wystąpił najmniejszy przyrost skrobi odpornej, charakteryzowały się największą zawartością tłuszczu po wypieku w porównaniu z pozostałymi wariantami.

Twardość jest parametrem bardzo często oznaczanym w badaniach produktów spożywczych, a przy ocenie wyrobów przekąskowych jest jedną z najważniejszych cech, określających ich przydatność konsumpcyjną. Twardość produktów przekąskowych powinna być jak najmniejsza, ponieważ wpływa ona na wysoką kruchość wyrobów [30]. Większy dodatek surowego MOM wpłynął na zmniejszenie twardości paluszków, przez co były one bardziej kruche w porównaniu z innymi próbami (rys. 3). Największą twardością charakteryzował się wariant D (2,45 N), a najmniejszą – C (2,00 N). Z kolei warianty A, B oraz E charakteryzowały się podobną twardością, wynoszącą odpowiednio [N]: 2,32, 2,21 i 2,29.

Dodatek surowego MOM powodował zmniejszenie kruchości w porównaniu z pozostałymi wariantami (rys. 3). Wariant C i B charakteryzowały się najmniejszą kruchością (odpowiednio: 0,05 i 0,08 N). Wartości kruchości pozostałych wariantów były zbliżone i wyniosły: A – 0,13N, D – 0,14 N i E – 0,12 N.



Rys. 3. Twardość i kruchość paluszków wypieczonych z ciasta pszennego z dodatkiem MOM.

Fig. 3. Hardness and crispness of sticks baked from wheat flour dough with MSR added.

Mała kruchość paluszków z dodatkiem surowego MOM może wynikać z szybszej denaturacji białek mięsa ryb w stosunku do szybkości kleikowania skrobi. Temperatura kleikowania skrobi pszennej wynosi ok. 57 °C [13], natomiast denaturacja białek mięsniowych ryb zachodzi w temp. 35 ÷ 55 °C [16]. MOM denaturuje szybciej, w związku z czym nie jest możliwa interakcja i „wytworzenie” się wiązań między skrobią a białkami zawartymi w MOM.

Wnioski

1. Dodatek mięsa odkostnionego mechanicznie (MOM) z płoci do ciasta pszennego wpłynął na zwiększenie zawartości białka ogólnego w paluszkach – od ok. 15 do 30 % w porównaniu z próbą kontrolną.
2. Dodatek surowego i przemywanego MOM wpłynął na zwiększenie profilu kwasów tłuszczowych paluszków, wzbogacając je w kwasy z rodziny *n-3* oraz *n-6*.
3. Przyrost zawartości skrobi odpornej podczas wypieku paluszków wyniósł od kilku do kilkunastu procent.
4. Dodatek surowego MOM przyczynił się do zmniejszenia twardości oraz kruchości paluszków w porównaniu z pozostałymi próbami, natomiast MOM poddany płukaniu zwiększył twardość, ale wpłynął na poprawę kruchości paluszków.

5. MOM z płoci stanowi dobry surowiec do produkcji wyrobów przekąskowych. Paluszki o wyższej jakości można uzyskać z przemyszanego MOM.

Część wyników prezentowana była podczas Konferencji Naukowej „Współczesne trendy w technologii żywności. Od żywności tradycyjnej do prozdrowotnej”, Poznań 26 - 27 września 2012 r.

Praca naukowa współfinansowana z Europejskiego Funduszu Społecznego i Budżetu Państwa Poddziałanie 8.2.2 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki 2007 - 2013 w ramach projektu „Inwestycja w wiedzę motorem rozwoju innowacyjności w regionie”.

Literatura

- [1] AOAC: Official Methods of Analysis, 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, 1990.
- [2] Bienkiewicz G., Domiszewski Z., Kuszyński T.: Ryby słodkowodne jako źródło niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych NNKT. Magazyn Przem. Ryb., 2008, **3 (63)**, 58-59.
- [3] Champ M.: Determination of resistant starch in foods and food products: interlaboratory study. Eur. J. Clin. Nutr., 1992, **2 (46) Supl.**, 51-62.
- [4] Czerwińska D.: Na ryby. Przegl. Gastron., 2005, **6**, 6.
- [5] Daniewski M., Mielniczuk E., Jacórzyński B., Pawlicka M., Balas J., Filipek A., Cierpikowska M.: Oszacowanie dziennego spożycia kwasów tłuszczowych w przeciętnej polskiej racji pokarmowej. Żyw. Człow. Met., 1999, **26 (1)**, 23-33.
- [6] Domiszewski Z., Bienkiewicz G.: Porównanie metod przygotowania estrów metylowych kwasów tłuszczowych wg AOAC oraz metodą bezpośrednią przy oznaczaniu składu kwasów tłuszczowych tkanki mięsnej ryb. Folia Pomer. Univ. Technol. Stetin., 2010, **16**, 19-30.
- [7] Eerlingen, R.C., Cillen, G., Delcour, J.A.: Enzyme-resistant starch. IV. Effect of endogenous lipids and added sodium dodecyl sulfate on formation of resistant starch. Cereal Chem., 1994, **71 (2)**, 170-177.
- [8] Englyst H.N., Kingman S.M., Hudson G.J., Cummings J.H.: Measurement of resistant starch *in vitro* and *in vivo*. Brit. J. Nutr., 1996, **75**, 749-755.
- [9] FAO: The state of World Fisheries and Agriculture. FAO Fisheries Department. Rome. 1995, pp. 1-45.
- [10] Goñi I., García-Diz L., Mañas E., Saura-Calixto F.: Analysis of resistant starch: a method for foods and food products. Food Chem., 1996, **56 (4)**, 445-449.
- [11] Kawka A., Górecka D.: Porównanie składu chemicznego pieczywa pszenno-owsianego i pszenno-jęczmiennego z udziałem zakwasów fermentowanych starterem LV2. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2010, **3 (70)**, 44-55.
- [12] King M.A.: Development and sensory acceptability of crackers made from the big-eye fish (*Brachydeuterus auritus*). Food Nutr. Bull., 2002, **23 (3)**, 317-320.
- [13] Koj F.: Podstawy technologii gastronomicznej. WPL, Warszawa 1968.
- [14] Kołakowska A., Kołakowski E.: Szczególne właściwości żywieniowe ryb. Przem. Spoż. 2001, **6**, 10-13.
- [15] Kołakowski E., Gazela B., Jabłonowska I., Bortnowska G., Wianecki M.: Przydatność technologiczna leszcza i płoci do otrzymywania mechanicznie odkostnionego mięsa i wędlin rybnych. XXVIII

- Sesja Naukowa Komitetu Technologii i Chemii Żywności PAN. „Postępy w technologii i chemii żywności”. 1997, Gdańsk, 9-11 września, s. 192.
- [16] Kołakowski E.: *Technologia farszów rybnych*. PWN, Warszawa 1986.
- [17] Krzywiński T., Tokarczyk G.: Słone i pikantne przekąski na rynkach Polski i świata. *Przem. Spoż.* 2011, **5**, 47-50.
- [18] Kumari M., Urooj A., Prasad N.N.: Effect of storage on resistant starch and amylose content of cereal-pulse based ready-to-eat commercial products. *Food Chem.*, 2007, **102**, 1425-1430.
- [19] Lewicki P. P., Marzec A., Kuropatwa M.: Influence of water activity on texture of corn flakes. *Acta Agrophysica*, 2007, **9 (1)**, 79-90.
- [20] Marlett J.A., Longacre M.J.: Comparison of in vitro and in vivo measures of resistant starch in selected grain products. *Cereal Chem.*, 1996, **1 (73)**, 63-68.
- [21] Mickiewicz M.: Problem zagospodarowania ryb małowcennych w jeziorowych gospodarstwach rybactkich. *Magazyn Przem. Ryb.*, 2000, **1 (13)**, 47-49.
- [22] Neely EA, Lee Y, Lee SY.: Drivers of liking for soy-based Indian-style extruded snack foods determined by U.S. and Indian consumers. *J. Food Sci.*, 2010, **6 (75)**, 292-299.
- [23] Parcerisa J., Codony R., Boatella J., Rafecas M.: Fatty acids including *trans* content of commercial bakery products manufactured in Spain. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47**, 2040-2043.
- [24] Piecyk M., Kulka D., Worobiej E.: Charakterystyka i wartość odżywcza ziarna orkisz i produktów orkiszowych. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2009, **3**, 247-251.
- [25] Pieniak Z., Verbeke W., Scholderer J., Brunsø K., Olsen S. O.: Impact of consumers' health beliefs, health involvement and risk perception on fish consumption: A study in five European countries. *Brit. Food J.*, 2008, **110 (9)**, 898-915.
- [26] PN-74/A-86761: 1974: Ryby świeże. Chłodzenie lodem wodnym.
- [27] PN-A-79011-15:1998: Koncentraty spożywcze. Metody badań. Oznaczanie zawartości błonnika pokarmowego.
- [28] Radzymińska M., Borejszo Z., Smoczyński S., Kurzyńska M.: Skład kwasów tłuszczowych w całodziennych posiłkach dzieci, uczniów i studentów. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **2 (43)**, 118-125.
- [29] San Juan P.M.F.: Fatty acid composition of commercial Spanish fast food and snack food. *J. Food Comp. Anal.*, 2000, **13**, 275-281.
- [30] Surówka K.: Tekstura żywności i metody jej badania. *Przem. Spoż.*, 2000, **10**, 12-17.
- [31] Szymandera-Buszka K., Jędrusek-Golińska A., Górecka D., Ankiewicz M.: Charakterystyka spożycia ryb jako źródła jodu. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2008, **3**, 319-322.
- [32] Tavella, M. Peterson G., Espeche M., Cavallero E., Cipolla L., Perego L., Caballero B.: *Trans* fatty acid content of a selection of foods in Argentina. *Food Chem.*, 2000, **2 (69)**, 209-213.
- [33] Wiancki M.: Evaluation of fish and squid meat applicability for snack food manufacture by indirect extrusion cooking. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 2007, **6 (4)**, 29-44.
- [34] Wójtowicz A., Baltyn P.: Ocena wybranych cech jakościowych popularnych przekąsek ziemniaczanych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **2 (47)**, 112-123.
- [35] Wołoszyk W., Borzochowski M.: Czy jazgarz może być rybą wartościową? *Magazyn Przem. Rybn.* 1998, **4 (8)**, 46-48.
- [36] Yu S.Y., Kaur R.: Development of fish biscuits from Round Scand (*Decapetus russelli* Rupp.). Indo-Pacific Fishery Commission. Working Party on Fish Technology and Marketing. Yogyakarta (Indonesia), 24 - 27 Sep 1991. *FAO Raport 1992*, 470 **Supl.**, 305-313.

ASSESSING USEFULNESS OF LOW-VALUE FISH IN PRODUCING SNACK FOODS

S u m m a r y

Roach (*Rutilus rutilus*) is marginally utilized in the fish industry. Despite its nutritional value, from the economic point of view, it is classified into a low-value fish group. The objective of the research study was to determine the effect of a 10 and 20 % addition of mechanically separated roach (MSR), both raw and washed and added to the wheat flour dough, on the usefulness of that dough when manufacturing snacks resembling traditional salty sticks. In the fish sticks produced, the following was determined: contents of protein and fat, profile of fatty acids, content of soluble dietary fibre (SDF) and insoluble dietary fibre (IDF), and resistant starch. The hardness and crispness of the sticks baked were also determined. The addition of MSR to the dough caused the content of total protein in the sticks to increase by ca. 15 to 30 % (depending of the experiment variant) compared to the control sample. Furthermore, it caused the content of fat in the snack product to increase; the highest amount of fat was determined in the stick variants produced using the raw MSR (16.7 and 16.4, respectively). The addition of both the raw and the washed MSR enriched the sticks with *n-3* and *n-6* fatty acids. In the lipid fraction of the sticks, the mainly prevailing acids were: oleic acid (C18:1 *n-9*), 56 % on average; linoleic acid (C18:2, *n-6*), 20 % on average; and α -linoleic acid (C18:3 *n-3*), 10 % on average. While the sticks were baked, the content of resistant starch increased from 7.7 to 17.0 % (depending on the experiment variant). The quality of the sticks produced from the washed MSR was higher (especially as regards their texture); however, both the raw and the deboned roach fish constitutes a good raw material for manufacturing snack foods with a high content of protein and a beneficial profile of fatty acids.

Key words: low-value fish, roach, snack food, *n-3* and *n-6* fatty acids, resistant starch, dietary fibre, hardness, crispness ☒

ELŻBIETA GUJSKA, MARTA CZARNOWSKA, JOANNA MICHALAK

ZAWARTOŚĆ FOLIANÓW W KEFIRACH I JOGURTACH ŚWIEŻYCH ORAZ CHŁODNICZO PRZECHOWYWANYCH

Streszczenie

Celem pracy była ocena zawartości folianów w mleku towarowym, kefirach i jogurtach świeżych i przechowywanych do 34 dni w temperaturze chłodniczej. Kefir i jogurt wyprodukowano metodą termostatową. W badanych próbkach zidentyfikowano tylko formę metylową folianów, tj. $5\text{CH}_3\text{FH}_4$. W zbiorczym świeżym mleku zawartość $5\text{CH}_3\text{FH}_4$ wynosiła ok. $4,0 \mu\text{g}/100 \text{ g}$. Proces pasteryzacji nie wpłynął na istotne ($p = 0,05$) zmniejszenie zawartości tej formy folianów. W próbkach kefiru nie stwierdzono zmian zawartości $5\text{CH}_3\text{FH}_4$ w porównaniu z mlekiem wyjściowym, natomiast w jogurcie miała miejsce istotna ($p = 0,05$) jego redukcja. Czas przechowywania wpłynął na zawartość $5\text{CH}_3\text{FH}_4$ w kefirach w sposób zróżnicowany. W jednej serii kefirów nie nastąpiło istotne zmniejszenie zawartości $5\text{CH}_3\text{FH}_4$, natomiast w drugiej serii stwierdzono istotne zwiększenie zawartości folianów po 19 dniach przechowywania, a następnie istotne zmniejszenie po 21 dniach. W obydwu seriach jogurtów stwierdzono zmniejszenie zawartości folianów w czasie przechowywania w warunkach chłodniczych.

Słowa kluczowe: foliany, kefir, jogurt, HPLC, przechowywanie

Wprowadzenie

Foliany naturalnie występujące w żywności (zarówno pochodzenia roślinnego, jak i zwierzęcego), to zredukowane pochodne kwasu foliowego, tzw. poliglutaminiany. Związki te należą do rodziny rozpuszczalnych w wodzie witamin z grupy B i są niezbędnymi składnikami diety człowieka. Nazwa kwas foliowy odnosi się jedynie do syntetycznej formy witaminy [24, 25].

Foliany są niezbędne do przebiegu reakcji grup jednowęglowych, szczególnie reakcji syntezy komponentów DNA, RNA i białek. Stanowią źródło grup metylowych, wykorzystywanych w procesie remetylacji homocysteiny do metioniny [24]. Pomimo

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

tak ważnej roli, na całym świecie stwierdza się hipowitaminozę na tle niedoboru w diecie folianów [21]. Zbyt małe, przedłużające się w czasie spożywanie folianów [19] sprzyja m.in. procesom miażdżycowym, wpływa na zwiększenie ryzyka rozwoju chorób sercowo-naczyniowych (np. choroby niedokrwiennej serca, udaru mózgu, choroby zakrzepowo-zatorowej), chorób neurodegeneracyjnych (np. choroby Alzheimera, Parkinsona), zwiększa podatność komórek na zmiany nowotworowe (raka jelita grubego, piersi, szyjki macicy, płuc, trzustki), a nawet zwiększa ryzyko zaburzeń psychicznych o charakterze depresyjnym i występowania niedokrwistości makrocytarnej [20, 29]. Grupą szczególnie narażoną na niedobory tej witaminy są młode kobiety w wieku rozrodczym. Wyniki badań epidemiologicznych, prowadzonych na całym świecie wskazują, że przy niedostatecznym wysyceniu folianami organizmu przyszłych matek, zwiększa się prawdopodobieństwo wystąpienia wrodzonych wad serca, nieprawidłowości dróg moczowych, rozszczepów podniebienia, defektów kończyn, a ponadto wad cewy nerwowej (WCN) u noworodków [2, 28].

Niedoborem tym można skutecznie zapobiegać poprzez dostarczenie do organizmu odpowiedniej dawki kwasu foliowego, na poziomie 400 µg/dobę. Pokrycie zapotrzebowania na taką ilość tej witaminy ze źródeł naturalnych jest bardzo trudne, dlatego zaleca się stosowanie suplementów diety lub produktów wzbogaconych [30]. Suplementacja diety kwasem foliowym, podobnie jak wzbogacanie nim produktów spożywczych, np. soków, płatków śniadaniowych, pieczywa, mąki wywołuje wiele kontrowersji. Coraz częściej podkreśla się problem zbyt wysokiej koncentracji w diecie danego składnika odżywczego, co w przypadku kwasu foliowego może prowadzić do niekorzystnego efektu maskowania anemii na tle niedoborów witaminy B₁₂, przyspieszenia rozwoju chorób nowotworowych w przypadku wczesnych ich stadiów, a także może przyczyniać się do wzrostu częstości wystąpienia ciąży bliźniaczych. Ze względu na niejednoznaczne doniesienia, dotyczące skutków zdrowotnych związanych ze zwiększonym pobraniem omawianej witaminy, zaleca się szczególną ostrożność przy podejmowaniu decyzji o wprowadzeniu obowiązkowego wzbogacania żywności [4, 7].

W okresie zwiększonego zainteresowania tzw. zdrową żywnością zaleca się zwiększenie spożycia produktów naturalnie bogatych w foliany, których nawet nadmierna konsumpcja nie wiąże się z ryzykiem przekroczenia górnego tolerowanego poziomu spożycia, wynoszącego 1 mg/dobę. Przykładem produktów popularnych wśród konsumentów, będących naturalnym źródłem substancji bioaktywnych, w tym folianów, jest mleko i jego przetwory. Choć zawartość naturalnych folianów w mleku jest mała (5 ÷ 10 µg/100 g), to, ze względu na duże spożycie produktów mlecznych, mogą one stanowić znaczące źródło tej witaminy w codziennej diecie [8, 26]. Wiele produktów jest także wytwarzanych z zastosowaniem różnych bakterii fermentacji mlekowej, mających zdolność do syntetyzowania folianów. Mleko i fermentowane napoje mlec-

ne pokrywają ok. 10 ÷ 15 % dziennego zapotrzebowania na foliany, szczególnie wśród młodej populacji [8] oraz w krajach o dużej konsumpcji tych produktów, tj. w Holandii [15] i Szwecji [1]. Właściwy udział mleka i jego przetworów w diecie przyczynia się do zwiększenia przyswajalności folianów w porównaniu z dietą ubogą w te produkty [23, 27]. Jednak naturalne foliany są związkami bardzo niestabilnymi, a ich zawartość w fermentowanych produktach mlecznych zależy od takich czynników, jak: jakość mleka, sposób jego przetwarzania, gatunek i rodzaj bakterii starterowych, czas inkubacji oraz warunki przechowywania.

Celem pracy była ocena zawartości folianów w mleku towarowym oraz w jogurtach i kefirach z niego wyprodukowanych metodą tradycyjną i przechowywanych w temperaturze chłodniczej.

Materiał i metody badań

Materiałem doświadczalnym były: kefir i jogurt, wyprodukowane zgodnie z tradycyjną technologią z mleka krowiego, metodą termostatową. Użyto mleka zbiorczego, które przed zaszczepieniem poddawano procesom: normalizacji (zawartość tłuszczu 2,0 %), homogenizacji (I stopień 18 MPa, II stopień 5 MPa) i pasteryzacji (temp. 90 °C/5 min). Mleko do produkcji jogurtu normalizowano do 15 % suchej masy (dodatek mleka w proszku, blender, temp. 55 °C, 1 h). Do produkcji jogurtu używano szczepionki firmy DaniscoBiolacta sp. z o.o. o nazwie – Jogurtowa YC11 (*Streptococcus thermophilus* i *Lactobacillus delbruecki* ssp. *bulgaricus*). Mleko do produkcji kefiru inkubowano ziarnem kefirowym w formie liofilizowanej – Kefir C3 LYO 200DCC. Warunki dojrzewania jogurtu były następujące: temp. 43,5 °C/4,5 h, pH = 6,5, a kefiru: temp. 21 °C przez ok. 12 h, pH = 4,65. Produkty wychładzano i magazynowano w temp. 5 - 6 °C. Zawartość folianów oznaczano w mleku surowym, w mleku po pasteryzacji i normalizacji, bezpośrednio po okresie dojrzewania jogurtu i kefiru oraz po kilku i kilkunastu dniach przechowywania w temperaturze chłodniczej (dane w tab. 1 i 2).

Foliany: 5-metylotetrahydrofolian (5CH₃FH₄) i tetrahydrofolian (FH₄) zakupiono w firmie Sigma Aldrich i przygotowano według metody opisanej przez Koningsa [15]. Stężenie standardów obliczano przy użyciu współczynników absorpcji molarnej, podanych przez Blakleya [3].

Proteazę (EC 3.4.24.31, Sigma-Aldrich P-5147) rozpuszczano w 0,1 M buforze fosforanowym o pH = 7,0 w ilości 4 mg/ml, bezpośrednio przed analizą, aby uniknąć zanieczyszczenia bakteriami, które mogą syntetyzować foliany w czasie inkubacji.

Hydrolazę γ -glutamylową z plazmy krwi szczura zakupiono w firmie Europa Bioproducts Ltd., Cambridge i przygotowano w sposób opisany wcześniej [9].

Wszystkie próbki przygotowano w przyciemnionym pomieszczeniu. Do probówek wirowniczych OakRidge PPCO (Nalgene Co.) o pojemności 50 ml odważano

10 g próbki. Dodawano 25 ml 0,1M buforu fosforanowego (pH = 7,0) z dodatkami 2 % (m/v) kwasu askorbinowego i 0,2 % (v/v) 2-merkaptoetanolu, intensywnie wytrząsano i ogrzewano w łaźni wodnej w temp. 100 °C przez 15 min, od czasu do czasu wstrząsając. Następnie próbki schładzano w łaźni lodowej do temp. 20 °C, dodawano 0,25 ml hydrolazy γ -glutamylowej i 1 ml proteazy. Próbki inkubowano w temp. 37 °C przez 4 h. Następnie, w celu inaktywacji enzymów, ogrzewano próbki przez 5 min w temp. 100 °C i chłodzono w łaźni lodowej. Próbki wirowano przez 20 min (12000 rpm) w 4 °C. Po odwirowaniu supernatant z nad osadu zlewano do kolbek miarowych z ciemnego szkła o pojemności 50 ml. Do pozostałego w próbkach osadu dodawano 10 ml 0,1 M buforu fosforanowego, wstrząsano i ponownie wirowano. Uzyskany supernatant zlewano do tych samych kolbek miarowych. Objętość kolbek uzupełniano 0,1-molowym buforem fosforanowym i całość sączono przez sączki karbowane do buteleczek o pojemności 25 ml.

Oczyszczanie próbek przeprowadzano w kolumnach Bakerbondspe J. T. (Baker 7091-03, czwartorzędowa amina), a rozdział folianów w kolumnie chromatograficznej PhenomenexSynergi 4a Hydro-RP80A (4 μ m, 250 \times 4,6 mm), według metody opisanej przez Jastrebową i wsp. [13], przy użyciu chromatografu cieczonego Shimadzu seria LC-10A. Identyfikację i obliczanie zawartości folianów wykonywano na podstawie wzorca ze znaną zawartością folianów. Wzorec nanoszono kilkakrotnie na szczyt kolumny chromatograficznej podczas całej serii oznaczeń.

Wyniki przedstawiono jako wartości średnie z trzech powtórzeń. Istotność różnic pomiędzy średnimi oceniono testem Duncana, na poziomie istotności $p = 0,05$, przy użyciu programu Statistica 2010.

Wyniki i dyskusja

W próbkach mleka i fermentowanych napojów mlecznych zidentyfikowano tylko jedną formę folianów, tj. 5-metylotetrahydrofolian ($5\text{CH}_3\text{FH}_4$). Wyniki uzyskane przez Wigertz i Jägerstad [26] potwierdzają, że w produktach mlecznych forma $5\text{CH}_3\text{FH}_4$ jest dominująca. Badając zawartość folianów w mleku konsumpcyjnym o zawartości 0,5 % tłuszczu, wymienieni autorzy stwierdzili występowanie jedynie formy metylowej. Potwierdzają to także wcześniejsze badania przeprowadzone przez Selhub [22] oraz Karlin [14]. Wyniki oznaczeń zawartości $5\text{CH}_3\text{FH}_4$ w ocenianych produktach przedstawiono w tab. 1. i 2.

W zbiorczym mleku świeżym, stanowiącym surowiec do produkcji jogurtu i kefiru, zawartość $5\text{CH}_3\text{FH}_4$ wynosiła około 4,0 $\mu\text{g}/100$ g. Na tak małą zawartość naturalnych folianów w mleku istotny wpływ mogły mieć warunki jego transportu i przechowywania, na co zwrócili uwagę Hawkes i Villota [10]. Straty folianów powodują takie czynniki, jak: traktowanie temperaturą wyższą od optymalnej dla danego rodzaju produktów, promieniowanie słoneczne oraz kwasowość poniżej neutralnej. Mleko narażo-

ne na działanie światła może tracić znaczne ilości folianów, co potwierdzają Krumdieck i Baugh [16].

Tabela 1. Zawartość 5-metylotetrahydrofolianu w mleku i w kefirach przechowywanych chłodniczo, w zależności od czasu przechowywania kefirów [$\mu\text{g}/100\text{ g}$].

Table 1. Content of 5-methyltetrahydrofolate in milk and in cold stored kefir depending on storage time of kefir [$\mu\text{g}/100\text{ g}$].

Seria dośw. Exp. series	Mleko surowe Raw bulk milk	Mleko po pasteryzacji Milk after pasteurization	Czas przechowywania kefiru w temp. 5 - 6 °C Time period of storing kefir at temp. of 5 - 6 °C				
			1 dzień 1 day	9 dni 9 days	19 dni 19 days	21 dni 21 days	34 dni 34 days
			$\bar{x} \pm s / \text{SD}$	$\bar{x} \pm s / \text{SD}$	$\bar{x} \pm s / \text{SD}$	$\bar{x} \pm s / \text{SD}$	$\bar{x} \pm s / \text{SD}$
I	3,61 ^{bc} ± 0,10	3,52 ^c ± 0,04	3,67 ^{bc} ± 0,29	3,83 ^b ± 0,36	4,91 ^a ± 0,10	3,21 ^d ± 0,17	-
II	3,93 ^a ± 0,31	3,86 ^a ± 0,25	3,92 ^a ± 0,39	3,81 ^a ± 0,35	3,47 ^a ± 0,18	-	3,54 ^a ± 0,04

Objaśnienia: / Explanatory notes:

$\bar{x} \pm s / \text{SD}$ – wartość średnia ± odchylenie standardowe /mean value ± standard deviation; n = 3; wartości średnie oznaczone tą samą literą w wierszach nie różnią się statystycznie istotnie (p = 0,05) / mean values in rows and denoted by the same letter do not differ statistically significantly (p = 0.05).

Zastosowany proces pasteryzacji mleka nie spowodował istotnego ($p \leq 0,05$) zmniejszenia zawartości omawianej formy folianów. Drewek i Czarnocka-Rocznikowa [6] podają natomiast, że pasteryzacja mleka powoduje straty folianów średnio o 20 %. W badaniach własnych, w próbkach kefiru nie stwierdzono zmian ilości $5\text{CH}_3\text{FH}_4$ w porównaniu z mlekiem wyjściowym (tab. 1), natomiast w próbkach jogurtu nastąpiło statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) zmniejszenie zawartości tej formy folianów (tab. 2). Według Patringa i wsp. [18] oraz Holasovej [12], fermentowane napoje mleczne odznaczają się większą zawartością tych związków w porównaniu z mlekiem świeżym dzięki zdolności kultur bakterii fermentacji mlekowej do syntetyzowania folianów.

Czas przechowywania nie wpłynął na istotne ($p \leq 0,05$) zmniejszenie zawartości $5\text{CH}_3\text{FH}_4$ w drugiej serii kefirów, badanych po 34 dniach przechowywania, natomiast w pierwszej serii zaobserwowano istotny ($p \leq 0,05$) wzrost zawartości folianów po 19 dniach przechowywania, a następnie istotne ($p \leq 0,05$) ich zmniejszenie po 21 dniach (tab. 1). W obu seriach zastosowano te same parametry obróbki mleka i inkubacji tym samym ziarnem kefirowym, różna natomiast mogła być jakość wyjściowa mleka przetworzonego.

Tabela 2. Zawartość 5-metylotetrahydrofolianu w mleku i w jogurtach przechowywanych chłodniczo, w zależności od czasu przechowywania jogurtów [$\mu\text{g}/100\text{ g}$].Table 2. Content of 5-methyltetrahydrofolate in milk and in cold stored yoghurts depending on storage time of yoghurts [$\mu\text{g}/100\text{ g}$].

Seria dośw. Exp. series	Mleko surowe Raw bulk milk	Mleko po pasteryzacji Milk after pasteurization	Czas przechowywania jogurtu w temp. 5 - 6 °C Time period of storing yoghurts at temp. of 5 - 6 °C				
			1 dzień 1 day	8 dni 8 days	16 dni 16 days	21 dni 21 days	34 dni 34 days
			$\bar{x} \pm s / \text{SD}$	$\bar{x} \pm s / \text{SD}$	$\bar{x} \pm s / \text{SD}$	$\bar{x} \pm s / \text{SD}$	$\bar{x} \pm s / \text{SD}$
I	3,93 ^{a2} $\pm 0,31$	4,19 ^a $\pm 0,03$	3,48 ^b $\pm 0,24$	2,34 ^c $\pm 0,22$	1,11 ^d $\pm 0,07$	0,26 ^e $\pm 0,02$	0,46 ^e $\pm 0,03$
II	4,14 ^a $\pm 0,17$	3,98 ^a $\pm 0,27$	2,74 ^b $\pm 0,21$	2,65 ^b $\pm 0,18$	2,64 ^b $\pm 0,17$	1,34 ^c $\pm 0,03$	0,52 ^d $\pm 0,11$

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

Nie stwierdzono także istotnego ($p \leq 0,05$) zwiększenia zawartości folianów w stosunku do ich zawartości w mleku wyjściowym w obydwu seriach wyprodukowanych jogurtów, a miało miejsce istotne ($p \leq 0,05$) zmniejszenie zawartości tej witaminy już w pierwszym dniu po okresie dojrzewania oraz dalsza istotna ($p \leq 0,05$) redukcja jej ilości w czasie przechowywania w warunkach chłodniczych (tab. 2).

Uzyskane różne, ale małe zawartości 5CH₃FH₄ w kefirach mogą być konsekwencją zastosowania nieodpowiednio dobranej szczepionki kefirowej oraz wyjściowej jakości mleka, co w czasie przechowywania mogło doprowadzić do strat folianów bądź przemian oznaczanej formy folianów w inne formy. Zwracają na to uwagę Lin i Young [17], którzy podają, że niektóre rodzaje bakterii fermentacji mlekowej zamiast syntetyzować foliany, wręcz mogą je utylizować, co w efekcie prowadzi do zmniejszenia zawartości tych witamin w gotowym produkcie. Można wnioskować, że istotnym czynnikiem, decydującym o zawartości folianów w fermentowanych napojach mlecznych jest zastosowanie w procesie produkcyjnym odpowiednich kultur bakterii fermentacji mlekowej. Jak podają Crittendeni i wsp. [5], spośród badanych mikroorganizmów największymi zdolnościami do syntezy folianów odznaczały się bakterie z gatunku *Streptococcus thermophilus*. Bakterie te były w stanie zwiększyć 4-krotnie zawartość folianów, w porównaniu z mlekiem wyjściowym. Szereg szczepów bakterii z rodzaju *Bifidobacterium* wykazuje się także zdolnością syntetyzowania folianów. Prowadząc fermentację przy użyciu kombinacji *Streptococcus thermophilus* i *Bifidobacterium animalis*, uzyskano 6-krotne zwiększenie zawartości folianów w produkcie [5]. Podob-

ne badania, mające na celu określenie, które szczepy bakterii stosowane do fermentacji produktów mleczarskich wpływają na zawartość folianów, prowadziła Holasova [12]. Największy wzrost zawartości folianów zaobserwowała w próbkach fermentowanych z zastosowaniem bakterii z gatunków *Streptococcus alivarius*, *Streptococcus thermophilus* i *Bifidobacterium longum*. Natomiast zwiększenie zawartości folianów w kefirze, na co wskazują Drewek i Czarnocka-Rocznikowa [6], można uzyskać również poprzez zastosowanie odpowiednich drożdży. Ziarno kefirowe jest to symbiotyczny zespół bakterii fermentacji mlekowej oraz drożdży, które nawzajem stymulują swój rozwój. Autorki wykazały, że gdy zawartość komórek drożdży w stosunku do komórek bakterii kwasu mlekowego w grzybkach kefirowych zwiększała się, wówczas ogólna zawartość folianów w kefirze zwiększała się od 4,3 µg/100 g do 6,4 µg/100 g. Bardzo istotny wpływ na zawartość folianów w kefirze mają także warunki przechowywania. Wykazano, że bezpośrednio wyprodukowany kefir zawierał średnio 4,3 µg folianów/100 g, a przechowywanie przez 24 h w temp. pokojowej spowodowało zwiększenie zawartości folianów do 6,3 µg/100 g. Kefir przechowywany w warunkach chłodniczych (4 °C) zawierał zdecydowanie więcej tej witaminy: 8,2 µg/100 g po 24 h i 9,3 µg/100 g po 48 h przechowywania. Warunki chłodnicze wpływały również bardzo korzystnie na cechy smakowe produktu [6]. Powyższe rezultaty potwierdzają także badania Patringa i wsp. [18], którzy oznaczając foliany w szczepach drożdży wyizolowanych z rosyjskich grzybków kefirowych wykazali, że forma 5CH₃FH₄ była w nich dominująca. W dużo mniejszej ilości występowały formy 5CHOFH₄ (5-formylo-tetrahydrofolian) i FH₄ (tetrahydrofolian). Średnia zawartość sumy folianów w ośmiu przebadanych szczepach wynosiła 10,780 ± 550 µg/100 g suchej masy, chociaż były różnice w dystrybucji wymienionych trzech form tej witaminy pomiędzy szczepami. Autorzy potwierdzają, że poprzez odpowiedni dobór szczepów można wpływać na produkcję pożądanых form folianów w kefirze. Wykazali, że wybierając grzybki kefirowe, zawierające szczepy produkujące bardziej stabilne formy folianów, tj. 5CHOFH₄, istnieje możliwość poprawienia stabilności folianów podczas fermentacji i przechowywania, co przyczynia się do zwiększenia ich zawartości w kefirach.

W badaniach własnych stwierdzono, że jedynie w przypadku produkcji kefiru, w jednej tylko serii miało miejsce niewielkie, ale istotne ($p \leq 0,05$) zwiększenie zawartości 5CH₃FH₄ w czasie przechowywania. Może to świadczyć o zastosowaniu nieodpowiednich gatunków bakterii fermentacji mlekowej, zarówno w szczepionce kefirowej, jak i jogurtowej. Wcześniejsze badania, dotyczące zawartości folianów w różnych szczepach *S. cerevisiae* [11] wykazały, że dobór odpowiednich kultur starterowych jest bardzo ważny w przypadku dążenia do uzyskania zwiększenia zawartości folianów w żywności produkowanej przy użyciu drożdży. W związku z tym wydaje się, że producenci fermentowanych napojów mlecznych powinni badać swoje produkty pod

względem zawartości folianów. Wyniki uzyskane w niniejszej pracy wskazują, jak ważne staje się prowadzenie tego typu analiz.

Wnioski

1. W próbkach kefiru i jogurtu zidentyfikowano tylko formę metylową folianów tj. 5-metylotetrahydrofolian.
2. W próbkach świeżego kefiru nie stwierdzono zmian ilości 5-metylotetrahydrofolianu w porównaniu z mlekiem wyjściowym, natomiast w trakcie wytwarzania jogurtu miała miejsce istotna ($p \leq 0,05$) jego redukcja.
3. Czas chłodniczego przechowywania kefiru (19 dni) nie wpłynął na zmniejszenie zawartości $5\text{CH}_3\text{FH}_4$, w jogurcie natomiast stwierdzono istotne ($p \leq 0,05$) zmniejszenie ilości tej formy folianów w jednej serii już po 8 dniach przechowywania, a w drugiej – po 21 dniach.

Literatura

- [1] Becker W.: Dietary habits and nutrient intake in Sweden 1989. In: Swedish National Food Administration. Ed. Livsmedelsverketsförlag, Uppsala, Sweden, 1994.
- [2] Bentley T.G.K., Willett W.C., Weinstein M.C., Kuntz K.M.: Population-level changes in folate intake by age, gender, and race/ethnicity after folic acid fortification. *Am. J. Public Health*, 2006, **11** (96), 2040-2046.
- [3] Blakley R.L.: The biochemistry of folic acid and related pteridines. Ed. North-Holland, Amsterdam 1969.
- [4] Buttriss J.: Strategies designed to increase awareness about folates and health, and to increase folate intake: A review. *Trends Food. Sci. Technol.*, 2005, **16**, 246-252.
- [5] Crittenden R.G., Martinez N.R., Playne M.J.: Synthesis and utilisation of folate by yoghurt starter cultures and probiotic bacteria. *Int. J. Food Microbiol.*, 2003, **80**, 217-222.
- [6] Drewek Z., Czarnocka-Rocznikowa B.: Microbiological processes in folacin synthesis in kefir. *Acta Alimen. Pol.*, 1986, **12** (1), 39-45.
- [7] Finglas P.M., de Meer K., Molloy A., Verhoef P., Pietrzik K., Powers H.J., van der Straeten D., Jägerstad M., Varela-Moreiras G., van Vliet T., Havenaar R., Buttriss J., Wright A.J.A.: Research goals for folate and related B vitamin in Europe. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 2006, **60**, 287-294.
- [8] Forssén K.M., Jägerstad M.I., Wigertz K., Withthöft C.M.: Folate and dairy products: A critical update. *J. Am. College Nutr.*, 2000, **19**, 100-110.
- [9] Gujska E., Czarnowska M.: Wpływ warunków ekstrakcji i hydrolizy na wynik oznaczania zawartości kwasu foliowego i folianów w soku jabłkowym. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, **2** (75), 77-88.
- [10] Hawkes J.G., Villota R.: Kinetics of folate degradation during food processing. In: Le Maguer M., Jelen P.: Food engineering and process applications. Ed. Elsevier Applied Science Amsterdam, Netherlands, 1986, p. 323.
- [11] Hjortmo S., Patring J., Jastrebova J., Andlid T.: Inherent biodiversity of folate content and composition in yeasts. *Trends Food. Sci. Technol.*, 2005, **16**, 311-316.

- [12] Holasova M.: Folate production by lactic acid bacteria and propionibacteria in fermented milk. First International conference of folates analysis, bioavailability and health, Warsaw, Poland 2004, February 11-14, p. 72.
- [13] Jastrebova J., Withhöft C., Granath A., Svensson U., Jägerstad M.: HPLC determination of folates in raw and processed beetroots. *Food Chem.*, 2003, **80**, 579-588.
- [14] Karlin R.: Sur la teneur en folates des laits de grandmélange. *J. Int. Vitaminol.*, 1969, **39**, 359-371.
- [15] Konings E.J.M.: A validated liquid chromatographic method for determining folates in vegetables, milk powder, liver, and flour. *J. AOAC Int.*, 1999, **1 (82)**, 119-127.
- [16] Krumdieck C.L., Baugh C.M.: The solid phase synthesis of polyglutamates of folic acid. *Biochem.*, 1969, **8**, 1568.
- [17] Lin M.Y., Young C.M.: Folate level in cultures of lactic acid bacteria. *Int. Dairy J.*, 2000, **10**, 409.
- [18] Patring J.D.M., Hjortmo S.B., Jastrebova J.A., Svensson U.K., Andlid T.A., Jägerstad I.M.: Characterization and quantification of folates produced by yeast strains isolated from kefir granules. *Eur. Food Res. Technol.*, 2006, **223 (5)**, 633-637.
- [19] Pietruszka B.: Efektywność uzupełniania diety folianami na tle czynników ryzyka niedoboru folianów u młodych kobiet. Wyd. SGGW, Warszawa 2007.
- [20] Rampersaud G.C., Kauwell G.P.A., Bailey L.B.: Folate: A key to optimizing health and reducing disease risk in the elderly. *J. Am. Coll. Nutr.*, 2003, **1 (22)**, 1-7.
- [21] Rébeillé F., Ravanel S., Jabrin S., Douce R., Storozhenko S., van der Straeten D.: Folate in plants: biosynthesis, distribution, and enhancement. *Physiologia Plantarum*, 2006, **126**, 330-342.
- [22] Selhub J.: Combined affinity and ion pair liquid chromatographic for direct analysis of tissue folate composition. In: *Chemistry and Biology of Pteridines*. Ed. Walter de Gruyter & Co., 1989, p. 1238-1246.
- [23] Smith A.M., Picciano M.E., Deering R.H.: Folate intake and blood concentrations of term infants. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1985, **41**, 590-598.
- [24] Storozhenko S., Ravanel S., Zhang G., Rébeillé F., Lambert W., van der Straeten D.: Folate enhancement in staple crops by metabolic engineering. *Trends Food Sci. Technol.*, 2005, **16**, 271-281.
- [25] Vora A., Riga A., Dollimore D., Alexander K.S.: Thermal stability of folic acid. *Thermochimica Acta*, 2002, 209-220.
- [26] Wigertz K., Jägerstad M.: Comparison of a HPLC and radioprotein - binding assay for the determination of folates in milk and blood samples. *Food Chem.*, 1995, **54**, 429-436.
- [27] Wigertz K., Svensson U.K., Jägerstad M.: Folate and folate binding protein content in dairy products. *J. Dairy Res.*, 1997, **64**, 239-252.
- [28] Wiśniewska K., Wysocki J.: Wrodzone wady rozwojowe w Polsce w latach 2003-2004. Dane z Polskiego Rejestru Wrodzonych Wad Rozwojowych. Ośrodek Wyd. Nauk., Poznań 2006.
- [29] Wright A.J.A., Finglas P.M., Southon S.: Proposed mandatory fortification of the UK diet with folic acid have potential risks been underestimated? *Trends Food. Sci. Technol.*, 2001, **12**, 313-321.
- [30] Wyka J., Mikołajczuk J.: Podaż kwasu foliowego w racjach pokarmowych Wrocławianek w wieku 20 - 25 lat oraz ocena wiedzy o jego znaczeniu dla zdrowia. *Roczniki PZH*, 2007, **4 (54)**, 633-640.

CONTENT OF FOLATES IN FRESH AND COLD STORED KEFIRS AND YOGHURTS

S u m m a r y

The objective of the research study was to assess the content of folates in commercial milk and fresh kefirs and yoghurts as well as in kefirs and yoghurts that were stored at a refrigeration temperature for max 34 days. Kefirs and yoghurts were produced using a thermostatic method. In the samples tested, only

a methyl form of folate ($5\text{CH}_3\text{FH}_4$) was identified. In the raw bulk milk, the content of $5\text{CH}_3\text{FH}_4$ was ca. $4.0 \mu\text{g}/100 \text{ g}$. The process of milk pasteurization do not cause decreasing of the folate content. In the kefir samples, no changes were reported in the amount of $5\text{CH}_3\text{FH}_4$ compared to the raw bulk milk; however, a significant decrease ($p \leq 0.05$) was found in the content of folate in the yoghurts. The storage time had a different effect on the content of $5\text{CH}_3\text{FH}_4$ in the kefirs. In one series of the kefirs, no significant decrease occurred in the content of $5\text{CH}_3\text{FH}_4$; however, in the second series, a significant increase was found in the content of folates after a 19 day storage, then, it was followed by a significant decrease after a storage period of 21 days. In the two series of yoghurts, a content of folates was found to decrease during refrigeration storage.

Key words: folates, kefir, yoghurt, HPLC, storage ☒

JAROSŁAW KOWALIK, ADRIANA ŁOBACZ, KAMIL ADAMCZEWSKI,
ANNA S. TARCZYŃSKA

ZASTOSOWANIE ALTERNATYWNYCH METOD OCENY BEZPIECZEŃSTWA MIKROBIOLOGICZNEGO WYBRANYCH SERÓW

Streszczenie

Obserwuje się wzrost zachorowań wynikający z obecności drobnoustrojów chorobotwórczych w produktach spożywczych. Proces szacowania ryzyka umożliwia ocenę narażenia zdrowia człowieka na mikroorganizmy obecne w żywności. Narzędziem do ilościowej oceny zachowania drobnoustrojów w żywności są modele prognostyczne.

Celem pracy była ocena przeżywalności bakterii *Bacillus cereus* w serach typu feta i mozzarella podczas przechowywania w temperaturze 3 - 15 °C, przy użyciu impedymetrycznego systemu Bactrac oraz opracowanie wyników metodą mikrobiologii prognostycznej.

Zastosowano aplikację DMFit i porównano parametry wzrostu z danymi uzyskanymi w programie prognostycznym ComBase Predictor (CP). Prognozy w CP pochodzą z danych uzyskanych na pożywkach mikrobiologicznych (zmodyfikowanych pod względem składu).

Stwierdzono, że sery typu feta i mozzarella w przyjętych warunkach doświadczenia stanowiły dobrą pożywkę do rozwoju bakterii *B. cereus*. Uzyskane z doświadczeń oraz wyliczeń matematycznych modele wzrostu *B. cereus* podczas przechowywania serów typu feta i mozzarella różniły się od prognoz uzyskanych w programie CP. Parametrem wzrostu określającym bezpieczeństwo mikrobiologiczne serów typu feta i mozzarella był czas trwania lag fazy.

Słowa kluczowe: mikrobiologia prognostyczna, *Bacillus cereus*, feta, mozzarella, bezpieczeństwo żywności

Wprowadzenie

Odnotowuje się coraz więcej przypadków zachorowań będących skutkiem spożycia żywności zanieczyszczonej mikroorganizmami chorobotwórczymi. Dzięki postępowi wiedzy w zakresie mikrobiologii i biotechnologii istnieje możliwość skuteczniej-

Dr inż. J. Kowalik, dr inż. A. Łobacz, mgr inż. K. Adamczewski, dr inż. A. S. Tarczyńska, Katedra Mleczarstwa i Zarządzania Jakością, Wydz. Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, ul. Oczipowskiego 7, 10-719 Olsztyn. Kontakt: j.kowalik@uwm.edu.pl

szej diagnozy patogenów występujących w żywności i następuje dokładniejsza rejestracja chorób odżywnościowych [9,12].

