



ŻYWNOŚĆ

Nauka Technologia Jakość

FOOD

Science Technology Quality

Nr 1 (98)

Kraków 2015

Rok 22

ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość

Organ naukowy PTTŻ – dwumiesięcznik

Nr 1 (98)

Kraków 2015

Rok 22

SPIS TREŚCI

Od Redakcji.....	3
EWA MAJEWSKA: Ciecze jonowe w procesach ekstrakcji metali i związków organicznych z produktów spożywczych.....	5
JAGODA MAJCHERCZYK, KRZYSZTOF SURÓWKA: Heterocykliczne aminy aromatyczne jako zagrożenie chemiczne w produktach mięsnych poddawanych obróbce termicznej.....	16
BARBARA SIOŃEK, WIESŁAW PRZYBYLSKI: Wpływ czynników środowiskowych na poziom glikogenu w mięśniach zwierząt rzeźnych.....	35
KINGA KROPIWIEC, MAREK BABICZ, EWA SKRZYPCZAK: Charakterystyka fizykochemiczna podrobów wieprzowych uzyskanych z tuczników o zróżnicowanym genotypie <i>RYS1</i>	49
DOROTA KOWALSKA, ANDRZEJ GUGOŁEK, PAWEŁ KOBYLARZ: Wpływ metody pakowania i przechowywania na właściwości fizykochemiczne mięsa królików żywionych mieszankami paszowymi wzbogaconymi olejem rybnym i witaminą E.....	58
PIOTR SKAŁECKI, MARIUSZ FLOREK, AGNIESZKA STASZOWSKA, AGNIESZKA KALINIAK: Wartość użytkowa i jakość filetów ryb karpowatych (<i>Cyprinidae</i>) utrzymywanych w polikulturze.....	75
JUSTYNA ŻULEWSKA, ALEKSANDRA MORAWSKA: Właściwości pianotwórcze koncentratów białek serwatkowych o zmniejszonej zawartości tłuszczu.....	89
MARZANNA HEŚ, DANUTA GÓRECKA, KRZYSZTOF DZIEDZIC, JOANNA KOBUS-CISOWSKA, JÓZEF KORCZAK: Właściwości przeciwutleniające ekstraktów z ziarniaków gryki i produktów otrzymanych w procesie ich przerobu.....	102
BOŻENA KICZOROWSKA, DARIUSZ ANDREJKO, ANNA WINIARSKA-MIECZAN, WIOLETTA SAMOLIŃSKA, ELŻBIETA PRYSTUPA-RUSINEK: Wpływ procesów termicznych na zmiany podstawowego składu chemicznego ziarna pszenicy.....	116
RAFAŁ ZIOBRO, DOROTA LITWINEK, BARBARA MICKOWSKA: Porównanie składu chemicznego i właściwości teksturalnych muffin z mieszanki bezglutenowej i mąk owsianych.....	131
ANETA OCIECZEK, JOLANTA SCHUR: Ocena wpływu wybranych dodatków na właściwości sorpcyjne męki pszennej.....	143
AGNIESZKA ZAWIŚLAK, MAGDALENA MICHALCZYK: Właściwości przeciwutleniające niskoprzetworzonych płatków róży pomarszczonej (<i>Rosa rugosa</i>).....	155
GRAŻYNA GOZDECKA, JOANNA KANIEWSKA, MAREK DOMORADZKI, KATARZYNA JĘDRYCZKA: Ocena zawartości wybranych składników bioaktywnych w przetworach z borówki czernicy.....	170
EWA PIĄTKOWSKA, ANETA KOPEĆ, TERESA LESZCZYŃSKA: Podstawowy skład chemiczny, zawartość mikro- i makroelementów oraz właściwości przeciwutleniające liści różnych odmian czosnku polskiego pochodzenia.....	181
ADRIAN WIATER, ROMAN PADUCH, KATARZYNA PRÓCHNIAK, MAŁGORZATA PLESZCZYŃSKA, MAREK SIWULSKI, WOJCIECH BIAŁAS, JANUSZ SZCZODRAK: Ocena aktywności biologicznej karboksymetylowanych pochodnych α -(1→3)-glukanów wyizolowanych z owocników uprawnych gatunków bocznika (<i>Pleurotus</i>).....	193
MARIOLA FRIEDRICH, GRAŻYNA PODLASZEWSKA: Ocena wpływu uzupełniania paszy wybranymi składnikami mineralnymi na ich metabolizm i dystrybucję w organizmie – badania modelowe.....	207
BARTOSZ FOTSCHKI, ADAM JURGOŃSKI, JERZY JUŚKIEWICZ, ZENON ZDUŃCZYK: Wpływ dodatku oleju z nasion jabłka do diety na metabolizm szczurów.....	220
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA: Interakcje składników żywności.....	232
GRAŻYNA MORKIS: Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym.....	235
MAGDALENA NIEWCZAS: Nowe książki.....	238
Twórcy polskiej nauki o żywności.....	240
Technolog Żywności.....	246

Zamieszczone artykuły są recenzowane

Czasopismo jest referowane przez: Chemical Abstracts Service, IFIS, Scopus, AGRO, BazEkon, Index Copernicus, CrossRef

FOOD. Science. Technology. Quality

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

No 1 (98)

Kraków 2015

Vol. 22

CONTENTS

From the Editor.....	3
EWA MAJEWSKA: Ionic liquids in extraction processes of metals and organic compounds from food products	5
JAGODA MAJCHERCZYK, KRZYSZTOF SURÓWKA: Heterocyclic aromatic amines as chemical hazard in thermally processed meat products	16
BARBARA SIOŃEK, WIESŁAW PRZYBYLSKI: Impact of environmental factors on glycogen concentration in muscles of slaughter animals.....	35
KINGA KROPIWIEC, MAREK BABICZ, EWA SKRZYPCZAK: Physicochemical profile of pork offal derived from fatteners with different <i>Ryr1</i> genotype	49
DOROTA KOWALSKA, ANDRZEJ GUGOŁEK, PAWEŁ KOBYLARZ: Effect of packaging and storage method on physicochemical properties of meat of rabbits fed feed mixtures enriched with fish oil and vitamin E	58
PIOTR SKAŁECKI, MARIUSZ FLOREK, AGNIESZKA STASZOWSKA, AGNIESZKA KALINIAK: Use value and quality of fillets of carp fish (<i>Cyprinidae</i>) reared in polyculture	75
JUSTYNA ŻULEWSKA, ALEKSANDRA MORAWSKA: Foaming properties of reduced-fat whey protein concentrates	89
MARZANNA HEŚ, DANUTA GÓRECKA, KRZYSZTOF DZIEDZIC, JOANNA KOBUS-CISOWSKA, JÓZEF KORCZAK: Antioxidant properties of buckwheat grain extracts and of products produced during their processing	102
BOŻENA KICZOROWSKA, DARIUSZ ANDREJKO, ANNA WINIARSKA-MIECZAN, WIOLETTA SAMOLIŃSKA, ELŻBIETA PRYSTUPA-RUSINEK: Effect of thermal processes on changes in basic chemical composition of wheat grain.....	116
RAFAŁ ZIOBRO, DOROTA LITWINEK, BARBARA MICKOWSKA: Comparing chemical composition and texture properties of muffins from gluten-free mix and from oat flours.....	131
ANETA OCIECZEK, JOLANTA SCHUR: Impact assessment of selected additives on sorptive properties of wheat bread crumb	143
AGNIESZKA ZAWIŚLAK, MAGDALENA MICHALCZYK: Antioxidant properties of low-processed wrinkled rose (<i>Rosa rugosa</i>) petals	155
GRAŻYNA GOZDECKA, JOANNA KANIEWSKA, MAREK DOMORADZKI, KATARZYNA JĘDRYCZKA: Assessing content of selected bioactive compounds in bilberry preserves	170
EWA PIĄTKOWSKA, ANETA KOPEĆ, TERESA LESZCZYŃSKA: Basic chemical composition, content of micro- and macroelements and antioxidant activity of different varieties of garlic's leaves Polish origin	181
ADRIAN WIATER, ROMAN PADUCH, KATARZYNA PRÓCHNIAK, MAŁGORZATA PLESZCZYŃSKA, MAREK SIWULSKI, WOJCIECH BIAŁAS, JANUSZ SZCZODRAK: Assessing biological activity of carboxymethylated derivatives of α -(1→3)-glucans isolated from fruiting bodies of cultivated <i>pleurotus</i> species	193
MARIOLA FRIEDRICH, GRAŻYNA PODLASZEWSKA: Assessing effects of supplementing fodder with selected mineral components on their metabolism and distribution in body - model research	207
BARTOSZ FOTSCHKI, ADAM JURGOŃSKI, JERZY JUŚKIEWICZ, ZENON ZDUŃCZYK: Metabolic effects of dietary apple seed oil in rats	220
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA: Interactions among food components.....	232
GRAŻYNA MORKIS: Food problems in Polish and EU legislation	235
MAGDALENA NIEWCZAS: Book reviews	238
Creators of the Polish food science.....	240
The Food Technologist.....	246

Only reviewed papers are published

Covered by: Chemical Abstracts Service, IFIS, Scopus, AGRO, BazEkon, Index Copernicus, CrossRef

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

Sekretarz redakcji (kontakt z autorami): dr Ewa Ślawska; tel. 12 662-48-30; e-mail: wnpttz@wp.pl

Redaktorzy: prof. dr hab. Włodzimierz Grajek (biotechnologia), prof. dr hab. Grażyna Jaworska (żywność pochodzenia roślinnego), prof. dr hab. Danuta Kolożyn-Krajewska (mikrobiologia, bezpieczeństwo i higiena żywności, żywność pochodzenia zwierzęcego), prof. dr hab. Bogusław Król (analiza i ocena żywności), prof. dr hab. Krzysztof Krygier (technologia tłuszczów, żywność funkcjonalna), prof. dr hab. Mieczysław Pałasiński (technologia węglowodanów), prof. dr hab. Tadeusz Sikora (jakość i bezpieczeństwo żywności, zarządzanie jakością, żywność pochodzenia zwierzęcego i towaroznawstwo żywności), prof. dr hab. Stefan Ziajka (technologia mleczarstwa, zarządzanie jakością)

Redaktor językowy (język polski): dr Anna Piechnik-Dębiec

Native speaker: Stanley Holt (Bolton, UK)

Redaktor statystyczny: dr Antoni Goryl

Stali współpracownicy: dr Grażyna Morkis (Kraków), dr inż. Magdalena Niewczas (Kraków)

Rada Naukowa: prof. dr Antoni Rutkowski (przewodniczący), dr hab. Kazimierz Dąbrowski (sekretarz), prof. dr hab. Barbara Baraniak, prof. dr hab. Nina Baryłko-Pikielna, prof. dr hab. Włodzimierz Bednarski, prof. dr hab. Józefa Chrzanowska, prof. dr hab. Janusz Czapski, prof. dr hab. Zbigniew Czarnecki, prof. dr Henryk Daun (USA), prof. dr hab. Teresa Fortuna, prof. dr hab. Mariola Friedrich, prof. dr hab. Jan Gawęcki, prof. dr hab. Stanisław Gwiazda, prof. dr Jerzy Jankun (USA), prof. dr hab. Józef Korolczuk (Francja), prof. dr hab. Henryk Kostyra, prof. dr hab. Andrzej Lenart, prof. dr hab. Zdzisława Libudysz, prof. dr hab. Małgorzata Nogala-Kałużka, prof. dr hab. Jan Oszmiański, prof. dr Jan Pokorny (Czechy), prof. dr Roman Przybylski (Kanada), prof. dr hab. Piotr Przybyłowski, prof. dr hab. Bogusław Staniewski, dr Alina Surmacka-Szcześniak (USA), prof. dr hab. Krzysztof Surówka, prof. dr hab. Zdzisław E. Sikorski, dr Andrzej Sońnicki (USA), prof. dr hab. Zdzisław Targoński, prof. dr hab. Tadeusz Trziszka, prof. dr hab. Stanisław Tyszkiewicz, prof. dr hab. Erwin Wąsowicz, prof. dr hab. Dorota Witrowa-Rajchert, dr John Wojciak (Kanada), prof. dr hab. Maria Wojtatowicz

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

WYDAWCA: POLSKIE TOWARZYSTWO TECHNOLOGÓW ŻYWNOSCI, WYDAWNICTWO NAUKOWE PTTŻ

W latach 1994 - 1999 wydawcą kwartalnika był Oddział Małopolski PTTŻ

© Copyright by Polskie Towarzystwo Technologów Żywności, Kraków 2015
Printed in Poland

Wydawanie publikacji dofinansowane przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego

ISSN 1425-6959

Czasopismo w postaci wydrukowanej jest wersją główną (pierwotną)

ADRES REDAKCJI: 30-149 KRAKÓW, ul. Balicka 122

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

Nakład: 550 egz.

SKŁAD I DRUK:



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

OD REDAKCJI

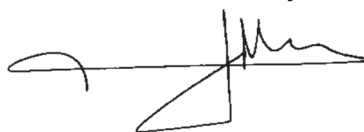
Szanowni Czytelnicy,

przekazujemy Państwu nr **1 (98)** dwumiesięcznika Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, w którym zamieściliśmy różnorodnie tematycznie artykuły naukowe, prezentujące dorobek kilku krajowych środowisk nauki o żywności. Jak w każdym numerze, zamieściliśmy także interesujące informacje w stałych działach.