Według zaleceń Kodeksu Żywnościowego [16], rozporządzenia WE 178/2002 [18] i obowiązującej ustawy o bezpieczeństwie żywności i żywienia z 2006 r. [21] należy prowadzić proces oceny ryzyka. Proces ten powinien łączyć cele związane z zapewnieniem bezpieczeństwa produkcji żywności i zdrowia publicznego. Rezultatem tego procesu jest możliwość oceny niebezpieczeństwa narażenia zdrowia ludzkiego na drobnoustroje oraz stworzenie wytycznych do minimalizowania ryzyka ich występowania [11, 15]. W celu zmniejszenia ryzyka zanieczyszczenia mikrobiologicznego żywności ważny jest jej stały monitoring. Przydatne w tym zakresie są automatyczne systemy kontroli czystości mikrobiologicznej. Pozwalają one na jakościowe lub ilościowe oznaczanie różnych grup drobnoustrojów. Alternatywne metody określania stanu mikrobiologicznego żywności umożliwiają uzyskanie wyników w znacznie krótszym czasie niż tradycyjne. Koszty takich analiz są dużo niższe niż metod tradycyjnych (np. klasycznej metody płytkowej). Do automatycznych metod monitorowania jakości mikrobiologicznej żywności należy pomiar impedymetryczny. Analiza polega na pomiarze przewodności elektrycznej w układzie: selektywna pożywka hodowlana – mikroorganizmy zawarte w badanej próbce. System wskazuje pomiar czasu detekcji, czyli momentu uzyskania określonego poziomu namnożenia liczby komórek bakterii (zazwyczaj jest to detekcja związana z przejściem z poziomu lag fazy do fazy maksymalnego tempa wzrostu). Istnieje zależność, że im wyższa liczba komórek bakterii w badanej próbce, tym krótszy jest czas detekcji. Do ilościowego określania danego gatunku drobnoustroju niezbędne jest skorelowanie czasu detekcji z liczbą mikroorganizmów wprowadzonych do celek pomiarowych. W celu zachowania porównywalności wyników metody płytkowej i pomiaru impedymetrycznego konieczne jest przeprowadzenie kalibracji urządzenia, podczas której opracowywane są krzywe kalibracyjne w odniesieniu do rezultatów uzyskanych klasyczną metodą płytkową. Szybkiej analizie mikrobiologicznej służą też stosowane w przemyśle spożywczym urządzenia wykorzystujące zjawiska: pomiaru fotometrycznego, sygnału fluorescencyjnego, reflaktancji, cytometrii przepływowej oraz filtracji membranowej z pomiarem bioluminescencji ATP [10, 12, 14].

Przydatnym narzędziem do szacowania ryzyka mikrobiologicznego jest mikrobiologia prognostyczna, która wykorzystuje modele matematyczne opisujące przeżywalność drobnoustrojów w żywności na podstawie wykonanych badań laboratoryjnych. Ułatwieniem w wykorzystaniu tego narzędzia są istniejące bazy danych i zawarte w nich programy komputerowe (np. ComBase Predictor, WaMa Predictor) [4, 5, 17].

Celem pracy była ocena przeżywalności bakterii *Bacillus cereus* w serach typu feta i mozzarella podczas przechowywania w temperaturze 3 - 15 °C, przy użyciu impe-

dymetrycznego systemu Bactrac oraz opracowanie wyników w aspekcie mikrobiologii prognostycznej.

Material i metody badań

Do badań przeżywalności *B. cereus* użyto serów miękkich solankowych typu feta (o zawartości: 18 % tłuszczu, 10 % białka, 4 % NaCl) oraz serów typu mozzarella (o zawartości: 19 % tłuszczu, 17 % białka, 1,5 % NaCl), wyprodukowanych przez polskiego producenta. Sery pochodziły z handlu detalicznego, termin przydatności do spożycia wynosił 6 miesięcy w przypadku fety oraz 21 dni – mozzarelli. Do badań użyto 5 różnych partii produkcyjnych serów (5 powtórzeń doświadczenia).

Sery podzielono na 25-gramowe porcje i umieszczono w jałowych workach umożliwiających homogenizację próbek z płynem do rozcieńczeń w urządzeniu typu Stomacher (Interscience).

W serach oznaczano kwasowość czynną (pehametr Lab 860, SI Analytics GmbH).

Do kalibracji systemu Bactrac i zanieczyszczenia próbek użyto hodowli szczepów *B. cereus* pochodzących z Katedry Mikrobiologii Przemysłowej i Żywności UWM w Olsztynie. Szczepy wyizolowano z serów twarogowych.

W celu określania liczby komórek *Bacillus cereus* w serach feta i mozzarella dokonano kalibracji urządzenia w odniesieniu do klasycznej metody płytkowej. Wykonano szereg dziesięciokrotnych rozcieńczeń hodowli *Bacillus cereus*, które posiewano jednocześnie na płytki Petriego z wybiórczym podłożem Mossela MYP (Merck) oraz do specjalnych probówek z elektrodami i bulionem z dodatkiem selektywnym Bimedia 610 (Sy-Lab).

Uzyskane wyniki analiz w systemie Bactrac z szeregu kolejnych dziesięciokrotnych rozcieńczeń (w postaci czasu detekcji DT) wprowadzono do arkusza kalibracyjnego w oprogramowaniu obsługującym urządzenie. Kolejne etapy obejmowały zdefiniowanie funkcji regresji liniowej, rodzaju testu oraz wprowadzenie wartości odczytanych w metodzie płytkowej. System Bactrac analizował inkubowane próbki w temperaturze optymalnego wzrostu liczby komórek *B. cereus* tj. 37 °C. W tej samej temperaturze przechowywano płytki Petriego w ciągu 48 h.

Próbki zanieczyszczano patogenami (pasaż uaktywnionych szczepów prowadzony na bulionie wzbogaconym) na poziomie ok. 3 log jtk/g i przetrzymywano w inkubatorach precyzyjnych z chłodzeniem (Memmert) w temp.: 3, 6, 9, 12 i 15 °C. W trakcie przechowywania próbek prowadzono oznaczenie liczby *B. cereus* systemem Bactrac. Czas przechowywania uzależniony był od zastosowanej temperatury inkubacji, która bezpośrednio wpływała na tempo wzrostu *B. cereus*. Przygotowano po 15 zanieczyszczonych próbek z każdej partii sera i z każdego wariantu temperatury przechowywania.

Z uzyskanych wyników obliczono wartości średnie, które po zlogarytmowaniu wprowadzono do aplikacji DMFit (dodatek (add in) do excela (MS Office)). DMFit umożliwił dopasowanie modelu matematycznego Baranyi'ego i Robertsa do danych eksperymentalnych. W celu wyznaczenia dokładności modelu trzeciorzędowego ComBase Predictor (CP) wygenerowane symulacje porównywano z otrzymanymi w aplikacji DMFit modelami wzrostu *B. cereus* w serach typu feta i mozzarella. Program CP jest jednym z narzędzi internetowej bazy danych ComBase. Prognozy generowane przez CP bazują na wynikach uzyskanych z badań w zmodyfikowanych pod względem składu pożywkach mikrobiologicznych [1, 2, 3, 4].

Program umożliwił ustawienie poziomu początkowej liczby komórek różnych gatunków bakterii, pH, aktywności wody, zawartości kwasów organicznych, NaCl, temperatury oraz czasu przechowywania. W programach DMFit (wartości obserwowane w doświadczeniu) i CP (wartości prognozowane) oszacowano specyficzne tempo wzrostu μ [log jtk/h/g] oraz czas trwania lag fazy. Na podstawie tempa wzrostu (μ) w poszczególnych temperaturach przechowywania zanieczyszczonych produktów przeprowadzono graficzną walidację otrzymanych modeli na podstawie rozłożenia obserwowanych i prognozowanych wartości wokół linii równości na wykresie.

Wyniki i dyskusja

Na podstawie wyników z kalibracji urządzenia Bactrac oszacowano równanie regresji liniowej ($R^2 = 0,98$) o postaci:

$$\log \text{ jtk/g} = -0,3363 \text{ DT} + 10,933, \text{ gdzie: DT} - \text{ czas detekcji [h].}$$

Równanie umożliwiło ilościowe określenie liczby komórek *B. cereus* w serach typu feta i mozzarella w zależności od czasu detekcji.

Badania prowadzono do momentu uzyskania pełnej krzywej wzrostu bakterii *B. cereus*. W temp. 3, 6 i 9 °C czas ten wynosił 624 h i dotyczył obydwu serów. W 12 i 15 °C wzrost bakterii w serze typu feta wynosił 220 h, a w serze typu mozzarella – 288 h. Dzięki aplikacji DMFit wyliczono współczynniki determinacji R^2 w poszczególnych temperaturach eksperymentu (tab. 1). Wysokie wartości współczynników R^2 świadczą o dobrym dopasowaniu pierwszorzędowego modelu wzrostu wg Baranyi'ego i Robertsa do danych eksperymentalnych

W programie CP wprowadzono wielkości parametrów zbliżone do właściwości fizykochemicznych badanych serów. W przypadku sera typu feta były to wielkości: pH – 4,9, zawartość NaCl – 4 %. Wartość początkowej liczby bakterii w obydwu serach ustawiono na poziomie 3 log jtk/g, natomiast czas przechowywania próbek uzależniony był od trwania doświadczenia. W badaniach eksperymentalnych pH sera typu feta wynosiło 4,7 ÷ 4,8 podczas całego okresu przechowywania. Program CP umożliwił wprowadzenie wartości minimalnych pH 4,9 oraz 5 °C i takie wartości przyjęto w celu

porównania prognoz CP z wynikami uzyskanymi w doświadczeniu (temp. 3 °C). W przypadku sera typu mozzarella w programie CP przyjęto wielkości parametrów fizykochemicznych: pH – 5,4 (podczas przechowywania 5,4 ÷ 5,5), zawartość NaCl – 1,5 %. Najniższa temperatura możliwa do ustawienia w CP wynosiła, podobnie jak w przypadku sera feta, 5 °C.

Tabela 1. Współczynniki determinacji (R^2) między liczbą bakterii *B. cereus* a czasem detekcji, w zależności od temperatury ich wzrostu – wyliczone w aplikacji DMFit.

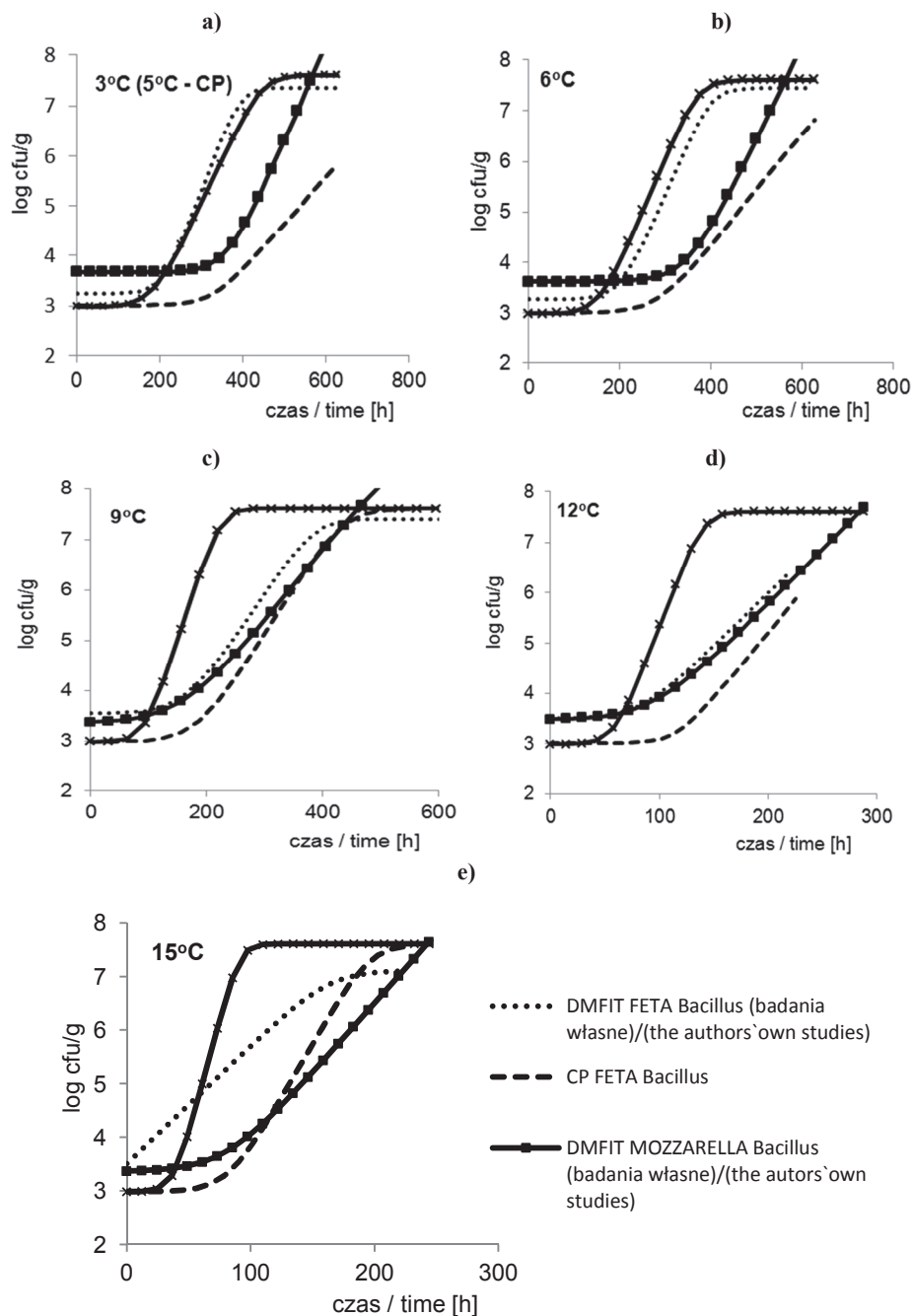
Table 1. Coefficients of determination (R^2) between *B. cereus* count and detection time depending on temperature of their growth – as calculated using DMFit application.

Ser / Cheese	Temperatura / Temperature [°C]				
	3	6	9	12	15
Feta	0,99	0,95	0,98	0,96	0,98
Mozzarella	0,98	0,98	0,97	0,97	0,97

Na rys. 1 a-e. przedstawiono krzywe wzrostu *B. cereus* uzyskane po dopasowaniu modelu Baranyi'ego i Roberta do danych eksperymentalnych (w aplikacji DMFit) oraz wygenerowane przez program CP. Zaobserwowano różnice między modelami opracowanymi na podstawie danych eksperymentalnych i uzyskanych w programie CP. W przypadku próbek sera typu feta, czas przejścia bakterii z lag fazy do fazy wzrostu logarytmicznego był krótszy w stosunku do prognoz uzyskanych w CP w każdej temperaturze przechowywania. Świadczył o tym wyliczony w DMFit czas trwania lag fazy w przypadku danych eksperymentalnych i tych uzyskanych z programu CP (tab. 2). Program CP nie generował bezpiecznych prognoz wzrostu *B. cereus* mimo ustawienia wartości pH wyższej niż w produkcie (niższe pH wpływa na zahamowanie rozwoju drobnoustrojów). W temp. 15 °C w zakresie danych eksperymentalnych (DMFit) nie zaobserwowano lag fazy, a faza logarytmicznego wzrostu nastąpiła w bardzo krótkim czasie po zanieczyszczeniu produktu (rys. 1e, tab. 2).

W przypadku badań z użyciem sera typu mozzarella, prognozy wygenerowane w programie CP zapewniały margines bezpieczeństwa, szczególnie w temp. 9, 12 i 15 °C (rys. 1 c, d, e).

Little i Knöchel [13] badali przeżywalność *B. cereus* w temp. 4, 8 i 20 °C w serze z porostem pleśni typu brie. Badacze zaobserwowali, że podczas przechowywania w temp. 4 i 8 °C utrzymywał się poziom początkowy – 4 log jtk/g, a w 20 °C po ok. 50 h przechowywania nastąpił przyrost liczby komórek do 7 log jtk/g. Maksymalne tempo wzrostu wynosiło 0,083 log jtk/g/h. W badaniach własnych stwierdzono natomiast, że maksymalne tempo wzrostu *B. cereus* w najwyższej temp. 15 °C wynosiło: w serze typu feta – 0,022 log jtk/g/h, a w serze typu mozzarella – 0,026 log jtk/g/h (rys. 2).



Rys. 1. Wyniki modelowania pierwszorzędowego opisujące wzrost liczby *Bacillus cereus* w temp.: 3, 6, 9, 12 i 15 °C (odpowiednio rys. a, b, c, d, e) w serach typu feta i mozzarella.

Fig. 1. Results of primary modelling that represent the growth of *Bacillus cereus* at temperatures of 3, 6, 9, 12, and 15 °C (Fig. Fig. a), b, c, d, and e, respectively) in feta and mozzarella types of cheese.

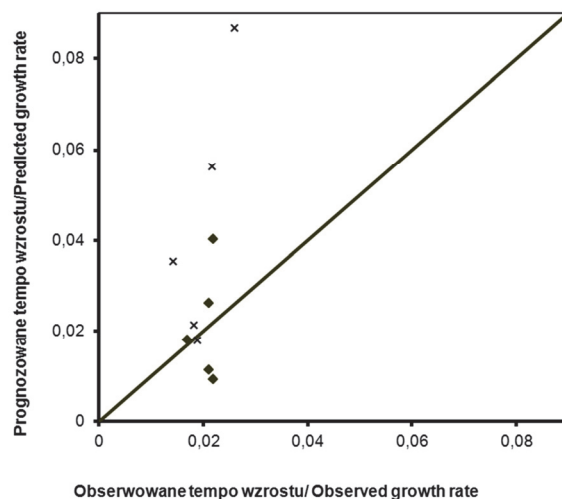
Rukure i Bester [19] analizowali możliwość rozwoju *B. cereus* podczas produkcji sera gouda. W tym celu mleko kotłowe w trakcie dodatku podpuszczki zanieczyszczono tymi bakteriami. Wymienieni autorzy obserwowali kiełkowanie przetrwalników, które namnożyły się do poziomu 4,4 log jtk/g (do etapu prasowania i solenia sera). Jednak po 6 tygodniach dojrzewania autorzy zaobserwowali redukcję *B. cereus* do poziomu poniżej 2 log jtk/g. Na wymieranie komórek *B. cereus* wpływ mogła mieć, oprócz soli, obecność bakterii fermentacji mlekowej wykorzystywanych w procesie technologicznym [7, 8]. Odmienne technologie produkcji mogły wpłynąć na przeżywalność tego patogenu.

Tabela 2. Czas trwania lag fazy *Bacillus cereus* w serach typu feta i mozzarella podczas przechowywania w temperaturze od 3 do 15 °C.

Table 2. Lag phase duration of *Bacillus cereus* in feta and mozzarella cheeses during storage at a temperature from 3 to 15 °C.

Temperatura Temperature [°C]	Ser typu feta Feta type of cheese		Ser typu mozzarella Mozzarella type of cheese	
	lag faza (DMFIT) lag phase [h]	lag faza (CP) lag phase [h]	lag faza (DMFIT) lag phase [h]	lag faza (CP) lag phase [h]
3 (5°C – CP)	206,16	324,42	359,68	184,25
6	201,50	282,52	345,67	154,63
9	160,37	181,63	159,38	93,28
12	81,72	115,97	93,76	58,43
15	0,00	81,68	79,84	37,94

Na rys. 2. przedstawiono walidację graficzną modeli pierwszorzędowych poprzez porównanie obserwowanego (DMFit – badania własne) i prognozowanego (CP) tempa wzrostu. Punkty leżące powyżej linii równości stanowią o wysokim marginesie bezpieczeństwa prognoz uzyskanych w programie CP, zaś poniżej tej linii świadczą o możliwości szybszego namnażania się *B. cereus* w badanych produktach niż przewidywał CP [9]. Parametr μ w przypadku sera typu feta w zakresie temp. 3 ÷ 15 °C miał podobną wartość (pomiędzy 0,017 a 0,021 log/jtk/g/h), zaś wartości uzyskane w CP zwiększały się wraz ze wzrostem temperatury (od 0,009 do 0,040 log/jtk/g/h). W przypadku sera typu mozzarella wartości μ wyniosły od 0,019 do 0,026 log/jtk/g/h, a prognozowane w CP od 0,017 do 0,087 log/jtk/g/h. Optymalną temperaturą wzrostu wegetatywnych form bakterii *B. cereus* jest zakres 30 ÷ 40 °C, stąd też wartości μ uzyskane podczas doświadczenia nie wykazywały dużej różnicy [19].



Rys. 2. Obserwowane (DMFit) i Prognozowane (CP) tempo wzrostu [μ] *Bacillus cereus* w serach typu feta (◆) i mozzarella (x) podczas przechowywania (3, 6, 9, 12 i 15 °C).

Fig. 2. Observed (DMFit) and Predicted (CP) growth rate [μ] of *Bacillus cereus* in feta (◆) and mozzarella (x).

Znaczącym parametrem wzrostu dotyczącym stabilności mikrobiologicznej produktu w przypadku obydwu serów był czas trwania lag fazy (im wyższa temperatura przechowywania, tym krótszy czas).

Należy zauważyć, że sporotwórcze bakterie *B. cereus* są rozpowszechnione w naturze i są też obecne w środowisku związanym z produkcją i przetwórstwem żywności. Generalnie występują one w środowisku o niskiej aktywności wody, lecz w wyniku przetrwania obróbki cieplnej w produkcji serów ich toksyny mogą stanowić potencjalne źródło zatruc pokarmowych. Liczba komórek już na poziomie 3 log jtk/g (lub spor/g) w produkcie spożywczym może stanowić potencjalne zagrożenie dla zdrowia konsumenta [6].

Wnioski

1. W zakresie temperatur od 3 do 15 °C sery typu feta i mozzarella użyte w doświadczeniu stanowiły dobrą pożywkę do rozwoju bakterii *B. cereus*.
2. Prognozy przeżywalności *B. cereus* uzyskane w programie CP różnią się od zachowania tych patogenów w przeprowadzonych badaniach.
3. System Bactrac stanowi przydatną metodę w szacowaniu ryzyka mikrobiologicznego dla tego typu produktów mleczarskich.
4. Parametrem wzrostu określającym bezpieczeństwo mikrobiologiczne serów typu feta i mozzarella był czas trwania lag fazy.

Literatura

- [1] Baranyi J., Le Marc Y.: DMFit manual, Version 2.0, Institute of Food Research, Norwich Research Park, UK, 2005.
- [2] Baranyi J.: Stochastic modelling of bacterial lag phase. *Int. J. Food Microbiol.*, 2002, **73**, 203-206.
- [3] Baranyi, J., Roberts, T.A.: A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. *Int. J. Food Microbiol.*, 1994, **23**, 277-294.
- [4] Baza danych ComBase. [online]. Dostęp w Internecie [25.05.2013]: <http://www.combase.cc/index.php/en/>
- [5] Baza danych WaMaPredictor [online]. Dostęp w Internecie [25.05.2013]: <http://wamapredictor.uwm.edu.pl/WamaPredictor/>
- [6] Bednarczyk A., Daczkowska-Kozon E.G.: Czynniki patogenności bakterii z grupy *Bacillus cereus*. *Post. Mikrobiol.*, 2008, **47 (1)**, 51-63.
- [7] Beecher D.J., MacMillan J.D.: Characterization of the components of hemolysin BL from *Bacillus cereus*. *Infect. Immunol.*, 1991, **59**, 1778-1784.
- [8] Choma C, Clavel H, Dominguez H, Razafindramboa N, Soumille H, Nguyen-the C, Schmitt P.: Effect of temperature on growth characteristics of *Bacillus cereus* TZ415. *Int. J. Food Microbiol.*, 2000, **(55)**, 73-77.
- [9] Kowalik J., Łobacz A., Tarczyńska A.S., Ziajka S.: Graphic validation of growth models for *Listeria monocytogenes* in the milk during storage. *Milchwissenschaft*, 2012, **1 (67)**, 38-42.
- [10] Kowalik J., Łobacz A., Tarczyńska A.S., Ziajka S.: Zastosowanie mikrobiologicznych modeli prognostycznych w produkcji bezpiecznej żywności. *Med. Weter.*, 2009, **65 (06)**, 381-381.
- [11] Kowalik J., Tarczyńska A., Ziajka S.: Szacowanie ryzyka mikrobiologicznego – zastosowanie w produkcji i obrocie żywnością. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2003, **2 (35)** Supl., 76-85.
- [12] Kunicka-Styczyńska A.: Automatyczne systemy monitorowania czystości mikrobiologicznej żywności. *Przem. Spoż.*, 2009, **2**, 18-23.
- [13] Little C.L., S. Knøchel.: Growth and survival of *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella* and *Bacillus cereus* in brie stored at 4, 8 and 20°C. *Int. J. Food Microbiol.*, 1994, **24**, 137-14.
- [14] Łobacz A, Kowalik J., Ziajka S.: Wykorzystanie zjawiska impedancji w mikrobiologii i higienie żywności. *Med. Weter.*, 2008, **64 (8)**, 966-969.
- [15] McMeekin T.A., Ross T.: Predictive microbiology: providing a knowledge – based framework for change management. *Int. J. Food Microbiol.*, 2002, **78**, 133-153.
- [16] Recommended international code of practice general of food hygiene. CAC/RCP 1.1969 (Rev. 2003).
- [17] Rosiak E., Kołożyn-Krajewska D.: Modele wzrostu bakterii *Pseudomonas* w produktach gotowych do spożycia. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **3 (44)**, 191-205.
- [18] Rozporządzenie (WE) nr 178/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 28 stycznia 2002 r. ustanawiające ogólne zasady i wymagania prawa żywnościowego, powołujące Europejski Urząd ds. bezpieczeństwa żywności oraz ustanawiające procedury w zakresie bezpieczeństwa żywności z późn. zm. Dz.U. L 31 z 1.2.2002, s. 470.
- [19] Rukure G., Bester B.H.: Survival and growth of *Bacillus cereus* during Gouda cheese manufacturing. *Food Control.*, 2001, **12**, 31-36.
- [20] Tarczyńska A.S., Kowalik J., Łobacz A., Modelowanie mikrobiologicznego bezpieczeństwa żywności. *Przem. Spoż.*, 2012, **6**, 35-38.
- [21] Ustawa z dnia 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia. Dz. U. 2006 r. Nr 171, poz. 1225. Tekst jednolity z dnia 29 czerwca 2010 r. Dz. U. 2010 r. Nr 136, poz. 914.

APPLYING ALTERNATIVE METHODS TO ASSESS MICROBIOLOGICAL SAFETY OF SELECTED CHEESES**S u m m a r y**

The increase has been reported in the incidence of foodborne diseases caused by pathogens in foodstuffs. A risk assessment process makes it possible to assess consumer health risks associated with those pathogens in food. Predictive models constitute a tool to quantitatively evaluate the behaviours of microorganisms in food.

The objective of the research study was to assess the viability of *Bacillus cereus* rods in feta and mozzarella types of cheese during storage at a temperature from 3 to 15 °C with the use of an impedimetric system Bactrac, and to study the results obtained using a method in predictive microbiology.

A |DMFit application was utilized and the growth parameters were compared with the data acquired through a predictive ComBase Predictor software (CP). The CP predictions were derived from the data obtained using microbiological media (modified in terms of composition).

It was found that, under the prearranged experimental conditions, the feta and mozzarella cheeses were a good culture medium for the *Bacillus cereus* bacteria to develop. The models, produced on the basis of the experiments and mathematical calculations, of the *B. cereus* growth during storage differed from the models that were predicted by the CP software. The duration of the lag phase was a growth parameter that determined the bacterial safety of feta and mozzarella types of cheese.

Key words: predictive microbiology, *Bacillus cereus*, feta, mozzarella, food safety 

MARTA DZIUBA, DOROTA NAŁĘCZ, BARTŁOMIEJ DZIUBA

ANALIZA *IN SILICO* PEPTYDÓW IMMUNOAKTYWNYCH POCHODZĄCYCH Z BIAŁEK ŻYWNOSCI – BADANIA Z WYKORZYSTANIEM BAZY BIOPEP

Streszczenie

Analizie bioinformatycznej poddano 89 peptydów immunoaktywnych dostępnych w bazie BIOPEP. Obecność fragmentów potencjalnie immunoaktywnych stwierdzono w 90 ze 150 sekwencji analizowanych białek. Sekwencje aminokwasowe badanych peptydów analizowano z uwzględnieniem: długości łańcucha, udziału procentowego poszczególnych aminokwasów, pI, molowego współczynnika ekstynkcji, indeksu hydropatii i ładunku wypadkowego. Ponadto określono możliwości ich uwalniania *in silico* przez enzymy proteolityczne. Na podstawie komputerowej analizy z zastosowaniem programu ProtParam stwierdzono, że immunoaktywne peptydy to głównie fragmenty hydrofilowe, w sekwencji których przeważają takie aminokwasy, jak: Lys, Arg i Pro, obdarzone ładunkiem dodatnim w neutralnym pH. W komputerowej symulacji proteolizy *in silico* wybranych 11 białek żywności o największej częstotliwości występowania peptydów immunoaktywnych (parametr $A > 0,02$) wykazano, że tylko trzy enzymy: chymaza (EC 3.4.21.39), elastaza trzustkowa (EC 3.4.21.36) i endopeptydaza glicylowa (EC 3.4.22.25), spośród dostępnych w bazie BIOPEP, wykazywały specyficzność pozwalającą na uwalnianie peptydów immunoaktywnych w układzie jednego enzymu. Produktami hydrolizy analizowanych białek, przy użyciu wybranych enzymów proteolitycznych, były głównie 2 - 3 aminokwasowe fragmenty peptydowe.

Słowa kluczowe: peptydy immunoaktywne, baza BIOPEP, analiza bioinformatyczna, proteoliza *in silico*

Wprowadzenie

Białka są podstawowymi składnikami żywności zarówno pod względem żywieniowym, jak i funkcjonalnym. Są źródłem energii, ale przede wszystkim – aminokwasów niezbędnych do syntezy białek ustrojowych. Dodatkowo wiele białek wykazuje specyficzną aktywność biologiczną, która może kształtować funkcjonalne czy też prozdrowotne właściwości produktów żywnościowych. Białka te, jak i produkty ich

Dr inż. M. Dziuba, dr inż. D. Nałęcz, Katedra Biochemii Żywności, dr inż. B. Dziuba, Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Żywności, Wydz. Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Pl. Cieszyński 1, 10-726 Olsztyn. Kontakt: dziuba.uwm.edu.pl

hydrolizy – peptydy, mogą również wpływać na właściwości żywności oraz oddziaływać na organizm człowieka. To oddziaływanie związane jest z możliwością wzbogacania endogennego systemu peptydów bioaktywnych [5, 7, 9, 24].

W wyniku prac badawczych poznano i scharakteryzowano peptydy biologicznie aktywne [2, 3, 8]. Podjęto się też opracowania i zastosowania bazy białek i bioaktywnych peptydów BIOPEP [1], którą udostępniono na stronie internetowej [www.uwm.edu.pl/biochemia]. Zawiera ona podstawowe informacje na temat biologicznej aktywności peptydów, masy chemicznej i monoizotopowej, długości łańcucha, wartości EC_{50} i dane bibliograficzne. Komputerowa ocena białka jako prekursora bioaktywnych peptydów przeprowadzana jest na podstawie zaproponowanych kryteriów, a mianowicie: profilu potencjalnej aktywności białka, częstości występowania bioaktywnych fragmentów oraz ich potencjalnej aktywności. W bazie BIOPEP znajduje się 2609 peptydów bioaktywnych, wykazujących czterdzieści cztery rodzaje aktywności, w tym peptydy o aktywności immunomodulacyjnej i immunostymulacyjnej. Peptydy te mogą wzmacniać takie funkcje układu immunologicznego, jak: proliferacja limfocytów, aktywność komórek NK („naturalni zabójcy”), synteza przeciwciał i działanie cytokin. Ponadto peptydy immunoaktywne mogą redukować reakcje alergiczne u osób skłonnych do atopii i wzmacniać jelitową odporność w przewodzie pokarmowym [20]. Jest wiele przykładów wzmacniania lub osłabiania układu odpornościowego przez peptydy pochodzące z białek żywności [13, 14].

Celem przeprowadzonych badań była bioinformatyczna analiza peptydów immunoaktywnych oraz białek żywności, jako prekursorów tych peptydów z wykorzystaniem bazy BIOPEP.

Materiały i metody badań

Bioinformatyczną ocenę białek żywności jako prekursorów peptydów immunoaktywnych oraz ich fizykochemiczną charakterystykę przeprowadzono korzystając z bazy danych białek i bioaktywnych peptydów BIOPEP [1]. Analizowano sekwencje aminokwasowe 89 dostępnych w bazie peptydów immunoaktywnych oraz wybranych 150 białek.

Sekwencje aminokwasowe badanych peptydów analizowano z uwzględnieniem: długości łańcucha, udziału procentowego poszczególnych aminokwasów, pI, molowego współczynnika ekstynkcji, indeksu hydropatii i ładunku wypadkowego. Masa cząsteczkowa peptydów była wyliczana automatycznie po wybraniu sekwencji aminokwasowej w bazie BIOPEP. Ładunek wypadkowy określano na podstawie wartości pK grup jonizujących w łańcuchach bocznych aminokwasów: Lys, Arg, His, Glu i Asp w neutralnym pH. Obliczenia pozostałych parametrów wykonywano z wykorzystaniem programu Protparam [25]. Obliczenia wszystkich parametrów w odniesieniu do

sekwencji zawierających mniej niż 5 reszt aminokwasowych wykonywano samodzielnie, wykorzystując zdefiniowane algorytmy [12].

W bazie BIOPEP znajduje się panel „Analysis”, w którym automatycznie, po wybraniu sekwencji białka, wyznaczany jest profil jego potencjalnej biologicznej aktywności (zakładka „Profiles of proteins biological activity”) oraz obliczana jest częstość występowania motywów o określonej aktywności w łańcuchu polipeptydowym białka (zakładka „A, B, Y Calculation”). Profil potencjalnej aktywności biologicznej białka określa rodzaj, ilość i położenie występujących w białku fragmentów aktywnych. Częstość występowania fragmentów o określonej aktywności biologicznej w łańcuchu białkowym (parametr A) opisana jest równaniem:

$$A = a/N,$$

gdzie: a – liczba fragmentów o danej aktywności w łańcuchu białka, N – liczba reszt aminokwasowych w łańcuchu polipeptydowym.

Białka żywności o najwyższej wartości parametru A (częstości występowania peptydów immunoaktywnych) poddano proteolizie *in silico* w bazie BIOPEP [1]. W celu określenia możliwości uwalniania peptydów immunoaktywnych z białek prekursorowych zastosowano aplikację „Enzyme(s) action”. Pozwala ona na hydrolizę białek jednym lub maksymalnie trzema dowolnie wybranymi enzymami proteolitycznymi spośród 28 dostępnych w bazie. W pracy wykorzystano 2 opcje hydrolizy białek: jednym i dwoma enzymami.

Wyniki i dyskusja

Analizie bioinformatycznej poddano 89 peptydów immunoaktywnych dostępnych w bazie BIOPEP. Wśród peptydów immunoaktywnych przeważały fragmenty zawierające w łańcuchu od czterech do sześciu reszt aminokwasowych (51 peptydów).

Wyniki komputerowej analizy składu aminokwasowego i właściwości fizykochemicznych peptydów immunoaktywnych zestawiono w tab. 1. i 2. Ponad 56 % wszystkich peptydów zawierało aminokwasy: Lys, Arg i Pro. W co najmniej dwudziestu peptydach występowały reszty: Gln, Glu, Gly, Ile, Leu, Phe, Tre, Tyr i Val. Najbardziej w analizowanych peptydach występowały: Ala, His, Trp i Cys. Udział procentowy aminokwasów w sekwencjach peptydów immunoaktywnych obliczono w odniesieniu do wszystkich badanych peptydów. Otrzymane wyniki wskazują, że pewne aminokwasy występują częściej w łańcuchach i mogą wpływać na immunoaktywność peptydów. W sekwencji biologicznie aktywnych peptydów i w zależności od rodzaju tej aktywności mogą dominować aminokwasy: Val, Leu, Pro, His, Tyr, Glu i Asp [17]. Maksymalne wartości średniego udziału aminokwasów we wszystkich analizowanych peptydach immunoaktywnych uzyskano w przypadku Lys, Arg i Pro, a minimalne – w Cys, Trp i His. Wartości średniego udziału aminokwasów w sekwen-

cjach, w których dany aminokwas był obecny, wskazują, że oprócz tych trzech dominujących aminokwasów pewne znaczenie może mieć obecność: Glu, Gly, Phe czy Tyr. Np. oryzatensyna, znany peptyd wielofunkcyjny wykazujący aktywność immunomodulacyjną powodującą skurcze mięśni gładkich i antagonistyczną do opioidowej, oraz peptydy jej pokrewne o takiej samej aktywności zawierają resztę Arg jako C-końcowy aminokwas, resztę Leu w pozycji trzeciej i resztę hydrofobową (Leu lub Tyr) w pozycji piątej od C-końca [29]. Ponadto w sekwencji oryzatensyny występują reszty Pro. Znaczenie Pro w kształtowaniu biologicznej aktywności omawiano w literaturze

Tabela 1. Zawartość aminokwasów w analizowanych peptydach immunoaktywnych.
Table 1. Content of amino acids in immunoactive peptides analysed.

Aminokwasy Amino acids	Średnia zawartość aminokwasów Average content of amino acids [%]		Liczba peptydów zawierających dany aminokwas Number of peptides containing given amino acid	Min. – maks. zawartość reszt aminokwasowych Min - max content of amino acid residues [%]
	a	b		
Ala	1,68	16,61	9	3,10 - 33,30
Arg	11,79	20,58	51	5,30 - 50,00
Asn	2,31	12,08	17	4,00 - 20,00
Asp	3,77	17,65	19	4,50 - 40,00
Cys	0,47	13,80	3	8,00 - 16,70
Gln	3,05	13,58	20	4,00 - 25,00
Glu	4,80	21,37	20	5,30 - 66,70
Gly	5,90	18,77	28	3,60 - 66,70
His	0,54	9,54	5	3,10 - 16,70
Ile	4,94	15,16	29	4,00 - 33,30
Leu	5,92	16,33	32	5,60 - 66,70
Lys	12,91	22,98	50	3,60 - 50,00
Met	1,40	12,44	10	4,00 - 33,30
Phe	4,30	18,22	21	4,30 - 33,33
Pro	12,18	20,46	53	3,10 - 50,00
Ser	3,52	16,47	19	4,00 - 40,00
Thr	6,61	17,30	34	3,60 - 33,30
Trp	0,47	13,80	3	8,00 - 16,70
Tyr	6,05	18,56	29	3,10 - 50,00
Val	6,91	17,76	35	3,10 - 40,00

Objaśnienia: Explanatory notes:

a – wszystkie peptydy immunoaktywne / all immunoactive peptides;

b – peptydy zawierające dany aminokwas / peptides that contain given amino acid.

Tabela 2. Fizykochemiczne właściwości peptydów immunoaktywnych.

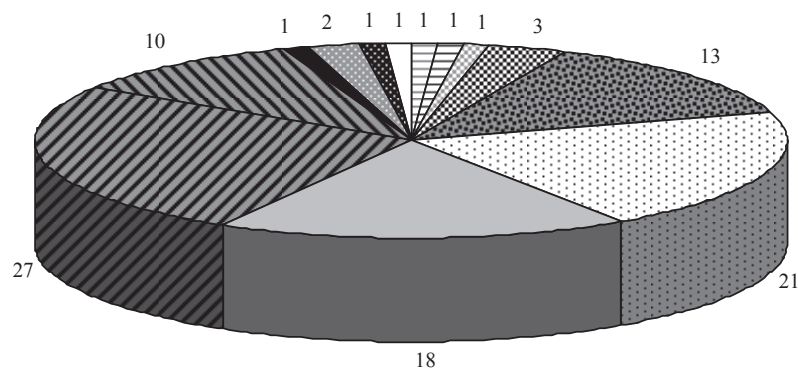
Table 2. Physical-chemical properties of immunoactive peptides.

Wyróżnik Index	Średnia wartość Mean value	Min. wartość Min value	Maks. wartość Max value
Masa cząsteczkowa Molecular mass [Da]	928,37	238,26	3669
pI	8,2	3,61	12,6
Współczynnik molowej ekstynkcji Molar extinction coefficient	2261,25	1490	11000
Indeks niestabilności Instability index	36,87	-51,43	179,53
Indeks alifatyczności Aliphatic index	64,31	0,00	260
Indeks hydropatii Hydrophathy index	-0,92	-3,97	2,68
Ładunek netto Net charge	1	-5	8

przedmiotu [10, 27, 31]. Wyniki analizy składu aminokwasowego peptydów immunomodulacyjnych wskazują, że wiele z nich to fragmenty, w których sekwencje dominuje jeden lub kilka aminokwasów [10, 17].

Konsekwencją składu aminokwasowego są określone właściwości struktury peptydów. W tab. 2. przedstawiono minimalne, średnie i maksymalne wartości wybranych parametrów fizykochemicznych analizowanych peptydów immunoaktywnych. Przykładowo, zakres mas cząsteczkowych peptydów wynosił od 238 do 3669 Da, a średnia masa cząsteczkowa – ok. 930 Da. Wśród peptydów przeważały te o masie 500 ÷ 700 Da (około 50 % wszystkich peptydów). Spośród 89 analizowanych peptydów 38 miało wartość pI < pH 7, a 51 – pI > pH 7. Ta obserwacja łączy się z analizą wypadkowych ładunków peptydów obliczonych w neutralnym pH oraz analizowaną powyżej zawartością poszczególnych aminokwasów: 18 peptydów miało ładunek ujemny, 53 – dodatni, pozostałe peptydy były obojętne (rys. 1). Wiele znanych peptydów obronnych, naturalnie wytwarzanych w układzie immunologicznym, ma cząsteczki obdarzone ładunkiem dodatnim, co wynika z obecności w ich składzie aminokwasów zasadowych [17, 28]. Molowy współczynnik ekstynkcji obliczono tylko fragmentom, w sekwencji których występował co najmniej jeden z aminokwasów absorbujących światło przy długości fali $\lambda = 280$ nm, to znaczy Tyr, Trp i Cys (32 peptydy). Wartość molowego współczynnika ekstynkcji większości peptydów była niska i wynosiła 1490, co jest zbliżone z małą zawartością głównie Trp i Cys. Około 54 % analizowanych peptydów

(48) miało wartość indeksu niestabilności poniżej czterdziestu, co znaczy, że były stabilne [16]. Indeks alifatyczności, dodatnio skorelowany z termostabilnością, jest definiowany jako względna objętość zajmowana przez łańcuchy boczne Ala, Val, Ile i Leu. W przypadku 22 analizowanych fragmentów indeks alifatyczności wynosił zero, co znaczy, że peptydy nie zawierały żadnego z wymienionych aminokwasów. Wartość indeksu alifatyczności w granicach $50 \div 80$ uzyskało około 30 % wszystkich peptydów. Wartość indeksu hydropatii, wskazującego na stopień rozpuszczalności peptydów, była ujemna w przypadku 64 spośród analizowanych peptydów. Świadczy to o ich hydrofilowym charakterze [25].



Ładunek wypadkowy/Net charge: □ -5 □ -4 □ -3 □ -2 □ -1 □ 0 □ 1 □ 2 □ 3 □ 4 □ 5 □ 6 □ 8

Rys. 1. Rozkład ładunku netto peptydów immunoaktywnych [%].

Fig. 1. Immunoactive peptides net charge distribution [%].

Obecność fragmentów potencjalnie immunoaktywnych stwierdzono w 90 ze 150 sekwencji analizowanych białek. Parametr A analizowanych białek przyjmował wartości od 0,0013 do 0,0287. Najbogatszym potencjalnym źródłem peptydów immunoaktywnych (parametr $A > 0,02$) okazały się białka: warianty genetyczne krowiej kazeiny- β , laktoalbumina- α pochodząca z różnych gatunków, mioglobina, flawodoksyna, prolamina ryżu, inhibitor trypsyny i monelina. W łańcuchach polipeptydowych wariantów genetycznych kazeiny- β występowało od 4 do 6 peptydów immunoaktywnych, w laktoalbuminie- α – 3, we flawodoksynie – 2, a w pozostałych białkach po jednym potencjalnie immunoaktywnym fragmencie. Motywy o potencjalnej aktywności immunomodulacyjnej występują w hydrofilowych fragmentach cząsteczek białkowych, o czym świadczy ujemna wartość indeksu hydropatii (średnia wartość indeksu hydropatii fragmentów potencjalnie immunoaktywnych wyniosła -0,92).

Tabela 3. Możliwość uwalniania peptydów immunoaktywnych z białek prekursorowych przez enzymy proteolityczne (BIOPEP).
 Table 3. Possibility of releasing immunoactive peptides from precursor proteins by proteolytic enzymes (BIOPEP).

ID białka prekursorowego ID of precursor protein	Enzym proteolityczny / Proteolytic enzyme											
	Chymaza Chymase (EC 3.4.21.39)	Elastaza pankreatynowa Pancreatic elastase (EC 3.4.21.36)	Endopeptydaza glicylova Glycyl endopeptidase (3.4.22.25.)	Chymaza / Endopeptydaza glutamylova II Chymase / Glutamyl endopeptidase II (EC 3.4.21.39/EC 3.4.21.82)	Elastaza pankreatynowa/V-8 proteaza Pancreatic elastase / V-8 protease (EC 3.4.21.36/EC 3.4.21.19)	Elastaza pankreatynowa/ Endopeptydaza glutamylova II Pancreatic elastase/ Glutamyl endopeptidase II (EC 3.4.21.36/EC 3.4.21.82)						
	Liczba Number	Liczba Number	Liczba Number	Liczba Number	Liczba Number	Liczba Number	Liczba Number	Liczba Number	Liczba Number	Liczba Number	Liczba Number	Liczba Number
1077	-	1	1	-	2	2	-	2	YG/(18-19) YG/(50-51)	YG/(18-19) YG/(50-51)	2	YG/(18-19) YG/(50-51)
1082	-	-	-	-	-	-	-	1	YG/(50-51)	YG/(50-51)	1	YG/(50-51)
1097	1	-	-	1	-	-	1	-	LLY/(191-193)	LLY/(191-193)	-	-
1098	1	-	-	-	-	-	2	-	LLY/(191-193) PGPIP/(63-68)	LLY/(191-193) PGPIP/(63-68)	-	-
1102	1	-	-	-	-	-	2	-	LLY/(191-193) PGPIP/(63-68)	LLY/(191-193) PGPIP/(63-68)	-	-
1108	-	1	1	1	1	1	-	1	YG/(105-106)	YG/(105-106)	1	YG/(105-106)
1115	-	1	1	1	1	1	-	2	YG/(37-38)	YG/(37-38) YG/(69-70)	2	YG/(37-38) YG/(69-70)
1125	-	-	-	-	-	-	1	-	LG Y/(131-133)	LG Y/(131-133)	-	-
1232	-	1	1	-	1	-	-	1	YG/(70-71)	YG/(70-71)	1	YG/(70-71)

Fragmety białka, odpowiadające sekwencjom bioaktywnych peptydów, wykazują aktywność po ich uwolnieniu ze struktury prekursora. Aby uzyskać odpowiedź na pytanie o możliwość uwalniania peptydów immunoaktywnych, przeprowadzono proteolizę *in silico* wybranych 11 białek żywności o największej częstości występowania peptydów immunoaktywnych (parametr $A > 0,02$). Uzyskane wyniki przedstawiono w tab. 3. Tylko trzy enzymy proteolityczne, spośród 28 zgromadzonych w bazie BIOPEP, wykazywały specyficzność, pozwalającą na uwalnianie peptydów immunoaktywnych w układzie jednego enzymu. Enzymami tymi były: chymaza (EC 3.4.21.39), elastaza trzustkowa (EC 3.4.21.36) i endopeptydaza glicylowa (EC 3.4.22.25). Pozostałe bioaktywne fragmenty otrzymano stosując trzy kombinacje dwóch różnych enzymów proteolitycznych. Produktami hydrolizy analizowanych białek, przy użyciu wybranych enzymów proteolitycznych, były głównie 2-, 3-aminokwasowe fragmenty peptydowe. Wyjątek stanowił heksapeptyd PGPIP_N, uwalniany wraz z peptydem LLY, w wyniku działania następczego chymazy (EC 3.4.21.39) i endopeptydazy glutamylowej II (EC 3.4.21.82) z krowiej kazeiny- β , wariantów genetycznych A2 i E (białka, ID 1098 i 1102). W wyniku hydrolizy krowiej kazeiny- β , wariantu genetycznego A1 (białko, ID 1097), przy zastosowanej kombinacji wymienionych enzymów otrzymano tylko jeden produkt hydrolizy – peptyd LLY. Peptyd LLY był uwalniany również pod wpływem samoistnego działania chymazy (EC 3.4.21.39) i był jedynym produktem hydrolizy krowiej kazeiny- β (wszystkich trzech analizowanych wariantów genetycznych). Świadczy to o niewielkich różnicach w uwalnianiu produktów proteolizy w warunkach *in silico*, w zależności od wariantu genetycznego danego białka. Wskazuje jednak na możliwość uwalniania nowych, innych produktów hydrolizy. Niewielkie różnice ilościowe w produktach komputerowej symulacji proteolizy stwierdzono w zależności od gatunku na przykładzie laktoalbuminy- α . W przypadku krowiej i ludzkiej laktoalbuminy- α (białka, ID 1077 i 1115) w kombinacji 2 enzymów proteolitycznych: elastazy trzustkowej (EC 3.4.21.36) i proteazy V8 (EC 3.4.21.19) były uwolnione 2 immunoaktywne fragmenty peptydowe YG, natomiast z owczej laktoalbuminy- α (białko, ID 1082) tylko jeden peptyd YG (tab. 3). W układzie działania jednego enzymu, z łańcuchów krowiej i ludzkiej laktoalbuminy- α , enzymy: elastaza trzustkowa (EC 3.4.21.36) i endopeptydaza glicylowa (EC 3.4.22.25) uwolniły po 1 fragmencie peptydowym YG. Z owczej laktoalbuminy- α nie został zaś uwolniony żaden peptyd immunoaktywny. Ponadto w tab. 3. przedstawiono wyniki proteolizy *in silico* mioglobiny (ID 1125) oraz inhibitora trypsyny (ID 1232). Nie uwolniono żadnego dłuższego, znanego fragmentu immunoaktywnego. W literaturze szeroko omówiono pozyskiwanie peptydów w procesie enzymatycznej hydrolizy [4, 13, 26, 30]. Przykładem są immuno-peptydy otrzymane z kazeiny- α_{s1} , - β i - κ oraz laktoalbuminy- α , które mogą zarówno tłumić, jak i wzmacniać odpowiedź immunologiczną. Otrzymywany w wyniku enzymatycznej hydrolizy krowiej kazeiny- β peptyd

B-kazomorfiną wzmacnia proliferację limfocytów i komórek NK [23]. Kazocydyna i isracydyna, peptydy otrzymywane z kazeiny- α_{s1} , stymulują fagocytozę i odpowiedź immunologiczną wywołaną infekcją bakteryjną [22]. Peptydy powstałe w wyniku hydrolizy kazeiny- κ przez tripsynę inhibują agregację płytek krwi i wiązanie fibrynogenu z płytkami krwi [11].

Hydroliza białek żywności *in silico* (baza BIOPEP) przeprowadzana jest wyłącznie na podstawie rozpoznania w strukturze pierwszorzędowej określonej reszty/określonych reszt aminokwasowych w łańcuchu substratu, zgodnie ze zdefiniowaną specyficznością danego enzymu. Program nie uwzględnia takich czynników, jak wpływ warunków fizykochemicznych (temperatura, pH) środowiska czy struktury wtórnej białek, które znacząco mogą wpływać na efektywność proteolizy [6].

Analizując możliwość uwalniania bioaktywnych peptydów z białek prekursorowych przez enzymy proteolityczne, należy podkreślić, że specyficzne oddziaływanie fizjologiczne nie musi przejawiać się po doustnym podaniu peptydu lub w wyniku jego uwolnienia przez enzymy przewodu pokarmowego. Peptydy o właściwościach fizjologicznych, takich jak opioidowe czy immunostymulacyjne, na przykład pochodzące z białek mleka, ulegają najprawdopodobniej dalszej hydrolizie w organizmie [15].

Wnioski

1. Baza białek i peptydów bioaktywnych BIOPEP jest przydatnym narzędziem analizy immunoaktywnych peptydów pochodzących z białek prekursorowych w modelowych badaniach *in silico*. Pozwala ona w szybki i prosty sposób znaleźć sekwencje białka najbogatsze w elementy immunoaktywne.
2. Wyniki analizy z zastosowaniem programu ProtParam wskazują, że immunoaktywne peptydy to głównie fragmenty hydrofilowe, w sekwencji których przeważają takie aminokwasy, jak: Lys, Arg i Pro, obdarzone ładunkiem dodatnim w neutralnym pH.
3. Badania *in silico* mogą mieć znaczenie w poszukiwaniu źródeł i otrzymywaniu peptydów immunoaktywnych, a tym samym w opracowywaniu diet pacjentów, produkcji żywności funkcjonalnej i nutraceutyków.

Praca badawcza finansowana ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego, projekt nr NN312484240 oraz Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie, projekty nr: 528-0713-0819 i 528-0712-809

Literatura

- [1] BIOPEP. [online]. Dostęp w Internecie: [01.2009, 12.2011, 01.2013.]: <http://www.edu.pl/biochemia/index.php/pl/biochemia>

- [2] Carrasco-Castilla J., Hernandez-Alvarez A.J., Jimenez-Martinez C., Gutierrez-Lopez G.F., Davila-Ortiz G.: Use of proteomics and peptidomics methods in food bioactive peptide science and engineering. *Food Eng. Rev.*, 2012, **4** (4), 224-243.
- [3] Chanput W., Nakai S., Theerakulkait C.: Introduction of new computer softwares for classification and prediction purposes of bioactive peptides: case study in antioxidative tripeptides. *Int. J. Food Prop.*, 2010, **13**, 947-959.
- [4] Chen C., Chi Y.J.: Antioxidant, ACE inhibitory activities and functional properties of egg white protein hydrolysate. *J. Food Biochem.*, 2012, **36**, 383-394.
- [5] Choi J., Sabikhi L., Hassan A., Anand S.: Bioactive peptides in dairy products. *Int. J. Dairy Technol.*, 2012, **65** 1-12.
- [6] Dziuba J., Iwaniak A., Darewicz M., Niklewicz M.: Computer simulation of animal proteins proteolysis in aspect of obtaining bioactive peptides. *Pol. J. Nat. Sci.*, 2002, **10**, 209-222.
- [7] Dziuba M., Darewicz M.: Food proteins as precursors of bioactive peptides - Classification into families. *Food Sci. Technol. Int.*, 2007, **13**, 393-404.
- [8] Dziuba M., Dziuba B.: *In silico* analysis of bioactive peptides. In: Bioactive proteins and peptides as functional foods and nutraceuticals. Mine Y, Li-Chan ECY, Jiang B (eds). Blackwell Publishing Ltd. and Institute of Food Technologists, London, Boca Raton, FL, 2010, pp. 325-340.
- [9] Dziuba M., Minkiewicz P., Dąbek M.: Peptides, products of specific proteolysis as a molecular marker of allergenic proteins – *in silico* studies. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 2013 **12** (1), 101-112.
- [10] Epanand R.M., Vogel H.J.: Diversity of antimicrobial peptides and their mechanisms of action. *BBA-Biomembranes*, 1999, **1462**, 11-28.
- [11] Fiat A.M., Jolles P.: Caseins of various origins and biologically-active casein peptides and oligosaccharides: structural and physiological aspects. *Mol. Cell. Biochem.*, 1989, **87**, 5-30.
- [12] Gasteiger E., Hoogland C., Gattiker A., Duvaud S., Wilkins M.R., Appel R.D., Bairoch A.: Protein identification and analysis tools on the ExpASY server. In: *The Proteomics Protocols Handbook*. Walker JM (ed). Humana Press Inc., Totowa, New York 2005, pp. 571-607.
- [13] Gautier S.F., Pouliot Y., Saint-Sauveur D.: Immunomodulatory peptides obtained by the enzymatic hydrolysis of whey proteins. *Int. Dairy J.*, 2006, **16**, 1315-1323.
- [14] Gill H.S., Doull F., Rutherford K.J., Cross M.L.: Immunoregulatory peptides in bovine milk. *Br. J. Nutr.*, 2000, **84**, 111-117.
- [15] Gobetti M., Stepaniak L., De Angelis M., Corsetti A., Di Cagno R.: Latent bioactive peptides in milk proteins: Proteolytic activation and significance in dairy processing. *CRC Cr. Rev. Food Sci.*, 2002, **42**, 223-239.
- [16] Guruprasad K., Reddy B.V.B., Pandit M.W.: Correlation between stability of a protein and its dipeptide composition – a novel-approach for predicting *in vivo* stability of a protein from its primary sequence. *Protein Eng.*, 1990, **4**, 155-161.
- [17] Jenssen H., Hancock R.E.: Therapeutic potential of HDPs as immunomodulatory agents. In: *Antimicrobial Peptides. Methods and Protocols*. Giuliani A, Rinaldi A (eds). Humana Press Inc., Monserrato 2010, pp. 329-347.
- [18] Kannan A., Hettiarachchy N.S., Lay J.O., Liyanage R.: Human cancer cell proliferation inhibition by a pentapeptide isolated and characterized from rice bran. *Peptides*, 2010, **31**, 1629-1634.
- [19] Korhonen H., Pihlanto A.: Bioactive peptides: Production and functionality. *Int. Dairy J.*, 2006, **16**, 945-960.
- [20] Korhonen H., Pihlanto A.: Food-derived bioactive peptides - Opportunities for designing future foods. *Curr. Pharm. Design*, 2003, **9**, 1297-1308.
- [21] Kyte J., Doolittle R.F.: A simple method for displaying the hydrophobic character of a protein. *J. Mol. Biol.*, 1982, **157** (1), 105-132.

- [22] Lahov E., Regelson W.: Antibacterial and immunostimulating casein-derived substances from milk: Casecidin, isracidin peptides. *Food Chem. Toxicol.*, 1996, **34**, 131-145.
- [23] Migliore-Samour D., Floch F., Jolles P.: Biologically-active casein peptides implicated in immunomodulation. *J. Dairy Res.*, 1989, **56**, 357-362.
- [24] Moller N.P., Scholz-Ahrens K.E., Roos N., Schrezenmeir J.: Bioactive peptides and proteins from foods: indication for health effects. *Eur. J. Nutr.*, 2008, **47**, 171-182.
- [25] ProtParam. [online]. EXPASY. Dostęp w Internecie [01.2012.]: <http://web.expasy.org/protparam/>
- [26] Schober Y., Yoo S.H., Paik H.D., Spengler B., Roempp A., Jayaprakasha H.M., Yoon Y.C.: Characterization of bioactive peptides derived by enzymatic hydrolysis of whey protein concentrate. *Milchwissenschaft*, 2012, **67**, 55-57.
- [27] Srinivasan M., Dunker A.K.: Proline rich motifs as drug targets in immune mediated disorders. *Int. J. Pept.*, 2012, 634769:1-634769:14.
- [28] Steintraesser L., Kraneburg U., Jacobson F., Al-Benna S.: Host defense peptides and their antimicrobial - immunomodulatory duality. *Immunobiology*, 2011, **216**, 322-333.
- [29] Takahashi M., Moriguchi S., Ikeno M., Kono S., Ohata K., Usui H., Kurahashi K., Sasaki R., Yoshikawa M.: Studies on the ileum-contracting mechanisms and identification as a complement C3a receptor agonist of oryzatensin, a bioactive peptide derived from rice albumin. *Peptides*, 1996, **17**, 5-12.
- [30] Udenigwe C.C., Aluko R.E.: Food protein-derived bioactive peptides: production, processing, and potential health benefits. *J. Food Sci.*, 2012, **77** (1), 11-24.
- [31] Zhang L., Falla T.J.: Host defense peptides for use as potential therapeutics. *Curr. Opin. Invest. Dr.*, 2009, **10**, 164-171.

IN SILICO ANALYSIS OF IMMUNOACTIVE PEPTIDES DERIVED FROM FOOD PROTEINS – A STUDY BASED ON BIOPEP DATABASE

S u m m a r y

89 immunoreactive peptides available in the BIOPEP Database were bioinformatically analyzed. It was determined that potentially immunoreactive peptide fragments were present in 90 of 150 sequences of the proteins analysed. In the sequences of immunoreactive peptides studied, the following was analysed: peptide chain length, percent content of individual amino acids, pI, molar extinction coefficient, hydrophathy index, and net charge. Furthermore, it was determined whether it was possible to *in silico* release those peptides using specific proteolytic enzymes. Based on the results of the computer analysis performed using a ProtParam software, it was confirmed that the immunoreactive peptides were, mainly, hydrophilic fragments and in their sequence, the alkaline amino acids prevailed, such as: Arg, Lys, and Pro, with a positive net charge in neutral pH. A computer simulation of *in silico* proteolysis of 11 selected food proteins showing the highest occurrence frequency of immunoreactive peptides (parameter A > 0.02) was performed and based thereon, it was proved that of all the enzymes available in the BIOPEP Database, only three proteolytic enzymes, i.e.: chymase (EC 3.4.21.39), pancreatic elastase (EC 3.4.21.36), and glycyl endopeptidase (EC 3.4.22.25) were able to release immunoreactive peptides in one enzyme setup. The 2-3 amino acid peptide fragments were, mainly, produced during the hydrolysis of the analyzed proteins performed using proteolytic enzymes.

Key words: immunoreactive peptides, BIOPEP Database, bioinformatic analysis, *in silico* proteolysis ☒

BARBARA BORCZAK, ELŻBIETA SIKORA, MAREK SIKORA,
JOANNA KAPUSTA-DUCH, DIMITAR HRUSAVOV

WPLYW ODROZONEGO WYPIEKU I DODATKU ZAKWASU NA INDEKS GLIKEMICZNY *IN VITRO* ORAZ ZAWARTOŚĆ SKROBI I POLIFENOLI OGÓŁEM W BUŁKACH PSZENNYCH

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu dodatku zakwasu do ciasta pszennego i sposobu wypieku (tradycyjnego oraz odroczonego, z zastosowaniem procesu zamrażania i zamrażalniczego przechowywania) na zawartość w bułkach skrobi i polifenoli ogółem oraz wartość indeksu glikemicznego, oznaczonego metodą *in vitro*. Badano cztery warianty bułek pszennych: 1) wypieczone w sposób tradycyjny (TRAD), jako próba kontrolna, 2) z 3-procentowym dodatkiem zakwasu (TRAD+Z) wypieczone w sposób tradycyjny, 3) częściowo podpiekane i zamrożone, a następnie dopiekane (ODR), 4) z 3-procentowym dodatkiem zakwasu (ODR+Z) częściowo podpiekane i zamrożone, a następnie dopiekane.

Zastosowanie technologii odroczonego wypieku wpłynęło na zmniejszenie zawartości suchej masy w badanych bułkach ($p < 0,05$) z ok. 74 do ok. 65 - 66 %. Dodatek zakwasu oraz zastosowanie mrożenia i zamrażalniczego przechowywania przyczyniły się do istotnego ($p < 0,05$) zwiększenia zawartości skrobi wolno trawionej (SDS) w bułkach pochodzących z odroczonego wypieku (ODR – 12,6 % s.m, ODR+Z – 16,10 % s.m) w stosunku do bułek wypiekanych tradycyjnie (TRAD – 7,4 % s.m., TRAD+Z – 7,5 % s.m. Zawartość skrobi szybko trawionej (RDS) była istotnie mniejsza ($p < 0,05$) w bułkach z dodatkiem zakwasu: ODR+Z – 27,4 % s.m. i TRAD+Z – 27,3 % s.m. w porównaniu z bułkami kontrolnymi TRAD – 30,8 % s.m., jak również z bułkami wypiekanyymi w sposób odroczony, ale bez dodatku zakwasu ODR – 29,1 % s.m. Zastosowanie procesu mrożenia i zamrażalniczego przechowywania przyczyniły się do istotnego ($p < 0,05$) zwiększenia zawartości polifenoli ogółem w badanych bułkach [mg kwasu galusowego w 100 g s.m.]: ODR+Z – 105,2 i ODR – 105,7 vs. TRAD – 60,2 i TRAD+Z – 57,7. Natomiast dodatek zakwasu nie wpłynął na wzrost zawartości polifenoli ogółem w badanych bułkach ($p < 0,05$). Dodatek zakwasu oraz zastosowanie mrożenia i zamrażalniczego przechowywania spowodowały istotne ($p < 0,05$) zmniejszenie wartości indeksu glikemicznego, oznaczonego metodą *in vitro*, a wyrażonego wskaźnikiem trawienia skrobi (SDI). Największą wartością SDI charakteryzowały się bułki TRAD – 76,4 % s.m., a najmniejszą – bułki ODR+Z – 53,2 % s.m. Dodatek zakwasu w proszku do ciasta z mąki pszennej jasnej i technologia odroczonego wypieku z zastosowaniem zamrażalniczego przechowywania półproduktu

Dr inż. B. Borczak, prof. dr hab. E. Sikora, dr inż. J. Kapusta-Duch, Katedra Żywienia Człowieka, prof. dr hab. M. Sikora, Katedra Technologii Węglowodanów, Wydz. Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ul. Balicka 122a, 30-149 Kraków, dr inż. D. Hrusavov, University of Food Technologies, 26 Maritsa Blvd, 4000 Plovdiv, Bułgaria. Kontakt: b.borczak@ur.krakow.pl

umożliwiają otrzymanie bułek pszennych o niskim indeksie glikemicznym oraz o zwiększonej zawartości polifenoli.

Słowa kluczowe: bułki pszenne, metoda wypieku, skrobia, indeks glikemiczny, polifenole

Wprowadzenie

Pieczywo stanowi około 80 % przetworów zbożowych produkowanych w Polsce i pod względem ilościowym jest drugą grupą produktów wchodzących w skład całodziennej racji pokarmowej [19]. Według zasad prawidłowego żywienia produkty zbożowe powinny stanowić od 5 do 11 porcji w codziennej diecie, przy czym zaleca się spożywanie głównie przetworów zbożowych pełnoziarnistych, bogatych w błonnik pokarmowy [3, 7, 28].

Obecnie zwraca się uwagę na wartość indeksu glikemicznego spożywanej żywności. Konsumpcja produktów o niskim indeksie glikemicznym, bogatych w błonnik pokarmowy, jest rekomendowana w profilaktyce chronicznych chorób dietozależnych, takich jak: cukrzyca typu 2, otyłość, choroby serca czy nowotwory [6]. Zbożem najczęściej wykorzystywanym do produkcji pieczywa jest pszenica. Niestety, pieczywo pszenne charakteryzuje się wysokim indeksem glikemicznym, niezależnie od stopnia wyciągu mąki użytej do wypieku. W związku ze współczesnymi tendencjami dąży się do wyprodukowania takiego pieczywa, które będzie charakteryzowało się niską odpowiedzią glikemiczną, dobrą wartością odżywczą i jednocześnie odpowiednią jakością, akceptowaną przez konsumentów. Ten cel można osiągnąć m.in. poprzez dodatek takich składników, które będą wzbogacać wartość odżywczą pieczywa, zwiększać w nim zawartość błonnika i jednocześnie obniżać indeks glikemiczny. Nie bez znaczenia pozostaje sama technologia wypieku. Wprowadzenie w latach 80. XX w. pieczywa mrożonego, pochodzącego z odroczonego wypieku, nie pozostaje bez wpływu na niektóre parametry jego wartości odżywczej, w tym na wartość indeksu glikemicznego.

Celem pracy było określenie wpływu dodatku zakwasu do ciasta pszennego i sposobu wypieku (tradycyjnego lub odroczonego, z zastosowaniem procesu zamrażania i zamrażalniczego przechowywania), na zawartość w bułkach skrobi i polifenoli ogółem oraz wartość indeksu glikemicznego mierzoną metodą *in vitro*.

Material i metody badań

Doświadczenie technologiczne

Materiałem doświadczalnym były cztery rodzaje bułek z mąki pszennej (typu 550) wypiekane metodą tradycyjną i odroczoną:

- 1) TRAD – bez zakwasu, tradycyjnie wypiekane (bułki kontrolne),
- 2) TRAD+Z – z 3-procentowym dodatkiem zakwasu w proszku, tradycyjnie wypiekane,

- 3) ODR – bez zakwasu, częściowo podpiekane i zamrażane, a następnie dopiekane,
- 4) ODR+Z – z 3-procentowym dodatkiem zakwasu w proszku, częściowo podpiekane i zamrażane, a następnie dopiekane.

Bułki przygotowywano zgodnie z recepturami opracowanymi przez firmę piekarską Puratos (Belgia). Składniki ciasta: 250 g mąki pszennej typu 550 (Moulins Soufflet, Pornic, Francja), 2,5 g drożdży liofilizowanych (Saf – Instant Red – Lesaffre Group, Strasbourg, Francja), 4,5 g soli (Janikosoda S.A., Janikowo, Polska), polepszacz Freshbake – 2,5 g w bułkach TRAD, TRAD+Z i ODR oraz 7,5 g w bułkach ODR+Z) (Puratos, Belgia), 145 cm³ wody wodociągowej, 7,5 g zakwasu (Medea PW 145, Puratos, Belgia) – w bułkach TRAD+Z i ODR+Z. W każdym wariantcie doświadczenia wypiekano po sześć bułek.

Przygotowanie bułek wypiekanych tradycyjnie (TRAD, TRAD+Z)

Po odważeniu składników ciasta na wadze (WPS1200/C/2, DANLAB, Białystok, Polska) i wymieszaniu w mieszarce (Diosna SP-12, GETH, Niemcy) przez 2 min wolno i 7 min szybko, ciasto poddawano wstępnej fermentacji (10 min) w temp. 20 ± 2 °C pod przykryciem. Następnie odważano kęsy ciasta o masie 70 g i formowano bułki, po czym poddawano fermentacji w garowni (temp. 30 °C, ~105 min) i wypiekano w piecu elektrycznym (MIWE condo, typ CO 2.0608, Michael Wentz GmbH, Arnstein, Niemcy), w temp. 230 °C, przez 20 min.

Przygotowanie bułek wypiekanych metodą odrozoną (ODR, ODR+Z)

Przygotowanie bułek w tym wariantcie było identyczne jak bułek tradycyjnych do momentu zakończenia fermentacji. Po fermentacji bułki poddawano wypiekowi (w temp. 190 °C przez 30 s, po czym w 180 °C przez 16 min i 30 s), a następnie studzeniu i mrożeniu w zamrażarce szokowej (Frigor TLM 300, Biogenet, Dania) w ciągu około 30 min, w temp. -35 °C aż do uzyskania wewnątrz bułki temp. -18 °C. Zamrożone bułki pakowano w torebki foliowe i przechowywano w zamrażarce (-18 °C) przez 14 dni. W dniu przeprowadzania badań bułki odmrażano w temp. 20 ± 2 °C przez 10 min i dopiekano (220 °C) przez 8 min.

Metody badań

W świeżo upieczonych bułkach oznaczano zawartość: suchej masy [25], polifenoli ogółem [30], skrobi całkowitej (TS), wolnej glukozy (FG), skrobi wolno trawionej (SDS) i szybko trawionej (RDS) oraz wartość indeksu glikemicznego *in vitro* (SDI) [5, 9]. W celu otrzymania jednolitej próby do oznaczeń laboratoryjnych bułki mielono w maszynce do mięsa (MM1000.88, Zelmer, Rogoźnica, Polska).

Indeks glikemiczny bułek pszennych oznaczano według Englysta i wsp. [9], w modyfikacji Chunga [5], przy użyciu roztworów enzymów: α -amylazy z trzustki

wieprzowej (P-7545, Sigma-Aldrich, St.Louis, MO, USA), amyloglukozydazy (3300 U/ml, Megazyme International, Irlandia Ltd., Bray, Irlandia) oraz inwertazy (I4504, 300 U/mg, Sigma-Aldrich, St.Louis, MO, USA). Poziom glukozy oznaczano metodą kolorymetryczną przy użyciu reagentu zawierającego enzymy: oksydazę glukozową i peroksydazę (K-GLOX 09/12, Megazyme International, Irlandia Ltd., Bray, Irlandia). Zawartość skrobi całkowitej (TS) obliczano na podstawie sumy zawartości skrobi odpornej (RS) i skrobi rozpuszczalnej (SS) przy użyciu zestawu enzymatycznego (K-RSTAR 08/11, Megazyme International, Irlandia Ltd., Bray, Irlandia). Oznaczano także zawartość wolnej glukozy (FG) oraz glukozy zhydrolizowanej po 20 min (G_{20}) i 120 min (G_{120}) trawienia. Na podstawie powyższych wyników obliczano parametry: $RDS = (G_{20} - FG) \times 0,9$, $SDS = (G_{120} - G_{20}) \times 0,9$ i $SDI = RDS/TS \times 100$.

Statystyczna analiza danych

Do oceny wpływu sposobu wypieku i dodatku zakwasu na zawartość całkowitej skrobi, frakcji RDS, SDS, polifenoli ogółem i suchej masy oraz wskaźnika SDI w bułkach pszennych zastosowano dwuczynnikową analizę wariancji ANOVA z interpretacją interakcji (zamrażanie vs. dodatek zakwasu). Istotność różnic weryfikowano testem Duncana na poziomie $p < 0,05$. Analizowane parametry oznaczano w trzech powtórzeniach. Wszystkie obliczenia wykonywano w programie Statistica v. 8.

Wyniki i dyskusja

Wyniki przeprowadzonych analiz przedstawiono w tab. 1.

Średnia zawartość suchej masy w bułkach wahała się od 65,6 do 74,7 %, co odpowiada jej ilości w pieczywie pszennym, podawanej przez innych autorów ($50 \div 86,3$ %) [3, 7, 28]. Najwięcej suchej masy było w bułkach TRAD+Z z dodatkiem zakwasu, wypiekanych tradycyjnie (74,7 %) oraz w bułkach TRAD (kontrolnych) – 74,0 %. W bułkach pochodzących z odroczonego wypieku zawartość suchej masy kształtowała się na zbliżonym poziomie: ODR+Z – 66,6 % i ODR – 65,6 %, a otrzymane wartości były istotnie mniejsze ($p < 0,05$) od ilości oznaczonych w bułkach wypiekanych w sposób tradycyjny. Wpływ procesu mrożenia na zawartość wody w produktach spożywczych jest dobrze znany i opisany w literaturze [8, 11, 29]. Przyczyną powstawania zmian fizycznych jest przemiana fazowa wody w lód. Tej przemianie towarzyszą zmiany strukturalne, ubytki masy produktów, czyli ususzka, ponadto oparzelina mrożeniowa oraz rekrystalizacja. Zmiany strukturalne zamrożonych produktów powodują także inne niekorzystne zmiany pochodne, m.in. utratę turgoru, zmiany konsystencji produktów, ograniczenie zdolności utrzymania wody, a w skrajnych przypadkach mechaniczne uszkodzenia tkanek lub zanik pierwotnego kształtu [29].

Zawartość węglowodanów w produktach zbożowych wynosi $50 \div 80$ % [7, 9, 28], przy czym w przeważającej ilości występuje skrobia. Wyniki badań własnych potwier-

dzają te dane. Zarówno dodatek zakwasu, jak i zastosowanie odroczonej metody wypieku bułek wpłynęły istotnie ($p < 0,05$) na całkowitą zawartość skrobi TS. Najwięcej skrobi TS było w bułkach wypiekanych metodą odrozoną (ODR) – 67,4 % s.m.). Mniejszą zawartość analizowanego parametru stwierdzono w bułkach ODR+Z (66,4 % s.m.). Z kolei w bułkach pochodzących z tradycyjnego wypieku zawartość TS kształtowała się na niższym poziomie niż w bułkach z wypieku odroczonego [% s.m.]: TRAD – 59,8, a TRAD+Z – 59,2.

Tabela 1 Wartości średnie wybranych parametrów bułek pszennych bez zakwasu i z jego dodatkiem, wypiekanych tradycyjnie i metodą odrozoną.

Table 1. Mean values of selected parameters of wheat flour rolls without and with sourdough added and baked using a traditional and bake-off technology method.

Wariant bułek Version of rolls	Sucha masa Dry matter (DM)	Skrobia całkowita Total starch (TS)	Skrobia wolno trawiona Slowly digestible starch (SDS)	Skrobia szybko trawiona Rapidly digestible starch (RDS)	Wskaźnik trawienia skrobi Starch digestion index (SDI)	Polifenole ogółem Total polyphenols
	[%]	[% s.m.] / [% dm]				[mg/100 g s.m. / d.m.]
TRAD	74,0 ^a ± 0,6	59,8 ^c ± 0,0	7,4 ^c ± 0,4	30,8 ^a ± 1,9	76,4 ^a ± 4,5	60,2 ^b ± 1,3
TRAD+Z TRAD+S	74,7 ^a ± 0,1	59,2 ^d ± 0,1	7,5 ^c ± 0,5	27,3 ^b ± 1,1	65,8 ^b ± 0,6	57,7 ^b ± 1,0
ODR PBF	65,6 ^b ± 0,0	67,4 ^a ± 0,0	12,6 ^b ± 0,4	29,1 ^{ab} ± 1,0	56,4 ^c ± 2,3	105,7 ^a ± 0,5
ODR+Z PBF+SD	66,6 ^b ± 2,2	66,4 ^b ± 0,2	16,1 ^a ± 0,8	27,4 ^b ± 1,4	53,2 ^d ± 0,8	105,2 ^a ± 0,8

Objaśnienia: Explanatory notes:

TRAD – bez zakwasu, tradycyjnie wypiekane (kontrolne) / TRAD – without sourdough, baked traditionally (sample); TRAD+Z – z dodatkiem zakwasu, tradycyjnie wypiekane / TRAD+SD – with added sourdough, baked traditionally; ODR – bez zakwasu, częściowo podpiekane i zamrażane, a następnie dopiekane / PBF – without sourdough, partially baked and frozen, and, next, finally baked; ODR+Z – z dodatkiem zakwasu, częściowo podpiekane i zamrażane, a następnie dopiekane / PBF+SD – with sourdough, partially baked and frozen, and, next, finally baked.

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values ± standard deviations; wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi indeksami literowymi są statystycznie istotnie różne przy $p < 0,05$ / mean values in columns and denoted by different letter superscripts are statistically significantly different at $p < 0.05$.

Bułki wypiekane metodą odrozoną charakteryzowały się istotnie większą ($p < 0,05$) zawartością skrobi wolno trawionej (SDS) niż wypieczone tradycyjnie. W bułkach ODR+Z zawartość SDS wynosiła 16,10 % s.m., a w ODR – 12,6 % s.m.

Z kolei, w bułkach wypiekanych tradycyjnie zawartość SDS wynosiła: w bułkach TRAD – 7,4 % s.m., a w TRAD+Z – 7,5 % s.m.

Zawartość skrobi szybko trawionej (RDS) była istotnie mniejsza ($p < 0,05$) w bułkach z dodatkiem zakwasu: ODR+Z – 27,4 % s.m. i TRAD+Z – 27,3 % s.m. w porównaniu z bułkami kontrolnymi TRAD – 30,8 % s.m. W bułkach wypiekanych w sposób odroczone, bez dodatku zakwasu (ODR) zawartość skrobi RDS wynosiła 29,1 % s.m.

Skrobia szybko trawiona powstaje podczas tradycyjnego wypieku pieczywa. W warunkach podwyższonej temperatury i w obecności wody dochodzi do jej kleikowania i tworzenia skrobi szybko ulegającej trawieniu i absorpcji w jelicie cienkim [29]. Jednocześnie zbyt częste spożycie produktów żywnościowych zawierających duże ilości frakcji RDS może prowadzić do zwiększonego stężenia glukozy we krwi, powyżej 180 mg/dl (tzw. hiperglikemii), oraz zwiększonego stężenia insuliny we krwi (tzw. hiperinsulinemii) i w konsekwencji stać się przyczyną insulinooporności, czyli stanu bezpośrednio poprzedzającego pojawienie się cukrzycy typu 2 [26, 28].

Proces zamrażania powoduje zmniejszenie zawartości skrobi RDS i jednocześnie zwiększenie zawartości frakcji SDS [9, 28]. Englyst i wsp. [9] oznaczyli RDS na poziomie 41 % s.m., natomiast po schłodzeniu skrobi – 33 % s.m. Wyniki uzyskane w badaniach własnych nie potwierdziły jednoznacznie wpływu zamrażalniczego przechowywania na zmniejszenie zawartości RDS. Pomiędzy bułkami TRAD i ODR nie stwierdzono statystycznie istotnej różnicy ($p < 0,05$) pod względem zawartości RDS, ale zaobserwowano pewną tendencję zmniejszenia ilości tego składnika. Istotne różnice ($p < 0,05$) zawartości RDS stwierdzono pomiędzy bułkami TRAD a ODR+Z i TRD+Z, co świadczy o większym wpływie zakwasu na zmniejszenie zawartości frakcji RDS. Jednocześnie stwierdzono wpływ dodatku zakwasu na wzrost zawartości frakcji SDS w bułkach wypiekanych metodą odroczoną (ODR+Z) w porównaniu z bułkami wypiekanyymi w tej samej technologii, lecz bez dodatku zakwasu (ODR). Kwas mlekowy wytworzony przez bakterie zawarte w zakwasie może sprzyjać powstawaniu wiązań pomiędzy skrobią a glutenem, czyniąc skrobię trudno dostępną dla enzymów trawiennych człowieka [10, 13, 18]. Innym działaniem kwasu mlekowego jest obniżanie pH środowiska, wpływającego na zmianę aktywności enzymów trawiennych, co może doprowadzać do zmniejszenia strawności skrobi [10].

Zawartość frakcji SDS w bułkach przechowywanych zamrażalniczo była istotnie większa ($p < 0,05$) od ilości tego składnika w bułkach wypiekanych tradycyjnie. Englyst i wsp. [9] również stwierdzili zwiększenie ilości skrobi wolno trawionej po mrożeniu gotowanych ziemniaków i makaronu. W świeżo gotowanych ziemniakach cytowani autorzy oznaczyli zawartość SDS na poziomie 5 % s.m., a po ich schłodzeniu – 11 % s.m. Natomiast w świeżo ugotowanym spaghetti zawartość frakcji SDS wynosiła 33 % s.m., a w makaronie schłodzonym zwiększyła się do 42 % s.m. Z kolei Ronda

i wsp. [28], w pieczywie poddanym zamrażalnictwu przechowywaniu (-18 °C) przez 22 i 63 dni uzyskali zawartość SDS na poziomie odpowiednio: 26,0 i 29,9 % s.m. Wartości te były istotnie większe ($p < 0,05$) od zawartości SDS w pieczywie niepoddanym zamrażalnictwu przechowywaniu (18,8 % s.m.). Natomiast zawartość frakcji RDS w cytowanych badaniach [28] zmniejszyła się z 51,9 % s.m. w pieczywie nieprzechowywanym zamrażalnictwo poprzez 48,8 % s.m. w przechowanym przez 21 dni do 42,7 % s.m. w 63. dniu zamrażalnictwa przechowywania.

Podczas mrożenia dochodzi do retrogradacji skleikowanej uprzednio skrobi, poprzedzonej powstawaniem wiązań wodorowych pomiędzy cząsteczkami amylozy. W tej postaci skrobia tworzy uporządkowaną, zwartą strukturę, oporną na działanie enzymów trawiennych człowieka [29].

Związki fenolowe w zbożach występują głównie w postaci kwasów fenolowych: wolnych, rozpuszczalnych ich frakcji, następnie rozpuszczalnych, ale sprzężonych poprzez wiązanie estrowe z cukrami i innymi niskocząsteczkowymi składnikami roślin. Trzeci rodzaj to nierozpuszczalna frakcja kwasów fenolowych, związanych z komponentami ścian komórkowych, takimi jak: polisacharydy, białka, ligniny, kuty-na czy suberyna [21]. Ogólną pulę kwasów fenolowych w ziarniakach zbóż tworzą kwasy fenylokarboksylowe (p-hydroksybenzoesowy, salicylowy, protokatechowy, wanilinowy, galusowy i elagowy) i kwasy fenylopropenowe (kawowy, p-kumarowy, ferulowy, synapinowy), tworzące tzw. fenolokwasy. W ziarniakach zbóż dominującym kwasem fenolowym jest kwas *trans*-ferulowy [20]. W pszenicy najpowszechniej występują związane i nierozpuszczalne frakcje kwasów fenolowych (77 %), następnie – związane kwasy rozpuszczalne (22 %), a w najmniejszej ilości występuje frakcja wolnych i rozpuszczalnych kwasów fenolowych ($0,5 \div 1$ %) [16]. Oprócz kwasów fenolowych, w pszenicy oznaczono znaczne ilości alkilorezorcynoli, które są stabilne podczas procesu przetwarzania ziarna [21]. Całkowita zawartość polifenoli w mące pszennej i w pieczywie wynosi $28,3 \div 344$ mg/100 g s.m., w przeliczeniu na kwas galusowy [1, 2, 24]. Wyniki uzyskane w badaniach własnych zawierają się w powyższym zakresie. Największą zawartość polifenoli ogółem stwierdzono w bułkach [mg kwasu galusowego w 100 g s.m.]: ODR+Z – 105,2 i ODR – 105,7. W bułkach wypiekanych tradycyjnie wykazano istotnie mniejszą ($p < 0,05$) zawartość tych związków [mg kwasu galusowego w 100 g s.m.]: 60,2 – w bułkach TRAD i 57,7 – w bułkach TRAD+Z. Dowodzi to, że proces zamrażania istotnie ($p < 0,05$) wpłynął na zwiększenie zawartości polifenoli ogółem w bułkach pszennych. W literaturze brak jest danych na temat wpływu procesu zamrażania pieczywa na zawartość polifenoli ogółem. Badania przeprowadzone przez Kolniak [14] dotyczyły zawartości polifenoli ogółem w przechowywanych zamrażalnictwo truskawkach. Stwierdzono, że w wyniku zastosowania procesu mrożenia zawartość polifenoli ogółem w tych owocach wzrosła o 17 do 18,5 %, w zależności od odmiany truskawek. Zjawisko tłumaczono efektem uwolnienia się

związków polifenolowych z uszkodzonych komórek miąższu owoców bądź też obecnością związków krioochronnych, do których należą m.in. skrobia i pektyny [29]. W badaniach własnych, zastosowany proces mrożenia i zamrażalniczego przechowywania bułek pszennych mógł przyczynić się do uwolnienia związanych ze strukturami ścian komórkowych frakcji polifenoli i to mogło przyczynić się do istotnego ($p < 0,05$) wzrostu zawartości polifenoli ogółem w bułkach pochodzących z odroczonego wypieku. Innym wyjaśnieniem jest zastosowanie odczynnika Folina-Ciocalteu'a, który może reagować także z cukrami, kwasem askorbinowym, białkami, aminokwasami, jonami miedzi i żelaza [14]. Bułki ODR+Z charakteryzowały się największym dodatkiem polepszacza (3 g/100 g mąki), który zawierał m.in. kwas askorbinowy.

Dodatek zakwasu nie wpłynął na wzrost zawartości polifenoli ogółem w badanych bułkach ($p < 0,05$). Polifenole, w tym kwasy fenolowe oraz alkilorezorcynole, są klasą związków określaną mianem składników fitochemicznych [12]. Właściwości antyoksydacyjne produktów spożywczych determinowane są ich zawartością i biodostępnością [17, 20]. W przypadku produktów piekarskich ich ilość zależeć będzie od procesów przemiału mąki oraz technologii wypieku [7]. Fermentacja zakwasu przyczynia się do wzrostu łatwo ekstrahowalnych związków fenolowych [12, 17]. Z drugiej strony wiadomo jest, że poziom fitynianów, alkilorezorcynoli i tokoferoli ulega zmniejszeniu w pieczywie wypiekanym na zakwasie [12]. Stąd prawdopodobnie wynika brak wpływu dodatku zakwasu na poziom polifenoli ogółem w badanych bułkach.

Indeks glikemiczny oznaczono metodą *in vitro* i wyrażono jako wskaźnik trawienia skrobi (SDI). Istotnie ($p < 0,05$) największą wartością SDI [% s.m.] charakteryzowały się bułki TRAD – 76,4, a najmniejszą – bułki ODR+Z – 53,2. Wartość SDI bułek TRAD+Z oraz ODR kształtowała się na poziomie odpowiednio [% s.m.]: 65,8 i 56,4. Pomędzy wszystkimi rodzajami bułek wystąpiły statystycznie istotne ($p < 0,05$) różnice wartości SDI.

Produkty spożywcze zawierające węglowodany można podzielić na trzy grupy: 1) o niskim indeksie glikemicznym (IG) ($< 55\%$), 2) o średnim indeksie glikemicznym ($55 \div 69\%$), 3) o wysokim IG ($> 70\%$) [26]. Pieczywo pszenne, niezależnie od stopnia przemiału mąki użytej do wypieku, charakteryzuje się wysoką odpowiedzią glikemiczną. Podczas wypieku pieczywa pszennego dochodzi do prawie całkowitego skleikowania skrobi i jej przejścia w formę łatwo trawioną, przyswajalną w przewodzie pokarmowym człowieka, co jest jedną z przyczyn wysokiego IG. SDI bułek TRAD znajdował się w przedziale powyżej 70 % s.m., tym samym zostały one zaklasyfikowane do produktów o wysokim IG. Dodatek zakwasu oraz zmiana technologii wypieku poprzez zastosowanie procesu zamrażania i zamrażalniczego przechowywania wpłynęły istotnie na obniżenie wartości SDI, dzięki czemu bułki TRAD+Z oraz ODR zaklasyfikowano do produktów o średnim indeksie glikemicznym ($55 \div 69\%$ s.m.), a bułki ODR+Z do produktów o niskiej odpowiedzi glikemicznej (poniżej 55 % s.m.).

Wpływ procesu zamrażania na obniżenie odpowiedzi glikemicznej w pieczywie psennym zaobserwowano w badaniach *in vitro* [9, 28] oraz *in vivo* [3, 4, 23]. Podczas zamrażalniczego przechowywania dochodzi do powstania m.in. skrobi odpornej [3, 23, 28]. Nie jest ona trawiona przez enzymy układu pokarmowego człowieka, tym samym produkty ją zawierające charakteryzują się obniżoną wartością indeksu glikemicznego [22].

W badaniach Englysta i wsp. [9], w świeżo ugotowanym spaghetti, wartość indeksu glikemicznego wyniosła 52 %, a po ochłodzeniu zmniejszyła się do 42 %. Badaniom poddano również ziemniaki, które, podobnie jak pieczywo pszenne, można zakwalifikować do produktów o wysokim IG. W świeżo ugotowanych ziemniakach wartość indeksu glikemicznego kształtowała się na poziomie 98 %, a po ich ostudzeniu – 87 %. Działanie naprzemiennych cykli niskiej i wysokiej temperatury (gotowanie i chłodzenie) doprowadziło do zmniejszenia przyswajalności skrobi zawartej w badanych produktach skrobiowych, co istotnie obniżyło ich odpowiedź glikemiczną.

W badaniach własnych bułki z dodatkiem zakwasu (TRAD+Z, ODR+Z) osiągnęły istotnie mniejszą ($p < 0,05$) wartość SDI, w porównaniu z bułkami kontrolnymi, wypiekаныmi bez dodatku zakwasu (TRAD, ODR). Wpływ dodatku zakwasu na wartość indeksu glikemicznego pieczywa psennego badali wcześniej inni autorzy [3, 15, 23], wykazując wpływ dodatku zakwasu na zmniejszenie odpowiedzi glikemicznej. De Angelis i wsp. [6] w badaniach *in vitro* sprawdzili wpływ dodatku zakwasu i błonnika z owsa na wartość indeksu glikemicznego. Wartość ta w pieczywie psennym wyniosła 72 %, natomiast w pieczywie z dodatkiem zakwasu i błonnika była znacznie mniejsza i wyniosła 53,7 %. Z kolei w badaniach przeprowadzonych z udziałem zdrowych ochotników [3] uzyskano wartość wskaźnika glikemicznego na poziomie 87 % w pieczywie wypiekanyim tradycyjnie, natomiast w pieczywie wypiekanyim w ten sam sposób, lecz z dodatkiem zakwasu – na niższym poziomie (63 %). Podobną zależność zaobserwowano także w przypadku pieczywa wypiekanyego metodą odroczonego wypieku [3, 23].

Wyjaśnieniem mogą być kwasy organiczne (np. kwas mlekowy) zawarte w zakwasie, które spowalniają rozkład węglowodanów pieczywa i opóźniają absorpcję w jelitach, poprzez obniżanie pH środowiska i tym samym optimum pH działania enzymów amylolitycznych [18]. Ponadto kwas mlekowy stwarza dobre warunki do reakcji pomiędzy skrobią a glutenem, a powstałe połączenie zmniejsza ilość skrobi dostępnej do trawienia enzymatycznego [13]. Do najmniejszej wartości wskaźnika SDI bułek ODR+Z mogła się również przyczynić największa zawartość w nich polifenoli ogółem, spośród wszystkich badanych bułek. Związki polifenolowe mogą, podobnie jak zawarte w zakwasie kwasy organiczne, opóźnić pasaż żołądkowy i tym samym zmniejszać odpowiedź glikemiczną produktów zbożowych [23].

Wyniki niniejszej pracy kształtują się na poziomie bardzo zbliżonym do rezultatów uzyskanych w warunkach *in vivo* przez innych autorów [3, 23] i wskazują na podobną tendencję w obniżaniu indeksu glikemicznego pod wpływem zastosowanych modyfikacji recepturowych (zakwas) i technologicznych (technologii wypieku pieczywa z zastosowaniem mrożenia i zamrażalniczego przechowywania). Tym samym można stwierdzić, że zastosowana metoda *in vitro* umożliwia uzyskanie porównywalnych, powtarzalnych i wiarygodnych wyników oraz jest tańsza i łatwiejsza w przeprowadzeniu.