W związku z zawieszeniem indeksowania w bazie JCR artykułów ukazujących się w **Żywności**, zwracamy uwagę Autorów na zwiększenie **cytowania artykułów opublikowanych w naszym dwumiesięczniku w artykułach kierowanych do czasopism będących na tzw. liście filadelfijskiej**. Odpowiednio liczne cytowania pozwolą na ponowne indeksowanie publikowanych u nas artykułów. Jednocześnie prosimy Autorów o maksymalne ograniczenie cytowań artykułów pochodzących z **Żywności** w pracach kierowanych do nas do opublikowania – jesteśmy zmuszeni obniżyć liczbę **autocytowań**, gdyż negatywnie wpływają na obliczany IF.

Kraków, luty 2015 r.

Redaktor Naczelny



Tadeusz Sikora



**Podkarpacki Oddział Polskiego Towarzystwa
Technologów Żywności**

**Sekcja Młodej Kadry Naukowej
Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności**

**Sekcja Chemii Żywności Polskiego Towarzystwa Chemicznego
oraz
Wydział Biologiczno-Rolniczy Uniwersytetu Rzeszowskiego**

zapraszają na

**XX SESJĘ NAUKOWĄ SEKCJI MŁODEJ KADRY NAUKOWEJ PTTŻ
IVth INTERNATIONAL SESSION OF YOUNG SCIENTIFIC STAFF**

**„ŻYWNOSĆ - JAKOŚĆ I PERSPEKTYWY”
„FOOD – QUALITY AND PERSPECTIVES”**

Rzeszów, 14 - 15 maja 2015

Kontakt: mgr Maciej Kluz
Komitet Organizacyjny XX Sesji SMKN PTTŻ
Uniwersytet Rzeszowski, Wydział Biologiczno-Rolniczy
Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii
ul. Zelwerowicza 4, 35-601 Rzeszów
tel. 48 17 785 54 38
e-mail: smkn2015@gmail.com

EWA MAJEWSKA

CIECZE JONOWE W PROCESACH EKSTRAKCJI METALI I ZWIĄZKÓW ORGANICZNYCH Z PRODUKTÓW SPOŻYWCZYCH

Streszczenie

Ciecze jonowe są nowymi rozpuszczalnikami o unikatowych właściwościach fizykochemicznych. Charakteryzują się szerokim zakresem temperatury, w której występują w stanie ciekłym, połączonym z wysoką stabilnością termiczną. Wykazują zdolność rozpuszczania substancji organicznych, nieorganicznych, a nawet niektórych polimerów. Bardzo niska prężność par tych związków, nawet w podwyższonej temperaturze i pod obniżonym ciśnieniem, oraz możliwość wielokrotnego wykorzystania poprzez recykling powoduje, że stanowią „zieloną” alternatywę dla tradycyjnych rozpuszczalników.

Ciecze jonowe są stosowane głównie w procesach ekstrakcji, zarówno z fazy wodnej, jak i z bardziej złożonych mieszanin, jakimi są produkty spożywcze. Ekstrakcja z fazy wodnej w wielu przypadkach polega jedynie na zastąpieniu rozpuszczalnika organicznego cieczą jonową, z kolei ekstrakcja z próbek żywności wymaga ich wstępnego przygotowania, np. poprzez trawienie. Cieczami jonowymi można skutecznie ekstrahować jony metali, kwasy karboksylowe, barwniki, pestycydy oraz związki biologicznie aktywne z roślin leczniczych.

Słowa kluczowe: ciecze jonowe, „zielone rozpuszczalniki”, procesy ekstrakcji, produkty spożywcze

Wprowadzenie

Wymagania dotyczące ochrony środowiska, formułowane zgodnie z koncepcją „zielonej chemii”, powodują konieczność zastępowania dotychczas stosowanych lotnych rozpuszczalników organicznych (VOC — *volatile organic compounds*) takimi, które nie stanowią zagrożenia dla środowiska i zdrowia człowieka [5, 23]. Rozpuszczalnikiem spełniającym te wymagania jest woda. Niestety, niewielka liczba substancji organicznych rozpuszczalnych w wodzie znacznie ogranicza jej zastosowanie. Ponadto, w przypadku ekstrakcji związków chemicznych z produktów spożywczych zawierających znaczne jej ilości, woda nie spełnia swojej roli. „Zielonymi” rozpuszczalnikami

wykorzystywanymi w procesach ekstrakcji są również płyny w stanie nadkrytycznym, takie jak nadkrytyczny ditlenek węgla. Proces ekstrakcji nadkrytycznej jest jednak związany z kosztowną technologią, co ogranicza możliwości jego stosowania. Wynika to przede wszystkim z konieczności instalowania aparatury wysokociśnieniowej [16]. Nową grupą substancji, które potencjalnie mogą być rozpuszczalnikami bardziej uniwersalnymi, nie stanowiąc przy tym zagrożenia dla środowiska, są ciecze jonowe (ang. *ionic liquids, liquid electrolytes, ionic melts, ionic fluids, fused salts, liquid salts, ionic glasses*).

Ciecze jonowe zaliczane są do nowej klasy rozpuszczalników (tzw. *neoteric solvents*) o niespotykanych dotychczas właściwościach. Charakteryzują się dużą stabilnością termiczną, małą prężnością par, a tym samym małą lotnością. Większość cieczy jonowych nie wykazuje toksyczności, aczkolwiek nie wszystkie związki tego typu zostały przebadane. W obecności cieczy jonowych zachodzą liczne reakcje chemiczne, w których mogą one zarówno pełnić funkcję katalizatora, jak i stanowić środowisko reakcji [7, 24, 29]. W cieczach jonowych z powodzeniem przebiegają reakcje enzymatyczne, często z większą selektywnością i wydajnością niż w układach bez ich udziału [27, 28].

W badaniach żywności obserwuje się stale rosnące zainteresowanie cieczami jonowymi. Niewątpliwie najważniejszym zastosowaniem tych związków jest użycie ich jako rozpuszczalników, przede wszystkim w procesach ekstrakcji i mikroekstrakcji, zastępując toksyczne i palne klasyczne rozpuszczalniki [21].

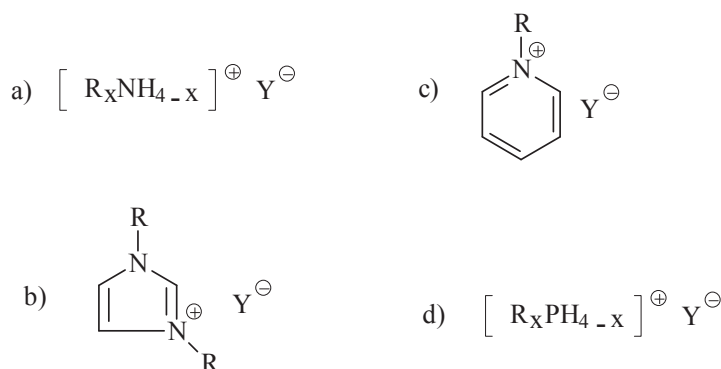
Charakterystyka cieczy jonowych

Ciecze jonowe są związkami o budowie soli, w których kation zawsze ma charakter organiczny, a anion zwykle nieorganiczny. W temperaturze pokojowej są cieczami przypominającymi wodę. Zazwyczaj w skład cząsteczki cieczy jonowej wchodzi rozbudowane przestrzennie kationy tetraalkiloamoniowe, tetraalkilofosfoniowe, pirydyniowe, imidazoliowe bądź piroolidyniowe oraz aniony, takie jak: tetrafluoroboranowy (BF_4^-), heksafluorofosforanowy (PF_6^-), tetrachloroglinianowy (AlCl_4^-) (rys. 1). Duża liczba występujących kationów organicznych i nieorganicznych anionów stwarza możliwość wielkiej liczby ich kombinacji (10^{18} możliwości). Należy podkreślić, że nie każde połączenie kation-anion prowadzi do otrzymania cieczy jonowej.

Pierwszym związkiem tego typu, opisanym przez Waldena w 1914 roku, był azotan etyloamoniowy, $[\text{C}_2\text{H}_5\text{NH}_3]^+[\text{NO}_3]^-$, ale szersze zainteresowanie cieczami jonowymi datuje się od 1990 roku, kiedy odkryto możliwości ich wykorzystania jako środowiska reakcji [27, 28].

Właściwości fizyczne i chemiczne cieczy jonowych mogą się zmieniać w szerokim zakresie, w zależności od budowy kationu oraz anionu. Istnieje więc możliwość dobrania takich jonów, które pozwolą uzyskać ciecz jonową o pożądanym specyficz-

nych właściwościach. Można sterować takimi właściwościami cieczy, jak: temperatura topnienia, lepkość, gęstość, mieszalność z wodą lub rozpuszczalnikami organicznymi. Z tego powodu ciecze jonowe często są nazywane projektowanymi rozpuszczalnikami [15].



Rys. 1. Przykłady cieczy jonowych: a) czwartorzędowe sole amoniowe, b) sole 1,3- dialkylimidazoliowe, c) sole 1-alkilopirydyniowe, d) sole fosfoniowe

Fig. 1. Examples of ionic liquids: a) quaternary ammonium salt, b) 1, 3-dialkylimidazolium salts, c) 1-alkylpyridinium salts, d) phosphonium salts

Ciecze jonowe są bardzo dobrymi rozpuszczalnikami wielu związków organicznych, a także polimerów. Charakteryzują się dużą stabilnością termiczną i elektrochemiczną oraz małą prężnością par, co jest szczególnie istotne ze względów ekologicznych, ponieważ nie przedostają się do atmosfery. Dzięki małej lotności stanowią „zieloną” alternatywę dla konwencjonalnych rozpuszczalników. Jednak nie wszystkie ciecze jonowe stanowią proekologiczny substytut tradycyjnych rozpuszczalników. Część z nich prawdopodobnie stanowi zagrożenie dla organizmów żyjących w środowisku wodnym [22, 26, 35].

Ciecze jonowe nie mieszają się z wieloma rozpuszczalnikami organicznymi ani z wodą (w przypadku hydrofobowych cieczy jonowych). Ich polarność zbliżona jest do polarności niższych alkoholi, lecz, w przeciwieństwie do nich i innych polarnych rozpuszczalników, nie ulegają one kompleksowaniu.

Ze względu na dużą polarność oraz praktycznie zerową prężność par, ciecze jonowe zastępują fazy polarne w chromatografii gazowej, tj. poliglikole czy 1,2,3-tris-(2-cyanoetoksy)propan. Fazy stacjonarne w postaci cieczy jonowych są również odporne na działanie pary wodnej i tlenu. Przy porównywalnej selektywności oraz niekiedy wyższej polarności, charakteryzują się większą stabilnością termiczną, co pozwala na stosowanie szerszego zakresu temperatury pracy [6].

Procesy ekstrakcji

Żywność stanowi mieszaninę różnych związków chemicznych, bardzo często zawiera również dużo tłuszczu. Z tego względu przygotowanie próbek do dalszej analizy jest ważnym etapem w oznaczaniu składników żywności, często bardzo czasochłonnym i wymagającym użycia dużej ilości rozpuszczalników organicznych i innych substancji chemicznych. Jedną z metod wyodrębniania składników jest proces ekstrakcji. Do ekstrakcji analitów ciągle poszukuje się takich substancji lub sposobów, które selektywnie ekstrahowałyby pożądane związki chemicznie i jednocześnie nie generowałyby toksycznych produktów. Obecnie wymaga się, aby techniki ekstrakcji spełniały wymagania „zielonej chemii”. Dlatego też rozwijają się badania nad zastosowaniem „zielonych rozpuszczalników”, jakimi są ciecze jonowe, w procesach ekstrakcji różnych związków chemicznych z próbek żywności.

Ekstrakcja jonów metali

Metale ciężkie występujące w żywności i w wodzie pitnej stanowią zagrożenie zdrowotne dla organizmu człowieka. Najwięcej metali ciężkich może być dostarczanych do organizmu z pożywieniem pochodzenia roślinnego. Z tego względu ich oznaczanie jest niezwykle istotne. Dotychczas tylko trzy ciecze jonowe zostały wykorzystane w ekstrakcji jonów metali z żywności, zarówno z próbek ciekłych, jak i o stałej konsystencji, tj. tetrafluoroboran 1-heksylo-3-metyloimidazoliowy, heksafluorofosforan 1-butylo-3-metyloimidazoliowy oraz heksafluorofosforan 1-heksylopirydyniowy [21].

Metody ekstrakcji jonów metali cieczami jonowymi były porównywane z konwencjonalnymi technikami ekstrakcji. Tradycyjna procedura ekstrakcji jonów metali obejmuje ich kompleksowanie z użyciem odczynników chelatujących, takich jak 8-hydroksychinolina czy tioketon Michlera, a następnie ekstrakcję utworzonego kompleksu rozpuszczalnikiem organicznym. Taki rozdział jest możliwy jedynie w przypadku użycia rozpuszczalników niemieszających się z wodą i charakteryzujących się dużą lepkością. Ekstrakcja jonów metali za pomocą cieczy jonowych polega jedynie na zastąpieniu rozpuszczalnika organicznego cieczą jonową. Odczynnik kompleksujący jony metalu może być zmieszany z analizowaną próbką przed ekstrakcją cieczą jonową lub w niej rozpuszczony, a utworzona mieszanina jest następnie używana do ekstrakcji, w czasie której zachodzi jednocześnie kompleksowanie i ekstrakcja [21].