Równoczesne zastosowanie zamrażalniczego przechowywania, realizowanego w ramach technologii odroczonego wypieku oraz dodatku zakwasu w proszku do ciasta z mąki pszennej jasnej doprowadziło do uzyskania produktu piekarskiego o niskiej odpowiedzi glikemicznej *in vitro* oraz zawierającego więcej substancji przeciwutleniających, co może być korzystne pod względem żywieniowym.

Wnioski

1. Zastosowanie technologii odroczonego wypieku przyczyniło się do zmniejszenia zawartości suchej masy w badanych bułkach ($p < 0,05$).
2. Dodatek zakwasu istotnie ($p < 0,05$) wpłynął na zmniejszenie zawartości frakcji RDS w badanych bułkach, niezależnie od zastosowanej technologii wypieku (TRAD+Z, ODR+Z). Dodatek zakwasu oraz zastosowanie mrożenia i zamrażalniczego przechowywania wpłynęła na zwiększenie zawartości frakcji SDS w bułkach pochodzących z odroczonego wypieku (ODR, ODR+Z).
3. Zastosowanie procesu mrożenia i zamrażalniczego przechowywania przyczyniły się do istotnego ($p < 0,05$) zwiększenia zawartości polifenoli ogółem w badanych bułkach.
4. Dodatek zakwasu oraz zastosowanie mrożenia i zamrażalniczego przechowywania spowodowały istotne ($p < 0,05$) zmniejszenie wartości indeksu glikemicznego oznaczonego metodą *in vitro*.

Pracę wykonano w ramach grantu BM-4736/KZCz/2013 finansowanego przez Uniwersytet Rolniczy w Krakowie z dotacji celowej na prowadzenie badań naukowych lub prac rozwojowych oraz zadań z nimi związanych, służących rozwojowi młodych naukowców oraz uczestników studiów doktoranckich

Literatura

- [1] Alvarez- Jubete L., Wijngaard H., Arendt E.K., Gallagher E.: Polyphenol composition and *in vitro* antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. *Food Chem.*, 2010, **119**, 770-778.

- [2] Balestra F., Cocci E., Pinnavaia G., Romani S.: Evaluation of antioxidant, rheological and sensorial properties of wheat flour dough and bread containing ginger powder. *LWT*, 2011, **44**, 700-705.
- [3] Borczak B., Sikora E., Sikora M., van Haesendonck I.: The impact of sourdough addition to frozen stored wheat-flour rolls on glyceic response in human volunteers. *Starch - Stärke*, 2011, **63 (12)**, 801-807.
- [4] Cassab-Carreira M., Lajolo F.M., Wenzel de Menezes E.: Glycemic Index: Effect of food storage under low temperature. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 2004, 569-574.
- [5] Chung HJ., Liu Q., Hoover R.: Effect of single and dual hydrothermal treatments on the crystalline structure, thermal properties, and nutritional fractions of pea, lentil, and navy bean starches. *Food Res. Int.*, 2010, **43**, 501-508.
- [6] De Angelis M., Gallo G., Corbo M.R., McSweeney P.L.H., Faccia M., Giovine M., Gobbetti M.: Phytase activity in sourdough lactic acid bacteria: purification and characterization of phytase from *Lactobacillus sanfranciensis* cb1. *Int. J Food Microbiol.*, 2003, **87**, 259-270.
- [7] Dewettinck, K., van Bockstaele, F., Kühne, B., van De Walle, D., Courtens T.M., Gellynek X.: Nutritional value of bread: Influence of processing, food interaction and consumer perception. *J. Cereal Sci.*, 2008, **48 (2)**, 243-257.
- [8] Eckardt J., Ohgren, C., Alp A., Ekman S., Åström A., Chen G., Swenson J., Johansson D., Langton M.: Long-term frozen storage of wheat bread and dough. Effect of time, temperature and fibre on sensory quality, microstructure and state of water. *J. Cereal Sci.*, 2013, **57**, 125-133.
- [9] Englyst HN, Kingman SM, Cummings, JH.: Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 1992, **46 (suppl)**, 33-50.
- [10] Fardet A., Leenhardt F., Lioger D., Scalbert A., Remsey C.: Parameters controlling the glyceic response to breads, *Nutr. Res. Rev.*, 2006, **19**, 18-25.
- [11] Garcia-Alonso A., Jiménez-Escrig A., Martin-Carrón N., Bravo, L., Saura-Calixto F.: Assessment of some parameters involved in the gelatinization and retrogradation of starch. *Food Chem.*, 1999, **66**, 181-187.
- [12] Gobbetti M., Rizello C.G., Di Cagno R., De Angelis M.: How sourdough may affect the functional features of leavened goods. *Food Microbiol.*, 2014, **37**, 30-40.
- [13] Katina K., Arendt E., Liukkonen K.H., Autio K., Flander L., Poutanen K.: Potential of sourdough for healthier cereal products, *Trends Food Sci. Technol.*, 2005, **16**, 104-112.
- [14] Kolniak J.: Wpływ sposobu zamrażania, rozmrażania oraz dodatków kriochronnych na zawartość polifenoli ogółem, antocyjanów i pojemność przeciwutleniającą mrozonek truskawkowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **5 (60)**, 135-148.
- [15] Lappi J., Selinheimo E., Schwab U., Katina K., Lehtinen P., Mykkänen H., Kolehmainen M., Poutanena K.: Sourdough fermentation of wholemeal wheat bread increases solubility of arabinoxylan and protein and decreases postprandial glucose and insulin responses. *J. Cereal Sci.*, 2010, **51 (1)**, 152-158.
- [16] Li I., Shewry R, Ward J.L.: Phenolic acids in wheat varieties in the Healthgrain diversity screen. *J. Agric. Food Chem.*, 2008, **56**, 9732-9739.
- [17] Liukkonen K.H., Katina K., Wilhelmson A., Myllymaki O., Lampi A.M., Kariluoto S., Piironen V., Satu-Maarit Heinonen S.M., Nurmi T., Adlercreutz H., Peltoketo A., Pihlava J.M., Hietaniemi V., Poutanen K.: Process induced changes on bioactive compounds in whole grain rye. *Proc. Nutr. Society*, 2003, **62**, 117-122.
- [18] Maioli M., Pes G.M., Sanna M., Cherchi S., Dettori M., Manca E., Farris G.A.: Sourdough-leavened bread improve postprandial glucose and insulin plasma levels in subject with impaired glucose tolerance, *Acta Diabetol*, 2008, **45**, 91-96.
- [19] Mały Rocznik Statystyczny Polski 2013. Główny Urząd Statystyczny, ISSN 1640-3630, Warszawa 2013. Matilla P., Pihlava J.M., Hellstrom J.: Contents of phenolic acids, alkyl- and alkenylresor-

- cinols, and avenanthramides in commercial grain products. *J. Agric. Food Chem.*, 2005, **53**, 8290-8295.
- [20] Naczek M., Shahidi F.: Extraction and analysis of phenolics in food. *J. Chromatog. A*, 2004, **1054** (1 - 2), 95-111.
- [21] Niba L.L.: Effect of storage period and temperature on resistant starch and β -glucan content in corn-bread. *Food Chem.*, 2003, **83** (4), 493-498.
- [22] Novotni D., Ćurić D., Bituh M., Colić I.C., Skevin D., Cukelj N.: Glycemic index and phenolics of partially-baked frozen bread with sourdough. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 2011, **61** (1), 26-33.
- [23] Pérez-Jiménez J., Fulgencio S.C.: Literature underestimate the actual antioxidant capacity of cereals. *J. Agric. Food Chem.*, 2005, **53**, 5036-5040.
- [24] PN-A-74108:1996. *Pieczczywo. Metody badań.*
- [25] Powell K.F., Holt H.A., Brand-Miller J.C.: International table of glycemic index and glycemic load values. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2002, **76**, 5-56.
- [26] Reguła J., Gramza-Michałowska A.: Wartość odżywcza oraz indeks glikemiczny produktów zbożowych z dodatkiem suszu bocznika ostrygowatego (*Pleurotus ostreatus*). *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, **5** (90), 119-128.
- [27] Ronda F., Gomez M., Quilez J.: Prolonged frozen storage of partially-baked wheat bread increases *in vitro* slowly digestible starch after final bake. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 2010, **61** (6), 1-6.
- [28] Selomulyo V.O., Zhou W.: Frozen bread dough: Effects of freezing storage and dough improvers. *J. Cereal Sci.*, 2007, **45**, 1-17.
- [29] Swain T, Hillis W.E.: The phenolic constituents of *Prunus domestica*. The quantitative analysis of phenolic constituents. *J. Sci. Food Agric.*, 1959, **10**, 63-68.

EFFECT OF BAKE-OFF TECHNOLOGY AND ADDED SOURDOUGH ON *IN VITRO* GLYCEMIC INDEX AND ON CONTENT OF TOTAL STARCH AND POLYPHENOLS IN WHEAT FLOUR ROLLS

S u m m a r y


The objective of the research study was to determine the effect of the sourdough added into the wheat flour dough and the baking method (traditional baking method and bake-off technology with the application of freezing and frozen storage processes) on the content of starch and total polyphenols in rolls, as well as on the value of glycemic index that was measured *in vitro*.

Four types of wheat flour rolls were analyzed: 1) traditionally baked rolls (TRAD) as a control sample; 2) traditionally baked rolls with 3 % of sourdough (TRAD+SD) added; 3) rolls that were partially baked, frozen, and, next, finally baked (PBF); 4) rolls that were partially baked and frozen, and, next, finally baked with 3 % of sourdough added (PBF+SD).

The application of bake-off technology contributed to a reduction in the content of dry matter (DM) ($p < 0.05$) in the rolls studied from ca. 74 to 65-66 %. The sourdough added and the application of freezing and frozen storage processes caused the content of slowly digestible starch (SDS) to significantly ($p < 0.05$) increase in the rolls baked using BOT (in PBF rolls by 12.6 % of dry matter; in PBF+SD rolls by 16.10 % of dry matter (DM)) compared to the traditionally baked rolls (in TRAD rolls: 7.4 % of DM; in TRAD+SD rolls: 7.5 % of DM). The content of rapidly digestible starch (RDS) was significantly lower ($p < 0.05$) in the rolls with the sourdough added: in PBF+SD rolls: 27.4 % of DM and in TRAD+SD rolls: 27.3 % of DM compared to the traditionally baked rolls: 30.8 % of DM, and to the PBF rolls: 29.1 % of DM. The applied freezing and frozen storage processes caused the content of total polyphenols in the rolls studied to significantly increase [mg of gallic acid in 100 g of DM]: in PBF + SD rolls: 105.2 and in PBF

rolls: 105.7 vs. in TRAD rolls: 60.2 and in TRAD+SD rolls: 57.7. However, the sourdough added had no impact on the increase in the content of total polyphenols in the rolls studied ($p < 0.05$). The sourdough added and the freezing and frozen storage processes applied caused the *in vitro* measured value of glycemic index, expressed as a starch digestibility index (SDI), to decrease. The TRAD rolls were characterized by the highest value of SDI: 76.4 % of DM; and the PBF+SD rolls by the lowest SDI value: 53.2 % of DM.

The powdered sourdough added into the white wheat flour and the BOT method with storing the partially baked products under the frozen conditions make it possible to produce wheat flour rolls showing a low value of glycemic index and an increased content of polyphenols.

Key words: wheat rolls, method of baking, starch, glycemic index, polyphenols 

DOROTA LITWINEK, HALINA GAMBUŚ, GABRIELA ZIĘĆ,
FLORIAN GAMBUŚ

PORÓWNANIE INDEKSU I ŁADUNKU GLIKEMICZNEGO HERBATNIKÓW OWSIANYCH ORAZ PSZENNYCH

Streszczenie

Celem pracy było porównanie indeksu oraz ładunku glikemicznego herbatników wypieczonych ze 100-procentowej mąki pszennej typu 650 i 100-procentowych mąk owsianych: handlowej oraz resztkowej (uzyskanej po produkcji preparatu błonnikowego).

Herbatniki poddano ocenie organoleptycznie przez panel oceniający. Analizowano też twardość herbatników teksturometrem TA-XT Plus, stosując test penetracji i przecięcia. Metodami AOAC oznaczono w herbatnikach wilgotność oraz zawartość: białka ogółem, tłuszczu surowego, związków mineralnych w postaci popiołu całkowitego, włókna pokarmowego ogółem, w tym frakcji rozpuszczalnej i nierozpuszczalnej oraz β -D-glukanów. Według zaleceń FAO/WHO obliczono także zawartość węglowodanów przyswajalnych w herbatnikach. Zgodnie z metodą rekomendowaną przez FAO, uwzględniającą skład produktów i równoważniki energetyczne Atwera, obliczono wartość energetyczną herbatników. Oznaczenie indeksu glikemicznego przeprowadzono w grupie 15 ochotników metodą zalecaną przez ISO 26642:2010. Zarówno herbatniki pszenne, jak i owsiane zostały bardzo dobrze ocenione pod względem cech organoleptycznych, przy czym herbatniki z mąk owsianych (resztkowej i handlowej) charakteryzowały się większą kruchością. Zastosowanie mąk owsianych do produkcji, w miejsce mąki pszennej, spowodowało statystycznie istotny ($p \leq 0,05$) wzrost zawartości tłuszczu surowego, popiołu całkowitego, włókna pokarmowego (frakcji rozpuszczalnej i nierozpuszczalnej), w tym β -glukanów, w tych herbatnikach. Wszystkie herbatniki charakteryzowały się niskim indeksem glikemicznym, w granicach $46 \div 50$, a także niskim ładunkiem glikemicznym – poniżej 10, co wynikało głównie z małej zawartości węglowodanów przyswajalnych ($57 \div 61$ %) i dużej zawartości tłuszczu ($19 \div 24$ %) w tych produktach.

Słowa kluczowe: herbatniki pszenne, herbatniki owsiane, indeks glikemiczny, ładunek glikemiczny

Dr inż. D. Litwinek, prof. dr hab. H. Gambuś, dr G. Zięć, Katedra Technologii Węglowodanów, Wydz. Technologii Żywności, ul. Balicka 122, prof. dr hab. F. Gambuś, Katedra Chemii Rolnej i Środowiskowej, Wydz. Rolniczo-Ekonomiczny, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, al. Mickiewicza 21, 31-120 Kraków. Kontakt: d.pastuszka@ur.krakow.pl

Wprowadzenie

Konsumenci poszukują często żywności o odpowiedniej wartości odżywczej i małej kaloryczności. Uważa się, że cechą żywności ważniejszą niż wartość kaloryczna jest jej indeks glikemiczny, którego uwzględnianie może uchronić przed niektórymi chorobami o podłożu metabolicznym [3, 22].

Produkty spożywcze zawierające węglowodany klasyfikuje się według indeksu glikemicznego (GI) w zależności od tego, jak zmienia się stężenie glukozy we krwi po ich spożyciu [19]. Produkty, po spożyciu których obserwuje się niewielki i powolny wzrost stężenia glukozy we krwi, zalicza się do produktów o niskim indeksie glikemicznym ($GI < 55$), natomiast te, po spożyciu których następuje szybkie trawienie i wchłanianie, a tym samym szybki wzrost stężenia glukozy, klasyfikuje się jako artykuły o wysokim GI ($GI > 70$) [15, 19].

Nieprawidłowo zbilansowana dieta, m.in. bogata w produkty o wysokim indeksie glikemicznym, jest czynnikiem etiologicznym zaburzeń metabolizmu i przyczynia się w dużej mierze do rozwoju chorób o tym podłożu. Zostały one nazwane przewlekłymi chorobami niezakaźnymi, do niedawna zwanymi „chorobami cywilizacyjnymi”. Wśród nich wyróżnia się: cukrzycę, miażdżycę, otyłość czy nowotwory. W celu ograniczenia ryzyka tych schorzeń promuje się produkty prozdrowotne, m.in. produkty zbożowe wzbogacane przetworami zbóż niechlebowych (w tym owsianymi), z pseudozbożami lub nasionami roślin oleistych [11, 20].

Od wielu lat eksperci ds. żywienia człowieka zwracają uwagę, że w dziennej racji pokarmowej spożywanej w Polsce należy zwiększyć udział produktów z owsa. Ziarno owsa jest bowiem bogate w rozpuszczalne w wodzie β -glukany, związki o właściwościach przeciwutleniających (m.in. tokochromanole, awentramidy, kwasy polifenolowe, kwas fitynowy), wielonienasycone kwasy tłuszczowe, w tym kwas α -linolenowy oraz fitosterole (m.in. β -sitosterol, $\Delta 5$ -awenasterol) [3, 26, 28]. Coraz częściej promuje się również produkty węglowodanowe (pieczywo, słodycze) o obniżonym indeksie glikemicznym [8, 16]. Niska wartość indeksu glikemicznego przetworów owsianych wskazuje na zasadność włączania ich do diety osób zdrowych, w celu profilaktyki cukrzycy insulinoniezależnej, a do diety diabetyków – w celach wspomagających leczenie [4, 23, 28].

Celem pracy było porównanie indeksu oraz ładunku glikemicznego, a dodatkowo właściwości organoleptycznych, podstawowego składu chemicznego i wartości energetycznej herbatników owsianych – wypieczonych ze 100-procentowej handlowej mąki owsianej lub z mąki owsianej, tzw. resztkowej, uzyskanej po produkcji preparatu błonnikowego – z herbatnikami pszennymi.

Material i metody badań

Material badawczy stanowiły herbatniki z mąki pszennej (HMP), z handlowej mąki owsianej (HMOH) oraz z mąki owsianej resztkowej (HMOR), wypiekane według zmodyfikowanej receptury AACCC (2006 – metoda nr 10-54) [1] – tab. 1.

Tabela 1. Skład recepturowy badanych herbatników.

Table 1. Recipe-based composition of biscuits tested.

Skład surowcowy [g] Raw materials [g]	Herbatniki pszenne Wheat biscuits (HMP)	Herbatniki owsiane z mąki handlowej Commercial oat flour biscuits (HMOH)	Herbatniki owsiane z mąki resztkowej Residual oat flour biscuits (HMOR)
Mąka pszenna typu 650 Wheat flour type 650	600	-	-
Mąka owsiana handlowa Commercial oat flour	-	600	-
Mąka owsiana resztkowa Residual oat flour	-	-	600
Margaryna Margarine	270	270	270
Cukier puder Sugar powder	160	160	160
Jaja Eggs	85 (2 szt.)	85 (2 szt.)	85 (2 szt.)
Proszek do pieczenia Baking powder	4	4	4
Cukier wanilinowy Vanilla sugar	32	32	32

Warunki przygotowania ciasta i wypieku herbatników: ciasto sporządzano ręcznie ze składników przewidzianych recepturą i odstawiano do chłodziarki na 30 min. Po tym czasie ciasto wałkowano na papierze do wypieku do grubości 5 mm i wykrawano okrągłe ciastka o średnicy 6 cm. Herbatniki wypiekano w temp. 200 °C przez 13 min.

Ocenę organoleptyczną herbatników po ich ostudzeniu przeprowadził panel oceniający, zgodnie z PN-A-74252 [27]. Twardość herbatników oznaczano teksturometrem TA-XT Plus w teście penetracji (pomiar siły przebicia herbatnika sondą P6) oraz w teście przecięcia herbatnika w komorze Kramera, z centralnie zamontowanym jednym nożem.

Próbki przeznaczone do analiz chemicznych rozdrabniano w młynku bijakowym. W herbatnikach, metodami AOAC [2], oznaczano zawartość: suchej masy (met.

925.10), białka ogółem (met. 950.36), włókna pokarmowego ogółem (w tym frakcji rozpuszczalnej i nierozpuszczalnej w wodzie – met. 935.38), tłuszczu surowego (met. 930.05), a także związków mineralnych w postaci popiołu całkowitego (met. 930.05). Ponadto szacowano zawartość dostępnych węglowodanów wg FAO/WHO [13] oraz obliczano wartość energetyczną herbatników na podstawie oznaczonego składu chemicznego, wg FAO [12], stosując średnie równoważniki energetyczne Atwatera.

Po uzyskaniu zgody Komisji Bioetycznej przy Okręgowej Izbie Lekarskiej w Krakowie (Nr 90/KBL/OIL/2010) oznaczano indeks glikemiczny badanych herbatników wg ISO 26642:2010 [18]. Analizę prowadzono w grupie 15 ochotników – kobiet w wieku 23 - 24 lat, o średnim wskaźniku masy ciała (BMI) wynoszącym $21,8 \pm 1,9 \text{ kg/m}^2$. Kobietom podawano 3 rodzaje herbatników wypiekanych 20 h przed planowanym badaniem, w ilości dostarczającej 50 g dostępnych węglowodanów (tab. 2). Podczas trzech spotkań uczestnicy otrzymywali, oprócz herbatników, 200 cm³ wodnego roztworu glukozy zawierającego 50 g czystej glukozy. Grupa ochotników zgłaszała się na badania rano, na czczo, 2 razy w tygodniu, między kolejnymi badaniami zachowywano minimum 2-dniową przerwę. Dwa pierwsze pomiary stężenia glukozy we krwi, których średnia stanowiła punkt odniesienia na krzywej glikemicznej (wartość 0), dokonywano na czczo. Kolejne pomiary przeprowadzano po: 15, 30, 45, 60, 90 i 120 min, liczonych od momentu rozpoczęcia spożywania badanego produktu (glukozy lub herbatników). Pomiary stężenia glukozy wykonywano we krwi kapilarnej (pobieranej przez pielęgniarki mikropipetą). Analizy te wykonywano w laboratorium medycznym Diagnostyka w Krakowie przy użyciu metody enzymatycznej z heksokinazą, stosując zestaw odczynników Abbott Ur. 3L82-41. Jako inhibitora glikolizy używano fluorku sodu. Pomiary wykonywano metodą absorpcyjną przy $\lambda = 340 \text{ nm}$ w aparacie Architect CI 8200 (Abbott laboratories, Abbott Park, Illinois, USA). Wyniki wyrażano w mmol/l. Następnie sporządzano krzywe odpowiedzi glikemicznej każdego produktu i dla każdej osoby oddzielnie. Na ich podstawie obliczano pole powierzchni pod krzywą glikemiczną (IAUC), wykorzystując metodę trapezoidalną, zgodnie z wymogami ISO 26642:2010 i wykluczając wartości poniżej punktu odniesienia (stężenia glukozy na czczo). Jako wartość indeksu glikemicznego przyjmowano stosunek pola powierzchni pod krzywą glikemii po spożyciu badanego produktu (IAUC) do pola powierzchni pod krzywą glikemii po spożyciu posiłku referencyjnego – glukozy (wartość średnia z 3 pomiarów po spożyciu glukozy = IAUC_{ref}). Wynik wyrażano w procentach. Obliczano także ładunek glikemiczny herbatników. Jako porcję produktu jednorazowo spożywaną przyjęto dwa herbatniki o masie ok. 30 g.

Wyniki przedstawiono w postaci wartości średnich i odchyłeń standardowych, a w przypadku indeksu i ładunku glikemicznego dodatkowo obliczono średni błąd standardowy (SEM). Zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA)

w programie Statistica 10. Istotność różnic między wartościami średnimi weryfikowano testem Duncana przy $p = 0,05$.

Tabela 2. Wielkość porcji badanych herbatników podawanej uczestnikom, obliczona na podstawie zawartości w nich dostępnych węglowodanów.

Table 2. Portion size of tested biscuits given to participants and calculated on the basis of content of available carbohydrates therein.

Rodzaj herbatników Type of biscuits	Dostępne węglowodany [g/100 g herbatników] Available carbohydrates [g / 100 g of biscuits]	Porcja herbatników dostarczająca 50 g dostępnych węglowodanów [g] Portion of biscuits to provide 50 g of available carbohydrates [g]
HMOR	51,3	85,2
HMOH	48,9	87,2
HMP	51,9	81,5

Znaczenie symboli jak w tab. 1. / Meaning of the symbols as in Tab. 1.

Wyniki i dyskusja

Nowy produkt, niezależnie od wartości odżywczej i dietetycznej, powinien uzyskać akceptację konsumentów przed wprowadzeniem na rynek. Cechy organoleptyczne kruchych herbatników, a zwłaszcza ich tekstura, mogą przesądzić o tej akceptacji. Dlatego celowe jest stosowanie metod analizy sensorycznej [6, 31]. Wykazano, że zamiana standardowej mąki pszennej do produkcji herbatników na mąkę owsianą (handlową i resztkową) nie wpłynęła znacząco na jakość wyrobu, o czym świadczy suma przyznanych punktów (tab. 3).

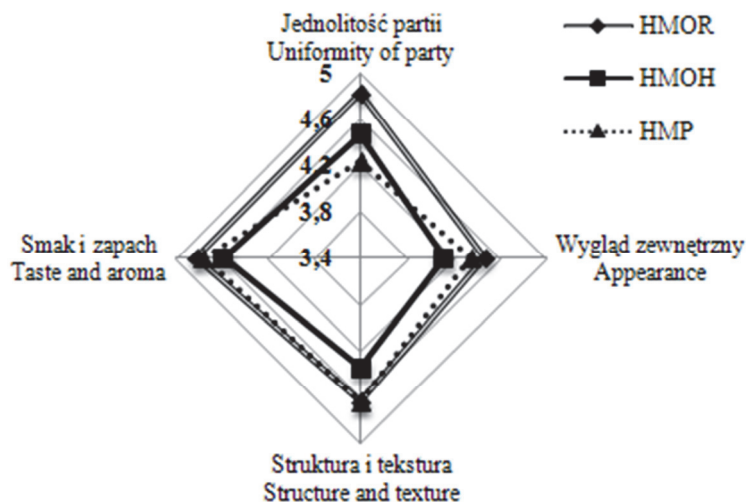
Tabela 3. Wyniki oceny organoleptycznej herbatników.

Table 3. Results of organoleptic assessment of biscuits.

Rodzaj herbatników Type of biscuits	Suma punktów Total scores	Poziom jakości* Quality grade
HMOR	19 ^b ± 0,05	I
HMOH	17 ^a ± 0,31	II
HMP	18 ^b ± 0,08	I

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Znaczenie symboli jak w tab. 1. / Meaning of the symbols as in Tab. 1. W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviation; $n = 15$; a, b – wartości średnie oznaczone różnymi literami w kolumnie różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$ / mean values in column and denoted by different letters differ statistically significantly at $p \leq 0.05$; * zgodnie z normą PN-A-74252 [4] / pursuant to PN-A-74252 [4].



Rys. 1. Wyniki cząstkowej oceny organoleptycznej badanych herbatników.
 Fig. 1. Results of partial organoleptic assessment of tested biscuits.

Panel konsumencki przyznał herbatnikom z mąki owsianej resztkowej najwyższe oceny za każdą z cech (rys. 1), stąd zostały one zakwalifikowane do I poziomu jakości – 19 pkt. Nieznacznie niżej (18 pkt) oceniono herbatniki pszenne (I poziom jakości), a herbatniki z handlowej mąki owsianej oceniono na 17 pkt, co pozwoliło na zakwalifikowanie ich do II poziomu jakości (tab. 3).

Członkowie panelu oceniającego wskazali na różnice w strukturze i teksturze, przyznając więcej punktów za tę cechę herbatnikom wypieczonym z mąki owsianej resztkowej (HMOR) (rys. 1). Ocena ta została potwierdzona instrumentalnym pomiarem twardości (testem penetracji i przecięcia) herbatników, wykonanym teksturometrem TA.XT Plus (tab. 4). Określono siłę potrzebną do rozkruszenia herbatników. Wartość siły powinna odzwierciedlać kruchość produktu oraz wysiłek niezbędny do rozdrobnienia go w jamie ustnej tak, aby nadawał się do przełknięcia [29, 30]. W przypadku herbatników kruchość jest niezwykle istotna. Produkty takie nie mogą się rozsypanywać ani też odznaczać zbyt dużą twardością – im twardsze są ciastka, tym są mniej kruche [6, 25, 31].

Herbatniki z mąki owsianej, zarówno resztkowej, jak i handlowej (HMOR i HMOH) charakteryzowały się istotnie mniejszą ($p \leq 0,05$) twardością, niezależnie od zastosowanego testu instrumentalnego, w porównaniu z herbatnikami z mąki pszennej (tab. 4). Większa kruchość herbatników owsianych jest wynikiem stosowania mąki, która zawiera więcej tłuszczu [5], a równocześnie mniej białek glutenowych, w porównaniu z mąką pszenną. Tłuszcz nadaje ciastu plastyczność i sprawia, że gotowe pro-

dukty są odpowiednio kruche [7]. Modyfikuje on cechy organoleptyczne, jak również właściwości fizyczne ciasta i w efekcie teksturotwórcze cechy gotowego produktu [7, 31].

Tabela 4. Twardość herbatników oznaczona teksturometrem TA.XT Plus.

Table 4. Hardness of biscuits evaluated using TA.XT Plus Texture Analyzer.

Rodzaj herbatników Type of biscuits type	Twardość herbatników [N] / Hardness of biscuits [N]	
	Test penetracji Penetration test	Test przecięcia Intersection test
HMOR	18,5 ^a ± 2,2	45,4 ^a ± 1,3
HMOH	21,0 ^a ± 2,2	47,8 ^a ± 0,7
HMP	28,4 ^b ± 0,5	63,3 ^b ± 7,2

Objaśnienia: / Explanatory notes:

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

Pozostałe objaśnienia jak pod tab. 3. / Other explanatory notes as in Tab. 3.

Z porównania składu podstawowego wynika, że herbatniki owsiane HMOR i HMOH charakteryzowały się istotnie większą ($p \leq 0,05$) zawartością tłuszczu, związków mineralnych w postaci popiołu całkowitego i włókna pokarmowego (frakcji rozpuszczalnej i nierozpuszczalnej), w porównaniu z herbatnikami pszennymi. Natomiast zastąpienie mąki pszennej mąką owsianą nie wpłynęło na zmiany zawartości białka – tab. 5.

Badane herbatniki charakteryzowały się dużą zawartością węglowodanów przyswajalnych ze względu na skład mąki o dużej zawartości skrobi i znaczną ilość sacharozy dodanych do ciasta, przewidzianych recepturą.

Większy udział tłuszczu, błonnika i popiołu, a mniejszy skrobi w herbatnikach owsianych HMOR i HMOH wpłynął na istotnie mniejszą ($p \leq 0,05$) zawartość dostępnych węglowodanów, w porównaniu z herbatnikami pszennymi HMP, odpowiednio o 2,6 i 4 % (tab. 5).

Świadomi konsumenci coraz częściej sprawdzają walory żywieniowe artykułów spożywczych, dlatego konieczne jest m.in. obliczenie wartości energetycznej nowych produktów. Na podstawie zawartości składników podstawowych i przy użyciu współczynników Atwatera obliczono wartość energetyczną 100 g herbatników, a także dostarczaną wraz z jedną przeciętnie spożywaną porcją, za którą przyjęto 2 ciastka o masie ok. 30 g (tab. 6).

Tabela 5. Zawartość składników pokarmowych w badanych herbatnikach.

Table 5. Content of nutrients in biscuits tested.

Wyszczególnienie / Item		Rodzaj herbatników / Type of biscuits		
		HMOR	HMOH	HMP
Wilgotność Moisture		4,03 ^a ± 0,40	5,43 ^b ± 0,28	8,42 ^c ± 0,40
Białko ogółem Total protein		7,59 ^a ± 0,01	7,52 ^a ± 0,02	7,52 ^a ± 0,03
Tłuszcz surowy Crude fat		24,2 ^b ± 0,15	24,6 ^b ± 0,15	19,8 ^b ± 0,03
Popiół całkowity Total ash		1,02 ^b ± 0,01	1,07 ^c ± 0,01	0,57 ^a ± 0,02
Włókno pokarmowe Dietary fibre	Fracja rozpuszczalna Soluble fraction	1,93 ^c ± 0,02	1,61 ^b ± 0,06	1,06 ^a ± 0,01
	Fracja nierozpuszczalna Insoluble fraction	2,57 ^c ± 0,01	2,46 ^b ± 0,01	1,32 ^a ± 0,01
	Ogółem Total	4,50 ^c ± 0,01	4,07 ^b ± 0,06	2,38 ^a ± 0,02
	β-D-glukany β-D-glucans	1,26 ^b ± 0,01	1,25 ^b ± 0,01	0,13 ^b ± 0,01
Węglowodany przyswajalne Digestible carbohydrates		58,7 ^a ± 0,28	57,4 ^a ± 0,13	61,4 ^b ± 0,14

Objaśnienia: / Explanatory notes:

a, b, c – wartości średnie oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$ / mean values in rows and denoted by different letters differ statistically significantly at $p \leq 0.05$.

Pozostałe objaśnienia jak pod tab. 3. / Other explanatory notes as in Tab. 3.

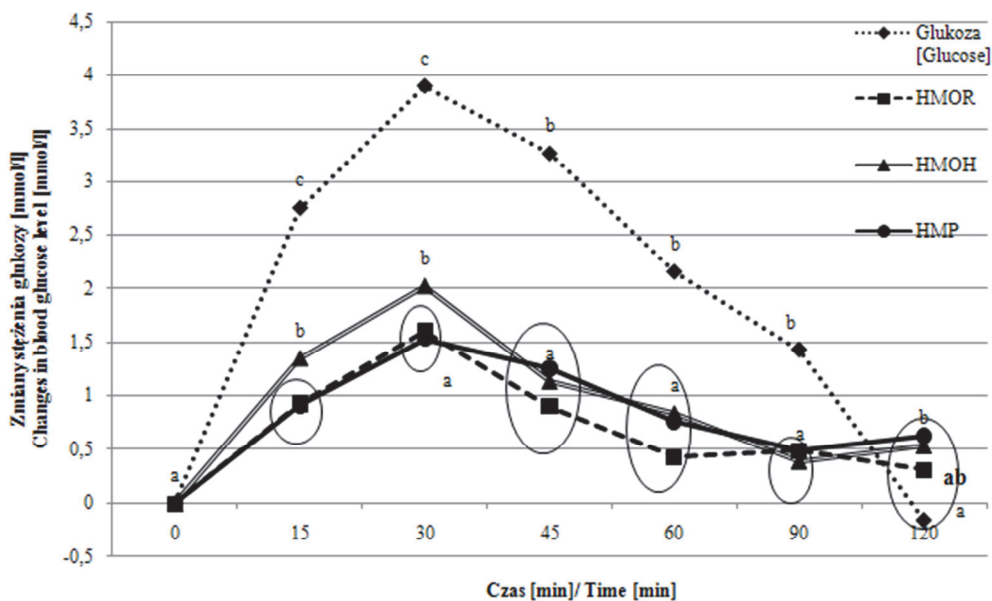
Tabela 6. Wartość energetyczna 100 g herbatników oraz ich jednej porcji (2 ciastka – 30 g herbatników).

Table 6. Food energy provided by 100 g of biscuits and by one portion thereof (2 biscuits – 30 g of biscuits).

Rodzaj herbatników Type of biscuits	Wartość energetyczna / Food energy			
	[kcal/100 g]	[kJ/100 g]	[kcal/2 ciastka] [kcal/2 biscuits]	[kJ/2 ciastka] [kJ/2 biscuits]
HMOR	491,7	2057,1	147,5	617,1
HMOH	488,7	2044,1	146,6	613,2
HMP	458,1	1920,9	137,4	576,3

Znaczenie symboli jak w tab. 1. / Meaning of the symbols as in Tab. 1.

Jedna porcja herbatników owsianych HMOR czy HMOH charakteryzowała się wartością energetyczną większą o ok. 10 kcal/30 g od takiej samej porcji herbatników pszennych HMP (tab. 6). Większa kaloryczność tych herbatników wynikała głównie z większej zawartości tłuszczu niż w herbatnikach pszennych (tab. 5), mimo że zawierały one znacznie więcej włókna pokarmowego, co częściowo ograniczało ich wartość energetyczną [21]. Nie zaobserwowano natomiast różnicy pomiędzy wartością energetyczną herbatników owsianych HMOR i HMOH.



Objaśnienia / Explanatory notes:

Znaczenie symboli jak w tab. 1; / Meaning of the symbols as in Tab. 1.; a, b, c – wartości średnie oznaczone różnymi literami w badanym czasie różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$ / mean values denoted by different letters during time period tested differ statistically significantly at $p \leq 0.05$.

Rys. 2. Zmiany stężenia glukozy we krwi uczestników badania po spożyciu herbatników oraz glukozy użytej jako produkt wzorcowy.

Fig. 2. Changes in glucose levels in blood of test participants after they ate biscuits and glucose used as standard product.

Stężenie glukozy oznaczone we krwi ochotników na czczo mieściło się najczęściej w normie ($3,9 \div 5,5$ mmol/l), wynosiło bowiem $3,69 \div 5,48$ mmol/l. Największy i najszybszy wzrost stężenia glukozy we krwi ochotników nastąpił po spożyciu roztworu wzorcowego (rys. 2), ze względu na dużą przyswajalność czystej glukozy. Już po 15 min stężenie glukozy we krwi było istotnie większe ($p \leq 0,05$) niż po spożyciu badanych herbatników, natomiast maksymalne stężenie po konsumpcji wszystkich anali-

zowanych produktów nastąpiło po 30 min od rozpoczęcia pomiarów. Podobne wyniki uzyskiwano już we wcześniejszych badaniach innych autorów [10, 24]. Po przeanalizowaniu wykresu krzywych glikemicznych po spożyciu roztworu czystej glukozy i badanych herbatników (rys. 2) stwierdzono znaczną różnicę w tempie wzrostu i obniżenia poziomu glukozy we krwi, a także w jej maksymalnym stężeniu w przypadku różnych produktów. Po spożyciu roztworu czystej glukozy zarówno wzrost, jak i zmniejszenie stężenia glukozy we krwi, były bardzo szybkie i gwałtowne, a po spożyciu wszystkich rodzajów herbatników znacznie wolniejsze i bardziej równomierne podczas całego badania.

Zmniejszanie stężenia glukozy we krwi po spożyciu herbatników, do wartości ok. 0,5 mmol/l, występowało od 30. do 60. min, natomiast po spożyciu roztworu glukozy zmniejszało się sukcesywnie od 30. min do końca monitorowania badania, tj. do 120. min, czyli przez 90 min, przy czym do największego zmniejszenia glikemii dochodziło w 2. h badania, co jest zgodne z wynikami Ciok i wsp. [16]. Ponadto po spożyciu glukozy wystąpiło zjawisko hipoglikemii, czyli nadmiernego obniżenia poziomu glukozy we krwi (rys. 2). Zaobserwowano znaczne różnice pomiędzy maksymalnymi wartościami stężenia glukozy we krwi ochotników po spożyciu glukozy i herbatników, wynoszącymi odpowiednio 3,9 mmol/l oraz $1,5 \pm 2$ mmol/l.

W przypadku herbatników największe, statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) stężenie glukozy we krwi wystąpiło po spożyciu ciastek z mąki owsianej handlowej (HOMH), nie wykazano natomiast różnicy w maksymalnym stężeniu glukozy po spożyciu herbatników pszennych (HMP) i z mąki owsianej resztkowej (HMOR). Ponadto konsumpcja herbatników owsianych HMOR skutkowała najmniejszym stężeniem glukozy we krwi przez cały okres badania, w odniesieniu do pozostałych herbatników (rys. 2).

Na przebieg krzywych glikemicznych, a tym samym na wartość indeksu glikemicznego, wpływ wywiera nie tylko skład chemiczny produktu, ale także jego struktura [14]. Herbatniki owsiane HMOH zawierały istotnie mniej ($p \leq 0,05$) włókna pokarmowego, w tym jego frakcji rozpuszczalnej, niż herbatniki HOMR (tab. 5.) Rozpuszczalna frakcja włókna pokarmowego odpowiedzialna jest za obniżanie poziomu glukozy we krwi, poprzez tworzenie lepkich roztworów, które opóźniają wchłanianie węglowodanów oraz ograniczają hydrolizę enzymatyczną cukrów w jelicie cienkim [14]. Zatem tendencja do większej poposiłkowej glikemii stwierdzona po spożyciu herbatników HOMH w odniesieniu do herbatników HOMR wynika prawdopodobnie z mniejszej zawartości w nich włókna pokarmowego (tab. 5). Wydaje się, że w tym przypadku mniejsze znaczenie mają zawartość tłuszczu i białka, które w herbatnikach owsianych kształtowały się na podobnym poziomie, a także struktura produktu, bowiem nie zaobserwowano różnicy w kruchości herbatników.

Ze względu na około dwukrotnie mniejszą zawartość włókna pokarmowego w herbatnikach pszennych, w porównaniu z owsianymi, spodziewano się, że po ich spożyciu we krwi ochotników wystąpi największe spośród wszystkich wypieków maksymalne stężenie glukozy. Jednak ze względu na największą twardość (tym samym

najmniejszą kruchość) tych herbatników (tab. 4), hydroliza cukrów w nich zawartych mogła przebiegać znacznie wolniej niż w herbatnikach owsianych. Ponadto inna struktura białek mąki pszennej (białka glutenowe) mogła ograniczać dostępność skrobi do działania α -amylazy przez całkowite lub częściowe „zamknięcie” jej w ustrukturyzowanym białku wokół ziarenek skrobiowych [14].

Indywidualne wyniki krzywych glikemii po spożyciu badanych produktów dowiodły, że spożycie tych samych produktów powodowało wystąpienie znacznych różnic w wartościach pola powierzchni pod krzywą glikemiczną u poszczególnych ochotników. Mogło to być spowodowane różnicami w przebiegu procesów trawienia i wchłaniania. Uwzględnienie krzywej wzorcowej (sporządzonej po spożyciu glukozy) każdego z uczestników umożliwia zniwelowanie różnic osobniczych, które mogłyby wpłynąć na oznaczenie indeksu glikemicznego [10]. Jednak mimo takiego postępowania wystąpiły duże różnice w wartościach GI, obliczanego dla poszczególnych osób spożywających ten sam rodzaj herbatników, o czym świadczą wysokie wartości odchylenia standardowego (s) oraz średniego błędu standardowego (SEM) – tab. 7. Podobne rozbieżności uzyskiwano w różnych ośrodkach badawczych, w których posługiwano się takimi samymi metodami pomiarowymi [9, 15, 17].

Tabela 7. Indeks i ładunek glikemiczny badanych herbatników.

Table 7. Glycaemic index and glycaemic load of tested biscuits.

Rodzaj herbatników Type of biscuits	Indeks glikemiczny Glycaemic index	s / SD	SEM	Ładunek glikemiczny Glycaemic load	s / SD	SEM
HMOR	46,5 ^a	± 10,8	± 4,0	8,5 ^a	± 4,1	± 0,7
HMOH	49,7 ^a	± 9,0	± 2,8	8,6 ^a	± 3,4	± 0,5
HMP	46,2 ^a	± 13,4	± 3,4	8,3 ^a	± 3,7	± 0,6

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Znaczenie symboli jak w tab. 1. / Meaning of the symbols as in Tab. 1.

s – odchylenie standardowe / SD – standard deviation; SEM – średni błąd standardowy / standard error of the mean; a – wartości średnie w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$ / mean values in columns and denoted by the same letter do not differ statistically significantly at $p \leq 0.05$.

Ze względu na dużą zmienność indywidualnych wyników w obrębie jednego rodzaju badanych herbatników nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic ($p \leq 0,05$) pomiędzy indeksem glikemicznym tych produktów (tab. 7). Jednak zaobserwowano pewne trendy widoczne już podczas analizy krzywych glikemicznych, wykreślonych po spożyciu herbatników (rys. 2). Można sądzić, że tendencją do wywoływania największej odpowiedzi glikemicznej, a zarazem największej wartości indeksu glikemicznego, charakteryzowały się herbatniki z mąki owsianej handlowej (HMOH), natomiast

herbatniki z mąki resztkowej (HMOR) i pszennej (HMP) nie różniły się wartościami tego parametru (tab. 7).

Na wartość indeksu glikemicznego herbatników z pewnością wywarła wpływ znaczna zawartość tłuszczu, w tym tłuszczu dodanego (margaryny) oraz włókna pokarmowego (tab. 5), gdyż oba te składniki znacznie spowalniają tempo absorpcji glukozy po spożyciu posiłku bogatego w te związki [22, 29]. Substancje te opóźniają proces opróżniania żołądka i spowalniają tempo trawienia i wchłaniania węglowodanów. Produkty bogate w tłuszcz odznaczają się więc mniejszą wartością GI w stosunku do produktów ubogich w tłuszcz [10, 14]. Zatem duża zawartość tłuszczu we wszystkich badanych herbatnikach (ponad 20 %) była główną przyczyną ich niskiego GI, a większa zawartość włókna pokarmowego w herbatnikach owsianych czy też różnice w teksturze (herbatniki pszenne) były mniej znaczące.

Zgodnie z klasyfikacją produktów FAO/WHO [13] i ISO 26642:2010 [18] ze względu na wartość indeksu glikemicznego wszystkie badane herbatniki, także z mąki pszennej, wykazały indeks glikemiczny mniejszy niż 50, co klasyfikuje je do grupy produktów o niskim GI (tab. 7).

Uważa się, że produkty owsiane odznaczają się niskim indeksem glikemicznym dzięki obecności β -glukanów [3, 22, 23]. Jednak zgodnie z rozporządzeniem Komisji UE nr 432/2012 β -glukany obniżają poziom glukozy we krwi, jeżeli żywność zawiera ich co najmniej 4 g na każde 30 g przyswajalnych węglowodanów w określonej porcji. Tego założenia nie spełniają badane herbatniki owsiane, gdyż na 30 g przyswajalnych węglowodanów przypada jedynie 0,6 g β -glukanów. Ponadto w recepturze herbatników przewidziany był znaczny dodatek sacharozy, który bardzo szybko podnosi poziom glukozy we krwi, stąd produkty bogate w sacharozę na ogół odznaczają się wysoką wartością GI [15].

Wartość GI świadczy tylko o jakości i szybkości wchłaniania węglowodanów zawartych w produkcie. Nie odzwierciedla natomiast, ile przyswajalnych węglowodanów jest dostarczanych wraz z porcją określonego produktu. W celu kontroli poziomu glukozy we krwi niezbędne jest zatem oznaczenie zarówno indeksu glikemicznego jak i ładunku glikemicznego (GL – glycemc load). Przyjmuje się, że niski ładunek glikemiczny to ten poniżej 10, średni 11 ÷ 19, wysoki natomiast wynosi 20 i więcej. Badane herbatniki oprócz niskiego indeksu glikemicznego wykazały również niski ładunek glikemiczny (tab. 7), bowiem wszystkie wyniki oscylowały wokół 8,5. Niskie wartości tych wskaźników w przypadku produktów z dużą zawartością β -D-glukanów oraz ciasteczek owsianych lub z płatkami owsianymi wykazali również inni autorzy [10, 15, 24]. Dotychczas nie porównano wartości GI i GL produktów owsianych i pszennych, sporządzonych według tych samych receptur.

Jak wynika z niniejszych badań, spożycie herbatników z mąki owsianej nie wpłynęło znacząco na zmiany przebiegu krzywych glikemicznych. Zastąpienie produktu

pszennego produktami z mąki owsianej nie pozwoliło na uzyskanie znaczących różnic wartości indeksu glikemicznego. Należy podkreślić, że w celu zmniejszenia GI w procesie produkcji wyrobów pszennych (najczęściej o wysokim wskaźniku) stosuje się jednak dodatek mąki owsianej. Są to najczęściej produkty o niewielkiej zawartości tłuszczu i cukrów prostych, jak np. chleb [3, 22, 23].

Wnioski

1. Zarówno herbatniki pszenne, jak i owsiane zostały bardzo dobrze ocenione pod względem cech sensorycznych, co świadczy o ich wysokiej akceptacji konsumentkiej, przy czym herbatniki z mąk owsianych (handlowej i resztkowej) charakteryzowały się mniejszą twardością, co świadczy o ich większej kruchości.
2. Zastosowanie mąk owsianych do produkcji herbatników, w miejsce mąki pszennej, spowodowało statystycznie istotny ($p \leq 0,05$) wzrost zawartości tłuszczu surowego, związków mineralnych w postaci popiołu całkowitego, włókna pokarmowego (frakcji rozpuszczalnej i nierozpuszczalnej), w tym β -glukanów w tych herbatnikach.
3. Maksymalne stężenie glukozy we krwi wystąpiło po 30 min od spożycia herbatników, jednocześnie największe stężenie glukozy zaobserwowano w przypadku herbatników owsianych z mąki handlowej.
4. Wszystkie herbatniki odznaczały się niskim indeksem glikemicznym w zakresie $46 \div 50$ oraz ładunkiem glikemicznym poniżej 10, co związane jest z niewielką zawartością węglowodanów przyswajalnych ($57 \div 61$ %) i znaczną zawartością tłuszczu ($19 \div 24\%$) w tych produktach.
5. Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic ($p \leq 0,05$) pomiędzy indeksem i ładunkiem glikemicznym herbatników sporządzonych z mąki pszennej oraz mąk owsianych: handlowej i resztkowej.

Projekt sfinansowano ze środków Narodowego Centrum Nauki (NN 312331640).

Literatura

- [1] AACC: Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists, 10th ed. Association of Cereal Chemists, St Paul, Minn, 2000.
- [2] AOAC: Official Methods of Analysis, 18th ed. Association of Analytical Chemists International, Gaithersburg 2006.
- [3] Bartnikowska E.: Przetwory z ziarna owsa jako źródło ważnych substancji prozdrowotnych w żywieniu człowieka. Biuletyn IHAR, 2003, **229**, 235-245.
- [4] Bartnikowska E., Lange E.: Znaczenie dietetyczne przetworów owsianych ich wpływ na stężenie cholesterolu w osoczu oraz poposiłkową glikemię. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2000, **1** (22), 18-36.

- [5] Berski W., Krystyan M., Buksa K., Zięć G., Gambuś H.: Chemical, physical and rheological properties of oat flour affected by the isolation of beta-glucan preparation. *J. Cereal Sci.*, 2014, DOI: 10.1016/j.jcs.2014.09.001.
- [6] Błońska A., Marzec A., Kowalska H., Wróblewska I.: Zmiany właściwości mechanicznych, akustycznych i sensorycznych ciastek owsianych w czasie przechowywania. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 2012, **571**, 17-28.
- [7] Brzozowska E.: *Technologia ciast o strukturze kruchej*. Rozdz. 22 W: *Podstawy technologii gastronomicznej*. Red. S. Zalewski. WNT, Warszawa 1997.
- [8] Ceglińska A., Cacak-Pietrzak G., Dojczew D., Haber T., Szulim M.: Wpływ dodatku różnych form błonnika na jakość wybranych wyrobów ciastkarskich. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **2 (14)**, 80-90.
- [9] Chlup R, Bartek J, Rezníčková M, Zapletalová J, Doubravová B, Chlupová L, Seckar P, Dvoráčková S, Simánek V.: Determination of the glycaemic index of selected foods (white bread and cereal bars) in healthy persons. *Biomed Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacký, Olomouc, Czechoslovakia*, 2004, **148 (1)**, 17-25.
- [10] Ciok J., Dzieniszewski J., Lang V.: Oznaczenie indeksu glikemicznego i insulinowego sześciu produktów pochodzenia zbożowego. *Żyw. Człow. Met.*, 2004, **31 (1)**, 63-77.
- [11] Czubaszek A., Karolini-Skaradzińska Z., Fajarczuk M.: Wpływ produktów z owsa na właściwości wypiekowe mieszanek żytnio-owsianych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, **5 (78)**, 150-162.
- [12] FAO. Food energy – methods of analysis and conversion factors. *FAO Food and Nutrition Paper*, 2003, 77.
- [13] FAO/WHO. Carbohydrates In Human Nutrition. Report of a joint FAO/WHO Raport Expert Consultation. *FAO Food and Nutrition Paper*, 1998, 66.
- [14] Fardet A., Leenhardt F., Lioger D., Remesy Ch.: Parameters controlling the glycaemic response to breads. *Nutr. Res. Rev.*, 2006, **19**, 18-25.
- [15] Foster-Powell K., Holt S.H., Brand-Miller J.C.: International table of glycemic index load values: 2002. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2002, **76**, 5-56.
- [16] Gambuś H., Litwinek D.: Pieczywo – dlaczego warto jeść i jakie wybierać? [online]. Dostęp w Internecie [10.06.2014]: <http://www.dieta.medycynapraktyczna.pl/zasady/show.html?id=74904>, 2013
- [17] Hätönen K.A., Similä M.E., Virtamo J.R., Eriksson J.G., Hannila M.L., Sinkko H.K., Sundvall J.E., Mykkänen H.M., Valsta L.M.: Methodological considerations in the measurement of glycemic index: glycemic response to rye bread, oatmeal porridge, and mashed potato. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2006, **84 (5)**, 1055-1061.
- [18] ISO 26642:2010 (E). Food products. Determination of the glycaemic index (GI) and recommendation for food classification.
- [19] Jenkins D.J.A., Wolever T.M.S., Taylor R.H., Barker H., Fielden H., Baldwin J.M., Bowling A.C., Newman H.C., Jenkins A.L., Goff D.V.: Glycemic index of food: a physiological basis for carbohydrate exchange. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1981, **34 (03)**, 362-366.
- [20] Kawka A.: Współczesne trendy w produkcji piekarskiej – wykorzystanie owsa i jęczmienia jako zbóż niechlebowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **3 (70)**, 25-43.
- [21] Lange E.: Indeks glikemiczny produktów spożywczych. *Diabetyk*, 2006, **128**, 6.
- [22] Lange E.: Produkty owsiane jako żywność funkcjonalna. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **3 (70)**, 7-24.
- [23] Lange E: Zastosowanie indeksu glikemicznego w dietoterapii zespołu metabolicznego. *Kosmos*, 2010, **59 (3-4)**, 355-363.


- [24] Makelainen H., Anttila H., Sihvonen J., Hietanen R-M., Tahvonen R., Salminen E., Mikola M., Stontag-Strohom T.: The effect of β -glucan on the glycaemic and insulin index. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 2007, **67**, 779-785.
- [25] Marzec A., Gondek E.: Zależności pomiędzy wybranymi wyróżnikami tekstury krakersów oznaczonymi instrumentalnie i sensorycznie. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **47** (2), 223-230.
- [26] Ortiz-Robledo F., Villanueva-Fierro I., Oomah B.D., Lares-Asef I., Proal-Nájera J.B., Návar-Chaidez J.J.: Avenanthramides and nutritional components of four mexicanas oats (*Avena sativa* L.) varieties. *Agrociencia* 2013, **47** (3), 225-232.
- [27] PN-A-74252.: 1998. Wyroby i półprodukty ciastkarskie. Metody badań
- [28] Sadiq Butt M., Tahir-Nadeem M., Khan M.K.I., Sabir R.: Oat: unique among cereals. *European Journal of Nutrition.*, 2008, **47**, 68-79.
- [29] Salvin J.: Dietary fibre and body weight, *Nutrition*, 2005, **21**, 411-418
- [30] Surówka K.: Tekstura żywności i metody jej badania. *Przem. Spoż.*, 2002, **56** (10), 12-17.
- [31] Żbikowska A., Rutkowska J., Marcinkiewicz A.: Ocena mechanicznych właściwości ciastek kruchych metodą instrumentalną. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, **63** (2), 103-111.

COMPARING GLYCAEMIC INDEX AND GLYCAEMIC LOAD OF OAT BISCUITS AND WHEAT BISCUITS

S u m m a r y

The objective of the study was to compare the glycaemic index and glycaemic load of biscuits made with 100 % wheat flour type 650 and with two 100 % oat flours: commercial oat flour and residual oat flour (obtained after the production of fibre preparation).

The biscuits were organoleptically assessed by a panel of assessors. The hardness of the biscuits was analyzed using a TA-XT Plus Texture Analyzer along with penetration and intersection tests. AOAC methods were applied to determine the moisture and the content of the following components in the biscuits: total protein, crude fat, mineral compounds in the form of total ash, total dietary fibre including soluble and insoluble fractions, and β -D-glucans. The content of available carbohydrates in the biscuits was calculated according to the FAO/WHO recommendations. The food energy provided by the biscuits was calculated based on a method recommended by FAO that included the composition of the biscuits and the Atwater energy equivalents. The determination of the glycaemic index was carried out in a group of 15 volunteers using a method recommended by ISO 26642:2010. The organoleptic characteristics of both the wheat and the oat biscuits were assessed as very good; however, the biscuits made with oat flours (residual and commercial) were characterized by a better crispness. Replacing wheat flour with oat flours to make the biscuits caused the content of crude fat, total ash, dietary fibre (soluble and insoluble fractions) including β -glucan in those biscuits to increase statistically significantly. All the biscuits tested were characterized by a low glycaemic index ranging from 46 to 50 and a low glycaemic load, less than 10, and this resulted, mainly, from a small content of digestible carbohydrates (57 - 61 %) and a high content of fat (19 - 24 %) in those products.

Key words: wheat biscuits, oat biscuits, glycaemic index, glycaemic load 

JAKUB MACIERZYŃSKI, MARIA BUCZEK, WOJCIECH ZAWERACZ,
BOGUSŁAW KRÓL

SKŁAD POLIFENOLOWY OWOCÓW JEŻYNY *RUBUS FRUTICOSUS*

Streszczenie

Celem pracy było określenie składu polifenolowego owoców sześciu odmian jeżyny uprawnej, w tym rozpowszechnionych w użytkowaniu: 'Orkan' i 'Gaj' oraz czterech nowych: 'Ruczaj', 'Polar', 'Brzezina', 'Leśniczanka' oraz wyznaczenie zmienności zawartych w nich głównych grup polifenoli.

Materiałem do badań były owoce jeżyny wymienionych odmian, które pozyskano z Sadowniczego Zakładu Doświadczalnego Instytutu Ogrodnictwa w Brzeznej. W owocach oznaczono zawartość podstawowych grup polifenoli: antocyjanów, elagotanin i flawan-3-oli z zastosowaniem metody HPLC. W jeżynach stwierdzono zawartość: antocyjanów – $210 \div 465$ mg/100 g ś.m., elagotanin – $53 \div 320$ mg/100 g ś.m. i flawan-3-oli – $121 \div 282$ mg/100 g ś.m., a suma polifenoli wynosiła $556 \div 898$ mg/100 g ś.m. Istotnie większą zawartością antocyjanów cechowały się owoce odmiany 'Ruczaj' (465 mg/100 g ś.m.), a istotnie mniejszą jeżyny 'Polar' (210 mg/100 g ś.m.), jednak ta odmiana charakteryzowała się istotnie większą zawartością elagotanin (319 mg/100 g ś.m.). Głównym antocyjanem owoców wszystkich odmian był cyjanidynyno-3-*O*-glikozyd (79 \div 91 % sumy antocyjanów). Suma zawartości i wzajemne udziały elagotanin: lambertianiny C i sanguiny H-6 w owocach jeżyny były istotnie zróżnicowane w zależności od odmiany i mogą być rozważane jako kryterium podobieństwa. Duża zawartość sumy polifenoli w jeżynach odmian 'Ruczaj', 'Polar' i 'Gaj' może być dodatkowym czynnikiem wpływającym na upowszechnianie tych odmian w uprawie.

Słowa kluczowe: jeżyna, zmienność odmianowa, elagotaniny, antocyjany, flawan-3-ole

Wprowadzenie

Jeżyna, podobnie jak malina, należy do rodzaju *Rubus* z rodziny różowatych *Rosaceae*. Jeżyna *Rubus fruticosus* jest krzewem o dużej zmienności gatunkowej, tworzącym zarośla i poszycia lasów [3]. Liście oraz owoce jeżyn i malin od dawna stosowane

Mgr inż. J. Macierzyński, prof. dr hab. B. Król, Instytut Chemicznej Technologii Żywności, Wydz. Biotechnologii i Nauk o Żywności, Politechnika Łódzka, ul. Stefanowskiego 4/10, 90-924 Łódź, dr inż. M. Buczek, mgr inż. W. Zaweracz, Sadowniczy Zakład Doświadczalny, Instytut Ogrodnictwa Brzezna sp. z o. o., Brzezna 1, 33-386 Podegrodzie. Kontakt: kuba.macierzynski@hotmail.com

są w ziołolecznictwie [32]. Krzewy obydwu gatunków są roślinami uprawowymi, lecz tylko malina stała się rośliną sadowniczą, a jeżyna pozostaje w uprawie amatorskiej. Wynika to głównie z podatności jeżyny na przemarzanie oraz ze względu na bardziej czasochłonną pielęgnację roślin w porównaniu z maliną [3]. Światowa produkcja jeżyn wynosi około 155 tys. ton rocznie [29]. Owoce pochodzą z plantacji towarowych i stanowisk roślin dziko rosnących przede wszystkim w Ameryce Północnej, Europie i Azji [30]. Głównym producentem jeżyn w Europie jest Serbia ze zbiorami 8 ÷ 10 tys. ton rocznie [33]. Produkcja towarowa owoców jeżyny w Polsce, oceniana na kilkaset ton, skupiona jest głównie w rejonie Gdańska, Poznania i Wrocławia. Owoce przeznacza się przede wszystkim na mrożonki [33]. W tej postaci kierowane są na eksport do UE oraz na rynek krajowy jako komponent gastronomiczny i winiarski [1].

Od 1979 r. w Sadowniczym Zakładzie Doświadczalnym Instytutu Sadownictwa w Brzeźnej prowadzone są prace hodowlane nad zwiększeniem produkcji jeżyny w Polsce. Podstawowym celem jest uzyskanie odmian jeżyny o wysokiej jakości deseryowej lub przetwórczej owoców oraz uzyskanie odmian mrozoodpornych i przydatnych do zbioru maszynowego [22]. Badaniem objęto odmiany: ‘Gazda’, ‘Orkan’, ‘Gaj’, ‘Polar’ i ‘Ruczaj’. Na podstawie kilkuletnich obserwacji wykazano dużą przydatność odmian jeżyny ‘Gaj’, ‘Polar’ i ‘Ruczaj’ do uprawy towarowej oraz amatorskiej w warunkach klimatycznych Polski południowej [22].

Owoce jeżyny są bogatym źródłem polifenoli, a zwłaszcza antocyjanów. Mogą zawierać [mg/100 g ś.m.]: 31 ÷ 326 mg antocyjanów [16], 51 ÷ 68 mg elagotanin [25] i 27 mg flawan-3-oli [9]. Są one również źródłem takich polifenoli, jak flawonole – 4 ÷ 30 mg/100 g ś.m. oraz kwasy fenolowe – 7 ÷ 64 mg/100g ś.m. [16].

Zawartość wymienionych związków jest ważna ze względów prozdrowotnych. Flawonoidy, w tym antocyjany, mogą zmniejszać ryzyko powstania otyłości [15], choroby wieńcowej serca [13], różnych typów raka [19, 31] czy też wpływać na poprawę pamięci u osób starszych [20]. Obserwowano korzystne oddziaływanie elagotanin na hamowanie rozwoju komórek raka prostaty [12]. Elagotaniny są estrami kwasu 3,4,5,3',4',5'-heksahydroksydifenylowego (kwas HHDP) i alkoholu wielowodorotlenowego (monosacharydu), zwykle β-D-glukozy (lub jej oligomerów). Uważa się, że niektóre prozdrowotne właściwości elagotanin związane są ze zdolnością do uwalniania z ich cząsteczek wolnego kwasu elagowego i jego dalszego metabolizmu w organizmach ludzi i zwierząt. Następstwem metabolizmu elagotanin przez florę bakteryjną przewodu pokarmowego jest wydłużone uwalnianie kwasu elagowego do krwi [8]. Cennym źródłem elagotanin jest m.in. jeżyna. Udokumentowano pośredni efekt obniżania ciśnienia krwi u szczurów cierpiących na nadciśnienie dzięki diecie bogatej we flawan-3-ole [6].

Właściwości prozdrowotne jeżyn skłoniły do podjęcia badań, których celem było określenie składu polifenolowego owoców pochodzących z sześciu odmian jeżyny uprawnej oraz wyznaczenie zmienności głównych grup polifenoli w nich zawartych.

Material i metody badań

Materiał do badań stanowiły świeże owoce sześciu odmian jeżyny: 'Gaj', 'Ruczaj', 'Orkan', 'Polar', 'Brzezina' i 'Leśniczanka'. Owoce pochodziły z plantacji doświadczalnych Sadowniczego Zakładu Doświadczalnego Instytutu Ogrodnictwa w Brzeznej, z sezonu 2012. Jeżyny w ilości 2 ÷ 4 kg zebrano w stanie dojrzałości zbiorczej, zamrożono w temp. -18 °C i utrzymywano w tej temperaturze do czasu wykonania badań przez 6 miesięcy. Zamrożone próbki owoców, w ilości po około 200 g, pobierano z każdej odmiany jeżyny, rozdrabniano w młynku IKA A11B przez kilka minut, a następnie używano do oznaczeń antocyjanów, elagotanin i flawanoli.

Oznaczenie zawartości antocyjanów prowadzono metodą opracowaną przez Sójkę i wsp. [26]. Postępowanie analityczne wykonywano w dwóch powtórzeniach w każdej badanej próbce materiału.

Elagotaniny w owocach oznaczano zgodnie z Klimczak i wsp. [18]. Substancjami wzorcowymi były: kwas elagowy (Extrasynthese, Genay, Francja), sanguina H-6 o czystości wynoszącej 90 % (wyznaczona na podstawie analizy HPLC), lambertianina C o czystości 95-procentowej (wyznaczona na podstawie analizy HPLC) wyekstrahowane z owoców malin i wyodrębnione metodą chromatografii preparatywnej według postępowania opisanego przez Sójkę i wsp. [27]. Materiałem do wyodrębniania lambertianiny C i sanguiny H6 był acetonowy ekstrakt z wycieków malinowych.

Do ilościowego oznaczenia flawan-3-oli w jeżynach zastosowano metodę katalizowanej kwasowej hydrolizy z nadmiarem floroglucynolu. Reakcję floroglucynolizy prowadzono zgodnie z procedurą opisaną przez Kennedy'ego i wsp. [17] w modyfikacji własnej. Naważkę 40 mg liofilizowanych i zmielonych w ciekłym azocie owoców odważano do plastikowych probówek o poj. 2 ml (Eppendorf), a następnie dodawano do niej 800 µl roztworu floroglucynolu (75 g/l) i kwasu askorbinowego (15 g/l) w odwodnionym metanolu. Reakcję rozpoczynano po dodaniu 400 µl 0,4 M roztworu kwasu solnego w odwodnionym metanolu. Tak przygotowane próbki wstawiano do łaźni wodnej o temp. 50 °C na 30 min. Po tym czasie próbki natychmiast umieszczano w łaźni z lodem na 3 min, a następnie dodawano do próbek po 600 µl 40 mM wodnego roztworu octanu sodu w celu zatrzymania reakcji. Po zatrzymaniu reakcji próbki rozcieńczano dwukrotnie 40 mM octanu sodu. Powyższe postępowanie analityczne wykonywano w dwóch powtórzeniach w każdej badanej próbce. Produkty kwasowej degradacji flawan-3-oli rozdzielano przy użyciu chromatografu Knauer (Berlin, Niemcy) złożonego z dwu pomp (K-501) działających w układzie gradientowym i sprzężonego z detektorem fluorescencyjnym (FD), który skonfigurowano tak, by długość fali wzbu-

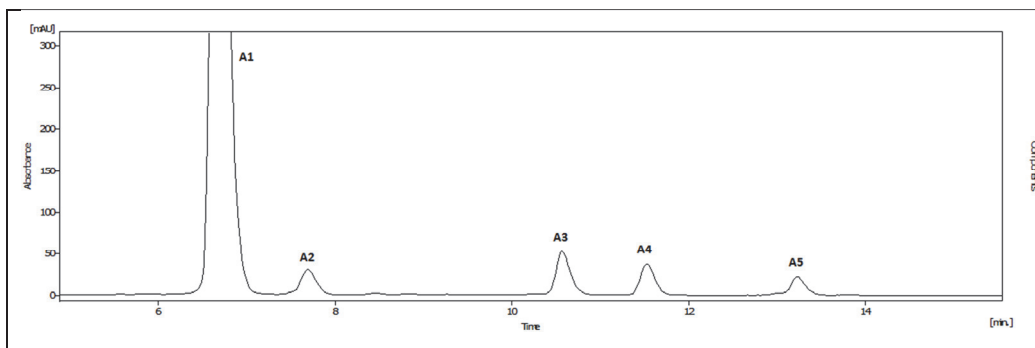
dzenia $\lambda = 278$ nm, a długość fali emisji $\lambda = 360$ nm. Rozdział wykonywano w kolumnie Phenomenex Gemini 5u C18 110A ($250 \times 4,6$ mm, $5 \mu\text{m}$). Kolumnę termostatowano w temp. 25°C . Przepływ fazy ruchomej wynosił 1 ml/min. Fazę A stanowił 2,5-procentowy wodny roztwór kwasu octowego, fazę B stanowiła mieszanina acetonitrylu i wody w stosunku objętościowym 4 : 1. Program rozdziału: 0 - 10 min 4 ÷ 7 % fazy B; 10 - 27 min 7 ÷ 30 % fazy B; 27 - 29 min 30 ÷ 70 % fazy B; 29 - 34 min 70 % fazy B; 34 - 35 min 70 ÷ 4 % fazy B; 35 - 40 min 4 % fazy B. Dane rejestrowano za pomocą programu do rejestracji i obróbki danych chromatograficznych Eurochrom 2000. Substancjami wzorcowymi były: (+)-katechina, (-)-epikatechina (Sigma-Aldrich, Steinheim, Niemcy) oraz procyanidyna B2 (Sigma-Aldrich, Steinheim, Niemcy) po przeprowadzonej florogluzinolizie według procedury zastosowanej do badanych próbek.

Zawartość wolnej (+)-katechiny i (-)-epikatechiny oznaczano w ekstraktach stosowanych wcześniej do analizy antocyjanów. Stosowano identyczny układ chromatograficzny oraz program rozdziału jak w przypadku oznaczania sumy flawan-3-oli. Średni stopień polimeryzacji wyznaczano na podstawie stosunku molowego wszystkich jednostek flawan-3-oli, tj. adduktów florogluciolu i jednostek terminalnych do sumy jednostek terminalnych. Przy czym za jednostki terminalne uznaje się (+)-katechinę i (-)-epikatechinę, uwolnione z procyanidyn [11].

Wyniki badań poddano analizie statystycznej, stosując jednoczynnikową analizę wariancji oraz test Duncana na poziomie istotności $p \leq 0,05$. Obliczenia wykonano w programie Statistica 9.

Wyniki i dyskusja

We wszystkich jeżynach stwierdzono występowanie pięciu antocyjanów, z których dwa zidentyfikowano na podstawie wzorców jako cyjanidyno-3-*O*-glukozyd oraz cyjanidyno-3-*O*-rutynozyd (rys. 1). Na podstawie danych literaturowych [14], uwzględniając kolejność poszczególnych pików i czasy retencji, pozostałe trzy antocyjany zidentyfikowano jako: cyjanidyno-3-ksylozyd, cyjanidyno-3-(6''-malonyloglukozyd) oraz cyjanidyno-3-(6''-(3-hydroksy-3-metyloglutaro)glukozyd). Zgodnie z tymi danymi zawartość cyjanidyno-3-*O*-glukozydu stanowiła 77 % sumy antocyjanów zawartych w owocach jeżyny. Według Kaume'go i wsp. [16] oraz autorów innych prac dotyczących antocyjanów jeżynowych [2, 14], w owocach tych występują także glikozydy, takie jak: cyjanidyno-3-arabinozyd, cyjanidyno-3-galaktozyd, cyjanidyno-3-soforozyd, malwidyno-3-arabinozyd, pelargonidyno-3-glukozyd, lecz głównym składnikiem antocyjanowym, niezależnie od pochodzenia owoców, zawsze pozostaje cyjanidyno-3-*O*-glukozyd. W tab. 1. przedstawiono wyniki zawartości antocyjanów, cyjanidyno-3-*O*-glukozydu, cyjanidyno-3-*O*-rutynozydu oraz pozostałych antocyjanów w owocach sześciu odmian jeżyny.



Rys. 1. Chromatogram UV-VIS przy długości fali 520 nm, przedstawiający obecność antocyjanów w świeżych owocach jeżyny odmiany 'Brzezina', gdzie: A1 – cyjanidyno-3-*O*-glukozyd, A2 – cyjanidyno-3-*O*-rutynozyd, A3 – cyjanidyno-3-ksylozyd, A4 – cyjanidyno-3-(6"-malonyloglukozyd) i A5 – cyjanidyno-3-(6"-(3-hydrokso-3-metyloglutaro)glukozyd).

Fig. 1. UV-VIS chromatogram at 520 nm wavelength showing occurrence of anthocyanins in fresh fruits of Brzezina cultivar, where: A1 – cyanidin-3-*O*-glucoside, A2 – cyanidin-3-*O*-rutinoside, A3 – cyanidin-3-xyloside, A4 – cyanidin-3-(6"-malonyloglucoside) to A5 – cyanidin-3-(6"-(3-hydroxy-3-methylglutaryl) glucoside).

Zawartość sumy antocyjanów w badanych owocach wahała się w granicach 210 ÷ 465 mg/100 g ś.m. Jednocześnie zawartość cyjanidyno-3-*O*-glukozydu wynosiła 177 ÷ 404 mg/100 g ś.m., a jego udział w sumie antocyjanów zmieniał się od 79 do 91 %. Jest to znacznie więcej niż w innych owocach jagodowych, np. w malinach wynosi on około 30 % [5], a w truskawkach – około 10 % [4]. Wyniki własne są wyższe od zawartości sumy antocyjanów w jeżynach z plantacji towarowych stanu Georgia w USA (110,5 ÷ 122,7 mg/100 g ś.m.) [24] i jeżynach dziko rosnących w Norwegii (323 mg/100 g ś.m.) [14]. Warunki środowiska mogą więc mieć wpływ na sumę zawartości antocyjanów, co wykazano też na przykładzie szarłatki (*Amaranthus* spp.) [28].

Pod względem zawartości antocyjanów w owocach poszczególnych odmian wyróżniono trzy grupy homogenne. Odmiany 'Ruczaj', 'Gaj' i 'Leśniczanka' cechowały się istotnie wyższą ($p \leq 0,05$) zawartością antocyjanów (średnio 429 mg/100 g ś.m.), a odmiana 'Polar' istotnie niższą (210 mg/100 g ś.m.) ($p \leq 0,05$) w porównaniu z pozostałymi dwoma odmianami tj. 'Orkanem' i 'Brzezina' (średnio 341 mg/100 g ś.m.).

We wszystkich badanych owocach jeżyn stwierdzono występowanie dwóch elagotanin: lambertianiny C oraz sanguiny H-6 (rys. 2). Hager i wsp. [10] podają, że w miąższu jeżyn pochodzących z USA (Arkansas) występują tylko dwie wyżej wymienione elagotaniny. Natomiast nasiona oraz torus (rozrośnięte dno kwiatowe) zawierają oprócz wymienionych elagotanin również monomery, takie jak pedunculaginę, kastalaginę/weskalaginę oraz tetramer lambertianinę D.

Tabela 1. Zawartość sumy antocyjanów oraz cyjanidyno-3-*O*-glukozydu, cyjanidyno-3-*O*-rutynozydu oraz pozostałych antocyjanów w owocach jeżyny w zależności od odmiany i pochodzenia [mg/100 g ś.m.].

Table 1. Content of total anthocyanins, cyanidin-3-*O*-glucoside, cyaniding-3-*O*-rutinoside, and of other anthocyanins in blackberry fruits depending on cultivar type and origin [mg/100 g FW]

Odmiana jeżyn Blackberry cultivar	Suma antocyjanów Total anthocyanins	Cyjanidyno-3- <i>O</i> -glukozyd Cyanidin-3- <i>O</i> -glucoside	Cyjanidyno-3- <i>O</i> -rutynozyd* Cyanidin-3- <i>O</i> -rutinoside*	Pozostałe antocyjany* Other anthocyanins*
	[mg/100 g ś.m.] / [mg/100 g FW]			
‘Gaj’	415,7 ^{cd} ± 39,1	346,9 ^{cd} ± 32,6	1,2 ^c ± 0,2	67,5 ^b ± 6,3
‘Ruczaj’	465,4 ^d ± 27	403,9 ^d ± 24,1	1,8 ^d ± 0,1	59,8 ^b ± 3,6
‘Orkan’	334,0 ^b ± 17,5	262,5 ^b ± 9,5	0,9 ^c ± 0,1	70,6 ^b ± 7,9
‘Polar’	209,5 ^a ± 13,0	177,2 ^a ± 11,0	0,6 ^a ± 0,1	31,7 ^a ± 1,9
‘Brzezin’	347,2 ^{bc} ± 5,4	315,3 ^{bc} ± 4,9	1,0 ^c ± 0,1	30,9 ^a ± 0,6
‘Leśniczanka’	407,3 ^{bcd} ± 15,2	364,3 ^{cd} ± 10,4	0,6 ^{ab} ± 0,2	42,5 ^a ± 4,7

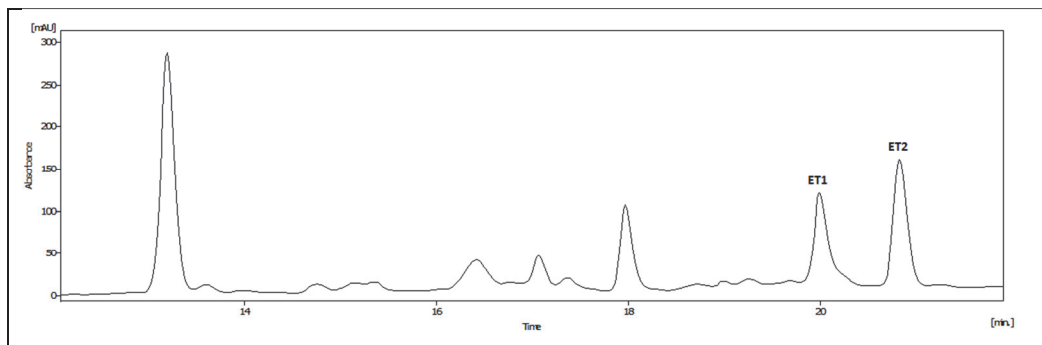
Objaśnienia: / Explanatory notes:

wartość średnia ± odchylenie standardowe / mean value ± standard deviation; n = 2;

a, b, c – wartości w kolumnie oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie na poziomie $p \leq 0,05$ / values in the same column and denoted by the same letter do not differ statistically significantly at $p \leq 0,05$;

* – przeliczono na cyjanidyno-3-*O*-glukozyd / calculated as cyanidin-3-*O*-glucoside equivalents.

Zawartość sumy elagotanin w badanych owocach wynosiła od 53 (odmiana ‘Brzezina’) do 320 mg/100 g ś.m. (odmiana ‘Polar’) (tab. 2). Pod względem zawartości elagotanin wykazano statystycznie istotną ($p \leq 0,05$) homogenność wyników odnoszących się do odmian ‘Orkan’ i ‘Polar’ (odpowiednio: 282 i 320 mg/100 g ś.m.). Odmiany ‘Ruczaj’ i ‘Leśniczanka’ również stanowiły grupę homogenną o istotnie mniejszej ($p \leq 0,50$) zawartości elagotanin (średnio zawierały ich o 55 % mniej w porównaniu z odmianami wyżej wymienionymi). Dane te są zbliżone do wyników zawartości elagotanin w jeżynach z plantacji towarowych Ameryki Środkowej i Południowej (Kostaryka, Ekwador), które wynoszą od 168,0 do 549,4 mg/100 g ś.m. [21]. Według innych źródeł [7] jeżyny odmian ‘Apache’, ‘Chesapeake’, ‘Loch Ness Thornfree’ i ‘Triple Crown’, uprawiane we Włoszech, charakteryzują się mniejszą zawartością elagotanin (70,4 do 155,6 mg/100 g ś.m.). Oprócz lambertianiny C i sanguiny H-6 Gasperotti i wsp. [7] zidentyfikowali również inne elagotaniny, takie jak: trzy izomery sanguiny H-10, sanguinę H-6 bez reszty kwasu galusowego, sanguinę H-2, lambertianinę C bez reszty kwasu elgowego, lambertianinę C z dodatkową resztą kwasu galusowego, których w niniejszych badaniach nie wykryto. Jednocześnie autorzy ci stwierdzili, że zawartość lambertianiny C i sanguiny H-6 stanowi średnio 67 % sumy elagotanin.



Rys. 2. Chromatogram UV-VIS przy długości fali 210 nm przedstawiający obecność elagotaniny w owocach jeżyny, gdzie: ET1 – lambertianina C, ET2 – sanguina H-6.

Fig. 2. UV-VIS chromatogram at 210 nm wavelength showing occurrence of ellagitannins, where: ET1 – C lambertianin C, ET2 –H-6 sanguiin.

Tabela 2. Zawartość lambertianiny C, sanguiny H-6 oraz ich sumy w badanych owocach jeżyny; stosunek zawartości sanguiny H-6 do lambertianiny C w owocach poszczególnych odmian jeżyny.

Table 2. Content of C lambertianin, H-6 sanguiin, and of their total in blackberry fruits studied; ratio of H-6 sanguin content to C lambertianin content in fruits of individual blackberry cultivars.

Odmiana jeżyny Blackberry cultivar	Lambertianina C C Lambertianin	Sanguina H-6 H-6 Sanguiin	Suma elagotanin Total ellagitannins	Stosunek zawartości lambertianiny C do sanguiny H-6 Ratio of C Lambertianin content to H-6 Sanguiin content
	[mg/100 g ś.m.] / [mg/100 g FM]			
‘Gaj’	98,3 ^c ± 8,3	98,8 ^c ± 7,5	197,1 ^c ± 15,8	1,00
‘Ruczaj’	61,8 ^b ± 4,4	60,3 ^b ± 5,0	122,1 ^b ± 9,4	1,02
‘Orkan’	120,0 ^d ± 11,4	162,2 ^d ± 13,3	282,2 ^d ± 24,6	0,74
‘Polar’	163,1 ^e ± 6,6	156,4 ^d ± 12,7	319,5 ^d ± 19,3	1,04
‘Brzezina’	32,1 ^a ± 5,4	21,1 ^a ± 0,5	53,2 ^a ± 5,9	1,52
‘Leśniczanka’	58,7 ^b ± 0,2	89,5 ^c ± 2,3	148,2 ^b ± 2,5	0,66

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

Stosunek zawartości lambertianiny C do sanguiny H-6 w owocach sześciu badanych odmian jeżyny był zmienny: od 0,66 do 1,52 (średnio 1,00) (tab. 2). Wartość zbliżoną do jedności osiągnęły odmiany ‘Gaj’, ‘Ruczaj’ i ‘Polar’, co może być wskaźnikiem ich podobieństwa biologicznego. Wartością stosunku lambertianiny C do sanguiny H-6 powyżej jedności (1,52) charakteryzowała się tylko odmiana ‘Brzezina’. Sto-

sunek zawartości lambertianiny C do sanguiny H-6 w jeżynach uprawianych we Włoszech był wyższy niż w odmianach polskich i mieścił się w przedziale $0,9 \div 3,4$ (średnio 1,7) [7].

Zawartość flawan-3-oli w badanych jeżynach wynosiła od 121 do 282 mg/100 g ś.m. (tab. 3). Wykazano statystyczną istotność różnic ($p \leq 0,05$) pod względem zawartości flawan-3-oli oraz wolnych katechin. Zawartość procyanidyn mieściła się w przedziale od 27 mg/100 g ś.m. (odmiana 'Gaj') do 60 mg/100 g ś.m. (odmiana 'Leśniczanka') – średnio 51 mg/100 g ś.m. i w porównaniu z zawartością wolnych katechin była około trzykrotnie mniejsza (średnia zawartość wolnych katechin to 154 mg/100 g ś.m.). Owoce odmiany 'Gaj' cechowały się istotnie mniejszą ($p \leq 0,05$) zawartością procyanidyn w porównaniu z pozostałymi odmianami. Dane literaturowe dotyczące zawartości flawan-3-oli w jeżynach są nieliczne i rozbieżne. Jeżyny z Niemiec zawierały flawan-3-oli średnio 40,9 mg/100 g ś.m. [23], wobec 312,9 mg/100 g ś.m. samej katechiny w jeżynach pochodzących ze stanu Georgia w USA [24]. Odmiana 'Orkan' charakteryzowała się istotnie wyższym stopniem polimeryzacji procyanidyn ($n = 6,4$, gdzie n oznacza stopień polimeryzacji). Reszta odmian wykazywała stopień polimeryzacji procyanidyn bliski 3, z wyjątkiem odmiany 'Gaj' ($n = 2$). Według Gu i wsp. [9], średni stopień polimeryzacji flawan-3-oli w jeżynie wynosi 3,2, a dominującą jednostką jest (-)-epikatechina.

Tabela 3. Zawartość wolnych katechin, procyanidyn, flawan-3-oli (suma wolnych katechin i procyanidyn) oraz stopień polimeryzacji procyanidyn w owocach poszczególnych odmian jeżyn.

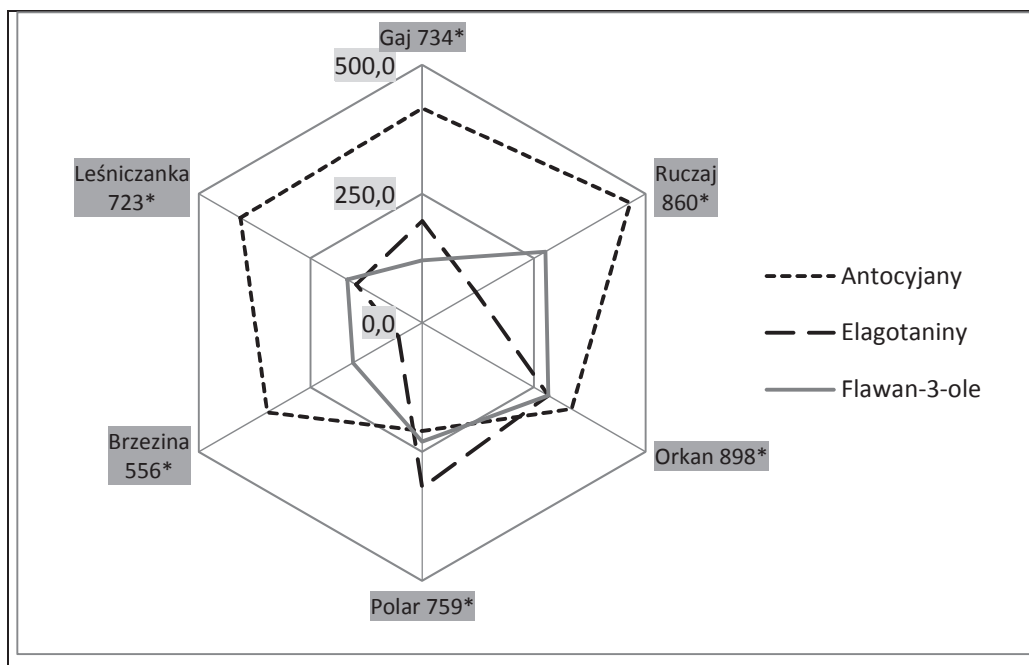
Table 3. Content of free catechins, procyanidins, flavan-3-ols (total of free catechins and procyanidins), and polymerization degree of procyanidins in fruits of individual blackberry fruits.

Odmiana jeżyn Blackberry cultivar	Suma wolnych katechin Total free catechins	Procyanidyn Procyanidins	Flawan-3-ole Flavan-3-ols	Stopień polimeryzacji Polymerization degree
	[mg/100 g ś.m.] / [mg/100 g FM]			[jedn. monomerów] [Units of monomers]
'Gaj'	93,7 ^a ± 0,1*	27,3 ^a ± 1,0	121,0 ^a ± 1,1	2,0 ^a ± 0,0
'Ruczaj'	216,3 ^d ± 0,1*	59,5 ^c ± 2,8	275,8 ^{ef} ± 2,7	2,7 ^b ± 0,1
'Orkan'	235,8 ^c ± 0,3*	46,2 ^b ± 0,1	281,9 ^f ± 0,2	6,4 ^c ± 0,3
'Polar'	173,9 ^c ± 2,7*	56,5 ^c ± 3,9	230,4 ^d ± 6,7	2,0 ^a ± 0,1
'Brzezina'	98,4 ^a ± 2,4*	56,7 ^c ± 0,3	155,1 ^b ± 2,7	2,0 ^a ± 0,0
'Leśniczanka'	108,2 ^b ± 1,3*	59,6 ^c ± 1,0	167,8 ^c ± 2,3	2,8 ^b ± 0,1

Objaśnienia: / Explanatory notes:

* – udział wolnych katechin w sumie flawan-3-oli w owocach poszczególnych odmian jeżyn [%]: 77,4; 78,4; 83,6; 75,5; 63,4; 64,5 / percent content of free catechins in total flavan-3-ols in fruits of individual blackberry cultivars: 77,4; 78,4; 83,6; 75,5; 63,4; 64,5.

Pozostałe objaśnienia jak pod tab. 1 / Other explanatory notes as in Tab. 1.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

w jasnoszarych polach wartości na osi / values on axis in light grey fields

* - suma zawartości badanych polifenoli w owocach poszczególnych odmian jeżyn (ciemnoszare pola) / Total content of polyphenols analyzed in fruits of individual blackberry cultivars (dark grey fields).

Rys. 3. Wykres radarowy obrazujący zawartość badanych grup polifenoli w owocach poszczególnych odmian jeżyn [mg/100 g ś.m.].

Fig. 3. Radar chart showing content of polyphenol groups analyzed in individual cultivars of blackberry fruits [mg/100 g FM].

Na rys. 3. przedstawiono sumaryczną zawartość antocyanin, elagotanin i flawan-3-oli na jednej osi dla owoców poszczególnych odmian. Jeżyny odmiany 'Orkan' i 'Ruczaj' zawierały po ok. 900 mg polifenoli w przeliczeniu na 100 g owoców. Owoce trzech następnych odmian 'Gaj', 'Polar' i 'Leśniczanka' zawierały badane związki w łącznej ilości po około 740 mg/100 g ś.m., zaś odmiana 'Brzezina' nieznacznie powyżej 500 mg polifenoli w 100 g ś.m. Antocyanjany były dominującymi składnikami polifenolowymi w owocach odmiany 'Ruczaj', 'Gaj', 'Leśniczanka' i 'Brzezina'. Odmianę 'Orkan' charakteryzowała podobna zawartość wszystkich trzech grup badanych polifenoli. Natomiast w owocach odmiany 'Polar' elagotaniny były ilościowo największą grupą polifenoli. Z przedstawionych danych wynika, że jeżyny, mimo zbliżonej sumarycznej zawartości polifenoli wśród odmian uprawnych, wyraźnie różnią się udziałem poszczególnych ich grup. Odmiany 'Gaj', 'Polar' i 'Ruczaj' są zalecane do

upraw towarowych i amatorskich [22]. W tym kontekście można zwrócić uwagę, że szczególnie duża zawartość prozdrowotnych elagotanin w owocach odmiany 'Polar' może stanowić dodatkowe kryterium preferencji w upowszechnianiu jej uprawy.

Wnioski

1. Odmiana jeżyn różnicowała je pod względem zawartości związków polifenolowych w owocach. Łączna zawartość antocyjanów, elagotanin i flawan-3-oli wynosiła od 556 do 898 mg /100 g ś.m (odpowiednio w odmianach 'Brzezina' i 'Orkan').
2. Suma zawartości i wzajemne udziały lambertianiny C i sanguiny H-6 w owocach jeżyny były istotnie zróżnicowane ($p \leq 0,05$) w zależności od odmiany i mogą być rozważane jako kryterium podobieństwa.
3. Duża zawartość sumy polifenoli w owocach jeżyny odmian 'Ruczaj', 'Polar' i 'Gaj' może być uwzględniana jako dodatkowa zaleta przy upowszechnianiu ich uprawy.
4. Dużą zawartość elagotanin w jeżynach odmiany 'Polar', z uwagi na znaną aktywność biologiczną i właściwości prozdrowotne tych związków, można uznać za dodatkowe kryterium jej upowszechniania we wszystkich typach uprawy.

Praca naukowa finansowana ze środków budżetowych na naukę w latach 2010-2013 jako projekt naukowy NN 312 360 139.

Literatura

- [1] Arozarena Í., Ortiz J., Hermosín-Gutiérrez I., Urretavizcaya I., Salvatierra S., Córdova I., Marín-Arroyo M.R., Noriega M.J., Navarro M.: Color, ellagitannins, anthocyanins, and antioxidant activity of Andean blackberry (*Rubus glaucus Benth.*) Wines. *J. Agric. Food Chem.*, 2012, **60** (30), 7463-7473.
- [2] Cuevas-Rodríguez E.O., Yousef G.G., García-Saucedo P.A., López-Medina J., Paredes-López O., Lila M.A.: Characterization of anthocyanins and proanthocyanidins in wild and domesticated mexican blackberries (*Rubus spp.*). *J. Agric. Food Chem.*, 2010, **58** (12), 7458-7464.
- [3] Danek J., Pierzga K.: Najlepsze krzewy owocowe. Wyd. Działkowiec, Warszawa 2002.
- [4] Da Silva F.L., Escribano-Bailón M.T., Alonso J.J.P., Rivas-Gonzalo J.C., Santos-Buelga C.: Anthocyanin pigments in strawberry. *LWT*, 2007, **40**, 374-382.
- [5] De Ancos B., Ibañez E., Reglero G., Cano M.P.: Frozen storage effects on anthocyanins and volatile compounds of raspberry fruit. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, **48**, 873-879.
- [6] Galleano M., Bernatova I., Puzserova A., Balis P., Sestakova N., Pechanova O., Fraga C.G.: (-)-Epicatechin reduces blood pressure and improves vasorelaxation in spontaneously hypertensive rats by NO-mediated mechanism. *IUBMB Life*, 2013, **65** (8), 710-715.
- [7] Gasperotti M., Masuero D., Vrhovsek U., Guella G., Mattivi F.: Profiling and accurate quantification of *Rubus* ellagitannins and ellagic acid conjugates using direct UPLC-Q-TOF HDMS and HPLC-DAD analysis. *J. Agric. Food Chem.*, 2010, **58**, 4602-4616.
- [8] Gonzalez-Barrio R., Truchado P., Ito H., Espin J.C., Tomas-Barberan F.A.: UV and MS identification of urolithins and nasutins, the bioavailable metabolites of ellagitannins and ellagic acid in different mammals. *J. Agric. Food Chem.*, 2011, **59** (4), 1152-1162.