W ekstrakcji jonów metali coraz większe znaczenie mają ciecze jonowe specjalnie do tego celu zaprojektowane (tzw. *task-specific ionic liquids* TSILs). Ich cząsteczki zawierają w swojej strukturze fragment chelatujący, np. o budowie eterów koronowych czy kaliksarenów. Wprowadzenie do struktury cieczy jonowych fragmentu tiomocznika lub tioeteru i tiomocznika pozwala na skuteczną ekstrakcję jonów Hg^{2+} oraz Cd^{2+}

z fazy wodnej [17]. Jony Cd^{2+} mogą być również ekstrahowane za pomocą specjalnej cieczy jonowej, będącej pochodną 2-merkaptobenzotiazolu [17]. Zastosowanie TSILs w procesach ekstrakcji jonów metali umożliwia zmniejszenie liczby używanych reagentów, jak również pozwala na pominięcie trudnego etapu usuwania odczynnika chelatującego z cieczy jonowej w przypadku, kiedy ma ona być poddana recyklingowi [21].

W procesach ekstrakcji jonów metali z ciekłych próbek żywności, ciecze jonowe stosowano do ekstrakcji jonów Zn^{2+} oraz Al^{3+} z odtłuszczonego mleka krowiego i soków owocowych (m.in. pomarańczowego, wiśniowego oraz grejpfrutowego) [1, 2]. Przed ekstrakcją próbki trawiono z użyciem mieszaniny kwasu azotowego(V) oraz nadtlenu wodoru. Jako odczynnika chelatującego używano 8-hydroksychinolinę. Zarówno jony Zn^{2+} , jak i Al^{3+} ekstrahowano za pomocą heksafluorofosforanu 1-heksylopirydyniowego, następnie jony Zn^{2+} oznaczano metodą absorpcyjnej spektrometrii atomowej, a jony Al^{3+} – metodą spektrofluorometryczną. Wydajność ekstrakcji jonów Zn^{2+} wahała się w przedziale $97,0 \div 98,4$ %, a jonów Al^{3+} – $92,7 \div 98$ %. W obu przypadkach zależały one od rodzaju badanego soku.

Martin-Calero i wsp. [21] opisali ekstrakcję metali cieczami jonowymi z takich produktów żywnościowych, jak: mąka ryżowa, mąka pszenna, herbata, mleko w proszku, świeża wątroba i nerki wieprzowe. Przed ekstrakcją żywność poddawano działaniu mieszaniny kwasów: azotowego(V) i chlorowego(VII). Jako odczynników chelatujących jony metali używano tioketonu Michlera oraz 1-(2-pirydylo)-2-naftolu. W procedurach ekstrakcji jonów metali cieczami jonowymi posługiwano się różnymi technikami mikroekstrakcji [4, 34]. Do ekstrakcji jonów Al^{3+} z mąki pszennej oraz jonów Zn^{2+} z mleka w proszku zastosowano dyspersyjną mikroekstrakcję ciecz – ciecz (*ang. dispersive liquid-liquid microextraction* DLLME) [1, 2], z kolei ekstrakcję jonów Cd^{2+} ze świeżej wątroby i nerek oraz herbaty przeprowadzono metodą homogenicznej mikroekstrakcji ciecz – ciecz (*ang. homogeneous liquid-liquid microextraction* HLLME) [17]. Zastosowanie mikroekstrakcji pozwala na znaczne zmniejszenie ilości cieczy jonowej, nawet do 7 μl w przypadku mikroekstrakcji do pojedynczej kropli (*ang. single-drop microextraction* SDME), jak również na ograniczenie ilości próbki żywności (do 1,75 ml w technice SDME) [20]. Przed oznaczeniem analitycznym do otrzymanego roztworu ciecz jonowa – kationy metalu dodaje się metanol lub acetonitryl w celu zmniejszenia jego lepkości, czasami przeprowadza się ponowną ekstrakcję jonów metali do rozpuszczalnika organicznego. Technika SDME jest jedyną, która umożliwia bezpośredni nastrzyk mieszaniny ciecz jonowa – kationy metalu do grafitowego pieca absorpcyjnego spektrometru atomowego. Należy podkreślić, że w oznaczaniu spektrofluorometrycznym heksafluorofosforan 1-heksylopirydyniowy charakteryzuje się znikomym sygnałem.

Selektywność ekstrakcji cieczami jonowymi różnych jonów metali jest badana w wielu ośrodkach naukowych. Trwają także prace nad wykorzystaniem cieczy jonowych w oznaczaniu ultraśladowych ilości metali ciężkich w produktach spożywczych [9, 20].

Ekstrakcja związków organicznych

Ekstrakcja związków organicznych z fazy wodnej cieczami jonowymi przebiega w taki sam sposób, jak w przypadku użycia tradycyjnych rozpuszczalników. Można ekstrahować z fazy wodnej takie związki organiczne, jak: kwasy karboksylowe, fenole, aminy czy rozpuszczalniki organiczne. Najczęściej używanym ekstrahentem jest heksafluorofosforan(V) 1-butylo-3-metyloimidazoliowy, który wykazuje podobne właściwości do powszechnie stosowanego oktanolu [3].

Ekstrakcja kwasów karboksylowych z fazy wodnej za pomocą cieczy jonowych w zdecydowany sposób zależy od pH roztworu. Przy niskim pH kwasy są ekstrahowane przez ciecz jonową, a przy wysokim – pozostają w warstwie wodnej. W badaniach nad ekstrakcją kwasu ferulowego i kawowego z fazy wodnej za pomocą heksafluorofosforanu(V) 1-butylo-3-metyloimidazoliowego oraz heksafluorofosforanu(V) 1-heksylo-3-metyloimidazoliowego również stwierdzono, że największy wpływ na wydajność ekstrakcji tych antyoksydantów ma pH roztworu. Największą wydajność ekstrakcji kwasu ferulowego zaobserwowano przy $\text{pH} = 3,67$, a ekstrakcji kwasu kawowego – przy pH poniżej 3,79 [37].

Ciecze jonowe mogą być również wykorzystywane jako ekstrahenty barwników spożywczych z roztworów wodnych lub próbek o stałej konsystencji. Dowiedziono, że tetrafluoroboran 1-metylo-3-oktyloksymetyloimidazoliowy skutecznie ekstrahuje barwniki, takie jak: chlorofil, żółcień pomarańczowa i błękit brylantowy z roztworów wodnych o różnych wartościach pH [8]. W tym przypadku największą wydajność ekstrakcji (ok. 95 %) zaobserwowano w przypadku roztworów obojętnych.

W przypadku ekstrakcji różnych związków organicznych z produktów spożywczych o konsystencji ciekłej lub żelowej, żywność nie była specjalnie przygotowywana przed ekstrakcją – próbki bezpośrednio wytrząsano z odpowiednią cieczą jonową. Natomiast żywność o stałej konsystencji, po odpowiedniej obróbce, poddawano najpierw kilkukrotnej ekstrakcji tradycyjnymi rozpuszczalnikami, a następnie z otrzymanych roztworów ekstrahowano cieczami jonowymi związki organiczne. Ekstrakcję różnych związków organicznych cieczami jonowymi z próbek żywności przeprowadzono z takich produktów, jak: jaja, ketchup, miód, wino, mleko, lody, soki owocowe, czekolada, krewetki, banany [21].

Ekstrakcję cieczami jonowymi stosowano do ekstrakcji barwników z grupy sudan (I, II, III i IV) oraz czerwieni para ze sproszkowanej papryki chili, oleju chili oraz różnych dodatków do żywności [11]. Z powodu udowodnionego rakotwórczego działania

sudanu oraz czerwieni para, stosowanie ich w przemyśle spożywczym jest zabronione. Jednak produkty spożywcze pochodzące od producentów, którzy dawniej przez długi czas stosowali te barwniki, mogą być jeszcze zanieczyszczone tymi związkami. Ekstrakcję sudanu i czerwieni para prowadzono z użyciem heksafluorofosforanu 1-butylo-3-metyloimidazoliowego oraz heksafluorofosforanu 1-oktylo-3-metyloimidazoliowego. Zawartość ekstraktów analizowano za pomocą techniki HPLC sprzężonej z detektorem masowym. Wydajność ekstrakcji z zastosowaniem cieczy jonowych była dwukrotnie większa w porównaniu z ekstrakcją tradycyjnym rozpuszczalnikiem, tj. acetonitrylem.

Stosując ciecze jonowe przeprowadzono także selektywny rozdział homologów tokoferoli w procesie ekstrakcji ciecz – ciecz [36]. Porównywano skuteczność rozdziału trzech cieczy jonowych zawierających w składzie ten sam kation 1-butylo-3-metyloimidazoliowy, ale różniących się anionem. Użyto chlorku, trifluorometylosulfonianu oraz tetrafluoroboranu 1-butylo-3-metyloimidazoliowego. Największą selektywnością ekstrakcji charakteryzował się chlorek 1-butylo-3-metyloimidazoliowy, który ekstrahował głównie δ -tokoferol. Rozdział tokoferoli w tym procesie jest prawdopodobnie związany z tworzeniem się wiązań wodorowych między anionem cieczy jonowej a grupą -OH w cząsteczce tokoferoli, ponieważ ekstrakcja z udziałem tetrafluoroboranu 1-butylo-3-metyloimidazoliowego przebiegała nieselektywnie.

Dialkiloimidazoliowe ciecze jonowe zastosowano w rozdziale mieszaniny tauryny i siarczanu(VI) sodu [13]. Tauryna to aminokwas uczestniczący w wielu procesach fizjologicznych. Tauryna syntetyczna jest składnikiem napojów energetyzujących, mleka modyfikowanego w proszku dla dzieci, karmy dla zwierząt oraz odżywek dla sportowców. W produkcji przemysłowej tauryna powstaje w dwuetapowej syntezie z 2-aminoetanolu oraz tritlenku siarki. Produktem tego procesu jest stała mieszanina tauryny i siarczanu(VI) sodu, którą następnie rozdziela się w procesie wielokrotnej krystalizacji z wody lub wielokrotnej dializy, niestety w obu przypadkach raczej z przeciętną wydajnością. Zaproponowany nowy sposób rozdziału tauryny od siarczanu(VI) sodu obejmuje ekstrakcję aminokwasu za pomocą cieczy jonowej, odsączenie nierozpuszczalnego w niej siarczanu(VI) sodu, a następnie wytrącenie tauryny z cieczy jonowej za pomocą metanolu. Wydajność ekstrakcji zależy od rodzaju użytej cieczy jonowej, a w szczególności od rodzaju anionu. Najlepsze rezultaty zaobserwowano w przypadku chlorku 1-butylo-3-metyloimidazoliowego, co w tym przypadku prawdopodobnie jest również związane z tworzeniem wiązania wodorowego między anionami chlorkowymi a grupą N-H w taurynie.

Z użyciem soli imidazoliowych i techniki DLLME skutecznie ekstrahowano pestycydy organofosforanowe z soku gruszkowego i bananów [14, 25]. Dzięki technice MAE (*ang. Microwave-assisted extraction*) i soli imidazoliowych przeprowadzono ekstrakcję fenylomocznika i herbicydów z grupy triazyn z mleka [12].

Ekstrakcja związków biologicznie czynnych z surowców zielarskich

Rozwijają się techniki analityczne, które umożliwiłyby skuteczną ekstrakcję związków biologicznie czynnych z bardzo złożonego materiału roślinnego. Komórki roślinne zbudowane są głównie z celulozy, która stanowi barierę przed uwolnieniem analitów. Najczęściej do ekstrakcji substancji chemicznych z ziół używa się takich technik, jak: MAE, SPE (ang. *solid-phase extraction*), PLE (ang. *pressurized liquid-extraction*), SFE (ang. *supercritical fluid extraction*) czy HRE (ang. *heating reflux extraction*). Ostatnią modyfikacją wymienionych technik ekstrakcyjnych jest jednoczesne użycie cieczy jonowych oraz ekstrakcji mikrofalowej MAE w celu zniszczenia ściany komórkowej rośliny lub zwiększenia jej przepuszczalności [10, 21]. Tym sposobem skutecznie wyekstrahowano związki polifenolowe z liści gujawy pospolitej (*Psidium guajava* Linn.) [10] oraz bulwy *Smilax china*, jak również alkaloidy fenolowe z lotosu orzechodajnego (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) [19] i łopianu większego (*Arctium lappa* L.) [18]. Innym podejściem jest solubilizacja materiału roślinnego, a następnie ekstrakcja substancji biologicznie czynnych z uzyskanego roztworu za pomocą cieczy jonowych i takich technik, jak DLLME oraz SPE. W taki sposób ekstrahowano β -sitosterol z solirodu (*Salicornia herbacea* L.) [38], likwirytynę oraz kwas glicyryzynowy z lukrecji gładkiej (*Glycyrrhiza glabra*) [32], a także tanszinony z szalwii czerwonej (*Salvia miltiorrhiza*) [31, 33].