- [9] Gu L., Kelm M.A., Hammerstone J.F., Beecher G., Holden J., Haytowitz D., Gebhardt S., Prior R.L.: Concentrations of proanthocyanidins in common foods and estimations of normal consumption. *J. Nutr.* 2004, **134**, 613-617.
- [10] Hager T., Howard L.R., Liyanage R., Lay J.O., Prior R.L.: Ellagitannin composition of blackberry as determined by HPLC-ESI-MS. *J. Agric. Food Chem.*, 2008, **56**, 661-669.
- [11] Hanlin R.L., Kelm M.A., Wilkinson K.L., Downey M.O.: Detailed characterization of proanthocyanidins in skin, seeds, and wine Shiraz and Cabernet Sauvignon wine grapes (*Vitis vinifera*). *J. Agric. Food Chem.*, 2011, **59**, 13265-13276.
- [12] Heber D.: Multitargeted therapy of cancer by ellagitannins. *Cancer Letters*, 2008, **269**, 262-268.
- [13] Jensen G.S., Wu X., Patterson K.M., Barnes J., Carter S.G., Scherwitz L., Beaman, R., Endres J.R., Schauss A.G.: *In vitro* and *in vivo* antioxidant and anti-inflammatory capacities of an antioxidant-rich fruit and berry juice blend. Results of a pilot and randomized, double-blinded, placebo-controlled, crossover study. *J. Agric. Food Chem.*, 2008, **56**, 8326-8333.
- [14] Jordheim M., Enerstvedt K.H., Andersen Ø.M.: Identification of cyanidin 3-O-β-(6''-(3-Hydroxy-3-methylglutaroyl)glucoside) and other anthocyanins from wild and cultivated blackberries. *J. Agric. Food Chem.*, 2011, **59** (13), 7436-7440.
- [15] Karlsen A., Retterstol L., Laake, P., Paur, I., Kjolsrud-Bohn S., Sandvik L., Blomhoff R.: Anthocyanins inhibit nuclear factor-κB activation in monocytes and reduce plasma concentrations of proinflammatory mediators in healthy adults. *J. Nutr.*, 2007, **137**, 1951-1954.
- [16] Kaume L., Howard L.R., Devareddy L.: The blackberry fruit: A review on its composition and chemistry, metabolism and bioavailability, and health benefits. *J. Agric. Food Chem.*, 2012, **60** (23), 5716-5727.
- [17] Kennedy J.A., Jones G.P.: Analysis of proanthocyanidin cleavage products following acid-catalysis in the presence of excess phloroglucinol. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, **49**, 1740-1746.
- [18] Klimczak E., Rozpara E., Król B.: Rozmieszczenie elagotanu w soku, mięszu i nasionach jako dodatkowe kryterium optymalnego zagospodarowania truskawek. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, **6** (79), 142-154.
- [19] Knekt P., Järvinen R., Seppänen R., Heliövaara M., Teppo L., Pukkala E., Aromaa A.: Dietary flavonoids and the risk of lung cancer and other malignant neoplasms. *Am. J. Epidemiol.*, 1997, **146**, 223-230.
- [20] Krikorian R., Shidler M.D., Nash T.A., Kalt W., Vinqvist-Tymchuk M.R., Shukitt-Hale B., Joseph J.A.: Blueberry supplementation improves memory in older adults. *J. Agric. Food Chem.*, 2010, **58**, 3996-4000.
- [21] Mertz C., Cheynier V., Günata Z., Brat P.: Analysis of phenolic compounds in two blackberry species (*Rubus glaucus* and *Rubus adenotrichus*) by high-performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ion trap mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.*, 2007, **55**, 8616-8624.
- [22] Orzeł A., Król K., Jagła J.: Ocena nowo wychodowanych odmian i klonów jeżyny (*Rubus fruticosus* L.) programu hodowlanego sadowniczego zakładu doświadczalnego ISK w Brzeznej. *Zesz. Nauk. Instytutu Sadownictwa i Kwiaciarnictwa*, 2010, **18**, 131-141.
- [23] Rzeppa S., Von Barga C., Bittner K., Humpf H.U.: Analysis of flavan-3-ols and procyanidins in food samples by reversed phase high-performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization tandem mass spectrometry (RP-HPLC-ESI-MS/MS). *J. Agric. Food Chem.*, 2011, **59** (19), 10594-10603.
- [24] Sellappan S., Akoh C.C., Krewer G.: Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-Grown blueberries and blackberries. *J. Agric. Food Chem.*, 2002, **50** (8), 2432-2438.
- [25] Siriwoharn, T.; Wrolstad, R.E.; Durst, R.W. Identification of ellagic acid in blackberry juice sediment. *J. Food Sci.*, 2005, **70**, 189-197.


- [26] Sójka M., Król B.: Composition of industrial seedless black currant pomace. *Eur. Food Res. Technol.*, 2009, **228**, 597-605.
- [27] Sójka M., Klimczak E., Macierzyński J., Kołodziejczyk K.: Nutrient and polyphenolic composition of industrial strawberry press cake. *Eur. Food Res. Technol.*, 2013, **237** (6), 995-1007.
- [28] Steffensen S.K., Pedersen H.A., Labourian R., Mortnesen A.G., Laursen B., de Troiani R.M., Nollemeier E.J., Janovska D., Stavelikova H., Taberner A., Christophersen C., Formsgaard I.S.: Variation of polyphenols and betaines in aerial parts of young, field-grown *Amaranthus* genotypes. *J. Agric. Food Chem.*, 2011, **59** (22), 12073-12082.
- [29] Strik B.C.: Berry crops: worldwide area and production systems.: In berry fruit value added products for health promotion. Ed. CRC, Boca Raton, 2007, Vol. 1, p. 349.
- [30] Strik B.C., Clark, J.R., Finn, C.E., Banados, M.P.: Worldwide production of blackberries. *Acta Hort.*, 2008, **777**, 209-217.
- [31] Thomasset S., Berry D.P., Cai H., West K., Marczylo T.H., Marsden D., Brown K., Dennison A., Garcea, G., Miller A.: Pilot study of oral anthocyanins for colorectal cancer chemoprevention. *Cancer Prev. Res.*, 2009, **2**, 625-633.
- [32] Volak J., Stodola J.: *Rośliny lecznicze*. PWR i L, Warszawa 1987.
- [33] Informacje własne serwisu fresh-market. [online]. Dostępne w internecie [01.09.2013]: http://www.fresh-market.pl/katalog_produkow/Owoce/runo_lesne;n1544313195.

POLYPHENOLIC COMPOSITION OF *RUBUS FRUTICOSUS* BLACKBERRY FRUITS

Summary

The objective of the study was to determine the polyphenolic composition of six blackberry cultivars, including the prevalently used Orkan and Gaj, and of four novel cultivars: Ruczaj, Polar, Brzezina, and Leśniczanka, as well as to determine the variability of main groups of polyphenols contained therein.

Fruits of the above named cultivars constituted the research material; they were acquired from a Sadowniczy Zakład Doświadczalny Instytut Ogrodnictwa in Brzezina (*Experimental Station for Fruit Growing, Institute of Horticulture in Brzezina, Poland*). In the fruits, the basic groups of polyphenols were determined using a HPLC method: anthocyanins, ellagitannins, and flavan-3-ols. It was found that the contents of those polyphenols in blackberries were as follows: anthocyanins between 210 and 465 mg/100 g FW, ellagitannins between 53 and 320 mg/100 g FW, and flavan-3-ols between 121 - 282 mg/100 g FW; the total polyphenols were between 556 and 898 mg/100 g FW. The fruits of the Ruczaj cultivar were characterized by a significantly higher amount of anthocyanins (465 mg/100 g FW) and the Polar blackberries by a significantly lower amount of anthocyanins (210 mg/100 g FW.); however, the latter cultivar was characterized by a significantly higher amount of ellagitannins (319 mg/100 g FW). In the fruits of all the cultivars, cyanidin-3-*O*-glucoside was the main anthocyanin (79 - 91 % of total anthocyanins). In the blackberry fruits, the total contents of two ellagitannins: lambertianin C and sanguin H-6, and their reciprocal percent contents were significantly different depending on the type of cultivar; thus, they could be considered to be a criterion for similarity. A high content of total polyphenols in the Ruczaj, Polar, and Gaj cultivars could be a further factor when popularizing the cultivation of those cultivars.

Key words: blackberries, cultivar variability, ellagitannins, anthocyanins, flavan-3-ols 

LUBOMIRA BRONIARZ-PRESS, JACEK RÓŻAŃSKI, SYLWIA RÓŻAŃSKA

WŁAŚCIWOŚCI REOLOGICZNE ZATĘŻONYCH KUKURYDZIANYCH WYWARÓW GORZELNIANYCH

Streszczenie

W pracy przedstawiono właściwości reologiczne zatężonej frakcji rozpuszczalnych składników kukurydzianego wywaru gorzelnianego (CDS) powstałego przy produkcji etanolu. Analizowane próbki zawierały od 10 do 40 % suchej masy składników CDS. Pomiary zostały przeprowadzone w przepływie ustalonym i oscylacyjnym. Wykazano, że zawiesiny CDS są płynami o złożonych właściwościach reologicznych. Mają one cechy płynów tiksotropowych, a w zakresie stężeń od 25 do 40 % występuje granica płynięcia. Do opisu krzywych płynięcia przy wzrastającej i malejącej szybkości ścinania zastosowano model Herschela-Bulkleya. Wartość granicy płynięcia świeżych zawiesin mieściła się w zakresie od 3,2 Pa dla CDS o stężeniu 25 % do 46,7 Pa dla CDS o stężeniu 40 %. Zniszczenie w przepływie ścinającym mikrostruktury CDS prowadziło do około czterokrotnego obniżenia granicy płynięcia. Na podstawie badań oscylacyjnych stwierdzono, że w płynie w stanie spoczynku powstaje mikrostruktura żelu. Mikrostruktura ta ulega zniszczeniu w ścinającym przepływie rotacyjnym, który jednocześnie przeciwdziała jej pełnej odbudowie. Odbudowę mikrostruktury zaobserwowano natomiast w przepływie oscylacyjnym. Czas odbudowy mikrostruktury silnie zależał od stężenia CDS. W przypadku stężeń 25 i 30 % pełna odbudowa mikrostruktury nastąpiła po 8060 s i 10350 s. W przypadku CDS o stężeniu 35 i 40 % w czasie trwania eksperymentu (10800 s) mikrostruktura płynu uległa odbudowie w 54 i 45 %.

Słowa kluczowe: wywar gorzelniany, reologia, tiksotropia, granica płynięcia, kukurydza, żel

Wprowadzenie

Wywar gorzelniany jest odpadem powstającym podczas produkcji alkoholu etylowego. Znajduje zastosowanie jako nawóz, pasza dla trzody chlewnej i bydła oraz surowiec do produkcji biogazu [4, 7]. Przy masowej produkcji spirytusu ilość powstającego wywaru gorzelnianego jest na tyle znaczna, że musi być on przetworzony. Najbardziej rozpowszechnioną formą przetworzenia jest suszony wywar gorzelniany

Prof. dr hab. L. Broniarz-Press, dr inż. J. Różański, dr inż. S. Różańska, Zakład Inżynierii i Aparatury Chemicznej, Wydział Technologii Chemicznej, Politechnika Poznańska, ul. Berdychowo 4, 60-965 Poznań. Kontakt: Jacek.Rozanski@put.poznan.pl

z substancjami rozpuszczalnymi (ang. DDGS - *dried distillers grains with solubles*) [2, 10].

W celu otrzymania DDGS surowy wywar gorzelniany poddaje się odwirowaniu w celu oddzielenia części stałych. Powstaje w ten sposób frakcja stała i frakcja ciekła, tzw. odciek zawierający od 5 do 10 % suchej masy. Frakcję ciekłą poddaje się zagęszczaniu w wyparkach próżniowych do konsystencji syropu. Powstaje w ten sposób zatężona frakcja rozpuszczalnych składników wywaru gorzelnianego (ang. *condensed distillers' solubles*, CDS). Ostatecznie frakcja stała i zatężona frakcja składników rozpuszczalnych są mieszane i poddawane suszeniu [10].

Na temat właściwości reologicznych wywarów gorzelnianych opublikowano niewiele informacji. Thampi i Pandit [15] stwierdzili, że w przypadku stężonych wywarów gorzelnianych do opisu krzywej płynięcia można zastosować model Bingham'a. Brossard Perez i wsp. [3] przedstawili zależność lepkości od temperatury i prędkości obrotowej wrzeczona w odniesieniu do wywaru gorzelnianego uzyskanego podczas fermentacji alkoholu etylowego z melasy trzciny cukrowej. Houchin i Hanley [9] przeprowadzili natomiast badania zatężonych zawiesin wywarów gorzelnianych (21 i 25 %) przy użyciu wiskozymetru zaopatrzonego w mieszadło wstęgowe. Autorzy ci stwierdzili, że w zależności od stężenia zawiesiny do opisu krzywych płynięcia można zastosować model potęgowy Ostwalda de Waele'a lub model Cassona.

Celem pracy było określenie właściwości reologicznych zatężonej frakcji rozpuszczalnych składników wywaru gorzelnianego (CDS). Wyniki takich badań mogą być przydatne podczas projektowania instalacji do przetwarzania wywarów gorzelnianych.

Materiał i metody badań

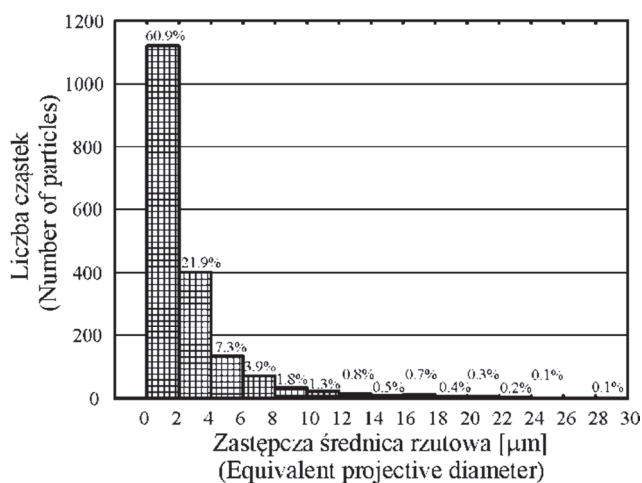
Materiałem doświadczalnym była frakcja wywaru gorzelnianego otrzymana w wyniku odwirowania części stałych. Frakcja ta powstała podczas produkcji etanolu z kukurydzy zwyczajnej w gorzelnii należącej do Wielobranżowego Przedsiębiorstwa Handlowego BGW. Stężenie suchej masy C_p w produkcie wyjściowym wynosiło 5,4 %. Roztwór wyjściowy został zatężony w wyparce laboratoryjnej do stężenia suchej masy od 10 do 40 % (stężenie określono z dokładnością do 0,3 %).

Pomiary reologiczne przeprowadzono przy użyciu reometru rotacyjnego Physica MCR 501 w temp. 20 °C, zaopatrzonego w układ pomiarowy płytka-płytko o średnicy 50 mm. Ze względu na występowanie efektu poślizgu przyściennego używano płytki o chropowatej powierzchni. Przed pomiarem próbki pozostawiano w spoczynku przez 48 h. Po wprowadzeniu ich do układu pomiarowego były poddawane wstępnemu ściśnieniu przy wartości $\dot{\gamma} = 0,01 \text{ s}^{-1}$ przez 120 s, a następnie pozostawiane w spoczynku przez 300 s.

Używana w badaniach frakcja cienka wywaru gorzelnianego zawierała głównie składniki rozpuszczalne, jednak nadal obecne w niej były cząstki ciał stałych. Ich charakterystykę określano przy użyciu analizatora Zetasizer Nano ZS, (zakres pomiarowy od 0,6 do 6000 nm) i analizatora Mastersizer 2000 (zakres pomiarowy od 0,02 do 2000 μm). Wykonywano także zdjęcia cząstek przy użyciu mikroskopu optycznego (Nikon Eclipse E50i). Użycie programu Image ProPlus pozwoliło zmierzyć powierzchnię rzutu cząstki, a następnie obliczyć zastępczą średnicę rzutową. Wykonywano pomiary średnic cząstek frakcji CDS o stężeniu 15 %.

Wyniki i dyskusja

Na rys. 1. przedstawiono rozkład zastępczej średnicy rzutowej uzyskanej na podstawie zdjęć mikroskopowych. W analizowanych zawiesinach przeważały cząstki o średnicy do 2 μm . Nie zaobserwowano cząstek większych od 30 μm . Rozkłady cząstek uzyskane przy użyciu analizatorów Mastersizer 2000 i Zetasizer Nano ZS przedstawiono na rys. 2. Wynika z nich, że próbka zawierała 90 % cząstek o wymiarach nie przekraczających 117,2 μm , 50 % mniejszych od 40,9 μm , a 10 % o średnicach poniżej 6,6 μm (rys. 2a) oraz trzech zespołów cząstek w zakresie średnic: 0,621 \div 0,719 nm; 28,2 \div 43,8 nm i 106 \div 142 nm (rys. 2b).

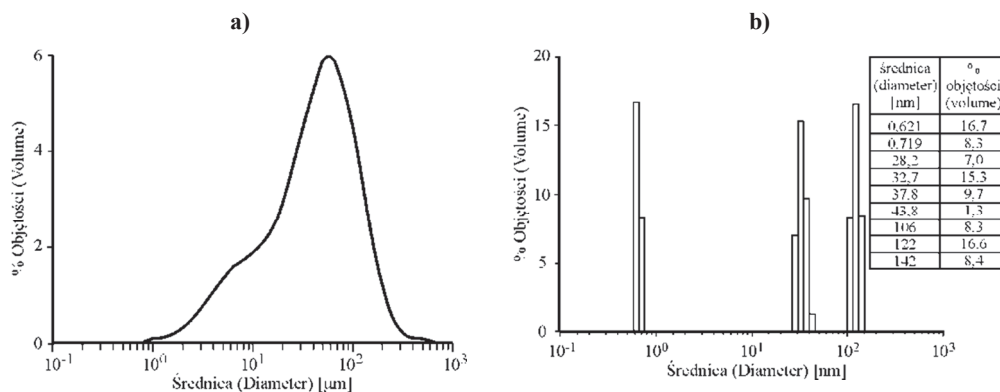


Rys. 1. Rozkład średnicy zastępczej rzutowej.

Fig. 1. Distribution of equivalent projective diameter.

Próbka CDS zawierała stosunkowo małe cząstki, które tworzyły agregaty, a te mogły się łączyć w duże aglomeraty. Struktury te nie były widoczne na zdjęciach mi-

kroskopowych, co może świadczyć o ich niestabilności. Najprawdopodobniej uległy one rozpadowi podczas osadzania próbek na szkiełku mikroskopowym.



Rys. 2. Rozkłady średnic cząstek uzyskane przy użyciu Mastersizer 2000 (a) i Zetasizer Nano ZS (b).

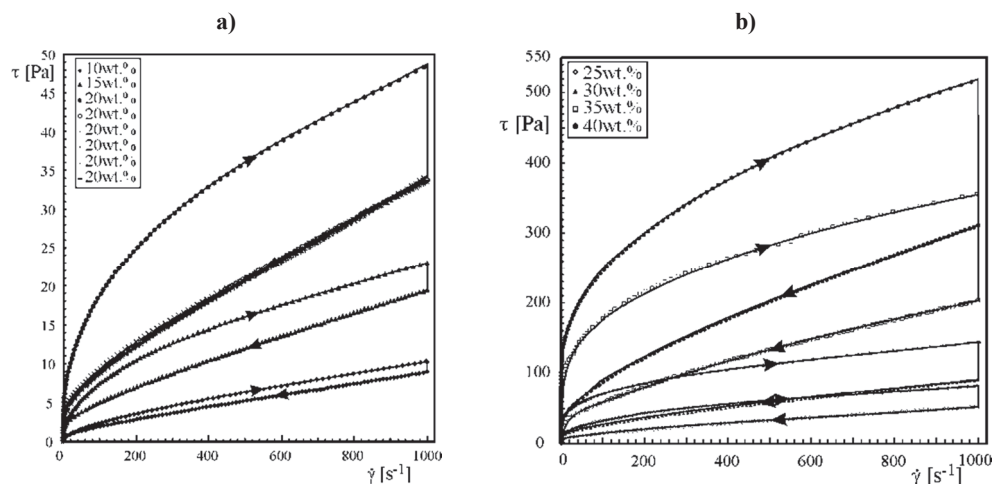
Fig. 2. Distribution of particle diameters obtained with the use of Mastersizer 2000 (a) and Zetasizer Nano ZS (b).

Na rys. 3. przedstawiono wyniki testu pętli histerezy frakcji CDS o różnych stężeniach, przeprowadzonego w trzech krokach. Rejestrowano zmiany naprężenia ścinającego co 1 s przy wzrastającej szybkości ścinania od 0,01 do 10^3 s^{-1} , następnie poddawano próbkę ścinaniu przy stałej wartości $\dot{\gamma} = 10^3 \text{ s}^{-1}$ przez 5400 s, po czym ponownie rejestrowano zmiany naprężenia ścinającego przy malejącej szybkości ścinania. Właściwości reologiczne próbki CDS silnie zależały od czasu ścinania. Nie uzyskano jednak odpowiedzi, czy zawiesiny CDS były płynami tiksotropowymi, a więc czy może nastąpić odbudowa mikrostruktury wewnętrznej płynu [1]. Przykładowo w przypadku zawiesiny o stężeniu 20 % (rys. 3a) bezpośrednio po zakończeniu testu pętli histerezy ponownie wyznaczono krzywe płynięcia przy wzrastającej i malejącej szybkości ścinania. Krzywe płynięcia pokryły się, co wskazuje, że struktura płynu podczas tego eksperymentu nie uległa zmianie.

Kształt krzywych płynięcia (rys. 3) wskazuje, że użyte w badaniach zawiesiny były płynami z granicą płynięcia. Granicę płynięcia τ_0 oszacowano metodą ekstrapolacji, wykorzystując zależności lepkości od naprężenia ścinającego uzyskane w eksperymencie przeprowadzonym przy kontrolowanym naprężeniu (tab. 1) [14]. W przypadku zawiesin świeżych o stężeniu mniejszym od 25 % i poddanych ścinaniu o stężeniu mniejszym od 30 %, granicy płynięcia τ_0 nie zarejestrowano.

Krzywe płynięcia przedstawione na rys. 3b zostały również opisane modelem Herschela-Bulkleya:

$$\tau = \tau_{0,HB} + k \cdot \dot{\gamma}^n \quad (1)$$



Rys. 3. Wyniki testu pętli histerezy CDS o stężeniach od 10 do 20 % (a) oraz od 25 do 40 % (b).

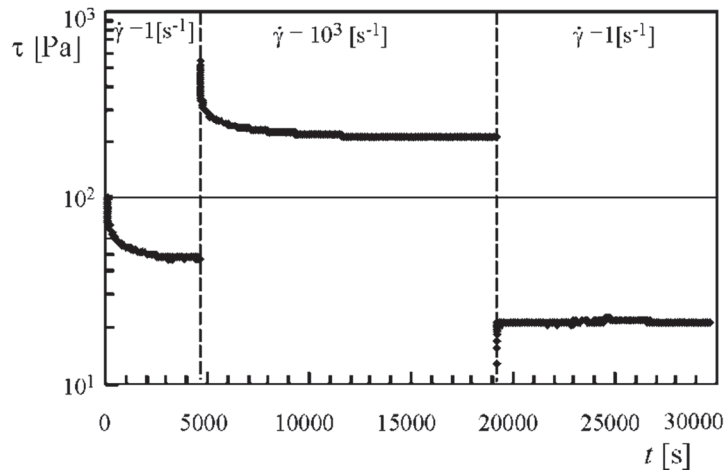
Fig. 3. Hysteresis loop test results for CCDS of concentration rates from 10 to 20 % (a) and from 25 to 40 % (b).

W tab. 1. przedstawiono parametry reologiczne $\tau_{0,HB}$, k i n oszacowane metodą najmniejszych kwadratów dla punktów doświadczalnych spełniających warunek $\tau > \tau_0$. Przedziały ufności wyznaczone przy założonej wartości $1 - \alpha = 0,95$. Obliczenia współczynników regresji oraz średnich błędów szacunku przeprowadzono w programie Statistica wykorzystując moduł – estymacje nieliniowe. Przy wyższych stężeniach wywaru gorzelnianego wartość $\tau_{0,HB}$ znacząco wzrastała, osiągając 46,7 Pa w odniesieniu do płynu o stężeniu 40 %. Jednocześnie w przypadku płynu o zniszczonej mikrostrukturze miała ona wartość prawie czterokrotnie niższą.

Omówiony test pętli histerezy bardzo ogólnie informuje o właściwościach reologicznych wywarów gorzelnianych. Więcej praktycznych informacji wynika z eksperymentu ze skokową zmianą szybkości ścinania [6]. Przykładowo na rys. 4. przedstawiono wyniki badań wywaru gorzelnianego o stężeniu 35 %. W tym przypadku naprężenie ścinające osiągało wartość równowagową 47 Pa przy szybkości ścinania 1 s^{-1} w świeżej próbce i 21,4 Pa, gdy ta sama próbka była wcześniej ścinana przy $\dot{\gamma} = 10^3 \text{ s}^{-1}$. Dodatkowo zaobserwowano, że wzrost naprężenia ścinającego po skokowym obniżeniu szybkości ścinania występował jedynie przez 6 s, następnie naprężenie stabilizowało się.

Tabela 1. Wartości granicy płynięcia τ_0 i parametrów reologicznych równania (1).Table 1. τ_0 yield stress values and values of rheological parameters in equation (1).

C_p [%]	τ_0 [Pa]	$\tau_{0,HB}$ [Pa]	k [Pa·s ⁿ]	n	R^2
Świeże CDS / Fresh CCDS					
25	3,7	$3,2 \pm 0,4$	$4,52 \pm 0,24$	$0,411 \pm 0,008$	0,998
30	8,7	$8,4 \pm 1,8$	$15,16 \pm 1,35$	$0,310 \pm 0,012$	0,998
35	23,3	$23,1 \pm 2,9$	$37,92 \pm 2,18$	$0,311 \pm 0,012$	0,998
40	43,4	$46,7 \pm 3,3$	$40,64 \pm 2,25$	$0,351 \pm 0,015$	0,994
Po ścinaniu / After shear					
30	2,2	$3,1 \pm 0,4$	$1,34 \pm 0,10$	$0,600 \pm 0,011$	0,997
35	5,6	$6,1 \pm 0,8$	$3,43 \pm 0,23$	$0,583 \pm 0,010$	0,994
40	7,1	$10,7 \pm 0,9$	$4,39 \pm 0,26$	$0,609 \pm 0,010$	0,998

Rys. 4. Zależność naprężenia ścinającego od czasu uzyskania w eksperymencie skokowej zmiany szybkości ścinania ($C_p = 35\%$).Fig. 4. Correlation between shear stress and time necessary to obtain step change in shear rate during experiment ($C_p = 35\%$).

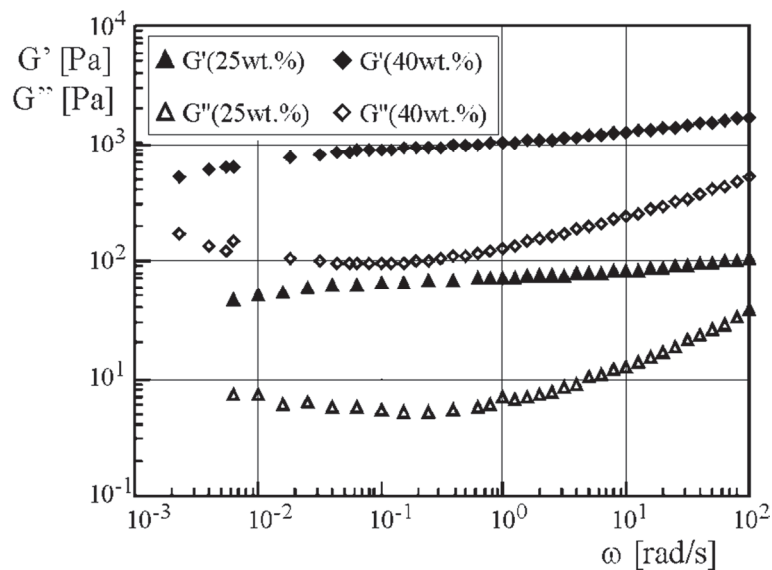
Podobne eksperymenty przeprowadzono także z wywarami gorzelnianymi o innych stężeniach i przy innych wartościach szybkości ścinania. We wszystkich przypadkach równowagowa wartość naprężenia ścinającego w próbce świeżej była wyższa niż w próbce poddanej wcześniej odkształceniu w warunkach wyższej szybkości ścinania. Świadczy to, że ustalony przepływ, nawet przy $\dot{\gamma} = 0,1 \text{ s}^{-1}$, przeciwdziała odbu-

dowie mikrostruktury wewnętrznej płynu. Informacja ta może mieć praktyczne znaczenie, gdyż oznacza, że zachowanie nawet nieznacznego przepływu wywaru gorzelnianego w instalacji może zapobiec wzrostowi jego lepkości.

Omówione poprzednio wyniki badań doświadczalnych dotyczyły przepływu ustalonego. Celem sprawdzenia, czy mikrostruktura wewnętrzna zawieszin CDS zostanie odbudowana w warunkach zbliżonych do spoczynku, przeprowadzono badania w przepływie oscylacyjnym.

Zakres lepkościowości liniowej został określony na podstawie pomiaru zmian modułów zachowawczego G' i stratności G'' w funkcji amplitudy odkształcenia γ_0 przy częstotliwości 1 Hz. W przypadku wszystkich użytych w badaniach syropów CDS moduły G' i G'' były niezależne od wartości amplitudy odkształcenia mniejszej lub równej 0,1; dlatego przy tej wartości γ_0 przeprowadzono pozostałe pomiary oscylacyjne.

Na rys. 5. przedstawiono spektra mechaniczne CDS o zawartości suchej masy 25 i 40 %. Moduł zachowawczy G' jest znacznie większy od modułu stratności G'' . Dodatkowo, moduł G' jedynie nieznacznie wzrasta ze wzrostem prędkości kątowej, a zależność ta ma charakter potęgowej ($G' \propto \omega^{0.12}$).



Rys. 5. Spektra mechaniczne CDS.

Fig. 5. Mechanical spectra of CCDS.

Moduł stratności początkowo maleje ($\omega < 0,1$ rad/s), osiąga minimum, po czym wzrasta. Przy prędkościach kątowych $\omega > 8$ rad/s punkty doświadczalne także spełniają równanie potęgowe ($G'' \propto \omega^{0.4}$). W zastosowanym zakresie zmian prędkości kątowej

wej nie nastąpiło przecięcie zależności $G' = f(\omega)$ i $G'' = f(\omega)$ obu użytych w badaniach próbek. Występowanie minimum na krzywej $G'' = f(\omega)$ może sugerować, że takie przecięcie nastąpi przy bardzo niskich wartościach ω . Omówione przebiegi zależności G' i G'' w funkcji ω przypominają tego typu zależności odnoszące się do żeli, które charakteryzują się bardzo długim czasem relaksacji [5].

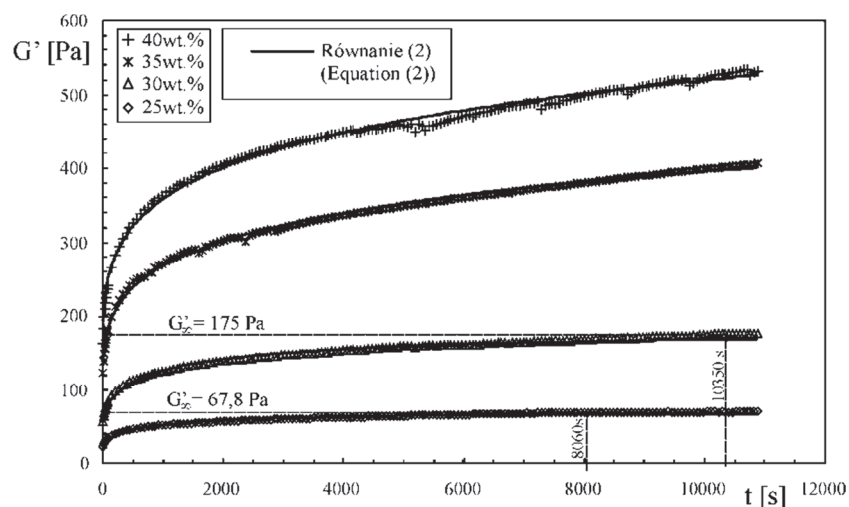
Wydaje się, że spośród składników wywarów gorzelnianych za powstanie żelu odpowiadają proteiny. W wywarze gorzelnianym pochodzą one z drożdży i z kukurydzy. Stosunek protein pochodzących z drożdży do protein pochodzących z kukurydzy mieści się w przedziale od 0,45 do 0,7 [10]. Białka pochodzące z drożdży to głównie aktyny i tubuliny pochodzące z cytoszkieletu, histony oraz białka błonowe [16]. Informacje w literaturze na temat formowania struktury żelowej i agregacji mieszanin protein są bardzo ograniczone [8, 12]. Przedstawione na rys. 5. spektra mechaniczne są charakterystyczne dla roztworów aktyn [5], jednak różnorodność zawartych w wywarze gorzelnianym białek, a także innych składników, wskazuje na możliwość powstawania agregatów o złożonej strukturze [13].

W celu sprawdzenia, czy struktura użytych w badaniach syropów ulega odbudowie w przepływie oscylacyjnym, przeprowadzono eksperyment w trzech krokach. Najpierw w świeżej próbce wykonywano pomiar modułu zachowawczego G' w przepływie oscylacyjnym (częstotliwość 1 Hz, $\gamma_0 = 0,1\%$), następnie niszczone mikrostrukturę płynu w przepływie ustalonym przez 7200 s ($\dot{\gamma} = 10^3 \text{ s}^{-1}$), po czym ponownie rejestrowano zmiany modułu G' w przepływie oscylacyjnym. Po przerwaniu ustalonego przepływu z czasem następował wzrost modułu G' , co dowodzi, że w warunkach zbliżonych do spoczynku mikrostruktura wewnętrzna płynów uległa odbudowie (rys. 6). Obserwacja ta pozwala zaliczyć wywary gorzelniane do płynów tiksotropowych [6].

Przebieg zależności modułu G' w funkcji czasu (rys. 6) od wartości początkowej G'_i do wartości równowagowej G'_∞ można opisać równaniem zaproponowanym przez Mobuchona i wsp. [11]:

$$G' = G'_i + (G'_\infty - G'_i)[1 - \exp(-(t/t_c)^m)] \quad (3)$$

Parametry reologiczne t_c i m modelu (3) oraz średnie błędy ich oszacowań zostały obliczone w programie Statistica z wykorzystaniem modułu estymacji nieliniowej. Współczynniki regresji oszacowano metodą najmniejszych kwadratów. Obliczenia przeprowadzono przy założeniu, że wartość równowagowa modułu G'_∞ będzie równa wartości modułu zachowawczego zmierzonego w próbce świeżej.



Rys. 6. Moduł zachowawczy G' w funkcji czasu t syropów CDS po zatrzymaniu ustalonego przepływu.
Fig. 6. Storage modulus G' as a function of ' t ' time of CCDS syrups after steady flow stopped.

Założenie to jest potwierdzone danymi eksperymentalnymi syropów CDS o stężeniach 25 i 30 %, w których do pełnej odbudowy mikrostruktury płynu doszło odpowiednio: po 8060 i 10350 s. W przypadku syropów o stężeniu 35 i 40 % w czasie trwania eksperymentu (10800 s) mikrostruktura płynu uległa odbudowie w 54 i 45 %.

Tabela 2. Wartości parametrów reologicznych równania (3).

Table 2. Values of rheological parameters in equation (3).

C_p [%]	G'_i [Pa]	G'_∞ [Pa]	t_c [s]	m	R^2
25	16,7	$67,8 \pm 0,1$	758 ± 22	$0,519 \pm 0,021$	0,966
30	41,7	$175,0 \pm 0,3$	1007 ± 184	$0,462 \pm 0,012$	0,964
35	90,5	$673,4 \pm 0,2$	26189 ± 271	$0,311 \pm 0,004$	0,994
40	120,5	$1032,0 \pm 0,3$	71511 ± 1609	$0,280 \pm 0,010$	0,992

Występujący w równaniu (3) parametr reologiczny t_c określa czas, po którym mikrostruktura płynu będzie odbudowana w 63,2 %. Jego wartość silnie zależy od stężenia składników CDS. W przypadku zawiesiny 30-procentowej wynosi on 1060 s, natomiast 35-procentowej – 27112 s.

Przyczyny zaobserwowanych zmian mogą być związane ze wzrostem stężenia rozpuszczalnych składników wywaru gorzelnianego w wodzie, co prowadzi do znacz-

nego wzrostu lepkości fazy ciągłej. Tym samym utrudnione są ruch i odbudowa aglomeratów rozbitych podczas przepływu ścinającego.

Wnioski

1. Zatężone zawiesiny CDS są płynami tiksotropowymi, przy czym odbudowa ich mikrostruktury następuje jedynie w warunkach zbliżonych do spoczynku.
2. Czas odbudowy mikrostruktury zawiesin CDS silnie zależy od stężenia ich składników; zaobserwowano gwałtowne jego wydłużenie przy stężeniach większych od 30 %.
3. Zależność modułu zachowawczego G' w funkcji czasu t , która charakteryzuje kinetykę odbudowy mikrostruktury zawiesin CDS, może być opisana modelem wykładniczym zaproponowanym przez Mobuchona i wsp.
4. W zakresie stężeń zawiesin CDS od 25 do 40 % zaobserwowano występowanie granicy płynięcia, jej wartość wynikająca z modelu Herschela-Bulkleya w przypadku płynu o zniszczonej mikrostrukturze jest nawet czterokrotnie niższa niż świeżej próbki płynu.

Praca finansowana z dotacji Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego na działalność statutową Wydziału Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej (nr 32/442/2014).

Literatura

- [1] Adameczyk G., Sikora M., Krystyan M.: Metody pomiaru właściwości tiksotropowych produktów żywnościowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **3 (82)**, 19-34.
- [2] Belyea R.L., Rausch K.D., Tumbleson M.E.: Composition of corn and distillers dried grains with solubles from dry grind ethanol processing. *Bioresour. Technol.*, 2004, **94**, 293-298.
- [3] Brossard Perez L.E., Bezzon G., Olivares Gómez E., Cortez L.A.B.: Use of a rotational bench viscometer to study the influence of temperature and agitation speed on vinasse viscosity. *Braz. J. Chem. Eng.*, 2000, **17 (2)**, 133-141.
- [4] Brzóška F., Węglarzy K.: Odnawialne źródła energii pochodzenia rolniczego. *Wiadomości Zootechniczne*, 2006, **3 (44)**, 3-14.
- [5] Clark A.H., Ross-Murphy S.B.: Structural and mechanical properties of biopolymer gels. *Adv. Polym. Sci.*, 1987, **83**, 57-192.
- [6] Dziubiński M., Kiljański T., Sęk J.: Podstawy reologii i reometrii płynów. Wyd. Politechniki Łódzkiej, Łódź 2009, ss. 195-207.
- [7] Eun J.-S., ZoBell D.R., Wiedmeier R.D.: Influence of replacing barley grain with corn-based dried distillers grains with solubles on production and carcass characteristics of growing and finishing beef steers. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2009, **152**, 72-80.
- [8] Foegeding E.A.: Food biophysics of protein gels: A challenge of nano and macroscopic proportions. *Food Biophys.*, 2006, **1**, 41-50.
- [9] Houchin T.L., Hanley T.R.: Measurement of rheology of distiller's grain slurries using a helical impeller viscometer. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 2004, **(113-116)**, 723-732.

- [10] Liu K.: Chemical composition of distillers grains, a review. *J. Agric. Food Chem.*, 2011, **59**, 1508-1526.
- [11] Mobuchon Ch., Carreau P.J., Heuzey M.-Cl.: Effect of flow history on the structure of a non-polar polymer/clay nanocomposite model system. *Rheol. Acta*, 2007, **46**, 1045-1056.
- [12] Nishinari K., Zhang H., Ikeda S.: Hydrocolloid gels of polysaccharides and proteins. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, 2000, **5**, 195-201.
- [13] Saluja A., Kalonia D.S.: Nature and consequences of protein-protein interactions in high protein concentration solutions. *Int. J. Pharm.*, 2008, **358**, 1-15.
- [14] Stokes J.R., Telford J.H.: Measuring the yield behaviour of structured fluids. *J. Non-Newton. Fluid. Mech.*, 2004, **124**, 137-146.
- [15] Thampi J., Pandit A.B.: Rheological properties of concentrated distillery spent wash and some metal corrosion studies. *Indian J. Chem. Technol.*, 1999, **4 (6)**, 185-193.
- [16] Walker G.M.: *Yeast - physiology and biotechnology*. Ed. Wiley, 1998, pp 11-14.

RHEOLOGICAL PROPERTIES OF CONDENSED CORN DISTILLERS SOLUBLES

S u m m a r y

In the paper, the rheological properties were presented of condensed fraction of corn distillers solubles (CCDS) originating from the production of ethanol. In the samples analyzed, the content of dry matter ranged from 10 to 40 % of CCDS. The measurements were performed using a rotational and oscillatory shear flow. It was proved that the CCDS suspensions were fluids showing complex rheological properties. Their characteristics were that of thixotropic fluids, and, within the concentration range from 25 to 40 %, the yield stress was present. To describe the flow curves at an increasing and decreasing shear rate, a Herschel-Bulkley model was applied. The yield stress values of fresh suspensions varied in the range from 3.2 Pa for CCDS of a 25% concentration rate to 46.7 Pa for CCDS of a 40 % concentration rate. The destruction of CCDS microstructure in the shear flow caused the yield stress values to decrease fourfold. Based on the oscillation tests, it was confirmed that a gel microstructure was formed in the fluid at rest. That microstructure was destroyed in a rotational shear flow, which, at the same time, prevented its complete reconstruction. On the other hand, the reconstruction of that microstructure was observed in the oscillatory flow. The microstructure reconstruction time was strongly dependent on the CCDS concentration rate. For the concentrations rates of 25 % and 30 %, the complete reconstruction of the microstructure occurred after 8060 and 10350 s. In the case of the CCDS concentration rates of 35 and 40 %, 54 and 45 % of the fluid microstructure was reconstructed during the ongoing experiment (10 800 s).

Key words: distillery grains, rheology, thixotropy, yield stress, corn, gel ☒

PRZEMYSŁAW DMOWSKI, MARIA ŚMIECHOWSKA, ELŻBIETA SAGAN

WPLYW CZASU PARZENIA I STOPNIA ROZDROBNIENIA HERBATY CZARNEJ NA BARWĘ NAPARU I JEGO WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWUTLENIAJĄCE

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu czasu parzenia, stopnia rozdrobnienia oraz marki herbaty czarnej na barwę naparu i jego właściwości przeciwutleniające. Oznaczono całkowitą zawartość polifenoli, aktywność przeciwutleniającą oraz parametry barwy L*, a*, b* w systemie CIE Lab w naparach herbat czarnych (liściowych, granulowanych oraz ekspresowych), zakupionych na terenie Trójmiasta i w Anglii. Wykorzystując wyniki analizy głównych składowych podjęto próbę klasyfikacji jakościowej badanych herbat.

Stwierdzono, że czas parzenia był istotnym czynnikiem decydującym o zawartości polifenoli w badanych naparach z herbat. Średnia zawartość polifenoli w badanych próbkach naparów z herbat mieściła się w zakresie od 67,70 mg GAE/100 ml (napary 3-minutowe) do 239,57 mg GAE/100 ml (napary 15-minutowe). Ważnym czynnikiem decydującym o akceptacji naparu herbaty jest jego barwa. Napary uzyskane z herbat liściowych zaparzanym przez 3 min charakteryzowały się większą jasnością ($36,15 \div 37,85$) niż napary uzyskane z herbat granulowanych ($32,68 \div 34,32$) i ekspresowych ($29,95 \div 36,73$). Podobną tendencję zaobserwowano w przypadku naparów zaparzanym przez 15 min. Stwierdzono również, że stosunek bezwzględnej wartości parametrów barwy a* i b* ulega zmianie w trakcie wydłużenia okresu zaparzania. Nie wykazano istotnego ($p \leq 0,05$) wpływu stopnia rozdrobnienia oraz marki herbaty na wartości analizowanych parametrów. Po zastosowaniu analizy głównych składowych nie wykazano jednoznacznych różnic jakości badanych herbat, co może świadczyć o porównywalnych cechach jakości surowców wykorzystanych do ich produkcji.

Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, że parametry barwy mogą być istotnymi parametrami fizykochemicznymi do analizy dyskryminacyjnej i określania jakości herbaty.

Słowa kluczowe: herbata czarna, napar, polifenole, aktywność przeciwutleniająca, barwa, jakość

Wprowadzenie

O jakości herbaty, oprócz aspektów związanych z zapewnieniem bezpieczeństwa i jakością sensoryczną, decyduje jej wartość prozdrowotna mierzona m.in. zawartością związków bioaktywnych i ich biodostępnością [24]. Szczególnie dużo uwagi poświęca się składnikom biologicznie aktywnym, m.in. flawonoidom oraz katechinom, które stanowią zróżnicowaną grupę substancji organicznych będących pochodnymi węglowodorów aromatycznych. Związki te dostarczane do organizmu człowieka wraz z pożywieniem mają znaczenie prewencyjne, zwłaszcza w ochronie przed wolnymi rodnikami [3, 16].