Należy podkreślić, że zdecydowana większość ekstrakcji cieczami jonowymi substancji biologicznie aktywnych z surowców zielarskich była porównywana eksperymentalnie z tradycyjnymi technikami ekstrakcji. Ekstrakcja cieczami jonowymi okazała się równie skuteczna, a w niektórych przypadkach efektywniejsza niż ekstrakcja bez ich udziału.

Podsumowanie

Ekstrakcja analitów cieczami jonowymi stanowi nowy, proekologiczny sposób przygotowania próbek do dalszej analizy. Stwierdzono, że cieczce jonowe w wielu przypadkach mogą zastąpić tradycyjne rozpuszczalniki, ograniczając tym samym użycie tych toksycznych substancji. W ekstrakcji metali istotne znaczenie mają cieczce jonowe specjalnie do tego celu zaprojektowane tzw. TSILs, których użycie eliminuje dodatek odczynników chelatujących. Zastosowanie cieczy jonowych jest kosztowne. Pewną rekompensatą mogą być mniejsze ilości tych cieczy stosowanych do procesu ekstrakcji niż tradycyjnych rozpuszczalników. Problemem w zastosowaniu cieczy jonowych może być sposób ich utylizacji oraz prawdopodobnie negatywny wpływ, jaki wywierają na organizmy wodne – badania w tym zakresie ciągle trwają. Obecnie synteza cieczy jonowych zmierza w kierunku projektowania takich związków (cieczce jonowe trzeciej generacji), które charakteryzowałyby się zarówno pożądanymi właści-

wościami biologicznymi, jak i odpowiednimi właściwościami fizykochemicznymi, z możliwością ich zastosowania w przemyśle.

Literatura

- [1] Abdolmohammad-Zadeh H., Sadeghi G.H.: Combination of ionic liquid-based dispersive liquid – liquid micro-extraction with stopped-flow spectrofluorometry for the pre-concentration and determination of aluminum in natural waters, fruit juice and food samples. *Talanta*, 2010, **81**, 778-785.
- [2] Abdolmohammad-Zadeh H., Sadeghi G.H.: A novel micro-extraction technique based on 1-hexylpyridinium hexafluorophosphate ionic liquid for the preconcentration of zinc in water and milk samples. *Anal. Chim. Acta*, 2009, **649**, 211-217.
- [3] Absalan G., Akhond M., Sheikhan L.: Extraction and high performance liquid chromatographic determination of 3-indole butyric acid in pea plants by using imidazolium-based ionic liquids as extractant. *Talanta*, 2008, **77**, 407-411.
- [4] Aguilera-Herrador E., Lucena R., Cardenas S., Valcarcel M.: The roles of ionic liquids in sorptive micro-extraction techniques. *Trends Anal. Chem.*, 2010, **29** (7), 602-614.
- [5] Anastas P.T., Warner J.: *Green Chemistry. Theory and Practice*. Oxford Univ. Press, Oxford 1998.
- [6] Anderson J.L., Armstrong D.W.: High-stability ionic liquids. A new class of stationary phases for gas chromatography. *Anal. Chem.*, 2003, **75** (18), 4851-4858.
- [7] Biswas A., Shogren R.L., Willet J.L.: Ionic liquid as solvent and catalyst for acylation of maltodextrin. *Ind. Crop. Prod.*, 2009, **30**, 172-175.
- [8] Branicka M.: Wydzielanie barwników spożywczych tetrafluoroboranem 1-metylo-3-oktyloksymetyloimidazoliowym. *Przem. Chem.*, 2006, **85** (8-9), 574-576.
- [9] Dadfarnia S., Haji Shabani A.M., Bidabadi M.S., Safari A.A.: A novel ionic liquid/micro-volume back extraction procedure combined with flame atomic absorption spectrometry for determination of trace nickel in samples of nutritional interest. *J. Hazard. Mater.*, 2010, **173**, 534-538.
- [10] Du F.-Y., Xiao X.-H., Luo X.-J., Li G.-K.: Application of ionic liquids in the microwave-assisted extraction of polyphenolic compounds from medicinal plants. *Talanta*, 2009, **78**, 1177-1184.
- [11] Fan Y., Chen M., Shentu Ch., El-Sepai F., Wang K., Zhu Y., Ye M.: Ionic liquids extraction of Para Red and Sudan dyes from chilli powder, chilli oil and food additive combined with high performance liquid chromatography. *Anal. Chim. Acta*, 2009, **650**, 65-69.
- [12] Gao S., You J., Zheng X., Wang Y., Ren R., Zhang R., Bai Y., Zhang H.: Determination of phenylurea and triazine herbicides in milk by microwave assisted ionic liquid micro-extraction high-performance liquid chromatography. *Talanta*, 2010, **82**, 1371-1377.
- [13] Gu Y., Shi F., Yang H., Deng Y.: Leaching separation of taurine and sodium sulfate solid mixture using ionic liquids. *Separ. Purif. Technol.*, 2004, **35**, 153-159.
- [14] He L., Luo X., Jiang X., Qu L.: A new 1,3-dibutylimidazolium hexafluorophosphate ionic liquid-based dispersive liquid-liquid micro-extraction to determine organophosphorus pesticides in water and fruit samples by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A.*, 2010, **1217**, 5013-5020.
- [15] *Ionic liquids – new aspects for the future*. Ed. Jun-ichi Kadokawa, InTech, 2013, DOI: 10.5772/45605
- [16] Janiszewska E., Witrowa-Rajchert D.: Ekstrakcja nadkrytyczna w przemyśle spożywczym. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **4** (45), 5-16.

- [17] Li N., Fang G., Liu Q., Zhang J., Zhao L., Wang S.: A novel hydrophobic task specific ionic liquid for the extraction of Cd(II) from water and food samples as applied to AAS determination. *Anal. Sci.*, 2010, **26**, 455-459.
- [18] Lou Z., Wang H., Zhu S., Chen S., Zhang M., Wang Z.: Ionic liquids based simultaneous ultrasonic and microwave assisted extraction of phenolic compounds from burdock leaves. *Anal. Chim. Acta*, 2012, **716**, 28-33.
- [19] Lu Y., Ma W., Hu R., Dai X., Pan Y.: Ionic liquid-based microwave-assisted extraction of phenolic alkaloids from the medicinal plant *Nelumbo nucifera* Gaertn. *J. Chromatogr. A*, 2008, **1208**, 42-46.
- [20] Manzoori J.L., Amjadi M., Abulhassani J.: Ultra-trace determination of lead in water and food samples by using ionic liquid-based single drop microextraction-electrothermal atomic absorption spectrometry. *Anal. Chim. Acta.*, 2009, **644**, 48-52.
- [21] Martín-Calero A., Pino V., Afonio A.M.: Ionic liquids as a tool for determination of metals and organic compounds in food analysis. *Trends Anal. Chem.*, 2011, **30** (10), 1568-1619.
- [22] Obłąk E., Gamiń A.: Biologiczna aktywność czwartorzędowych soli amoniowych CSA, *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2010, **64**, 201-211.
- [23] Paryjczak T., Lewicki A., Zaborski M.: Zielona Chemia. PAN Oddział w Łodzi, Komisja Ochrony Środowiska, Łódź 2005.
- [24] Pernak J.: Ciecze jonowe. Związki na miarę XXI. *Przem. Chem.*, 2003, **82** (8-9), 521-524.
- [25] Ravelo-Pérez L.M., Hernández-Borges J., Asensio-Ramos M., Rodríguez-Delgado M.A.: Ionic liquid based dispersive liquid-liquid microextraction for the extraction of pesticides from bananas. *J. Chromatogr. A.*, 2009, **1216**, 7336-7345.
- [26] Romero A., Santos A., Tojo J., Rodriguez A.: Toxicity and biodegradability of imidazolium ionic liquids. *J. Hazard. Mater.*, 2008, **151**, 268-273.
- [27] Sheldon R.: Catalytic reactions in ionic liquids. *Chem. Commun.*, 2001, **23**, 2399-2407.
- [28] Sheldon R.A., Lau R.M., Sorgedraeger M.J., van Rantwijk F.: Biocatalysis in ionic liquids. *Green Chem.*, 2002, **4**, 147-151.
- [29] Shi F., Gu Y., Zhang O., Deng Y.: Development of ionic liquids as green reaction media and catalysts. *Catalysis Surveys from Asia*, 2004, **8** (3), 179-186.
- [30] Tal-Figiel B., Figiel W.: Porównanie efektywności ekstrakcji surowców roślinnych za pomocą niekonwencjonalnych technik ekstrakcyjnych. *Inż. Ap. Chem.*, 2010, **49** (3), 115-116.
- [31] Tian M., Bi W., Row K.H.: Molecular imprinting in ionic liquid-modified porous polymer for recognition separation of three tanshinones from *Salvia miltiorrhiza* Bunge. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2011, **399** (7), 2495-2502.
- [32] Tian M., Bi W., Row K.H.: Solid-phase extraction of liquiritin and glycyrrhizic acid from licorice using ionic liquid-based silica sorbent. *J. Sep. Sci.*, 2009, **32**, 4033-4039.
- [33] Wu K., Zhang Q., Liu Q., Tang F., Long Y., Yao S.: Ionic liquid surfactant-mediated ultrasonic-assisted extraction coupled to HPLC: Application to analysis of tanshinones in *Salvia miltiorrhiza* bunge. *J. Sep. Sci.*, 2009, **32**, 4220-4226.
- [34] Vaezzadeh M., Shemirani F., Majidi B.: Micro-extraction technique based on ionic liquid for pre-concentration and determination of palladium in food additive, sea water, tea and biological samples. *Food Chem. Toxicol.*, 2010, **48**, 1455-1460.
- [35] Ventura S.P.M., Marques C.S., Rosatella A., Afonso C.A.M., Gonçalves F., Coutinho J.A.P.: Toxicity assessment of various ionic liquid families towards *Vibrio Fischeri* marine bacteria. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2012, **76**, 162-168.
- [36] Yang Q., Xing H., Cao Y., Su B., Yang Y., Ren Q.: Selective separation of tocopherol homologues by liquid-liquid extraction using ionic liquids. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2009, **48** (13), 6417-6422.
- [37] Yan-Ying Y., Zhang W., Shu-Wen C.: Extraction of ferulic acid and caffeic acid with ionic liquids. *Chin. J. Anal. Chem.*, 2007, **35** (12), 1726-1730.

- [38] Zhu T., Row K. H.: Extraction and determination of β -sitosterol from *Salicornia herbacea* L. using monolithic cartridge. *Chromatographia*, 2010, **71** (11-12), 981-985.

IONIC LIQUIDS IN EXTRACTION PROCESSES OF METALS AND ORGANIC COMPOUNDS FROM FOOD PRODUCTS

S u m m a r y

Ionic liquids are new solvents showing unique physical-chemical properties. They are characterized by a wide range of temperatures, in which they are in a liquid form and where they exhibit high thermal stability. They are able to dissolve organic and inorganic substances as well as some polymers. They are a 'green' alternative to conventional solvents as their vapour pressure is very low even at a raised temperature and under a decreased pressure, and because it is possible to use them multiple times through recycling.

Ionic liquids are mainly used in extraction processes from both the aqueous phase and the more complex mixtures such as food products. In many cases, the extraction from an aqueous phase consists solely in replacing an organic solvent by a ionic liquid, whereas the extraction from food samples requires that those samples are pre-treated, e.g. through etching. Ionic liquids are successfully applied to extracting metal ions, carboxylic acids, colourants, pesticides, and biologically active substances from medicinal plants.

Key words: ionic liquids, "green solvents", extraction processes, food products 

JAGODA MAJCHERCZYK, KRZYSZTOF SURÓWKA

HETEROCYKLICZNE AMINY AROMATYCZNE JAKO ZAGROŻENIE CHEMICZNE W PRODUKTACH MIĘSNYCH PODDAWANYCH OBRÓBCE TERMICZNEJ

Streszczenie

Niektóre sposoby przetwarzania żywności mogą powodować powstawanie w niej szkodliwych związków chemicznych, w tym mutagennych i kancerogennych heterocyklicznych amin aromatycznych (HCA). Substancje te tworzą się podczas obróbki termicznej produktów o dużej zawartości białka, przy czym ich ilość i rodzaj są warunkowane głównie temperaturą, czasem i rodzajem tego procesu. W niniejszej pracy przedstawiono ogólną charakterystykę oraz podział HCA, z uwzględnieniem ich budowy chemicznej i warunków powstawania. Omówiono również metody obróbki termicznej mięsa pod względem tworzenia się heterocyklicznych amin aromatycznych oraz hamowania procesów ich powstawania. Istnieje bowiem związek pomiędzy częstym spożywaniem przetworzonego mięsa a częstotliwością występowania nowotworów u ludzi. Ostatnia część pracy stanowi przegląd technik analitycznych oczyszczania i ekstrakcji próbek zawierających wymienione związki, a także metod ich analizy jakościowej i ilościowej.

Słowa kluczowe: heterocykliczne aminy aromatyczne (HCA), obróbka termiczna żywności, przetwory mięsne, związki mutagenne, związki kancerogenne

Wprowadzenie

Dane epidemiologiczne wskazują na wyraźny związek pomiędzy niektórymi składnikami żywności a występowaniem określonych chorób, np. nowotworowych [4]. Do najbardziej szkodliwych związków wyizolowanych z artykułów spożywczych należą m.in. heterocykliczne aminy aromatyczne (HCA), wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA), nitrozoaminy oraz niektóre produkty reakcji Maillarda [1, 34, 41]. Związki te mogą powstawać podczas przygotowywania żywności bądź jej przechowywania. Heterocykliczne aminy aromatyczne, będące przedmiotem tej pracy,

Dr J. Majcherczyk, prof. dr hab. inż. K. Surówka, Katedra Chłodnictwa i Koncentratów Spożywczych, Wydz. Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie. ul. Balicka 122, 30-149 Kraków. Kontakt: jmajcherczyk@ar.krakow.pl

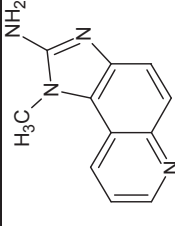
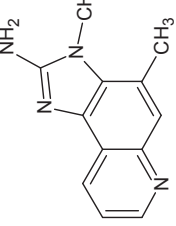
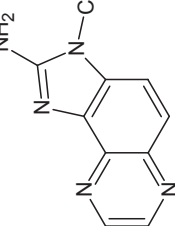
należą do najbardziej mutagennych i najprawdopodobniej kancerogennych związków chemicznych powstających w produktach spożywczych podczas obróbki termicznej. Ich występowanie stwierdzono również w dymie tytoniowym i spalinach samochodowych. W żywności zostały wykryte po raz pierwszy w latach 70. XX wieku, a ich mutagenność potwierdzono dwie dekady później [32]. Obecnie w przetworzonej żywności wysokobiałkowej zidentyfikowano ponad dwadzieścia pięć różnych heterocyklicznych amin aromatycznych. Dziewięć z nich Międzynarodowa Agencja Badania Raka (ang. *International Agency for Research on Cancer*, IARC) zaklasyfikowała jako substancje możliwie rakotwórcze dla człowieka (grupa 2B), są to: MeIQ, MeIQx, PhIP (polarne) oraz AαC, MeAαC, Glu-P-1, Glu-P-2, Trp-P-1, Trp-P-2 (niepolarne), natomiast związek IQ – jako substancję prawdopodobnie rakotwórczą (grupa 2A) [19, 39, 49]. W związku z powyższym wydano zalecenie ograniczenia ich spożycia. W 2004 r. związki IQ, MeIQ, 8-MeIQx oraz PhIP zostały wyszczególnione w Narodowym Programie Toksykologicznym (ang. *National Toxicology Program*) w USA [35] jako substancje rakotwórcze dla ludzi. Brak jest innych regulacji prawnych na temat dopuszczalnych zawartości HCA w żywności.

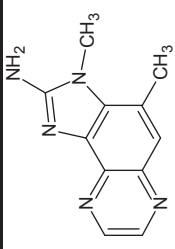
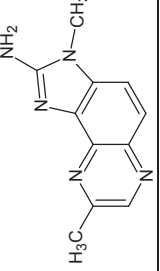
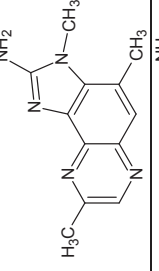
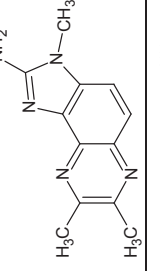
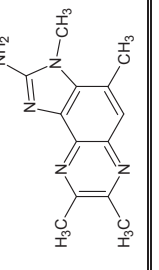
Charakterystyka chemiczna HCA

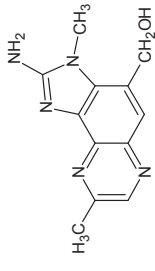
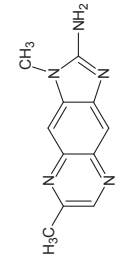
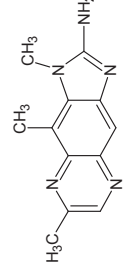
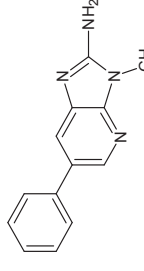
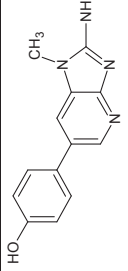
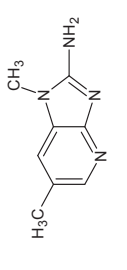
Heterocykliczne aminy aromatyczne należą do grupy związków zbudowanych z układów pierścieniowych, w skład których wchodzi atomy azotu oraz przyłączone do nich wolne grupy aminowe. Do ww. grupy związków zalicza się również 1-metylo-9H-pirydo[4,3-b]indol (harman) oraz 9H-pirydo[4,3-b]indol (norharman), pomimo że nie zawierają wolnych grup aminowych [5, 6]. Z żywności poddawanej obróbce termicznej wyizolowano i zidentyfikowano ponad dwadzieścia pięć tego typu związków, przy czym wiele z nich może dodatkowo występować w postaci izomerów różniących się liczbą i położeniem grup metylowych. W tab. 1. zamieszczono wzory strukturalne oraz podstawowe właściwości fizykochemiczne najczęściej występujących HCA wraz ze skrótami ich nazw systematycznych.

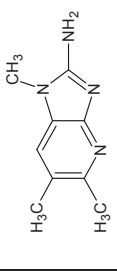
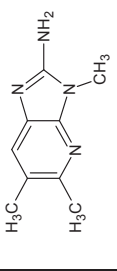
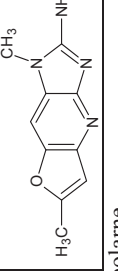
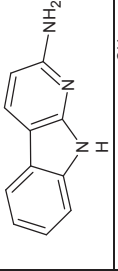
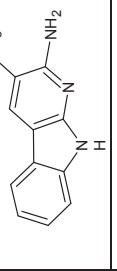
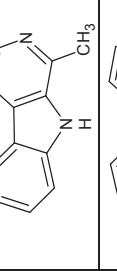
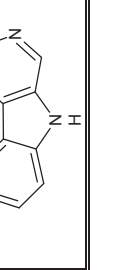
Oznaczane aminy można podzielić ze względu na ich polarność [33]. Do grupy polarnych heterocyklicznych amin aromatycznych zalicza się amino-imidazo-azareny (tzw. grupa „IQ”). Związki te powstają podczas przygotowywania potraw w zakresie temperatury 100 ÷ 300 °C (gotowanie, pieczenie, wędzenie), dlatego nazywa się je również aminami termicznymi. Wszystkie aminy należące do tej klasy w swojej strukturze zawierają fragment 2-amino-N-metyloimidazolu. Ten ostatni pochodzi od kreatyniny i w wyniku reakcji Maillarda przyłącza się do chinoliny, w wyniku czego powstają: IQ i MeIQ, chinoksaliny – IQx, MeIQx, DiMeIQx i TriMeIQx lub pirydyny – PhIP, 4'-OH-PhIP, DMIP i TMIP [13].

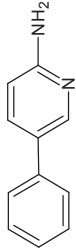
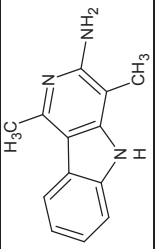
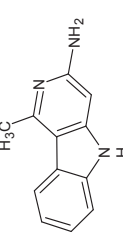
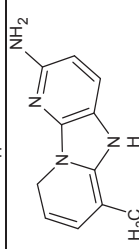
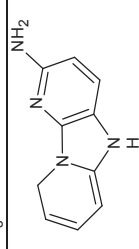
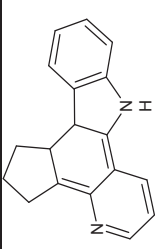
Tabela 1. Wzory strukturalne i podstawowe właściwości heterocyklicznych amin aromatycznych
 Table 1. Structural formulas and basic properties of heterocyclic aromatic amines

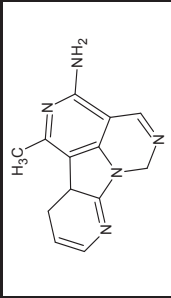
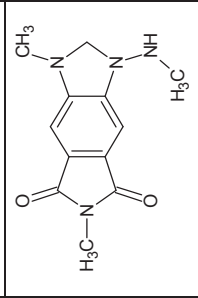
Nazwa systematyczna Systematic name	Skrót Abbreviation	Wzór strukturalny Structure	Masa molowa Molecular mass	Temp. topnienia [°C] Melting point [°C]	pKa	Rok odkrycia Year when discovered
Aminy polarne Polar amines						
2-amino-3-metyloimidazo[4,5-f]chinolina 2-amino-3-methyl-imidazo[4,5-f]-quinoline	IQ		198,2	>300	3,8	1980
2-amino-3,4-dimetyloimidazo[4,5-f]chinolina 2-amino-3,4-dimethyl-imidazo[4,5-f]-quinoline	MeIQ		212,3	298	6,4	1980
2-amino-3-metyloimidazo[4,5-f]chinoksalina 2-amino-3-methyl-imidazo[4,5-f]-quinoxaline	IQx		199,3	295	6,25	1988

2-amino-3,4-dimetyloimidazo[4,5-f]chinoksalina 2-amino-3,4-dimethyl-imidazo[4,5-f]-quinoxaline	4-MeIQx		213,3	295	6,25	1987
2-amino-3,8-dimetyloimidazo[4,5-f]chinoksalina 2-amino-3,8-dimethyl-imidazo[4,5-f]-quinoxaline	8-MeIQx		213,3	295	5,95	1981
2-amino-3,4,8-trimetyloimidazo[4,5-f]chinoksalina 2-amino-3,4,8-trimethyl-imidazo[4,5-f]-quinoxaline	4,8-DiMeIQx		227,3	>300	5,8	1985
2-amino-3,7,8-trimetyloimidazo[4,5-f]chinoksalina 2-amino-3,7,8-trimethyl-imidazo[4,5-f]-quinoxaline	7,8-DiMeIQx		227,3	>300	6,5	1984
2-amino-3,4,7,8-tetrametyloimidazo[4,5-f]chinoksalina 2-amino-3,4,7,8-tetramethyl-imidazo[4,5-f]-quinoxaline	TriMeIQx		241,3	b. d. nda	6,0	1992

2-amino-4-hidroksymetylo-3,8-dimetyloimidazo[4,5-f]chinoksalina 2-amino-4-hidroksymetylo-3,8-dimetylimidazo[4,5-f]-quinoxaline	4-CH ₂ OH-8-MeIQx		243,3	b.d. nda	b.d. nda	1994
2-amino-1,7-dimetyloimidazo[4,5-g]chinoksalina 2-amino-1,7-dimetylimidazo[4,5-g]-quinoxaline	7-MeIQx		213,3	b.d. nda	b.d. nda	1994
2-amino-1,7,9-trimetyloimidazo[4,5-g] chinoksalina 2-amino-1,7,9-trimetylimidazo[4,5-g]-quinoxaline	7,9-DiMeIQx		223,3	b.d. nda	b.d. nda	1994
2-amino-1-metylo-6-fenylimidazo[4,5-b]pirydyna 2-amino-1-metyl-6-fenylimidazo[4,5-b]-pyridine	PhIP		224,3	327 - 328	5,6	1986
2-amino-1-metylo-6-(4'-hidroksyfenylo)-imidazo[4,5-b]pirydyna 2-amino-1-metyl-6-(4'-hydroxyphenyl)-imidazo[4,5-b]-pyridine	4'-OH-PhIP		240,3	b.d. nda	b.d. nda	1992
2-amino-1,6-dimetyloimidazo[4,5-b]pirydyna 2-amino-1,6-dimetylimidazo[4,5-b]-pyridine	DMIP		162,2	b.d. nda	b.d. nda	1986

2-amino-1,5,6-trimethyloimidazo[4,5-b]pirydyna 2-amino-1,5,6-trimethylimidazo[4,5-b]-pyridine	1,5,6-TMIP		176,2	b.d. nda	b.d. nda	1986
2-amino-3,5,6-trimethyloimidazo[4,5-b]pirydyna 2-amino-3,5,6-trimethylimidazo[4,5-b]-pyridine	3,5,6-TMIP		176,2	b.d. nda	b.d. nda	1986
2-amino-1,6-dimetylo-furo-[3,2-e]imidazo [4,5-b]pirydyna 2-amino-1,6-dimethyl-furo[3,2-e]imidazo[4,5-b]-pyridine	IFP		202,3	b.d. nda	b.d. nda	b.d. nda
Aminy niepolarne Non-polar amines						
2-amino-9H-pirydo [2,3-b]indol 2-amino-9H-pyrido[2,3-b]indole	AuC		183,2	202	4,4	1978
2-amino-3-metylo-9H-pirydo[2,3-b]indol 2-amino-3-methyl-9H-pyrido[2,3-b]indole	MeAuC		197,2	215 - 228	b.d. nda	1978
1-metylo-9H-pirydo[3,4-b]indol 1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]indole	harman		182,3	237 - 238	b.d. nda	1978
9H-pirydo[3,4-b]indol 9H-pyrido[3,4-b]indole	norharman		168,2	237 - 238	6,8	1978