Herbata zawiera znaczące ilości składników bioaktywnych decydujących o jakości otrzymywanych naparów [19]. Chemiczny skład herbaty zależy od wielu czynników. Kłódka i wsp. [10] wykazali wpływ stopnia fermentacji oraz stopnia rozdrobnienia na zawartość kofeiny, kwasu galusowego oraz kwercetyny. Istotne są również czynniki środowiskowe, do których należą metody uprawy i produkcji, warunki atmosferyczne oraz okres zbioru [14]. Ponadto na jakość naparów herbaty bez wątpienia mają wpływ występujące w niej zanieczyszczenia (metale ciężkie, pozostałości pestycydów) oraz składniki natywne, jak szczawiany decydujące o negatywnym wpływie herbaty na organizm człowieka [8, 20]. Jednak to związki polifenolowe zawarte w herbacie czarnej, przede wszystkim teaflawiny i tearubiginy, powstałe w wyniku procesu fermentacji herbaty, wykazują silne działanie przeciwmiażdżycowe, przeciwnowotworowe, przeciwzapalne oraz antybakteryjne, przez co odgrywają istotną rolę w ochronie organizmu, decydując jednocześnie w znaczącym stopniu o jakości produktu [5, 9, 11, 15, 17, 21]. W dotychczasowych badaniach wykazano m.in. wpływ wybranych parametrów fizykochemicznych na jakość, w tym również na jakość sensoryczną herbat o różnym stopniu fermentacji oraz rozdrobnienia, pochodzących z różnych rejonów uprawy [1, 18].

Celem pracy było określenie wpływu stopnia rozdrobnienia, czasu parzenia oraz marki herbaty czarnej na właściwości przeciwutleniające oraz barwę naparu.

Material i metody badań

Do badań użyto herbat zakupionych na terenie Trójmiasta, dwóch wiodących marek, oznaczonych jako L i T oraz herbat pochodzących z rynku angielskiego, oznaczonych jako PG. Analizowane herbaty charakteryzowały się różnym stopniem rozdrobnienia: liściowe (Li), granulowane – czyli CTC (G) oraz ekspresowe (E). Oznaczenie zawartości polifenoli, parametry barwy oraz aktywność przeciwutleniająca każdej próby wykonano w trzech powtórzeniach.

W celu przygotowania wodnych ekstraktów naważano 2 g suchych liści herbaty, które następnie zalewano do objętości 100 ml demineralizowaną wodą o temp. 90 °C.

Z każdego naparu pobierano 10 ml próbki kolejno po 3 i 15 min. Następnie otrzymane napary filtrowano.

Całkowitą zawartość związków polifenolowych metodą Folina-Ciocalteu'a oznaczano zgodnie z normą ISO 14502-1:2005 [7]. Z odpowiednio rozcieńczonych ekstraktów herbat pobierano po 1 ml naparu i dodawano 5 ml odczynnika Folina-Ciocalteu'a (Sigma-Aldrich) oraz 4 ml roztworu Na_2CO_3 (POCH S.A.). Po upływie 60 min mierzono absorbancję roztworów ($\lambda = 765 \text{ nm}$). Całkowitą zawartość związków polifenolowych wyrażono w równoważnikach kwasu galusowego (mg GAE/100 ml naparu). Z każdego ekstraktu wykonano trzy niezależne pomiary.

Aktywność przeciwutleniającą oznaczano jako zdolność wygaszania rodnika DPPH*, wyrażoną jako procent inhibicji badanego roztworu. Do 3 ml odpowiednio przygotowanego ekstraktu herbaty dodawano 2 ml metanolowego roztworu DPPH* (Sigma-Aldrich). Po inkubacji dokonywano pomiaru absorbancji ($\lambda = 515 \text{ nm}$) wobec metanolu jako próby zerowej. Aktywność przeciwutleniającą (AA) wyrażono jako procent redukcji DPPH* i obliczano z równania:

$$AA[\%] = \frac{(Abs_{zero} - Abs_{próbka})}{Abs_{zero}} \times 100\%$$

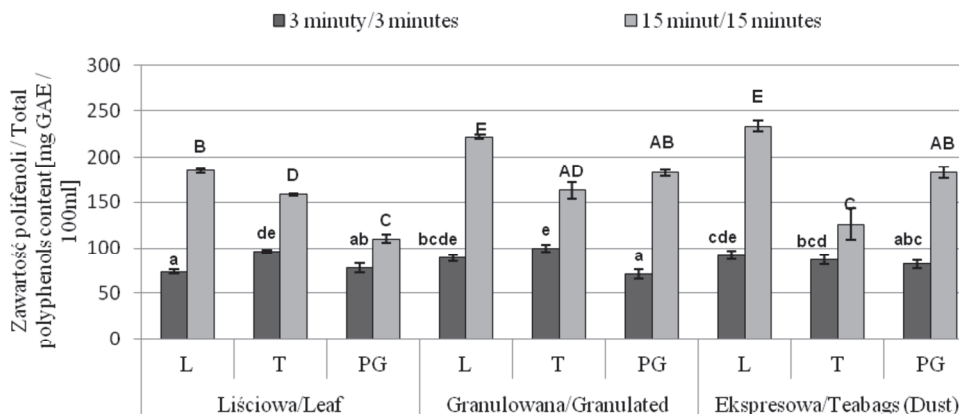
gdzie: AA – stopień inhibicji DPPH*, Abs_{zero} – absorbancja próby zerowej, $Abs_{próbka}$ – absorbancja próby właściwej. Z każdego ekstraktu wykonano trzy niezależne oznaczenia.

Parametry barwy naparu herbat określano przy użyciu kolorymetru Konica Minolta CR-400 w systemie CIE Lab, mierząc składowe trójchromatyczne L^* , a^* i b^* .

Analizę statystyczną uzyskanych wyników wykonano w programie Statistica 10.0 MR1. Do określenia wpływu czasu parzenia, marki herbaty oraz stopnia rozdrobnienia na analizowane parametry przeprowadzono analizę wariancji ANOVA. W przypadku niespełnienia założeń analizy wariancji podstawą wnioskowania były wyniki jednowymiarowego testu ANOVA Kruskala-Wallisa. W celu zweryfikowania istotności różnic pomiędzy poszczególnymi grupami przeprowadzono testy *post-hoc*. Siłę powiązań pomiędzy wybranymi parametrami wyrażono współczynnikami korelacji (r). Testowania prowadzono na poziomie istotności $p \leq 0,05$. W celu zróżnicowania badanych naparów herbaty zastosowano analizę głównych składowych.

Wyniki i dyskusja

Wyniki oznaczeń całkowitej zawartości polifenoli przedstawiono na rys. 1.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

a – d / A - G – wartości średnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$ / mean values denoted by the same letters are not significantly different at the $p \leq 0,05$ level.

Rys. 1. Całkowita zawartość polifenoli w naparach wybranych herbat, w zależności od marki, stopnia rozdrobnienia oraz czasu parzenia.

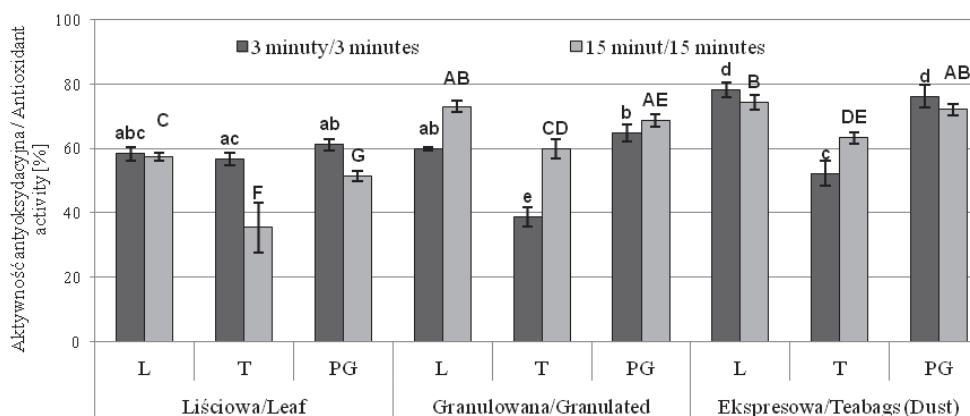
Fig. 1. Content of total polyphenols in infusions of selected teas depending on tea brand, fragmentation degree, and brewing time.

Zawartość polifenoli w badanych naparach herbaty wynosiła od 63,70 mg GAE/100 ml naparu (napary sporządzone przez 3 min) do 239,57 mg GAE/100 ml (napary 15-minutowe), co dowodzi, że dłuższe zaparzanie istotnie wpływało na zwiększenie stopnia wyekstrahowania polifenoli z czarnej herbaty, a tym samym na jej jakość, m.in. w aspekcie prozdrowotnym. Napary 3-minutowe z liściowej herbaty L charakteryzowały się mniejszą zawartością związków fenolowych (73,62 mg GAE/100 ml) niż napary otrzymane z herbat ekspresowych (91,92 mg GAE/100 ml). Nie stwierdzono jednak statystycznie istotnej zależności pomiędzy stopniem rozdrobnienia a wartością tego parametru ($H(2;27) = 0,92$; $p = 0,63$). W herbatach marki T, pochodzących z rynku krajowego, największą zawartość polifenoli oznaczono w naparach z herbaty liściowej (95,87 mg GAE/100 ml), natomiast najmniejszą – w naparach z herbaty ekspresowej (86,72 mg GAE/100 ml). Dodatkowo wykazano, że napary z herbaty liściowej oraz granulowanej tej marki zawierały statystycznie istotnie więcej związków polifenolowych niż napary z herbat pozostałych dwóch marek ($H(2;27) = 12,55$; $p = 0,0019$).

Analogiczne zależności zaobserwowano w przypadku naparów 15-minutowych. Wydłużenie czasu parzenia powodowało wzrost zawartości związków polifenolowych w stosunku do zawartości tych związków w naparach 3-minutowych, co może wskazywać, że surowiec pochodzi ze starszych liści charakteryzujących się większą zawar-

tością włókna surowego. Autorzy wykazali istnienie zależności pomiędzy zawartością włókna surowego a zawartością garbników w liściach herbaty, co może stanowić podstawę do określenia jakości surowca [18]. Napary przygotowane z herbat L zawierały znacząco więcej związków polifenolowych niż napary z herbat dwóch pozostałych marek ($H(2;27) = 15,35$; $p = 0,0005$). Podobnie jak przy naparach trzyminutowych, nie stwierdzono statystycznie istotnego wpływu stopnia rozdrobnienia na całkowitą zawartość związków polifenolowych ($H(2;27) = 4,35$; $p = 0,11$).

Z badań Yen i wsp. [25] wynika, że najwięcej związków polifenolowych znajduje się w naparach 5-minutowych. Z kolei Wang i wsp. [23] stwierdzili, że każde kolejne zaparzenie w istotny sposób zmniejszało zawartość katechin i związków fenolowych w naparach herbat.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

a – d / A – G – wartości średnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$ / mean values denoted by the same letters are not significantly different at the $p \leq 0,05$ level.

Rys. 2. Aktywność przeciwutleniająca naparów wybranych herbat, w zależności od marki, stopnia rozdrobnienia oraz czasu parzenia

Fig. 2. Antioxidant activities in infusions of selected teas depending on tea brand, fragmentation degree, and brewing time.

Zmieniająca się wraz z czasem parzenia zawartość związków fenolowych występujących w naparach z liści herbaty miała wpływ na aktywność przeciwutleniającą badanych herbat (rys. 2).

Stwierdzono, że napary zawierające więcej związków polifenolowych wykazywały większą aktywność przeciwutleniającą. Wyniki analizy statystycznej nie potwierdziły współzależności pomiędzy marką herbaty a aktywnością przeciwutleniającą. Obliczone wartości statystyki wyniosły odpowiednio: $H(2;27) = 5,6$; ($p = 0,61$)

w przypadku naparów 3-minutowych oraz $H(2;27) = 2,22$; ($p = 0,33$) – napary 15-minutowe. Nie potwierdzono również zależności pomiędzy aktywnością przeciwutleniającą badanych naparów herbaty a stopieniem rozdrobnienia surowca, odpowiednio: $H(2;27) = 1,07$; ($p = 0,59$) – napary 3-minutowe oraz $H(2;27) = 5,6$; ($p = 0,06$) w przypadku naparów 15-minutowych.

Na poziomie istotności $p \leq 0,05$ nie stwierdzono statystycznie istotnego związku pomiędzy aktywnością przeciwutleniającą a całkowitą zawartością polifenoli w naparach 3- i 15-minutowych, odpowiednio: $r = -0,36$ ($p = 0,33$) oraz $r = 0,59$ ($p = 0,09$).

Według badań Horżić i wsp. [6] na całkowitą zawartość polifenoli oraz aktywność przeciwutleniającą istotnie wpływała temperatura wody i krotność parzenia. Napary przygotowywane w wyższej temperaturze wykazywały większą zdolność do wygaszania rodnika DPPH*.

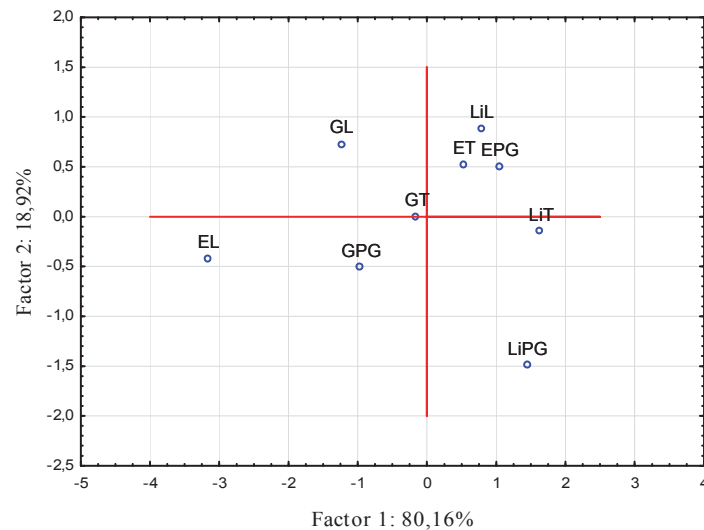
Dostępne dane literaturowe dotyczące zawartości związków bioaktywnych w herbatach są bardzo rozbieżne i trudne do porównania, co jest uwarunkowane różnicami w przygotowaniu naparów, zastosowanymi metodami analitycznymi oraz sposobem prezentacji wyników. Na jakość herbaty wpływają ponadto takie czynniki, jak czas transportu od portu załadunku do Polski, który wynosi około 3 miesiące, z licznymi pracami manipulacyjnymi w wielu portach. W trakcie transportu drogą morską herbaty narażone są na wiele czynników (dobowe i strefowe fluktuacje temperatury, zmienną wilgotność względną powietrza itp.) mogących istotnie wpływać na obniżenie jakości surowca.

Jak podają Dmowski i wsp. [2] oraz Sujith Kumar i wsp. [22], herbaty zawierające więcej związków bioaktywnych i wykazujące większą aktywność przeciwutleniającą charakteryzują się mniejszą zawartością zanieczyszczeń (metale ciężkie, pozostałości pestycydów) oraz wyższymi notami w ocenie sensorycznej.

Jakość sensoryczna jest ważną składową ogólnej jakości herbaty i uzyskiwanego z niej naparu. Czynnikiem decydującym o akceptacji naparu herbaty jest, oprócz smaku, jego barwa. W badaniach własnych stwierdzono, że najwyższą wartością parametru L^* charakteryzowały się herbaty liściowe PG oraz T parzone w ciągu 3 min ($L^* = 37,85$). W przypadku dłuższego czasu przygotowania naparu największą wartością L^* charakteryzowała się herbata liściowa PG ($L^* = 36,46$). W przypadku herbat ekspresowych parzonych 3 min najwyższą wartość parametru L^* oznaczono w herbacie PG ($L^* = 36,73$). Wśród naparów przygotowywanych przez 15 min, zarówno z herbat liściowych, jak i granulowanych, najciemniejszym naparem charakteryzowała się herbata T ($L^* = 27,07$). Dodatkowo wartości parametrów a^* oraz b^* sugerują, że sporządzone napary cechowały się czerwono-żółtym zabarwieniem, które w wyniku dłuższego czasu parzenia stawało się intensywniejsze dzięki zawartości teaflawin i tearubigin, odpowiadających za charakterystyczną barwę naparów herbaty. Współczynniki korelacji pomiędzy parametrem a^* a całkowitą zawartością polifenoli w na-

parach 3- i 15-minutowych wynosiły odpowiednio: $r = 0,20$ ($p = 0,60$) oraz $r = 0,85$ ($p = 0,003$).

Na rys. 3. i 4. przedstawiono wyniki analizy głównych składowych parametrów barwy mierzonych w systemie CIE Lab analizowanych próbek herbaty czarnej parzonej odpowiednio przez 3 i 15 min, w zależności od marki, stopnia rozdrobnienia oraz czasu parzenia. Składnik główny osi pierwszej stanowi 80,16 %, podczas gdy składnik główny osi drugiej stanowi 18,92 % wariacji danych (rys. 3). Łącznie dwa czynniki główne pozwalają na uwidocznienie co najmniej 95 % całkowitej wariacji danych. Analizując dane przedstawione na rys. 3. trudno jest jednoznacznie pogrupować badane herbaty.



Rys. 3. Wyniki analizy głównych składowych parametrów barwy, mierzonych w systemie CIE Lab, naparów wybranych herbat parzonych przez 3 min, w zależności od marki i stopnia rozdrobnienia.

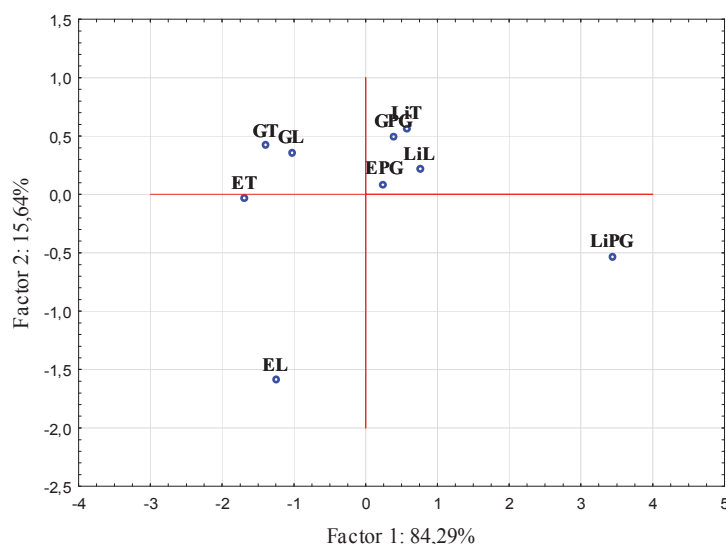
Fig. 3. Analysis results of principal components of colour parameters, measured in CIE Lab system, of infusions of selected teas brewed for 3 minutes depending on tea brand and fragmentation degree.

Stwierdzono, że napary z herbaty ekspresowej (ET, EPG) oraz z herbaty liściowej (LiL) charakteryzowały się jednakowymi wartościami parametrów barwy. Parametr L^* tych herbat zawierał się w zakresie $36 \div 37$, parametr a^* – $8 \div 10$, natomiast parametr b^* – $24 \div 26$. Wszystkie pozostałe próbki rozmieszczone są w innych obszarach klasyfikacyjnych. Ponadto są od siebie oddalone i nie tworzą skupisk. Napar otrzymany z herbaty ekspresowej marki L (EL) w przeciwieństwie do innych naparów z herbat ekspresowych był wyraźnie ciemniejszy ($L^* = 29,95$) oraz o bardziej czerwonym od-

cieniu ($a^* = 13,86$; $b^* = 16,42$). Natomiast parametry barwy naparu herbaty liściowej marki PG (LiPG) świadczą o mniejszym nasyceniu barwy czerwonej ($a^* = 2,96$) oraz większym nasyceniu składowej barwy żółtej ($b^* = 21,27$).

Uzyskane wyniki były dodatnio skorelowane z całkowitą zawartością polifenoli. Napary LiL, ET, EPG zawierały odpowiednio [mg GAE/100 ml naparu]: 73,62; 86,72 i 82,23 związków polifenolowych, podczas gdy ciemniejszy napar EL zawierał 91,92 mg GAE/100 ml naparu.

W przypadku herbat parzonych przez 15 min zaobserwowano mniejszy rozrzut wyników (rys. 4). Suma dwóch czynników głównych pozwala na uwidocznienie co najmniej 95 % całkowitej wariancji danych.



Rys. 4. Wyniki analizy głównych składowych parametrów barwy, mierzonych w systemie CIE Lab, naparów wybranych herbat parzonych przez 15 min, w zależności od marki i stopnia rozdrobnienia.

Fig. 4. Analysis results of principal components of colour parameters, measured in CIE Lab system, of infusions of selected teas brewed for 15 minutes depending on tea brand and fragmentation degree.

I w tym przypadku nie można jednoznacznie pogrupować badanych herbat, podobnie jak wcześniej naparów 3-minutowych. Do jednej grupy można zaliczyć napary z herbat granulowanych (GT, GL) oraz z herbaty ekspresowej (ET). Te napary charakteryzowały się parametrami barwy: L^* ($27,7 \div 29,2$), a^* ($13,5 \div 13,99$) i b^* ($12,92 \div 15,35$). Natomiast do drugiej grupy zaliczono napary z herbat liściowych (LiL, LiT), granulowanej (GPG) oraz ekspresowej (EPG), których parametry barwy wynosiły: L^* ($31,05 \div 32,17$), a^* ($11,64 - 12,41$), b^* ($18,44 - 20,12$).

W literaturze przedmiotu obserwuje się również próby oszacowania jakości herbaty poprzez korelowanie wyników fizykochemicznych z wynikami oceny sensorycznej, z wykorzystaniem analizy dyskryminacyjnej [4, 12, 13].

Biorąc pod uwagę analizę głównych składowych, można sądzić, że surowce przeznaczone do produkcji poszczególnych herbat nie różniły się od siebie w znaczący sposób. Na podstawie tej analizy nie uzyskano jednoznacznej odpowiedzi na pytanie o różnice jakości herbat konfekcjonowanych przez poszczególnych producentów. Na podstawie wyników przedstawionych na rys. 3. i 4. można przypuszczać, że herbaty z polskiego rynku (marka L) nieznacznie różnią się pod względem badanych wyróżników od herbat pochodzących z rynku angielskiego (PG). Jednak należy zaznaczyć, że były to herbaty z porównywanego przedziału cenowego.

Wnioski

1. Czas parzenia był istotnym czynnikiem wpływającym na zawartość polifenoli. W piętnastominutowych naparach oznaczono nawet dwukrotnie więcej związków polifenolowych aniżeli w naparach trzyminutowych.
2. Stopień rozdrobnienia surowca nie wpływał istotnie na ogólną zawartość polifenoli i aktywność przeciwutleniającą naparów analizowanych herbat.
3. Napary przygotowane z herbat zakupionych na polskim rynku charakteryzowały się zbliżonymi wartościami parametrów barwy do naparów pochodzących z rynku angielskiego.
4. Wyniki przeprowadzonej analizy głównych składowych wykazały, że herbaty przygotowano z surowca o porównywalnych parametrach jakości.
5. Wyniki badań wskazują, że istnieje możliwość zastosowania parametrów barwy w analizie dyskryminacyjnej i określaniu jakości herbaty.

Literatura

- [1] Dmowski P., Śmiechowska M., Karwowska K.: Wpływ czasu parzenia na zawartość wybranych składników bioaktywnych w herbatach pu-erh. W: *Towaroznawstwo w kształtowaniu jakości i cech prozdrowotnych żywności*. Red. M. Małecka. Zesz. Nauk. UE w Poznaniu, 2011, **205**, 52-59.
- [2] Dmowski P., Śmiechowska M.: Influence of bioactive compounds in tea on its sensory properties. In: *Current trends in Commodity Science-Food Quality*. Eds. by U. Samotyja, M. Małecka. Zesz. Nauk. UE w Poznaniu, 2010, **158**, 15-23.
- [3] Hara Y.: Tea catechins and their applications as supplements and pharmaceuticals. *Pharmacol. Res.*, 2011, **64**, 100-104.
- [4] He W., Hu X., Zhao L., Liao X., Zhang Y., Zhang M., Wu J.: Evaluation of Chinese tea by the electronic tongue: Correlation with sensory properties and classification according to geographical origin and grade level. *Food Res. Int.*, 2009, **42**, 1462-1467.
- [5] Hodgson J.H., Croft K.D.: Review – Tea flavonoids and cardiovascular health. *Mol. Aspects Med.*, 2010, **31**, 495-502.

- [6] Horžić D., Komes D., Belščak A., Kovačević Ganić K., Iveković D., Karlovic D.: The composition of polyphenols and methylxanthines in teas and herbal infusions. *Food Chem.*, 2009, **115**, 441-448.
- [7] ISO 14502-1:2005. Determination of substances characteristic of green and black tea. Part 1: Content of total polyphenols in tea. Colorimetric method using Folin-Ciocalteu reagent.
- [8] Jabłońska-Ryś E.: Wpływ sposobu parzenia różnych rodzajów herbat na zawartość w nich szczawianów rozpuszczalnych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **1 (80)**, 187-195.
- [9] Khan N., Mukhtar H.: Tea polyphenols for health promotion. *Life Sci.*, 2007, **81**, 519-533.
- [10] Kłódka D., Bońkowski M., Telesiński A.: Zawartość wybranych metyloksantyn i związków fenolowych w naparach różnych rodzajów herbat rozdrobnionych (Dust i Fannings) w zależności od czasu parzenia. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **1 (56)**, 103-113.
- [11] Kumar P.V.S., Basheer S., Ravi R., Thakur M.S.: Comparative assessment of tea quality by various analytical and sensory methods with emphasis on tea polyphenols. *J. Food Sci. Technol.*, 2011, **48 (4)**, 440-446.
- [12] Laddi A., Prakash N.R., Sharma S., Mondal H.S., Kumar A., Kapur P.: Significant physical attributes affecting quality of Indian black (CTC) tea. *J. Food Eng.*, 2012, **113**, 69-78.
- [13] Liang Y., Lu J., Zhang L., Wu S., Wu Y.: Estimation of black tea quality by analysis of chemical composition and colour difference of tea infusions. *Food Chem.*, 2003, **80**, 283-290.
- [14] Okinda Owuor P., Obanda M., Nyirenda H.E., Mandala W.L.: Influence of region of production on clonal black tea chemical characteristics. *Food Chem.*, 2008, **108**, 26-271.
- [15] PilarAlmajano M., Carbo R., Angel Lopez Jimenez J., Gordon M.H.: Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions, *Food Chem.*, 2008, **108**, 55-63.
- [16] Samotyja U.: Przeciwutleniające i prozdrowotne oddziaływanie związków fenolowych. W: Prozdrowotne składniki żywności. Red. M. Małecka. Zesz. Nauk. UE w Poznaniu, 2010, **162**, 26-40.
- [17] Sharangi A.B.: Medicinal and therapeutic potentialities of tea (*Camellia sinensis* L.) – A review. *Food Res. Int.*, 2009, **42**, 529-535.
- [18] Śmiechowska M., Dmowski P.: Crude fibre as a parameter in the quality evaluation of tea. *Food Chem.*, 2006, **94**, 366-368.
- [19] Someswararao Ch., Srivastav P.P.: A novel technology for production of instant tea powder from the existing black tea manufacturing process. *Innov. Food Sci. Emerg.*, 2012, **16**, 143-147.
- [20] Sperkowska B., Bazylak G.: Analiza zawartości szczawianów w naparach czarnych herbat i kaw dostępnych na polskim rynku. *Nauka Przyroda Technologie*, 2010, **4 (3)**, 1-11.
- [21] Stańczyk A.: Właściwości zdrowotne wybranych gatunków herbat. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2010, **XLIII, 4**, 498-504.
- [22] Sujith Kumar P.V., Basheer S., Ravi R.: Comparative assessment of tea quality by various analytical and sensory methods with emphasis on tea polyphenols. *J. Food Sci. Technol.*, 2011, **48 (4)**, 440-446.
- [23] Wang H., Provan G.J., Helliwell K.: Tea flavonoids: their functions, utilisation and analysis. *Trends Food Sci. Technol.*, 2000, **11**, 152-160.
- [24] Wojciechowska K., Borek-Wojciechowska R.: Food quality and achievements of genetics. W: Wybrane aspekty jakości żywności. Wyd. Nauk. Instytutu Technologii Eksploatacji – PIB, Radom 2012, ss. 29-35.
- [25] Yen G., Chen H.Y., Peng H.H.: Antioxidant and prooxidant effects of various tea extracts. *J. Agric. Food. Chem.*, 1997, **45**, 30-34.

**EFFECT OF BREWING TIME AND FRAGMENTATION DEGREE OF BLACK TEA
ON COLOUR OF INFUSION AND ITS ANTIOXIDANT PROPERTIES****S u m m a r y**

The objective of the paper was to determine the effect of brewing time, fragmentation degree, and brand of black tea on the colour of infusion and its antioxidant properties. The content of total polyphenols and antioxidant activity as well as the colour components using an CIE L*, a*, b* system were determined in the infusions of black tea (leaf, granular, and dust tea - teabags) purchased in the area of Tri-City (Poland) and in England. With the use of the analysis results of principal components, it was attempted to qualitatively classify the teas analyzed. It was found that the brewing time was a significant factor that determined the content of polyphenols in the studied samples of tea infusions. An average content of polyphenols in all the samples of tea infusions ranged from 67.70 mg GAE / 100 ml (brewing time of 3 minutes) to 239.57 mg GAE / 100 ml (brewing time of 15 minutes). An important factor to determine whether or not the tea infusion would be accepted is its colour. The infusions made of leaf tea brewed for 3 minutes are characterized by higher brightness (36.15 ÷ 37.85) than the infusions made of granulated tea (32.68 ÷ 34.32) and of dust tea (29.95 ÷ 36.73). A similar tendency was observed in the case of the infusions brewed for 15 minutes. It was also found that the ratio between the absolute values of a* and b* colour parameters changed along with the prolonged brewing time. No significant effect ($p \leq 0.05$) was proved of the fragmentation degree and tea brand on the values of the parameters analyzed. The principal components were analyzed and the analysis results did not show any clear differences in the quality of the tea samples analyzed; this fact could prove that the quality attributes of the raw materials used to produce the teas analyzed were comparable.

The results of the research studies performed prove that the colour parameters could be significant physical parameters for the discrimination analysis and the determination of tea quality.

Key words: black tea, infusion, polyphenols, antioxidant activities, colour, quality ☒

MARTINA OŠŤÁDALOVÁ, BOHUSLAVA TREMLOVÁ, IVAN STRAKA,
PAVEL BARTL

WPLYW PRZECHOWYWANIA NA ZAWARTOŚĆ TEAFLAWIN I TEARUBIGIN W HERBATACH TYPU OOLONG

Streszczenie

Teaflawiny i tearubiginy, należące do grupy barwników flawonoidowych, mają duży wpływ na właściwości smakowe i barwę herbat fermentowanych. Celem pracy było określenie wpływu rodzaju opakowania, czasu, i warunków przechowywania na zawartość teaflawin i tearubigin w herbatach typu oolong. Herbaty przechowywano przez 12 miesięcy. Początkowa, średnia zawartość teaflawin wynosiła 0,30 g/100 g herbaty oolong, a tearubigin – 5,30 g/100 g herbaty. Po 3 miesiącach przechowywania nastąpiło statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) [-] zmniejszenie zawartości tearubigin (średnio do 4,04 g/100 g herbaty), a po 4 miesiącach zaobserwowano ubytek teaflawin – średnio do poziomu 0,20 g/100 g herbaty. Po 12 miesiącach przechowywania ubytek teaflawin wyniósł 76,66 %, a tearubigin – 59,24 %. Wykazano, że zawartość tych substancji podlegała mniejszym wahanom w przypadku herbat przechowywanych w oryginalnych opakowaniach papierowych (torebka papierowa z wewnętrzną ochroną i folią na powierzchni) i metalowych. Ze względu na niestabilność barwników flawonoidowych najmniej korzystne były opakowania szklane i papierowe poddane działaniu promieniowania rozproszonego. Stwierdzono, że podczas przechowywania herbat nastąpiła w nich degradacja barwników, a czas i warunki przechowywania determinowały barwę herbaty oolong.

Słowa kluczowe: herbata oolong, teaflawiny, tearubiginy, spektrofotometria UV-VIS

Wprowadzenie

Napar herbaty jest napojem spożywanym przez ponad dwie trzecie ludzi na świecie. Do najczęściej stosowanych gatunków herbat należą: czarna, zielona i oolong [3]. Herbaty: czarna i zielona są dość dobrze poznane, w przeciwieństwie do herbat typu oolong (nazywanych także wulong lub wulung), które są półfermentowane w techno-

Ing. M. Ošťádalová, Doc. MVDr. B. Tremlová Ph.D, RNDr, I. Straka Ph.D., Ing. P. Bartl., Institut Higieny i Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego, Wydz. Higieny i Ekologii Weterynaryjnej, Uniwersytet Weterynaryjny i Farmaceutyczny Brno, Palackého tř. 1/3, 612 42 Brno. Kontakt: m.ostadalova@gmail.com

logii zbliżonej do produkcji herbat czarnych. Pochodzą zazwyczaj z Chin i Tajwanu. Przygotowuje się je przez podsuszenie (więdnięcie) świeżych liści na słońcu, które po skręceniu poddawane są fermentacji. W porównaniu z herbatami czarnymi okres fermentacji herbaty oolong jest krótszy i w zależności od jej intensywności powstaje gama produktów, które można sklasyfikować pomiędzy herbatami zielonymi a czarnymi. Łączą w sobie cechy herbat niefermentowanych i fermentowanych. W porównaniu z zielonymi zawierają mniej katechin, a więcej barwników flawonoidowych. Liście herbaty oolong są barwy zielonej, brązowej do czarnej. Zawierają substancje lotne (nie w pełni zidentyfikowane) i związki polifenolowe, nadające naparom wyrazisty aromat [3, 21, 31].

W herbatkach poddanych fermentacji duże, pod względem ilościowym, frakcje polifenoli tworzą teaflawiny (TFs) i tearubiginy (TRs). Wymienione frakcje mają istotny wpływ na właściwości sensoryczne herbat i naparów herbacianych, w tym zwłaszcza na barwę. Wyróżnik ten jest bowiem pierwszą cechą ocenianą przez konsumenta [10, 13, 26, 27].

Pod względem chemicznym TFs i TRs należą do grupy flawonoidów, które, w odróżnieniu od innych składników flawonoidowych, powstają podczas fermentacji w procesie enzymatycznego utlenienia katechin naturalnie występujących w zielonych liściach herbacianych przy udziale enzymów: fenolooksydaz i peroksydaz. W trakcie tego procesu następuje polimeryzacja do 75 % katechin. Według Bailey'a i wsp. [2], TFs powstaje w pierwszej fazie fermentacji, lecz równocześnie tworzą się inne produkty utleniania katechin, takie jak bisflawonole i kwasy epiteaflawinowe. W następnych fazach dochodzi natomiast do przekształcenia produktów utleniania w formy TRs [6].

TFs zostały określone jako mieszanina teaflawin: 3'-galusanu teaflawiny, 30'-galusanu teaflawiny oraz 3,30'-galusanu teaflawiny [20, 29]. TFs to dobrze rozpuszczalne dimeryczne flawonoidy o barwie od żółtożółtej do czerwonej, a ich obecność wpływa na jakość herbaty, dlatego badania prowadzone są często w kierunku zwiększenia ich zawartości w procesie produkcji herbat fermentowanych [2, 24].

TRs to fenolowe frakcje polimerowe, w dużym stopniu utlenione – trudne do zdefiniowania i niestabilne substancje o różnej masie cząsteczkowej, które tworzą heterogeniczną mieszaninę rozpuszczalnych i nierozpuszczalnych produktów utleniania. Charakteryzują się barwą od czerwono-żółtej do pomarańczowo-brązowej. Nadają naparom herbacianym cierpki i wytrawny smak [4, 12, 24].

Termin „jakość herbaty” obejmuje nie tylko jej aktywność biologiczną, ale przede wszystkim właściwości sensoryczne. TRs w reakcji z TFs i proteinami tworzą zespół spolimeryzowanych substancji, które wpływają zarówno na barwę, jak i na moc oraz smak naparu herbacianego. Mała zawartość TFs i TRs wpływa na obniżenie jakości herbaty fermentowanej, zwłaszcza na zmniejszenie intensywności barwy i wyrazistości naparu herbacianego [16, 18, 19, 20]. Jak wspomniano, trudno jest określić poszcze-

gólne frakcje barwników herbacianych. Zdaniem Owuora [19] nie można oceniać jakości herbaty i naparów herbacianych wyłącznie na podstawie oznaczenia poszczególnych frakcji, ponieważ każda z nich odpowiada za inne właściwości. Dlatego najczęściej oznacza się zawartość TFs i TRs w naparze herbacianym.

Celem pracy było określenie wpływu rodzaju opakowania, czasu, i warunków przechowywania na zawartość teaflawin i tearubigin w herbatach typu oolong.

Material i metody badań

Próbki herbat oolong pobierano z oryginalnych opakowań transportowych natchmiast po ich otwarciu u jednego z dystrybutorów herbaty w Republice Czeskiej. Liście herbaty były przetworzone w klasycznej technologii częściowej fermentacji. Analizie poddano 6 próbek herbat ze zbiorów jesiennych 2010 roku, pochodzących z różnych regionów Chin i Tajwanu. Wyszczególnienie próbek herbat handlowych podano w tab. 1.

Tabela 1. Zestawienie herbat oolong przeznaczonych do badań.

Table 1. List of oolong teas to be analyzed.

Nr próbki Sample No.	Rodzaj herbaty Type of tea	Kraj pochodzenia Country of origin	Region
1.	Ti Kuan Yin	Chiny	Fujian
2.	Formosa Finest Oolong	Tajwan	Alishan
3.	Formosa Oolong	Tajwan	Tung Ting
4.	Bio oolong	Chiny	Guangxi
5.	Milk Oolong	Chiny	Anxi
6.	Mi Lan Xiang Dan Cong	Chiny	Guang Dong

Herbaty przechowywano przez 12 miesięcy (minimalny, zalecany okres trwałości herbat w Republice Czeskiej) w warunkach zbliżonych do stosowanych w łańcuchu dystrybucji i sprzedaży detalicznej oraz przez konsumentów: temp. 20 °C, wilgotność względna powietrza 55 %. Próbki herbat przechowywano w opakowaniach: oryginalnych, metalowych zamykanych, papierowych i szklanych zamykanych. Opakowaniami oryginalnymi były torebki papierowe z wewnętrzną ochroną i folią zewnętrzną. Połowę próbek poddawano działaniu promieniowania rozproszonego, drugą zaś przechowywano bez dostępu światła.

Do oznaczania całkowitej zawartości TFs i TRs zastosowano metodę opisaną przez Perkampusa [22], zmodyfikowaną w Instytucie Higieny i Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego w Brnie [17]. Zawartość TFs i TRs oznaczano techniką spektrometrii UV-VIS, przy użyciu analizatora typu Cecil CE 7210, w zakresie długości

fali 190 - 900 nm, z uwagi na wyraźne maksima absorpcji teaflawin i tearubigin. W celu przygotowania naparu próbkę herbaty o masie 1,0 g zalewano wrzątkiem. Po 6 min napar sączono przez sącdek ze szklanego mikrowłókna, a następnie chłodzono do temp. 20 °C. Absorbancję przesącza w kierunku TFs mierzono przy $\lambda = 665$ nm, a TRs – $\lambda = 825$ nm. Zawartość analizowanych frakcji obliczano, wykorzystując standardowe przeliczniki, w przypadku TRs – 38,7 a TFs – 1,4. Przeliczone wartości TFs i TRs wyrażano w g/100 g herbaty [22]. Z każdej próbki wykonywano po 3 pomiary, a analizy prowadzono w terminie zerowym (bezpośrednio po otwarciu opakowania z herbatą), następnie w odstępach miesięcznych przez 6 kolejnych miesięcy oraz po 12 miesiącach przechowywania. Zmierzone wyniki poddano obliczeniom według przykładów Melouna i Militkiego [15] i porównano z wynikami podanymi przez Browna i wsp. [5].

Analizę statystyczną wykonano w programie Unistat, wersja 5.6. Do porównania wartości średnich zastosowano test t-Studenta. Testowanie prowadzono na poziomie istotności $p \leq 0,05$. Porównywano średnie parametrów poszczególnych próbek na początku przechowywania, jak i w poszczególnych miesiącach przechowywania w stosunku do okresu zerowego.

Wyniki i dyskusja

Początkowa zawartość TFs w analizowanych herbatach była zróżnicowana i wynosiła od 0,22 do 0,44 g w 100 g herbaty (tab. 2). Najmniej TFs stwierdzono w herbatach nr 3 (Formosa Oolong) i nr 5 (Milk Oolong), a najwięcej – w herbatach nr 6 (Mi Lan Xiang Dan Cong) i nr 1 (Ti Kuan Yin). Różnice zawartości TFs między powyższymi próbkami były statystycznie istotne ($p \leq 0,05$). Także pod względem zawartości TRs najmniejsze i największe, statystycznie istotne ($p \leq 0,05$), wartości dotyczyły tych samych herbat oolong. Ogólnie zawartość TRs wynosiła od 3,64 do 6,34 g/100 g herbaty (tab. 2).

Na zawartość barwników TFs i TRs w herbacie wpływają m.in. region uprawy, czynniki genetyczne, warunki środowiskowe i klimatyczne, metody uprawy [16, 21, 22]. Jak podają Bailey i wsp. [2] oraz Caballero [6], zawartość TFs i TRs w herbacie kształtowana jest w największym stopniu podczas fermentacji (czas trwania, temperatura i wilgotność). W badaniach własnych występowały jednak różnice zawartości teaflawin i tearubigin w próbkach pochodzących z bliskich regionów upraw, co oznacza, że prawdopodobnie różnice te mogły powstać pod wpływem zróżnicowanego czasu trwania i sposobu fermentacji liści herbacianych. Bailey i wsp. [2] oraz Ghosh i wsp. [7] podają, że w herbatach poddanych pełnej fermentacji zawartość TFs wynosi średnio 2 g/100 g herbaty, a TRs – 10 ÷ 15 g/100 g herbaty, dlatego można sądzić, że we wszystkich badanych herbatach przebiegła tylko częściowa fermentacja. Także Zhao i wsp. [31] potwierdzają, że na jakość herbat oolong wpływa poziom jakości

fermentacji lub stopień fermentacji, który jest wyrażany w procentach – najczęściej wynosi 10 ÷ 70 %. W zależności od intensywności fermentacji, a tym samym od zawartości barwników flawonoidowych (TFs i TRs), można uzyskać herbaty od zielonych do czarnych. Chociaż dystrybutorzy herbat w Republice Czeskiej nie podają stopnia fermentacji herbat oolong, to na podstawie zawartości tych barwników można przyjąć, że w herbatach o większej zawartości barwników flawonoidowych przebiegła głębsza fermentacja, a napary będą miały ciemniejszą barwę.

Tabela 2. Początkowa zawartość teaflawin (TFs) i tearubigin (TRs) w badanych herbatach oolong.

Table 2. Initial content of theaflavins (TFs) and thearubigins (TRs) in oolong teas analyzed.

Nr próbki Sample No.	Rodzaj herbaty Type of tea	TFs [g /100 g herbaty] [g /100 g of tea]		TRs [g /100 g herbaty] [g /100 g of tea]	
		\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD
		1.	Ti Kuan Yin	0,40	0,01
2.	Formosa Finest Oolong	0,25	0,01	5,15	0,01
3.	Formosa Oolong	0,22	0,01	4,23	0,04
4.	Bio Oolong	0,28	0,00	6,18	0,01
5.	Milk Oolong	0,23	0,00	3,64	0,70
6.	Mi Lan Xiang Dan Cong	0,44	0,02	6,34	0,01

Objaśnienia: / Explanatory notes:

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

Początkowa średnia zawartość teaflawin w herbatach oolong (próba zerowa) wynosiła 0,30 g/100 g herbaty (tab. 3). Po jednym miesiącu przechowywania nastąpił ubytek TFs do poziomu – 0,24 g/100 g herbaty. Natomiast po 2 miesiącach zaobserwowano statystycznie nieistotny ($p \leq 0,05$) wzrost TFs (średnio do 0,41 g/100 g herbaty). Od 3. miesiąca w składowanych herbatach oolong następował dalszy ubytek TFs i po 4 miesiącach przechowywania był już statystycznie istotny ($p \leq 0,05$). Średnia zawartość TFs zmniejszyła się po tym czasie o 33,33 % (do 0,20 g/100 g herbaty), a po 12 miesiącach – o 76,66 %, osiągając średnio 0,07 g TFs/100 g herbaty.

W zależności od rodzaju opakowania oraz warunków przechowywania zawartość TFs w herbatach oolong zmieniała się w ciągu 12 miesięcy przechowywania (tab. 3). Różnice wystąpiły już po 2 miesiącach w przypadku herbat przechowywanych w opakowaniach papierowych poddanych działaniu światła rozproszonego. Stwierdzono statystycznie istotny ($p \leq 0,05$) wzrost zawartości TFs w tym opakowaniu – do 0,49 g/100 g herbaty. Po 3 miesiącach przechowywania zawartość TFs w badanych próbkach różniła się w niewielkim stopniu – od 0,35 g TFs/100 g herbaty przechowy-

wanej w opakowaniach oryginalnych do 0,31 g TFs/100 g herbaty przechowywanej bez dostępu światła w opakowaniach papierowych. Po 4 miesiącach składowania stwierdzono statystycznie istotny ubytek TFs w herbatach oolong przechowywanych w opakowaniach szklanych (oznaczono 0,12 g TFs/100 g herbaty) i papierowych przechowywanych w świetle rozproszonym (oznaczono 0,19 g TFs/100 g herbaty). Po 5 miesiącach przechowywania wykazano statystycznie istotny ($p \leq 0,05$) ubytek TFs we wszystkich wariantach próbek, a po kolejnym miesiącu składowania zawartość TFs wynosiła od 0,10 do 0,16 g/100 g herbaty. Po dwunastomiesięcznym przechowywaniu ilość TFs w próbkach zawierała się w granicach 0,06 ÷ 0,10 g/100 g herbaty. Najmniejsza degradacja teaflawin w herbatach oolong wystąpiła więc w opakowaniach oryginalnych i metalowych, natomiast najłabszą ochronę stanowiły opakowania szklane i papierowe poddane działaniu promieniowania rozproszonego.

Tabela 3. Zawartość teaflawin (TFs) w badanych herbatach oolong w zależności od rodzaju opakowania oraz warunków i czasu przechowywania.

Table 3. Content of theaflavins (TFs) in oolong teas analyzed depending on packaging type as well as on conditions and time of storage.