2-amino-5-fenolopirydyna 2-amino-5-phenylpyridine	Phe-P-1		170,2	b.d. nda	b.d. nda	1981
3-amino-1,4-dimetylo-5H-pirydo[4,3-b]indol 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]- indole	Trp-P-1		211,3	252 - 262	8,6	1977
3-amino-1-metylo-5H-pirydo[4,3-b]indol 3-amino-1-methyl-5H-pyrido[4,3-b]indole	Trp-P-2		197,4	248 - 250	6,8	1977
2-amino-6-metylopirydo[1,2- α :3',2'-d]imidazol 2-amino-6-methyl(dipyrido-[1,2- α :3',2'-d]imidazole	Glu-P-1		198,3	290 - 292	6,0	1978
2-aminopirydo[1,2- α :3',2'-d]imidazol 2-aminodipyrido-[1,2- α :3',2'-d]imidazol	Glu-P-2		184,3	286 - 287	5,9	1978
3,4-cykloptenopyrido[3,2-a]karbazol 3,4-cyclopenteno-pyrido[3,2-a]carbazole	Lys-P-1		246,3	b.d. nda	b.d. nda	b.d. nda

4-amino-6-metylo-1H-2,5,10,10b-tetraazafluoranten 4-amino-6-metyl-1H-2,5,10,10b-tetraazafluoranthene	Orn-P-1		237,3	b.d. nda	b.d. nda	1981
4-Amino-1,6-dimetylo-2-metyloamino-1H,6H-pirololo[3,4-f]benzimidazolo-5,7-dion 4-amino-1,6-dimetyl-2-metylamino-1H,6H-pyrrolo-[3,4-f]benzimidazole-5,7-dione	Cre-P-1		244,3	b.d. nda	b.d. nda	1991

b.d. – brak danych / nda – no data available

Z kolei niepolarne heterocykliczne aminy aromatyczne to piroindole i piroimidazole (tzw. grupa „nie-IQ”). Związki te, podobnie jak aminy polarne, tworzą się w żywności podczas obróbki termicznej, jednak dopiero powyżej 300 °C – z tego powodu są nazywane aminami pirolitycznymi. Charakterystyczną częścią budowy amin niepolarnych (z wyjątkiem harmanu i norharmanu) jest egzocykliczna grupa aminowa i czasem również egzocykliczna grupa metylowa przyłączona do pierścienia pirydynowego połączonego z fragmentem indolu lub imidazolu [21].

Występowanie i powstawanie HCA w produktach mięsnych

Obecność HCA stwierdza się głównie w przetworzonych termicznie produktach białkowych pochodzenia zwierzęcego, m.in. w mięsie wieprzowym, wołowym, drobiowym, baranin oraz w rybach [11, 16, 30, 41]. Wykryto je również w wędzonym włoskim serze [33], produktach sojowych [52] i w kostkach rosołowych [22]. Zawartość HCA w wymienionych produktach nie jest stała i w zależności od warunków może zmieniać się nawet 100-krotnie [56]. Parametrem mającym największy wpływ na ich powstawanie jest temperatura obróbki termicznej. Związki kancerogenne zaczynają się bowiem tworzyć już podczas pierwszych 5 - 10 min termicznej obróbki w temp. 100 ÷ 300 °C, z surowców zawierających odpowiednie prekursory [48]. Ważną rolę odgrywa metoda obróbki i rodzaj mięsa. Stwierdzono, że najwięcej HCA tworzy się podczas grillowania lub smażenia, zwłaszcza mięsa czerwonego. W większości prac traktujących o wpływie pieczenia i grillowania na poziom HCA, stężenie MeIQx wynosiło poniżej 4 ng/g, a poziom PhIP był niższy od 40 ng/g. Bardzo dużą zawartość MeIQx, około 100 ng/g, oznaczono w mięsie z piersi kurczęcia opiekanego przez 6 min bezpośrednio nad ogniem [18]. W pracach zajmujących się tym rodzajem obróbki termicznej mięsa odnotowano również bardzo duże stężenia PhIP. Przykładem może być pieczenie na ruszcie mięso z kurczęcia, w którym PhIP było 480 ng/g (w temp. 177 ÷ 260 °C) [44] oraz 330 ng/g (w temp. 339 ÷ 365 °C) [42]. Należy podkreślić, że temperatura powyżej 300 °C powoduje tworzenie się pirolitycznych HCA. W mięsie kurczęcia grillowanym w 350 °C zidentyfikowano duże, bo wynoszące 170 ng/g, stężenie AαC [28]. Dodatkowo takie czynniki, jak: obecność katalizatorów i inhibitorów reakcji tworzenia poszczególnych HCA, zawartość tłuszczu, przeciwutleniaczy, aktywność wody i pH wpływają na poziom omawianych związków w żywności [21, 50].

Duszenie i gotowanie w wodzie czy też ogrzewanie z wykorzystaniem techniki mikrofalowej odbywa się zwykle w temperaturze nieprzekraczającej 100 °C. W tej temperaturze tworzenie HCA jest niewielkie, a ich stężenie zazwyczaj nie przekracza limitu detekcji [51]. Tym niemniej dane literaturowe wskazują na występowanie Trp-P-1, Trp-P-2, AαC, MeAαC oraz harmanu i norharmanu w udkach z kurcząt przyrządzonych w kuchence mikrofalowej [10], a także tych dwóch ostatnich związków na

poziomie 0,5 ng/g w gotowanym mięsie z kurcząt i bulionie pochodzącym z tego mięsa.

Wraz ze wzrostem temperatury obróbki zwiększa się szybkość powstawania heterocyklicznych amin aromatycznych [55]. W zakresie temperatur 100 ÷ 200 °C (np. głębokie smażenie, pieczenie) powstają śladowe ilości HCA, głównie MeIQx, 4,8-DiMeIQx oraz PhIP, a także harman i norharman w ilościach poniżej 1 ng/g [51]. Chiu i wsp. [10] zidentyfikowali 12 różnych kancerogennych amin w smażonych w głębokim tłuszczu udkach z kurcząt, jednak ich stężenia były niewielkie i utrzymywały się w granicach 1 - 3 ng/g.

Podczas płytkiego smażenia surowców mięsnych na patelni temperatura waha się od około 150 do 250 °C. W filecie z kurczęcia przygotowywanym tym sposobem oznaczono większość tych samych HCA, które powstawały już podczas obróbki w niższych temperaturach, a ich stężenia były podobne [9, 42]. Jak na omawiane warunki obróbki termicznej, stwierdzono wyjątkowo duże stężenie MeIQx w filecie z kurczęcia smażonym 15 min w temp. 220 °C – wynosiło ono 10,4 ng/g [29]. Z innych danych literaturowych wynika, że spośród amin tworzących się podczas płytkiego smażenia, stężenie PhIP jest największe [44, 46, 51]. Przykładem może być analiza filetu z kurczęcia, w którym zawartość PhIP wynosiła około 30 ng/g (po obróbce w 190 °C) i 38 ng/g (po obróbce w 220 °C) [51]. Duże stężenie tej aminy, wynoszące 64,9 ng/g, oznaczono również w smażonym na patelni w 190 °C filecie z indyka [9]. Powyższe dane wskazują na rosnącą tendencję do powstawania wymienionych amin wraz ze zwiększaniem się temperatury i czasu obróbki termicznej. Obserwacje te potwierdza również analiza zawartości amin w filetach z kurczęcia smażonych do trzech różnych stopni wysmażenia: pierwszy – *Just until done*, drugi – *Well done* oraz trzeci – *Very well done* [44]. Wzrost zawartości kancerogennych związków można szczególnie zauważyć na przykładzie PhIP, którego koncentracja zwiększa się od 12 ng/g do 70 ng/g przy zmianie stopnia wysmażenia z pierwszego na trzeci. Interesujące okazało się porównanie poddanych identycznej obróbce termicznej (smażeniu w temp. 204 °C) różnych rodzajów surowców mięsnych (wołowiny, wieprzowiny i mięsa drobiowego) w aspekcie generowania się w nich HCA [39]. Wystąpiły wyraźne różnice pomiędzy całkowitą zawartością tych związków w produktach. W smażonej wieprzowinie ich poziom był znacznie wyższy niż w pozostałych produktach. Badania te zostały potwierdzone przez Skoga i wsp. [47], według których łączne stężenie kancerogennych amin w smażonej w 225 °C wieprzowinie było ponad dwukrotnie większe niż w identycznie przygotowanym mięsie drobiowym [47].

Oprócz mięsa zwierząt stałocieplnych popularne jest także grillowanie ryb. Analiza jakościowa przygotowanych w ten sposób sardynek i łososia atlantyckiego również wykazała tworzenie się HCA [11]. Grupę amin pirolitycznych zidentyfikowano i oznaczono w sardynkach z rusztu opiekanych w temp. 180 ÷ 200 °C. Wśród tych

związków najwięcej było A α C i MeA α C (odpowiednio: 17,7 i 10,6 ng/g). Z kolei grillowane w tych samych warunkach mięso łososia charakteryzowało się obecnością Glu-P-1, MeIQx, PhIP, A α C oraz MeA α C, wśród których najwięcej było Glu-P-1 i PhIP (odpowiednio: 13,18 i 13,0 ng/g). Wpływ marynaty oraz obecności skóry na powstawanie HCA w mięsie łososia badali Iwasaki i wsp. [20]. Mięso to analizowano w dwóch wariantach: ze skórą i bez, dodatkowo każdy z wariantów został podzielony na próbki z marynatą i bez jej dodatku, które kolejno usmażono na patelni do trzech różnych stopni wysmażenia (*medium* – temp. wew. 70 °C, *well-done* – temp. wew. 80 °C, *very well-done* – temp. wew. 90 °C) i poddano grillowaniu (tylko próbki bez marynaty). Otrzymane wyniki po raz kolejny dowodzą wpływu temperatury obróbki termicznej na ilość tworzących się HCA. Całkowite stężenie analitów w próbkach poddawanych grillowaniu było około 4,5-krotnie wyższe od oznaczonego w próbkach smażonych na patelni. Wzrost zawartości amin można także zauważyć analizując stopnie wysmażenia mięsa, zakres ten zmieniał się od stężeń poniżej granicy detekcji w przypadku próbek przyrządzanych w najniższej temperaturze do prawie 30 ng/g przy smażeniu *very well-done*. Niewielkie różnice zawartości analizowanych związków występowały natomiast pomiędzy próbkami poddanymi marynowaniu i bez marynowania oraz między próbkami mięsa ze skórą i bez niej.

W tab. 2. przedstawiono wyniki oznaczeń najczęściej występujących HCA w produktach mięsnych poddawanych różnym rodzajom obróbki cieplnej. Stężenia wymienionych w niej amin (MeIQ, 4,8-DiMeIQx, PhIP, IQ, harman, norharman) są przeważnie większe od stężeń pozostałych HCA powstających w żywności.

Poza analizą HCA w przetworzonych termicznie produktach mięsnych prowadzono również identyfikację tych związków w tłuszczu oraz w bulionie, powstających podczas określonych rodzajów obróbki cieplnej. W tłuszczu pozostałym po smażeniu w temp. 225 °C wykazano sumaryczną ilość HCA (MeIQx, DiMeIQx i PhIP) na poziomie zbliżonym do limitów detekcji, natomiast największą sumaryczną zawartość powyższych analitów oznaczono w pozostałości po smażeniu mięsa wieprzowego – 41,8 ng/g [47]. W bulionach drobiowych nie stwierdzono występowania amin powyżej poziomów detekcji z wyjątkiem harmanu i norharmanu, których stężenia wynosiły odpowiednio: 8,4 i 8,0 ng/g [51].

Świadomość zagrożeń wynikających z wysokotemperaturowego przygotowywania potraw spowodowała, że podjęto badania nad sposobami inhibicji tworzenia się amin. Uwzględniając mechanizmy powstawania tych związków, do zahamowania ich syntezy zaproponowano zastosowanie przeciwutleniaczy syntetycznych, takich jak: butylohydroksyanizol – BHA, butylohydroksytoluen – BHT, galusan propylu – PG i naturalnych, jak: flowonoidy, witamina E i C oraz produkty roślinne o dużej zawartości tych ostatnich [7, 13, 23, 37, 40, 41, 42]. Otrzymane wyniki nie pozwoliły jednoznacznie określić hamującego wpływu przeciwutleniaczy syntetycznych na powstawa-

nie heterocyklicznych amin aromatycznych. O ile w układzie modelowym, zastosowanym przez Kato i wsp. [27], zaobserwowano zmniejszenie stężenia amin z grupy imidazochinoksalin pod wpływem BHA i PG, to Johansson i wsp. [26] stwierdzili znaczny wzrost zawartości MeIQx, IQx oraz 7,8-DiMeIQx w ich obecności. Zadowalające wyniki otrzymano po zastosowaniu przeciwutleniaczy naturalnych oraz produktów pochodzenia roślinnego zawierających przeciwutleniacze. Przykładem mogą być badania Ogumiego i wsp. [36] z 14 różnymi związkami o właściwościach przeciwutleniających. Spośród przetestowanych przez nich substancji katechiny, flawonoidy (luteolina i kwercetyna) oraz kwas kawowy powodowały redukcję stężeń wybranych HCA nawet o 97 %.

Tabela 2. Zawartość wybranych heterocyklicznych amin aromatycznych (HCA) w produktach mięsnych poddawanych obróbce termicznej [ng/g ś.m.]

Table 2. Content of selected heterocyclic aromatic amines (HCAs) in thermally processed meat products [ng/g f.m.]

Rodzaj obróbki/Próbka Method of processing/Sample	Temp. [°C]	Czas Time [min]	MeIQ	4,8-DiMeIQ _x	PhIP	IQ	Harman	Norharman	Źródło Source
Mikrofalowanie / Microwaving									
Bekon Bacon	-	3	<0,2	<0,2	<0,2 do 3,1	<0,2	nd	3,3	[15] [45]
Gotowanie / Cooking									
Pierś z kurczęcia Chicken breast	100	23	-	-	n.d.	-	0,1	nd	[18]
Głębokie smażenie / Deep-frying									
Udka z kurczęcia Chicken legs	100 ÷ 200	5 ÷ 15	nd-0,51*	nd-0,78*	nd-2,81*	0,09 - 0,51*	nd - 2,11*	nd - 1,31*	[10]
Pierś z kurczęcia Chicken breast	160	11	-	śladowe traces	śladowe traces	-	0,5	0,3	[51]
Smażenie na patelni / Pan-frying									
Stek wołowy Beef steak	190 ÷ 230	10 ÷ 15	-	-	nd-1,09	-	0,15 ÷ 0,83	0,50 ÷ 2,60	[2]
Stek wołowy Beef steak	180 ÷ 210	4	nd	1,27	6,99	nd	5,9	21,2	[53]
Pierś z indyka Turkey breast	190	12	4,4	-	nd	-	12,0	16,5	[9]

c.d. Tab. 2.

Kiełbasa wieprzowa Pork sausage	160	6	0,2	0,2	0,1	0,1	-	-	[25]
Pieczenie w piekarniku / Oven-broiling									
Wołowina Beef	175 ÷ 185	4 ÷ 24	-	-	-	-	4,03	5,0	[54]
Poławdwa wołowa Beef sirloin	200	40	nq	0,36	1,04	nq	-	-	[15]
Grilowanie / Grilling									
Bekon Bacon	230	15	-	0,94	4,97	0,42	-	-	[17]
Kiełbasa wieprzowa Pork sausage	200 ÷ 240	7 ÷ 12	-	-	-	-	0,10 ÷ 1,16	0,57 ÷ 4,20	[2]
Kotlet schabowy Pork chop	15	190 ÷ 200	1,8	7,5	2,1	1,1	-	-	[57]
Stek barani Mutton steak	11	175 ÷ 200	<0,04	1,8	5,8	<0,04	7,2	9,1	[8]

nd – niewykrywalne / non-detectable; nq – wykryty, ale poniżej loq/ detected, but below loq

Identyfikacja i oznaczanie wybranych HCA w produktach spożywczych

Pierwsze prace dotyczące ilościowej analizy HCA w produktach mięsnych i rybach, najczęściej wykonywane technikami chromatograficznymi, pochodzą z lat 80. XX w. Wcześniejsze informacje na ten temat dotyczą głównie aktywności mutagennej wynikającej z testu Ames [3]. Wykonanie oznaczenia HCA jest trudne z uwagi na skomplikowaną matrycę biologiczną, jaką stanowi żywność, niewielkie stężenia HCA oraz konieczność wykonywania wieloetapowej ekstrakcji omawianych związków. Opracowuje się więc nowe lub modyfikuje już istniejące metody izolacji, oczyszczania i analizy HCA w produktach spożywczych. Nadal powszechną techniką oznaczania omawianych związków chemicznych w żywności jest wysokosprawną chromatografię cieczową (HPLC) z detekcją UV, fluorescencyjną, DAD (ang. *Diode Array Detector*), elektrochemiczną lub w połączeniu ze spektrometrią masową (MS), a także chromatografię gazową (GC) sprzężoną z detektorem MS. Wykonano również prace, w których do analizy HCA zastosowano elektroforezę kapilarną (CE), a także metody immunoenzymatyczne (np. ELISA) [5, 38].

Pierwszym etapem analizy HCA w żywności jest oczyszczenie, a następnie izolacja analitów. Zwykle niezbędne jest wytrącenie białek podczas homogenizacji np. z metanolem albo dichlorometanem lub poprzez regulację pH. Można je również zhy-

drolizować, wykorzystując do tego celu preparaty enzymów proteolitycznych [12, 38]. Pierwszą ekstrakcję przeprowadza się w układzie ciecz – ciecz z wykorzystaniem jako ekstrahenta dichlorometanu, eteru etylowego lub octanu etylu. Ekstrakcję ciecz – ciało stałe można przeprowadzić przy użyciu żywicy XAD-2 (kopolimer styrenu i diwinylobenzenu) albo wykorzystując do tego celu włókna bawełniane lub ze sztucznego jedwabiu [43]. Zwyczajowo stosuje się jednak procedurę zaproponowaną przez Grossa i Grütera [14], wykorzystującą kolumnienki wypełnione ziemią okrzemkową, a dalsze oczyszczanie prowadzi się w kolumnenkach z kwasem propylosulfonowym (PRS), krzemionką (C18) lub wymiennikami jonowymi (SCX). Metoda ta jest najczęściej wybierana do izolacji HCA z żywności. Stosuje się również bardziej zaawansowane metody izolacji, np. połączenie ekstrakcji wspomaganą mikrofalami z mikroekstrakcją ciecz – ciecz [31], jednak technika ta wymaga specjalistycznej aparatury i jest droga.

Najbardziej popularną techniką analizy jakościowej i ilościowej jest wysoko-sprawna chromatografia cieczowa z detekcją spektrofotometryczną i fluorescencyjną [5, 24, 28, 38]. Przykładem wykorzystania układu HPLC-DAD do oznaczania sześciu związków z grupy polarnych HCA (DMIP, IQ, 8-MeIQx, MeIQ, 4,8-DiMeIQx, PhIP) w mięsie jest praca Janoszki i wsp. [24]. Analizie poddano mięso wieprzowe usmażone na patelni bez dodatku tłuszczu w temp. 170 °C, do którego dodano następnie wodę i duszono w temp. 95 ÷ 98 °C. Sprawdzone też zawartość amin w pozostałości po przygotowywanym mięsie. Do ekstrakcji analitów zastosowano zmodyfikowaną metodę Grossa i Grütera, a separację prowadzono za pomocą kolumny TSK-gel ODS 80-T_M, używając jako eluenta mieszaniny buforu fosforanowego o pH 3,3 z dodatkiem trietyloaminy oraz acetonitrylu. Chromatogramy rejestrowano przy wybranych długościach fal: 227, 253, 263 i 321 nm. Wyznaczone limity wykrywalności aminoazarenów wynosiły od 0,4 do 4 ng/g, natomiast wynik oznaczania wszystkich HCA w mięsie i powstałym podczas przygotowywania sosie wynosił odpowiednio: 18,00 i 15,08 ng/g.

Chromatografię cieczową sprzężoną z detektorem mas zastosowano z kolei do rozdzielania i analizy wybranych HCA (A α C, MeA α C, PhIP, harman i norharman) wyekstrahowanych ze skóry różnych mięs grillowanych przez duńskich konsumentów w warunkach domowych [1]. Anality wyizolowane z próbek za pomocą włókna szklanego rozdzielono w kolumnie SB-Phenyl układu LC-MS/MS. Do separacji oznaczanych związków użyto mieszaniny octanu amonu i acetonitrylu w przepływie gradientowym. W wyniku przeprowadzonej analizy oznaczono tylko PhIP, harman i norharman, natomiast stężenia A α C i MeA α C były poniżej granic wykrywalności.

W niniejszej pracy przedstawiono tylko przykładowe techniki analityczne, z których proponowana przez Janoszkę i wsp. [24] jest obecnie najczęściej stosowana w badaniach naukowych.

Podsumowanie

Produkty mięsne stanowią istotny składnik diety człowieka. Oprócz oczywistych walorów smakowo-odżywczych, jakie wiążą się z konsumpcją mięsa, może ono stanowić źródło wielu potencjalnych zagrożeń, w tym także o charakterze mutagennym i kancerogennym. Heterocykliczne aminy aromatyczne zaliczyć można do związków o takim działaniu, w związku z tym celowe jest zgłębianie wiedzy nad wpływem obróbki termicznej na ich zawartość. Dotychczasowe badania pozwoliły stwierdzić, że w standardowo przyrządzanych produktach mięsnych stężenie heterocyklicznych amin aromatycznych mieści się w zakresie $1 \div 500$ ng/g, lecz z reguły nie przekracza 100 ng/g [34]. Zawartość tych szkodliwych związków jest bardzo niewielka w produktach powstających podczas niskotemperaturowej obróbki termicznej, a zwiększa się ze wzrostem temperatury przygotowywania posiłków.

Niniejsza praca powstała w ramach dotacji celowej na prowadzenie badań naukowych lub prac rozwojowych oraz zadań z nimi związanych, służących rozwojowi młodych naukowców oraz uczestników studiów doktoranckich finansowanych w trybie konkursowym Wydziału Technologii Żywności Uniwersytetu Rolniczego im. H. Kołłątaja w Krakowie

Literatura

- [1] Aaslyng M.D., Duedahl-Olesen L., Jensen K., Meinert L.: Content of heterocyclic amines and polycyclic aromatic hydrocarbons in pork, beef and chicken barbecued at home by Danish consumers. *Meat Sci.*, 2013, **93** (1), 85-91.
- [2] Abdulkarim B.G., Smith J.S.: Heterocyclic amines in fresh and processed meat products. *J. Agric. Food Chem.*, 1998, **46** (11), 4680-4687.
- [3] Ames B., Lee J., Durston W.: An Improved Bacterial Test System for the detection. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 1973, **70** (3), 782-786.
- [4] American Institute for Cancer Research. World Cancer Research Fund and American Institute for Cancer Research (eds.). *Food, Nutrition and the Prevention of Cancer: A Global Perspective* American Institute for Cancer Research, Washington, DC 1997.
- [5] Alaejos S.M., Ayala J.H., González V., Afonso A.M.: Analytical methods applied to the determination of heterocyclic aromatic amines in foods. *J. Chromatogr. B*, 2008, **862** (1-2), 15-42.
- [6] Alaejos M.S., Afonso A.M.: Factors that affect the content of heterocyclic aromatic amines in foods. *Compr. Rev. Food Sci. F*, 2011, **10** (2), 52-108.
- [7] Balgoh Z., Gray J.I., Gomaa E.A., Booren A.M.: Formation and inhibition of heterocyclic aromatic amines in fried ground beef patties. *Food Chem. Toxicol.*, 2000, **38** (5), 395-401.
- [8] Busquets R., Bordas M., Toribio F., Puignou L., Galceran M.T., Borgen E., Skog K.: Occurrence of heterocyclic amines in several home-cooked meat dishes of the Spanish diets. *J Chromatogr. B*, 2004, **802** (1), 79-86.
- [9] Brockstedt U., Pfau W.: Formation of 2-amino-carbolines in pan-fried poultry and 32P-postlabelling analysis of DNA adducts. *Z. Lebensm.,- Unters.,- Forsch. A*, 1998, **207** (6), 472-476.