Rodzaj próbki Type of sample	TFs [g/100 g herbaty] / [g /100 g of tea]							
	Miesiące przechowywania / Months of storage							
	0	1	2	3	4	5	6	12
K	-	0,22 ± 0,01	0,42 ± 0,2	0,32 ± 0,2	0,21 ± 0,3	0,13 ± 0,0	0,15 ± 0,0	0,08 ± 0,0
OO	-	0,21 ± 0,03	0,32 ± 0,1	0,35 ± 0,1	0,25 ± 0,1	0,18 ± 0,1	0,16 ± 0,1	0,10 ± 0,1
PS	-	0,24 ± 0,02	0,49 ± 0,1	0,21 ± 0,1	0,12 ± 0,0	0,12 ± 0,0	0,10 ± 0,1	0,06 ± 0,1
PT	-	0,23 ± 0,02	0,38 ± 0,1	0,31 ± 0,1	0,21 ± 0,1	0,13 ± 0,1	0,11 ± 0,1	0,07 ± 0,0
SS	-	0,32 ± 0,1	0,42 ± 0,3	0,23 ± 0,1	0,19 ± 0,1	0,11 ± 0,1	0,12 ± 0,1	0,06 ± 0,0
ST	-	0,24 ± 0,05	0,43 ± 0,1	0,29 ± 0,1	0,24 ± 0,4	0,13 ± 0,1	0,13 ± 0,1	0,07 ± 0,2
\bar{x}	0,30 ± 0,1	0,24 ± 0,04	0,41 ± 0,06	0,28 ± 0,05	0,20 ± 0,04	0,13 ± 0,02	0,13 ± 0,02	0,07 ± 0,01

Objaśnienia: / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviation;

K – opakowanie metalowe / metal packaging; OO – opakowanie oryginalne / original packaging; PS – opakowanie papierowe, próbka przechowywana w świetle rozproszonym / paper packaging; sample stored in stray light; PT – opakowanie papierowe, próbka przechowywana bez dostępu światła / paper packaging; sample stored under protection from light; SS – opakowanie szklane, próbka przechowywana w świetle rozproszonym / glass packaging, sample stored in stray light; ST – opakowanie szklane, próbka przechowywana bez dostępu światła / glass packaging, stored sample protected stray light.

Średnia zawartość tearubigin (TRs) w herbatach oolong wynosiła w początkowym okresie (próbka zerowa) 5,30 g/100 g herbaty (tab. 4). Po jednym miesiącu prze-

chowywania nastąpiło zwiększenie ich zawartości średnio do 6,38 g/100 g herbaty. Po 2 miesiącach składowania zawartość TRs zmniejszyła się poniżej wartości początkowych. Statystycznie istotny ($p \leq 0,05$) ubytek analizowanych związków stwierdzono po 3 miesiącach przechowywania, wówczas zawartość TRs zmniejszyła się o 19,62 % (do 4,04 g TRs/100 g herbaty). Po 6 miesiącach przechowywania próbek średnia zawartość TRs w herbatach oolong była najmniejsza i wynosiła 1,74 g TRs/100 g herbaty (ubytek o 67,17 %). Po 12 miesiącach składowania średnia zawartość TRs, w stosunku do 6-miesięcznego przechowywania, zwiększyła się w niewielkim stopniu do 2,16 g TRs/100 g herbaty. W odniesieniu do początkowej zawartości TRs w herbatach oolong, ubytek tych związków po 12 miesiącach przechowywania herbat wyniósł 59,24 %.

Tabela 4. Zawartość tearubigin (TRs) w badanych herbatach oolong w zależności od rodzaju opakowania oraz warunków i czasu przechowywania.

Table 4. Content of thearubigins (TRs) in oolong teas analyzed depending on type of packaging as well as of conditions and time of storage.

Rodzaj próbki Type of sample	TRs [g/100 g herbaty] / [g/100 g of tea]							
	Miesiące przechowywania / Months of storage							
	0	1	2	3	4	5	6	12
K	-	5,35 ± 0,4	5,22 ± 0,4	4,82 ± 0,2	4,15 ± 0,3	2,52 ± 0,5	2,95 ± 0,3	1,68 ± 0,5
OO	-	5,11 ± 0,3	5,62 ± 0,5	4,25 ± 0,4	4,12 ± 0,2	3,10 ± 0,5	1,85 ± 0,4	1,43 ± 0,5
PS	-	7,30 ± 0,5	4,42 ± 0,2	3,15 ± 0,5	3,51 ± 0,5	1,75 ± 0,3	1,15 ± 0,5	2,67 ± 0,4
PT	-	6,20 ± 0,5	4,33 ± 0,3	4,75 ± 0,3	3,98 ± 0,4	2,32 ± 0,3	1,85 ± 0,5	2,44 ± 0,4
SS	-	7,30 ± 0,4	4,15 ± 0,3	3,11 ± 0,3	2,10 ± 0,4	1,96 ± 0,3	1,08 ± 0,4	2,82 ± 0,4
ST	-	5,90 ± 0,3	5,22 ± 0,2	4,15 ± 0,5	2,12 ± 0,4	2,42 ± 0,2	1,56 ± 0,5	1,92 ± 0,2
\bar{x}	5,30 ± 1,16	6,38 ± 0,83	4,48 ± 0,41	4,04 ± 0,75	3,33 ± 0,97	2,35 ± 0,47	1,74 ± 0,68	2,16 ± 0,56

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

Uwzględniając rodzaj opakowania stwierdzono, że za wyjątkiem pierwszego miesiąca, we wszystkich wariantach herbat nastąpił ubytek zawartości TRs w ciągu 12 miesięcy ich przechowywania (tab. 4). Tylko po pierwszym miesiącu składowania próbek zaobserwowano zwiększenie zawartości TRs, które było najbardziej wyraźne i statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) w herbatach przechowywanych w opakowaniach papierowych, zarówno poddanych działaniu światła rozproszonego (oznaczono 7,30 g TRs/100 g herbaty), jak i składowanych bez dostępu światła (oznaczono 6,20 TRs/100 g herbaty) oraz w szklanych opakowaniach poddanych działaniu promieniowania rozproszonego (oznaczono 7,30 g TRs/100 g herbaty). Po dwóch i po

kolejnych miesiącach przechowywania obserwowano stopniowy ubytek TRs we wszystkich wariantach herbat oolong, chociaż nie następował on w jednakowym stopniu w poszczególnych próbkach. W herbatach składowanych w opakowaniach papierowych i szklanych, a przechowywanych w świetle rozproszonym, stwierdzono statystycznie istotny ($p \leq 0,05$) ubytek TRs po 4 miesiącach, odpowiednio o: 41,32 i 40,56 %. We wszystkich wariantach herbat wykazano statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) zmniejszenie zawartości tearubigin po 5 miesiącach przechowywania. Po 6 miesiącach – podobnie jak po 2 miesiącach – najmniej TRs było w próbkach przechowywanych w świetle rozproszonym, w opakowaniach papierowych (1,15 g TRs/100 g herbaty) i szklanych (1,08 g TRs/100 g herbaty). Po 12 miesiącach przechowywania najmniej TRs oznaczono w herbatach oolong znajdujących się w opakowaniach oryginalnych (1,43 g/100 g – strata 73,01 %) i metalowych (1,68 g/100 g – strata 68,30 %), jednak w ciągu 6 miesięcy przechowywania opakowania te najlepiej chroniły tearubiginy przed degradacją (tab. 4).

Po porównaniu wielkości ubytków TFs i TRs stwierdzono, że w czasie przechowywania herbat oolong większe zmiany dotyczyły zawartości tearubigin. Niewielki wzrost zawartości monitorowanych barwników po 2 miesiącach mógł być spowodowany przez oddziaływanie tlenu atmosferycznego. Jak podają Halsam [11] oraz Yao i wsp. [30], tlen prowadzi do częściowej aktywacji enzymów: fenolooksydaz i peroksydaz. Następuje reaktywacja fermentacji nieutlenionych katechin i powstają dodatkowe barwniki teaflawinowe. Ravichndran i Parthiban [23] oraz Owuor [19] dowodzą, że w trakcie dłuższego przechowywania herbat następuje degradacja teaflawin i powstają m.in. substancje o wysokiej masie cząsteczkowej, które są klasyfikowane jako tearubiginy. Główną przyczyną opisanego zjawiska jest niepełna inaktywacja fenolooksydaz przy termicznym przetwarzaniu liści herbacianych, dlatego oddziaływanie tlenu na gotowy produkt może powodować uaktywnienie enzymów [14, 25]. Utlenianie i ubytek barwników herbacianych dotyczy także TRs, co wpływa na obniżenie jakości herbaty [24]. Stąd też Halder [9] oraz Su i wsp. [28] podają, że obniżenie jakości herbaty może zachodzić w trakcie jej przechowywania i transportu.

Wnioski

1. Rodzaj opakowania, warunki i czas przechowywania herbat oolong decydowały o zawartości teaflawin i tearubigin w naparach herbacianych.
2. Opakowania oryginalne i metalowe zapewniały stabilność teaflawin i tearubigin w herbatach w większym stopniu niż opakowania papierowe i szklane.
3. Ze względu na niestabilność barwników flawonoidowych najmniej przydatne do przechowywania herbat były opakowania szklane i papierowe poddane działaniu promieniowania rozproszonego.

4. Wraz z wydłużaniem czasu przechowywania herbat następowały straty barwników flawonoidowych, przy czym ubytek teaflawin był statystycznie istotny ($p \leq 0,05$) po 4 miesiącach przechowywania, a tearubigin – po 3.

Praca została wykonana w ramach projektu IGA nr 75/2010/FVHE.

Literatura

- [1] Aherne S.A, O'Brien N.M.: Dietary Flavonols: chemistry, food content and metabolism. *Nutrition*, 2002, **18** (1), 75-81.
- [2] Bailey R.G., Nursten H.E, McDowell I.: Isolation and high-performance liquid chromatographic analysis of thearubigin fractions from black tea. *J. Chromatogr. A*, 1994, **662** (1), 101-112.
- [3] Belitz H.D., Grosch W., Schieberle P.: *Food Chemistry*. Ed. Springer-Verlag, Berlin, BRD, 2001, pp. 951-958.
- [4] Bhagwat S.: Flavonoids composition of tea: Comparison of black and green teas. *Agric. Res. Service*. [online]. MRiRW. Dostęp w Internecie [03.03. 2010.]: http://scholar.googleusercontent.com/scholar?q=cache:ZlwL7X77CdAJ:scholar.google.com/+BHAGWAT+S.:+Flavonoids+composition+of+tea:+Comparison+of+black+and+green+teas.+Agricultural+Research+Service&hl=cs&as_sdt=0&as_vis=1
- [5] Brown S.D., Tauler R., Walczak B.: *Comprehensive chemometrics: chemical and biochemical data analysis*. Ed. Elsevier Publ. Comp., Amsterdam, NL, 2009, p. 354.
- [6] Caballero B.: *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. Ed. Elsevier Publ. Comp., Amsterdam, NL, 2003, pp. 1904-1914.
- [7] Ghosh A., Tamuly P., Bhattacharyya N., Tudu B., Gogoi N.: Estimation of theaflavin content in black tea using electronic tongue. *J. Food Eng.*, 2012, **110** (1), 71-79.
- [8] Gupta S., Saha B., Giri A.K.: Comparative antimutagenic and anticlastogenic effects of green tea and black tea: a review. *Mutation Research*, 2001, **512** (1), 37-65.
- [9] Halder J., Tamuli P., Bhaduri A.N.: Isolation and characterization of polyphenol oxidase from Indian tea leaf (*Camellia sinensis*). *J. Nutr. Biochem.*, 1998, **9** (2), 75-80.
- [10] Hakim I.A., Weisgerber U.M., Harris R.B., Balentine D., van Mierlo C.A.J., Paetau-Robinson I.: Preparation, composition and consumption patterns of tea-based beverages in Arizona. *Nutr. Res.*, 2000, **2** (12), 1715-1724.
- [11] Haslam H.: Thoughts on thearubigins. *Phytochem.*, 2003, **64** (1), 61-73.
- [12] Kuhnert N.: Unraveling the structure of the black tea thearubigins. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2010, **501** (1), 37-45.
- [13] Luczaj W., Skrzydlewska E.: Antioxidative properties of black tea. *Prevent. Medic.*, 2005, **40** (6), 910-918.
- [14] Matsuo Y., Tanaka T., Kouno I.: A new mechanism for oxidation of epigallocatechin and production of benzotropolone pigments. *Tetrahedron*, 2006, **62** (20), 4774 - 4783.
- [15] Meloun M., Militký J.: *Kompedium statistického zpracování dat*. Academia, Praha 2006, s. 985.
- [16] Muthumani T., Kumar R.S.: Influence of fermentation time on the development of compounds responsible for quality in black tea. *Food Chem.*, 2001, **101** (1), 98-102.
- [17] Ošťádalová M., Pažout V., Straka I., Bartl P.: Determination of basic pigments-theaflavins and thearubigins in commercial teas. 6th Int. Congress on Pigments in Food, Budapest 2010, pp. 275-277.
- [18] Obanda M., Owuor P.O., Mang'oka R.: Changes in the chemical and sensory quality parameters of black tea due to variations of fermentation time and temperature. *Food Chem.*, 2001, **72** (1), 319-327.

- [19] Owuor P.O.: Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition. Ed. Benjamin, C. Academic Press, Oxford, UK, 2003, pp. 5757-5762.
- [20] Owuor P.O., Obanda M., Nyirenda E.H., Mphangwe N.I.K., Wright L.P., Apostolides Z.: The relationship between some chemical parameters and sensory evaluations for plain black tea (*Camellia sinensis*) produced in Kenya and comparison with similar teas from Malawi and South Africa. Food Chem., 2006, **97** (4), 644-653.
- [21] Othmer K.: Food and Feed Technology. Ed. John Wiley & Sons, New York, USA, 2008, p. 1760.
- [22] Perkampus H.: UV-VIS spectroscopy and its application. Springer Verlag, Berlin, BRD, 1992, p. 244.
- [23] Ravichandran R., Parthiban R.: Changes in enzyme activities (polyphenol oxidase and phenylalanine ammonia lyase) with type of tea leaf and during black tea manufacture and the effect of enzyme supplementation of dhool on black tea quality. Food Chem., 1998, **62** (3), 277-281.
- [24] Robertson A., Derek B.: Production and HPLC analysis of black tea theaflavins and thearubigins during *in vitro* oxidation. Phytochem., 1983, **22** (4), 883-887.
- [25] Sang S., Lambert J.D., Tian S., Hong J., Hou Z., Ryu J.H., Stark R.E., Rosen R.T., Huang M.T., Yang C.H.S., Ho C.H.T.: Enzymatic synthesis of tea theaflavin derivatives and their anti-inflammatory and cytotoxic activities. Bioorg. Medic. Chem., 2004, **12** (2), 459-467.
- [26] Sharangi A.B.: Medicinal and therapeutic potentialities of tea (*Camellia sinensis* L.) – a review. Food Res. Int., 2009, **42** (5-6), 963-969.
- [27] Schwarz B., Bischof H.P., Kunze M.: Coffee, tea and lifestyle. Prevent. Medic., 1994, **23** (3), 377-384.
- [28] Su Y.L., Leung L.K., Huang Y., Zhen-Yu Chen Z.: Stability of tea theaflavins and catechins. Food Chem. 2003, **83** (2), 189-195.
- [29] Way T.D., Lee H.H., Kao M.C.H., Lin J.K.: Black tea polyphenol theaflavins inhibit aromatase activity and attenuate tamoxifen resistance in HER2/neu-transfected human breast cancer cells through tyrosine kinase suppression. Eur. J. Cancer, 2004, **40** (14), 2165-2174.
- [30] Yao L.H., Jiang Y.M., Caffin N., Arcy B.D., Datta N., Liu X., Singanusong Y.X.: Phenolic compounds in tea from Australian supermarkets. Food Chem., 2006, **96** (4), 614-620.
- [31] Zhao Y., Pei Chen P., Lin L., Harnly J.M., Yu L.L., Li Z.: Tentative identification, quantitation, and principal component analysis of green pu-erh, green, and white teas using UPLC/DAD/MS. Food Chem., 2011, **126** (3), 1269-1277.

EFFECT OF STORAGE ON CONTENT OF THEAFLAVINS AND THEARUBIGINS IN OOLONG TEAS

S u m m a r y

Theaflavins and thearubigins, which belong to a group of flavonoid pigments, have a strong impact on the gustatory properties and the colour of fermented teas. The objective of the research study was to determine the effect of packaging type as well as storage time and conditions on the content of theaflavins and thearubigins in oolong teas. The teas were stored for 12 months. The initial mean content of theaflavins was 0.30 g/100 g of oolong tea, and of thearubigins: 5.30 g/100 g of tea. After 3 months of storage, a statistically significant ($p \leq 0.05$) decrease in the content of thearubigins occurred (to 4.04 g/100 g of tea on average) and after 4 months, the reported level of the decreased content of theaflavins was 0.20 g/100 g of tea on average. After 12 months of storage, the decreased level of theaflavins was 76.66 % and of thearubigins: 59.24 %. It was proved that the content of those substances fluctuated less in the case of the teas stored in original paper packaging (paper bag with an inner protective layer and a foil on its surface)

and in packaging of metal boxes. The glass and paper packaging exposed to stray light were the least beneficial owing to the instability of flavonoid pigments. It was found that during storage of the teas, a degradation of pigments occurred, and the storage time and conditions determined the colour of the oolong tea.

Key words: oolong tea, theaflavins, thearubigins, colour, UV-VIS spectrophotometry ☒

HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA

INTERAKCJE SKŁADNIKÓW ŻYWNOŚCI

Prezentujemy 23. część cyklu nt.: „Interakcje składników żywności”. Druk materiałów z tego cyklu rozpoczęliśmy w *Żywności* nr 1 (74), 2011.

Artykuł zaczynamy od pytania: co jest przyczyną toksycznej „sławy” grejpfruta? Grejpfrut lub jego sok może być przyczyną nagłego zgonu człowieka, ostrej niewydolności nerek, niewydolności oddechowej, krwawienia z przewodu oddechowego, zahamowania czynności szpiku kostnego i immunosupresji oraz innych przypadłości chorobowych. Przypomnijmy, że pod względem klinicznym najważniejsze są dwie reakcje leków ze składnikami żywności, które powodują zmianę jego biodostępności lub zmniejszają bądź zwiększają jego stężenie. W przypadku zmniejszenia dostępności leku można spowodować ograniczenie efektu leczniczego. Natomiast zmniejszając lub zwiększając jego terapeutyczne stężenie w organizmie człowieka, istnieje poważne ryzyko wystąpienia działań niepożądanych, a nawet silnie toksycznych. Z dotychczasowych badań wynika, że sok grejpfrutowy wpływa na biotransformację leków. Stwierdzono, że obecne w nim furanokumaryny i flawonoidy wchodzi w interakcje z wieloma lekami, wpływają na działanie enzymu cytochromu 450, a głównie jego odmiany CYP 3A, powodując wzrost stężenia takich leków, jak: antagoniści wapnia, lowastatyny (lek pomagający normalizować stężenie lipidów we krwi) czy benzodiazepiny (lek o działaniu przeciwlękowym, uspokajającym, nasennym itp.) Leki wchodzące w interakcje ze składnikami grejpfruta charakteryzują się tym, że: są podawane doustnie, niezmiennie ich ilości są wchłaniane do krwioobiegu oraz są metabolizowane w przewodzie pokarmowym przez CYP 3A4. By lepiej zrozumieć te informacje, konieczne jest przypomnienie wiadomości o cytochromie 450 oraz strukturze konformacyjnej furanokumaryn i flawonoidów obecnych w grejpfrucie. Cytochrom 450 jest enzymem z grupy monooksydaz. Istotą działania tych enzymów jest wbudowywanie do substratu tylko jednego atomu tlenu, podczas gdy drugi jest redukowany do cząsteczki wody. Ta druga reakcja wymaga udziału dodatkowego reduktora, np. cząstecz-

Prof. dr hab. H. Kostyra, Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN, Oddział Nauki o Żywności, 10-747 Olsztyn, ul. Tuwima 10, prof. dr hab. E. Kostyra, Wydz. Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, ul. Oczapowskiego 7, 10-957 Olsztyn

ki NADPH + H⁺ lub tetrahydrofolianu. Mechanizm ten jest wykorzystywany do reakcji hydroksylacji różnych metabolitów. Reakcja ta przebiega wg mechanizmu:



Rys. 1. Model budowy konformacyjnej cytochromu 450.

Cytochrom 450 jest ważnym elementem w metabolizmie ksenobiotyków, zwłaszcza o charakterze hydrofobowym. Produkty metabolizmu są zwykle bardziej hydrofilowe od substratów, co sprzyja ich dalszemu metabolizowaniu i wydalaniu. Większość form cytochromu 450 wykazuje niską specyficzność substratową, katalizując wiele różnych substancji, także takich, z którymi organizm nie miał kontaktu w rozwoju filogenetycznym, a więc nie miał możliwości ewolucyjnego wykształcenia enzymów o odpowiedniej specyficzności. Fakt ten powoduje, że cytochrom 450 jest ewolucyjnie przystosowany do metabolizowania szerokiego spektrum ksenobiotyków. ☒

GRAŻYNA MORKIS

PROBLEMATYKA ŻYWNOŚCIOWA W USTAWODAWSTWIE POLSKIM I UNIJNYM

Publikujemy kolejny przegląd aktów prawnych, które ukazały się w Dzienniku Ustaw RP, Monitorze Polskim oraz Dzienniku Urzędowym UE. Poniższe zestawienie zawiera akty prawne dotyczące szeroko omawianej problematyki żywnościowej wg stanu na dzień 30 września 2014 r.

Polskie akty prawne

1. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 22 lipca 2014 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie wymagań weterynaryjnych przy produkcji mięsa przeznaczonego na użytek własny (Dz. U. 2014 r., poz. 975).

Wprowadzono zmiany w rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 21 października 2010 r. w sprawie wymagań weterynaryjnych przy produkcji mięsa przeznaczonego na użytek własny (Dz. U. Nr 207, poz. 1370 oraz z 2014 r. poz. 356).

Został dopuszczony ubój na terenie gospodarstwa, w celu produkcji mięsa, świń utrzymywanych w gospodarstwie podlegającym ograniczeniom, nakazom lub zakazom, a wydanym w związku z wystąpieniem na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej afrykańskiego pomoru świń u dzików lub wystąpieniem afrykańskiego pomoru świń na terytorium państwa trzeciego lub państwa członkowskiego Unii Europejskiej, graniczących z terytorium Rzeczypospolitej Polskiej, pod warunkiem że były one utrzymywane w tym gospodarstwie co najmniej przez 30 dni przed ubojem.

Mięso zwierząt poddanych ubojowi oraz mięso zwierząt łownych odstrzelonych w celu produkcji mięsa, poddaje się z urzędu i na koszt podmiotu prowadzącego

- gospodarstwo lub posiadacza mięsa badaniu poubojowemu przeprowadzanemu przez urzędowego lekarza weterynarii.
2. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 23 lipca 2014 r. w sprawie wprowadzenia w 2014 r. na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej "Programu mającego na celu wczesne wykrycie zakażeń wirusem wywołującym afrykański pomór świń i poszerzenie wiedzy na temat tej choroby oraz jej zwalczanie" (Dz. U. 2014 r., poz. 996).
Na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej wprowadza się "Program mający na celu wczesne wykrycie zakażeń wirusem wywołującym afrykański pomór świń i poszerzenie wiedzy na temat tej choroby oraz jej zwalczanie". Załącznik do rozporządzenia zawiera treść programu.
 3. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 29 sierpnia 2014 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie środków podejmowanych w związku z wystąpieniem u dzików afrykańskiego pomoru świń (Dz. U. 2014 r., poz. 1205).
W rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 31 marca 2014 r. w sprawie środków podejmowanych w związku z wystąpieniem u dzików afrykańskiego pomoru świń (Dz. U. poz. 420) wprowadzono zmiany dotyczące m.in. zakazu na obszarze chronionym oraz objętym ograniczeniami: wnoszenia i wwożenia na teren gospodarstwa, w którym są utrzymywane świnię, zwłok dzików, tusz dzików, części tusz dzików i produktów ubocznych pochodzenia zwierzęcego; wykonywania czynności związanych z obsługą świń przez osoby, które w ciągu ostatnich 72 godzin uczestniczyły w polowaniu na zwierzęta łowne lub odłowie takich zwierząt; odłowów zwierząt łownych, polowań indywidualnych na dziki i polowań zbiorowych na zwierzęta łowne inne niż dziki, bez zgody powiatowego lekarza weterynarii.
 4. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 4 sierpnia 2014 r. w sprawie wzorów formularzy deklaracji składanych Prezesowi Agencji Rynku Rolnego w zakresie wyrobu, rozlewu i wprowadzania do obrotu wyrobów winiarskich z wina, winogron lub moszczów winogronowych (Dz. U. 2014 r., poz. 1080).
Zostały wprowadzone nowe wzory formularzy deklaracji składanej przez producentów wpisanych do ewidencji producentów i przedsiębiorców wyrabiających wino z winogron pozyskanych z upraw winorośli położonych na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej. Rozporządzenie zawiera 16 nowych wzorów deklaracji.
 5. Ustawa z dn. 12 maja 2011 r. o wyrobie i rozlewie wyrobów winiarskich, obrocie tymi wyrobami i organizacji rynku wina (tekst jednolity) (Dz. U. 2014 r., poz. 1104).
Został ogłoszony jednolity tekst ustawy z dn. 12 maja 2011 r. o wyrobie i rozlewie wyrobów winiarskich, obrocie tymi wyrobami i organizacji rynku wina.

6. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 6 kwietnia 2007 r. w sprawie szczegółowych sposobów postępowania przy zwalczaniu i zapobieganiu rozprzestrzeniania się bakterii *Clavibacter michiganensis ssp. Sepedonicus* (tekst jednolity) (Dz. U. 2014 r., poz. 1121). Został ogłoszony jednolity tekst rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 6 kwietnia 2007 r. w sprawie szczegółowych sposobów postępowania przy zwalczaniu i zapobieganiu rozprzestrzeniania się bakterii *Clavibac termichiganensis ssp. Sepedonicus*.
7. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 19 sierpnia 2014 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie sposobu i warunków wykorzystania ogólnej kwoty połowowej (Dz. U. 2014 r., poz. 1123).
W rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 23 grudnia 2011 r. w sprawie sposobu i warunków wykorzystania ogólnej kwoty połowowej (Dz. U. Nr 282, poz. 1653 oraz z 2013 r. poz. 1544) wprowadzono zmiany dotyczące warunków wykorzystania ogólnej kwoty połowowej szprota określonej dla Morza Bałtyckiego oraz śledzia określonej dla Morza Bałtyckiego.
8. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi dn. 25 sierpnia 2014 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie zawartości substancji niepożądanych w paszach (Dz. U. 2014 r., poz. 1213).
W rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 6 lutego 2012 r. w sprawie zawartości substancji niepożądanych w paszach (Dz. U. z 2014 r. poz. 206) załącznik nr 1 otrzymał nowe brzmienie. Załącznik ten, zatytułowany „Dopuszczalne zawartości substancji niepożądanych w paszach” zawiera wykaz: zanieczyszczenia nieorganiczne i związki azotu; mikotoksyny; toksyny właściwe dla roślin; związki z grupy węglowodorów chlorowanych (z wyjątkiem dioksyn i PCBs); dioksyny i PCB; szkodliwe zanieczyszczenia biologiczne; dodatki paszowe, których obecność wskutek nieuniknionego zanieczyszczenia krzyżowego jest dozwolona w paszy, dla której nie są one przeznaczone.
9. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dn. 11 września 2014 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie składu oraz oznakowania suplementów diety (Dz. U. 2014 r., poz. 2014).
W rozporządzeniu Ministra Zdrowia z dnia 9 października 2007 r. w sprawie składu oraz oznakowania suplementów diety (Dz. U. z 2014 r. poz. 453) w załączniku nr 2 do rozporządzenia wprowadzono zmiany dotyczące drożdży wzbogaconych w chrom.

Unijne akty prawne

1. Rozporządzenie Wykonawcze Komisji (UE) NR 844/2014 z dn. 23 lipca 2014 r. rejestrujące w rejestrze chronionych nazw pochodzenia i chronionych oznaczeń geograficznych nazwę [Cebularz lubelski (ChOG)].

Na wniosek Polski w rejestrze chronionych nazw i chronionych oznaczeń geograficznych została dokonana rejestracja nazwy „Cebularz polski” (ChOG), a określa produkt należący do klasy 2.3. Chleb, ciasto, ciastka, wyroby cukiernicze, herbatniki i inne wyroby piekarnicze (Dz. Urz. UE L, 2014 r., Nr 232, s. 2).

2. Rozporządzenie Komisji (UE) NR 969/2014 z dn. 12 września 2014 r. zmieniające załącznik II do rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1333/2008 w odniesieniu do stosowania askorbinianu wapnia (E 302) i alginianu sodu (E 401) w niektórych nieprzetworzonych owocach i warzywach (Tekst mający znaczenie dla EOG) (Dz. Urz. UE L, 2014 r., Nr 272, s. 8).

Rozporządzenie zezwala na stosowanie alginianu sodu (E 401) jako substancji glazurującej w kategorii żywności 04.1.2 „Owoce i warzywa obrane, krojone i rozdrobnione” w załączniku II do rozporządzenia (WE) nr 1333/2008 na maksymalnym poziomie wynoszącym 2 400 mg/kg oraz tylko w połączeniu z askorbinianem wapnia (E 302) na maksymalnym poziomie wynoszącym 800 mg/kg w celu uzyskania jadalnego żelu. W związku z powyższym wprowadzono odpowiednie zmiany do załącznika II rozporządzenia (WE) nr 1333/2008. ☒

NOWE KSIĄŻKI

Bezpieczeństwo żywności i żywienia

Gawęcki J., Krejpcio Z. (red.)

Wydawnictwo: Wyd. Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, Poznań 2014,

ISBN 978-83-7160-741-7, stron 149, cena 22 zł

Zamówienia: <http://www.wydawnictwo.up-poznan.net>

W książce zawarto najważniejsze zagadnienia związane z bezpieczeństwem żywności i żywienia. W pierwszej części omówiono podstawowe pojęcia i klasyfikację zagrożeń zdrowotnych związanych z żywnością i żywieniem. Scharakteryzowano czynniki biologiczne, fizyczne i chemiczne, które mogą stanowić zagrożenie w żywności, jak również omówiono podstawowe sposoby zapobiegania zatruciom pokarmowym, w tym rozwiązania instytucjonalne. W kolejnych rozdziałach podjęto tematykę zagrożenia, jakie stanowi niebilansowana dieta, indywidualna wrażliwość na niektóre pokarmy oraz żywność genetycznie zmodyfikowana. Omówiono również systemy zarządzania bezpieczeństwem żywności w przemyśle spożywczym i zakładach gastronomicznych. Podjęto temat prawnych i instytucjonalnych instrumentów ochrony zdrowia konsumentów.

Leksykon przyrodniczy polsko-angielski. Polish-English Dictionary of Environmental Science

Zimny L.

Wydawnictwo: Wyd. Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, Wrocław 2014,

ISBN 978-83-7717-170-7, stron 504, cena 34 zł

Zamówienia: <http://wydawnictwo.ar.wroc.pl/>

W Leksykonie zamieszczono ponad 3700 haseł z zakresu: agroekologii, agrometeorologii, agrotechniki, biologii, doświadczalnictwa, ekoinżynierii, fitosocjologii, gleboznawstwa, łąkarstwa, melioracji, nawożenia, ochrony roślin, ochrony środowiska rolniczego, ogrodnictwa, paszoznawstwa, rolnictwa ekologicznego, techniki rolniczej, weterynarii, zootechniki. Hasła przetłumaczono na język angielski. Synonimy oraz terminy o podobnym znaczeniu przedstawiono według powszechności ich używania.

Na uwagę zasługuje zamieszczenie na końcu Leksykonu wykazu najczęściej popełnianych błędów w tłumaczeniu terminów przyrodniczych.

The Chemistry od Food [Chemia żywności]

Velisek J.

Wydawnictwo: Wiley-Blackwell, 2014, ISBN 978-1-118-38384-1, stron 1124,
cena 60,00 £

Zamówienia: www.wiley.com

Głównym tematem podejmowanym w książce jest skład chemiczny oraz interakcje biologicznych i niebiologicznych składników żywności. W pierwszej części książki autor scharakteryzował: aminokwasy, białka, tłuszcze, węglowodany, witaminy, składniki mineralne oraz wodę. W kolejnych rozdziałach – związki odpowiedzialne za: zapach, smak i barwę, które determinują jakość sensoryczną żywności i jej składników. Zawarto również informacje o związkach aktywnych biologicznie i toksycznych oraz o dodatkach do żywności i zanieczyszczeniach.

Microbial Food Safety and Preservation Techniques

[Mikrobiologiczne bezpieczeństwo żywności i techniki jej utrwalania]

Rai V. R., Bai J. A. (red.)

Wydawnictwo: CRC Press, 2014, ISBN 9781466593060, stron 542, cena 96,80 £

Zamówienia: www.crcpress.com

Autorzy dokonali charakterystyki mikrobiologicznych zagrożeń bezpieczeństwa w surowcach, żywności nieprzetworzonej, minimalnie przetworzonej, przetworzonej oraz w produktach gotowych do spożycia (*ready to eat*). Podjęte zostały kwestie wykrywania obecności patogenów w żywności z wykorzystaniem zaawansowanych technik molekularnych, biosensorów i nanotechnologii. W szczególności skupiono się na: inteligentnych i aktywnych opakowaniach, nanotechnologii, technologii z wykorzystaniem plazmy, zastosowaniu bakterii mlekowych, ekstraktów ziół.

Książka jest przydatna dla studentów, pracowników nauki oraz osób zajmujących się bezpieczeństwem żywności.

Opracowała: Magdalena Niewczas

WSPÓLCZEŚNI TWÓRCY POLSKIEJ NAUKI O ŻYWNOSCI

PROF. DR HAB. IRENA HALINA TYSZKIEWICZ (1936 – 1998)

Irena Halina Tyszkiewicz urodziła się 17 października 1936 r. w Poznaniu. Z zawodu była chemikiem. Studia ukończyła na Uniwersytecie im. A. Mickiewicza w Poznaniu w 1959 r. i w tym samym roku, jeszcze przed uzyskaniem dyplomu, rozpoczęła pracę w poznańskim oddziale Instytutu Przemysłu Mięsnego w Warszawie. W 1961 r. została przeniesiona służbowo do centrali Instytutu w Warszawie, do tworzącego się od podstaw Zakładu Chemii Mięsa. W Instytucie pracowała aż do śmierci, łącznie 39 lat, zaczynając pracę na stanowisku pracownika inżynierijno-technicznego, a kończąc na stanowisku profesora. W 1964 r. obroniła doktorat na swojej macierzystej uczelni, uzyskując stopień doktora nauk przyrodniczych. Jej praca doktorska dotyczyła przemian naturalnych barwników mięśniowych. Habilitowała się w 1974 r. w Szkole Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, uzyskując stopień doktora habilitowanego nauk technicznych, a w 1992 r. została mianowana profesorem nauk rolniczych.

Pracując w Instytucie zajmowała się szerokim spektrum zagadnień badawczych. Dziedziny badawcze, do których wniosła najistotniejsze nowe elementy badawcze to: chemia peklowania mięsa, interakcje dodatków do żywności ze składnikami mięsa oraz mechanizmy działania tych dodatków w środowisku mięsa, mechanizmy wykształcenia się cech jakościowych mięsa badanych na poziomie komórkowym, ultra- i mikrostruktura tkankowa mięsa oraz polidispersyjnych układów zawierających żele białkowe i węglowodany. Opublikowała ponad 150 prac w czasopismach krajowych i zagranicznych oraz wielokrotnie prezentowała referaty na konferencjach naukowych. Była świetnym chemikiem analitykiem o międzynarodowej sławie. Działając jako delegat naszego kraju w Międzynarodowej Organizacji Normalizacyjnej (ISO) przewodniczyła m.in. pracom międzynarodowej grupy ekspertów opracowujących normę medyczną wykrywania i oznaczania barwników niemięśniowych w przetworach mięsnych. Działalność naukowa prof. Ireny Tyszkiewicz była ukierunkowana na zastosowania praktyczne. Była autorką i realizatorką licznych wdrożeń przemysłowych przedstawiających oryginalne rozwiązania technologiczne. Szczególną wartość miały wdrożenia uwzględniające zasady mechanicznego modyfikowania struktury mięsa

i interakcje czynników funkcyjnych z naturalnymi składnikami mięsa. Szczególnie ważną, ze względów żywieniowych, pracą z tego zakresu było podstawowe i przygotowawcze wdrożenie produkcji przetworów mięsnych niskotłuszczowych. Duże znaczenie praktyczne miało przeprowadzenie pełnej charakterystyki polskich eksportowych konserw mięsnych – szynki i łopatek wieprzowych, ze względu na skład chemiczny i związane z tym walory żywieniowe, które doprowadziło do zaproponowania i ustalenia treści, a następnie uzyskania zatwierdzenia przez władze Stanów Zjednoczonych specjalnych etykiet żywieniowych „Nutrition Facts” wymaganych na rynku.

Nie do przecenienia była rola prof. Ireny Tyszkiewicz jako nauczyciela i doradcy fachowych kadr inżynierskich przemysłu mięsnego, zresztą nie tylko krajowego. Była bowiem wykładowcą Europejskiego Konsorcjum dla Permanentnej Edukacji i Postępu w Nauce i Technologii Mięsa (ECCEAMST). Była również promotorem 3 prac doktorskich oraz recenzentem szeregu prac doktorskich i habilitacyjnych.

Prof. Irena Tyszkiewicz działała aktywnie w wielu komitetach i organizacjach naukowych oraz naukowo-technicznych. Była członkiem Komitetu Technologii i Chemii Żywności PAN (1987 - 1990) oraz jego sekcji ds. Analityki, była założycielem i fundatorem (1993 r.) Fundacji na rzecz Postępu i Rozwoju w Polskim Przemysle Mięsnym, członkiem założycielem Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności oraz członkiem Stowarzyszenia Naukowo-Technicznego Inżynierów i Techników Przemysłu Spożywczego (1960 - 1998).

Prowadziła również aktywną działalność wydawniczą. Była redaktorem naczelnym Roczników Instytutu Przemysłu Mięsnego i Tłuszczowego, wiceprzewodniczącą Rady Programowej czasopisma *Gospodarka Mięsna* oraz w ramach swoich funkcji w prezydium Rady Głównej Jednostek Badawczo-Rozwojowych nadzorowała i współredagowała *Biuletyn Informacyjny RGJBR*. Była wysoce ceniona jako skrupulatny, a zarazem życzliwy dla autorów recenzent prac naukowych i wydawnictw dydaktycznych przygotowywanych do druku.

W Instytucie Przemysłu Mięsnego i Tłuszczowego prof. Irena Tyszkiewicz miała ogromny autorytet i cieszyła się powszechną sympatią. Z natury pogodna i bezkonfliktowa umiejętnie kierowała zespołami badawczymi, stawiając wysokie wymagania, ale zarazem pozwalając swoim podwładnym i uczniom na samodzielne rozwiązywanie problemów. W latach 1991 - 1995 była przewodniczącą Rady Naukowej Instytutu. W ostatnich latach, mężnie walcząc z postępującą nieuleczalną chorobą, pracowała bardzo intensywnie, starając się być pożyteczna do ostatniej chwili.

Prof. Irena Tyszkiewicz była również społecznikiem – przez wiele lat aktywnie działała w Radzie Zakładowej Związku Zawodowego Pracowników Przemysłu Spożywczego przy Instytutach Przemysłu Spożywczego w Warszawie jako jej przewodnicząca, a ponadto w jej imieniu organizowała pomoc materialną dla dzieci specjalnej

troski z rodzin rozbitych, będących pod nadzorem kuratora Sądu Rejonowego dla Warszawy Mokotowa.

Prof. Irena Tyszkiewicz była odznaczona Srebrnym Krzyżem Zasługi (1979), Srebrną Odznaką „Zasłużony Pracownik Przemysłu Spożywczego i Skupu” (1975), Srebrną Odznaką Zasłużonego Działacza Związku Zawodowego Przemysłu Spożywczego i Cukrownictwa (1979).

Prof. Irena Tyszkiewicz zmarła w pełni sił twórczych 4 czerwca 1998 r.

Redakcja

TECHNOLOG ŻYWNOSCI

INFORMATOR POLSKIEGO TOWARZYSTWA TECHNOLOGÓW ŻYWNOSCI

Rok 24 Nr 5

październik 2014

DZIAŁALNOŚĆ TOWARZYSTWA

Zarząd Główny

W dniu 20.11. 2014 r. w Warszawie odbyło się zebranie Zarządu Głównego PTTŻ, na którym między innymi omówiono plany działalności Oddziałów w 2015 r. i przygotowań do obchodów 25-lecia Towarzystwa w przyszłym roku.

Rozstrzygnięto konkurs na najlepszą publikację w 2013 roku w czasopiśmie Żywność. Nauka. Technologia. Jakość. Jury wyróżniło następujące artykuły:

W kategorii prac przeglądowych:

- Emilia Janiszewska, Dorota Witrowa-Rajchert, Edward Rój: Metody i kierunki wykorzystania mikronizacji nadkrytycznej. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2013, 6 (91), 5-15.

W kategorii prac oryginalnych:

- Ewelina Eckert, Aleksandra Bambrowicz, Marta Pokora, Anna Dąbrowska, Marek Szoltyś, Józefa Chrzanowska i Tadeusz Trziszka: Application of microbial proteases to obtain egg yolk protein hydrolysates with antioxidant and antimicrobial activity. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2013, 1 (86), 105-118.

Gratulujemy!

WAŻNIEJSZE MIĘDZYKRAJOWE I KRAJOWE KONFERENCJE NAUKOWE W 2014 r.

Październik

16 – 17 GDYNIA = Zachowania konsumentów na rynku towarów i usług.

Organizatorzy: Katedra Handlu i Usług, Wydział Przedsiębiorczości i Towaroznawstwa Akademii Morskiej w Gdyni oraz Katedra Organizacji i Ekonomiki Konsumpcji, Wydział Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji SGGW.

Kontakt: e-mail: konsument@wpit.am.gdynia.pl

- 20 -21 POZNAŃ = Konferencja Naukowa nt. „Postępy w analityce lipidów żywności”**
Organizatorzy: Sekcja Chemii i Technologii Tłuszczów PTTŻ, Euro Fed Lipid, Wydz. Nauk o Żywności i Żywieniu UP w Poznaniu, IBPRS – Oddział Technologii Mięsa i Tłuszczu
Kontakt: e-mail: dorota.klensporf-pawlik@ue.poznan.pl

2015Czerwiec

- 17 – 19 KRAKÓW – NIEPOŁOMICE = IX Krajowa Konferencja Naukowa i II Międzynarodowa Konferencja Naukowa nt. „Funkcjonowanie i doskonalenie systemów zarządzania”.**
Organizatorzy: Katedra Zarządzania Jakością Uniwersytetu Ekonomicznego w Krakowie przy współdziałaniu European Organization for Quality.
Informacje: www.quality.uek.krakow.pl
Kontakt: quality@uek.krakow.pl
- 25 – 26 LUBLIN = XLII Sesja Naukowa Komitetu Nauk o Żywności Polskiej Akademii Nauk „Żywność – zdrowie – przyszłość”.**
Organizatorzy: KNoŻ PAN, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, Polskie Towarzystwo Technologów Żywności
Informacje: www.sesjapan.up.lublin.pl
Kontakt: sesjapan@up.lublin.pl

Wrzesień

- 20 – 22 SOPOT – GDAŃSK = Międzynarodowa Konferencja Naukowa nt. „Jakość i jej zastosowania”.**
Organizatorzy: Politechnika Gdańska i Uniwersytet Gdański.
Informacje: www.qualitygdansk.eu
Kontakt: qualitygdansk@zie.pg.gda.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 5 (95)/2014 Biuletynu podano według stanu informacji do 15 października 2014 r. Materiały do Nr 6 (97)/2014 prosimy nadsyłać do 1 grudnia 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**

PREZES / ODDZIAŁ	ADRES
Prof. dr hab. Edward Pospiech Prezes PTTŻ	UP, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ Tel.: 61 848 72 60; e-mail: pospiech@up.poznan.pl
Dr hab. Dorota Piasecka-Kwiatkowska Sekretarz PTTŻ	UP, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ e-mail: dorotapk@up.poznan.pl
Prof. dr hab. Maria Śmiechowska Oddział Gdański	AM, ul. Morska 81-87, 81-225 GDYNIA Tel.: 58 690 15 62; e-mail: smiemari@am.gdynia.pl
Dr hab. inż. Joanna Stadnik Oddział Lubelski	UP, ul. Skromna 8, 20-704 LUBLIN Tel.: 81 462 33 41; e-mail: joanna.stadnik@up.lublin.pl
Dr hab. Joanna Leszczyńska Oddział Łódzki	PL, ul. Stefanowskiego 4/10, 90-924 ŁÓDŹ e-mail: joanna.leszczynska@p.lodz.pl
Dr hab. inż. Lesław Juszcak Oddział Małopolski	UR, ul. Balicka 122, 30-149 KRAKÓW Tel. 12 662 47 78; e-mail: rrjuszcz@cyf-kr.edu.pl
Dr inż. Janusz Pomianowski Oddział Olsztyński	UWM, Pl. Cieszyński 1, 10-957 OLSZTYN Tel.: 89 523 36 17; e-mail: Pomian@uwm.edu.pl
Dr hab. Małgorzata Dżugan, prof. nadzw. Oddział Podkarpacki	UR w Rzeszowie, ul. M. Ćwiklińskiej 2, 35-601 RZESZÓW Tel. 17 872 17 22; e-mail: mdzugan@univ.rzeszow.pl
Dr inż. Arkadiusz Żych Oddział Szczeciński	ZUT, ul. Kazimierza Królewicza 3, 71-550 SZCZECIN Tel.: 91 449 66 00 wew. 6583; e-mail: arkadiusz.zych@zut.edu.pl
Dr inż. Dorota Nowak Oddział Warszawski	SGGW, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 WARSZAWA Tel.: 22 593 75 62; e-mail: dorota_nowak@sggw.pl
Dr hab. Dorota Piasecka-Kwiatkowska Oddział Wielkopolski	UP, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ e-mail: dorotapk@up.poznan.pl
Prof. dr hab. inż. Agnieszka Kita Oddział Wrocławski	UP, ul. Chełmońskiego 37/41, 51-630 WROCŁAW Tel.: 71 320 50 38; e-mail: agnieszka.kita@wnoz.up.wroc.pl
SEKCJE	
Dr Karol Krajewski Ekonomiczna	WSliZ, ul. Rakowiecka 32, 02-532 WARSZAWA Tel.: 22 646 20 60; e-mail: krajewski@wsiiz.pl
Dr inż. Arkadiusz Żych Technologii Mięsa	ZUT, ul. Kazimierza Królewicza 3, 71-550 SZCZECIN Tel.: 91 449 66 00 wew. 6583; e-mail: arkadiusz.zych@zut.edu.pl
Dr hab. Magdalena Rudzińska Chemii i Technologii Tłuszczów	UP, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ Tel.: 61 848 72 76; e-mail: magdar@up.poznan.pl
Prof. dr hab. Waław Leszczyński Technologii Węglowodanów	UP, ul. Chełmońskiego 37/41, 51-630 WROCŁAW Tel.: 71 320 52 21; Fax: 71 320 52 21
Dr hab. inż. Piotr Gębczyński, prof. nadzw. Technologii Owoców i Warzyw	UR, ul. Balicka 122, 30-149 KRAKÓW e-mail: rrgebczy@cyf-kr.edu.pl
Mgr inż. Patrycja Komolka Młodej Kadry Naukowej	UP, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ e-mail: pkomolka@au.poznan.pl