- [10] Chiu C.P., Yang D.Y., Chen B.H.: Formation of heterocyclic amines in cooked chicken legs. *J. Food Protect.*, 1998, **61** (6), 712-719.
- [11] Costa M., Viegas O., Melo A., Petisca C., Pinho O.: Ferreira I.: Heterocyclic aromatic amine formation in barbecued Sardines (*Sardina pilchardus*) and Atlantic Salmon (*Salmo salar*). *J. Agric. Food Chem.*, 2009, **57** (8), 3173-3179.
- [12] Felton J.S., Knize M.G., Wood C., Wuebbles B.J., Healy S.K., Stuermer D.H., Bjeldanes L.F., Kimble B.J., Hatch F.T.: Isolation and characterization of new mutagens from fried ground beef. *Carcinogenesis*, 1984, **5** (1), 95-102.
- [13] Gibis M.: Effect of oil marinades with garlic, onion, and lemon juice on the formation of heterocyclic aromatic amines in fried beef patties. *J. Agric. Food Chem.*, 2007, **55** (25), 10240-10247.
- [14] Gross G.A., Gruter A.: Quantitation of mutagenic/carcinogenic heterocyclic aromatic amines in food products. *J. Chromatogr.*, 1992, **592** (1-2), 271-278.
- [15] Gross G.A., Turesky R.J., Fay L.B., Stillwell W.G., Skipper P.L., Tannenbaum S.R.: Heterocyclic aromatic amine formation in grilled bacon, beef and fish, and in grill scrapings. *Carcinogenesis*, 1993, **14** (11), 2313-2318.
- [16] Guo H., Pan H., Wang Z., Chen L., Zhang D.: Simultaneous determination of nine heterocyclic aromatic amines in mutton products by solid phase extraction-high performance liquid chromatography. *Se Pu* (Chinese J. Chromatogr.), 2012, **30** (10), 1074-1080.
- [17] Guy P.A., Gremaud E., Richoz J., Turesky R.J.: Quantitative analysis of heterocyclic aromatic amines in cooked meat using liquid-chromatography-atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr.*, 2000, **883** (1-2), 89-102.
- [18] Holder C.L., Preece S.W., Conway S.C., Pu Y.M., Doerge D.R.: Quantification of heterocyclic amine carcinogens in cooked meats using isotope dilution liquid chromatography/atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 1997, **11** (5), 1667-1672.
- [19] IARC, Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic amines and mycotoxins. IARC. 1993, **56**, 165-242.
- [20] Iwasaki M., Kataoka H., Ishihara J., Takachi R., Hamada G.S., Sharma S., Le Marchand L., Tsugane S.: Heterocyclic amines content of meat and fish cooked by Brazilian methods. *J. Food Compos. Anal.*, 2010, **23** (1), 61-69.
- [21] Jägerstad M., Skog K., Arvidsson P., Solyakov A.: Chemistry, formation and occurrence of genotoxic heterocyclic amines identified in model systems and cooked foods. *Z. Lebensm.-Unters.-Forsch.* 1998, **207** (6), 419-427.
- [22] Janoszka B.: Heterocyclic aromatic amines (HAA) in food: Content of aminoazaarenes in protein-rich food and estimated human exposure to those compounds. *Bromat. Chem. Toxicol.*, 2006, **39** (4), 345-352.
- [23] Janoszka, B.: Heterocykliczne aromatyczne aminy w żywności: wpływ antyoksydantów i dodatków pochodzenia roślinnego na stężenie aminoazaarenów w żywności wysokobiałkowej. *Bromat. Chem. Toxicol.*, 2006, **39** (4), 353-360.
- [24] Janoszka B., Błaszczuk U., Damasiewicz-Bodzek A., Sajewicz M.: Analysis of heterocyclic amines (HAs) in pan-fried pork meat and its gravy by liquid chromatography with diode array detection. *Food Chem.*, 2009, **113** (4), 1188-1196.
- [25] Johansson M.A.E., Jägerstad M.: Occurrence of mutagenic/carcinogenic heterocyclic amines in meat and fish products, including pan residues, prepared under domestic conditions. *Carcinogenesis*, 1994, **15** (8), 1511-1518.
- [26] Johansson M.A.E., Jägerstad M.: Influence of pro- and antioxidants on the formation of mutagenic-carcinogenic heterocyclic amines in a model system. *Food Chem.*, 1996, **56** (1), 69-75.

- [27] Kato T., Harashima T., Moriya N., Kikugawa K., Hiramoto K.: Formation of the mutagenic/carcinogenic imidazoquinoxaline - type heterocyclic amines through the unstable free radical Maillard intermediates and its inhibition by phenolic antioxidants. *Carcinogenesis*, 1996, **17** (11), 2469-2476.
- [28] Knize M.G., Salmon C.P., Hopmans E.C., Felton J.S.: Analysis of foods for heterocyclic aromatic amine carcinogens by solid phase extraction and high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*, 1997, **763** (1-2), 179-185.
- [29] Krul C., Luiten-Schuite A., Baandagter R., Verhagen H., Mohn G., Feron V., Havenaar R.: Application of a dynamic in vitro gastrointestinal tract model to study the availability of food mutagens, using heterocyclic aromatic amines as model compounds. *Food Chem. Toxicol.*, 2000, **38** (9), 783-792.
- [30] Liao G.Z., Wang G.Y., Xu X.L., Zhou G.H.: Effect of cooking methods on the formation of heterocyclic aromatic amines in chicken and duck breast. *Meat Sci.*, 2010, **85** (1), 149-154.
- [31] Mesa L.B.A., Padro J.M., Reta M.: Analysis of non-polar heterocyclic aromatic amines in beef burgers by using microwave-assisted extraction and dispersive liquid-ionic liquid microextraction. *Food Chem.*, 2013, **141** (3), 1694-1701.
- [32] Murkovic M.: Analysis of heterocyclic aromatic amines. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2007, **389** (1), 139-146.
- [33] Naccari C., Galceran M.T., Moyano E., Cristani M., Siracusa L., Trombetta D.: Presence of heterocyclic aromatic amines (HAs) in smoked "Provola" cheese from Calabria (Italy). *Food Chem. Toxicol.*, 2009, **47** (2), 321-327.
- [34] Nowak A., Libudzisz Z.: Karcynogeny w przewodzie pokarmowym człowieka. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **4** (59), 9-25.
- [35] NTP Report on Carcinogens. Selected heterocyclic amines. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. Natl. Toxicology Program. Eleventh Edition, 2004, pp. 135-138.
- [36] Oguri A., Suda M., Totsuka Y., Sugimura T., Wakabayashi K.: Inhibitory effects of antioxidants on formation of heterocyclic amines. *Mutat. Res-Fund. Mol M*, 1998, **402** (1-2), 237-245.
- [37] Oz F., Kaya M.: The inhibitory effect of black pepper on formation of heterocyclic aromatic amines in high-fat meatball. *Food Control.*, 2011, **22** (3-4), 596-600.
- [38] Pais P., Knize M.G.: Chromatographic and related techniques for the determination of aromatic heterocyclic amines in foods. *J. Chromatogr. B*, 2000, **747** (1-2), 139-69.
- [39] Puangsombat K., Gadgil P., Houser T.A., Hunt M.C., Smith J.S.: Occurrence of heterocyclic amines in cooked meat products. *Meat Sci.*, 2012, **90** (3), 739-746.
- [40] Quelhas I., Petisca C., Viegas O., Melo A., Pinho O., Ferreira I.: Effect of green tea marinades on the formation of heterocyclic aromatic amines and sensory quality of pan-fried beef. *Food Chem.*, 2010, **122** (1), 98-104.
- [41] Ruan E.D., Juárez M., Thacker R., Yang X., Dugan M.E., Aalhus J.L.: Dietary vitamin E effects on the formation of heterocyclic amines in grilled lean beef. *Meat Sci.*, 2014, **96** (2), 849-853.
- [42] Salmon C.P., Knize M.G., Felton J.S.: Effects of marinating on heterocyclic amine carcinogen formation in grilled chicken. *Food Chem. Toxicol.*, 1997, **35** (2), 433-441.
- [43] Schwarzenbach R., Gubler D.: Detection of heterocyclic aromatic amines in food flavours. *J. Chromatogr.*, 1992, **624** (1-2), 491-495.
- [44] Sinha R., Rothman N., Brown E.D., Salmon C.P., Knize M.G., Swanson C.A., Rossi S.C., Mark S.D., Levander O.A., Felton J.S.: High concentrations of the carcinogen 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b] pyridine (PhIP) occur in chicken but are dependent on the cooking method. *Cancer Res.*, 1995, **55** (20), 4516-4519.

- [45] Sinha R., Knize M.G., Salmon C.P., Brown E.D., Rhodes D., Felton J.S., Levander O.A., Rothman N.: Heterocyclic amine content of pork products cooked by different methods and to varying degrees of doneness. *Food Chem. Toxicol.*, 1998, **36** (4), 289-297.
- [46] Sinha R., Rothman N.: Role of well-done, grilled red meat, heterocyclic amines (HCAs) in the etiology of human cancer. *Cancer Lett.*, 1999, **143** (2), 189-194.
- [47] Skog K., Augustsson K., Steineck G., Stenberg M., Jägerstad M.: Polar and non-polar heterocyclic amines in cooked fish and meat products and their corresponding pan residues. *Food Chem. Toxicol.*, 1997, **35** (6), 555-565.
- [48] Skog K.I., Johansson M.A.E., Jägerstad M.I.: Carcinogenic heterocyclic amines in model systems and cooked foods: A review on formation, occurrence and intake. *Food Chem. Toxicol.*, 1998, **36** (9-10), 879-896.
- [49] Skog K., Solyakov A.: Heterocyclic amines in poultry products: a literature review. *Food Chem. Toxicol.*, 2002, **40** (8), 1213-1221.
- [50] Skog K., Eneroth A., Svanberg M.: Effects of different cooking methods on the formation of food mutagens in meat. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2003, **38** (3), 313-323.
- [51] Solyakov A., Skog K.: Screening for heterocyclic amines in chicken cooked in various ways. *Food Chem. Toxicol.*, 2002, **40** (8), 1205-1211.
- [52] Thiébaud H.P., Knize M.G., Kuzmicky P.A., Hsieh D.P., Felton J.S.: Airborne mutagens produced by frying beef, pork and a soy-based food. *Food Chem. Toxicol.*, 1995, **33** (10), 821-828.
- [53] Toribio F., Busquets R., Puignou L., Galceran M.T.: Heterocyclic amines in griddled beef steak analyzed using a single extract clean-up procedure. *Food Chem. Toxicol.*, 2007, **45** (4), 667-675.
- [54] Totsuka Y., Ushiyama H., Ishihara J., Sinha R., Goto S., Sugimura T., Wakabayashi K.: Quantification of the co-mutagenic beta-carbolines, norharman and harman, in cigarette smoke condensates and cooked foods. *Cancer Lett.*, 1999, **143** (2), 139-143.
- [55] Turesky R.J., Taylor J., Schanackenberg L., Freeman J.P., Holland R.D.: Quantitation of carcinogenic heterocyclic aromatic amines and detection of novel heterocyclic aromatic amines in cooked meats and grill scrapings by HPLC/ESI-MS. *J. Agric. Food Chem.*, 2005, **53** (8), 3248-3258.
- [56] Turesky R.J.: Formation and biochemistry of carcinogenic heterocyclic aromatic amines in cooked meats. *Toxicol. Lett.*, 2007, **168** (3), 219-227.
- [57] Warzecha L., Janoszka B., Blaszczyk U., Srozyk M., Bodzek D., Dobosz C.: Determination of heterocyclic aromatic amines (HAs) content in samples of household-prepared meat dishes. *J. Chromatogr B*, 2004, **802** (1), 95-106.

HETEROCYCLIC AROMATIC AMINES AS CHEMICAL HAZARD IN THERMALLY PROCESSED MEAT PRODUCTS

S u m m a r y

Some food processing methods can cause many chemical compounds to form in food, including mutagenic and carcinogenic heterocyclic aromatic amines (HAA). Those substances are formed during the thermal treatment of products with a high content of protein, whereby the quantity and the type thereof are mainly dependent on the temperature and, sometimes, on the type of process. The paper presents the general profile of HCAs and classes they are divided into based on their chemical structure and formation conditions. Furthermore, various thermal processing methods of meat were discussed in terms of the formation of heterocyclic aromatic amines and methods to inhibit those formation processes, because there is a correlation between frequent consumption of processed meat and cancer incidences in humans. The last

part of the paper is a review of analytical techniques used to purify and extract samples containing the compounds listed as well as the most popular techniques used to qualitatively and quantitatively analyze them.

Key words: Heterocyclic Aromatic Amines (HAA), thermal processing of food, meat preserves, mutagens, carcinogens ☒

BARBARA SIONEK, WIESŁAW PRZYBYLSKI

WPLYW CZYNNIKÓW ŚRODOWISKOWYCH NA POZIOM GLIKOGENU W MIĘŚNIACH ZWIERZĄT RZEŹNYCH

Streszczenie

Występowanie mięsa wadliwego jest przyczyną strat ekonomicznych w branży mięsnej. Poubojowe przemiany biochemiczne zachodzące w mięśniach zależą w dużej mierze od zawartości glikogenu. Nierozłożona *post mortem* część glikogenu, która pozostaje w mięśniach, nosi nazwę glikogenu resztkowego. Glikogen ten oddziałuje na jakość mięsa. W pracy przedstawiono wpływ wybranych czynników środowiskowych na zasoby glikogenu w mięśniach zwierząt rzeźnych. Omówiono budowę i rolę glikogenu w kształtowaniu się jakości mięsa. Opiszano czynniki wpływające na przebieg glikogenolizy *post mortem*. Szczegółowo omówiono wpływ aktywności fizycznej, żywienia, głodówki przedubojowej, transportu i postępowania ze zwierzętami przed ubojem na poziom glikogenu w mięśniach. Uwzględniono zagadnienia dotyczące stresu psychicznego i fizycznego na różnych etapach postępowania przedubojowego i ich oddziaływanie na metabolizm mięśni i zapasy glikogenu. Dodatkowo przedstawiono wpływ szybkości schładzania tusz po uboju na przebieg i zasięg poubojowej glikogenolizy. Osiągnięcie wyższej jakości mięsa wymaga wielokierunkowych działań w zakresie doboru genetycznego, optymalizacji warunków hodowli i przedubojowego obrotu zwierząt.

Słowa kluczowe: przemiany poubojowe, glikogenoliza, glikogen resztkowy, pH, jakość mięsa

Wprowadzenie

Rozwój genetyki i technik hodowlanych przyczynił się do wzrostu mięsności zwierząt rzeźnych, co nie zawsze sprzyja zachowaniu wysokiej jakości surowca. Prowadzone są prace w kierunku wyeliminowania mięsa wadliwego, ale równocześnie utrzymania lub podniesienia mięsności. Dużą wartość mają badania, których celem jest określenie czynników środowiskowych i ocena ich wpływu na jakość mięsa.

Dr inż. B. Sionek, 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, 02-776 Warszawa. Kontakt: barbara_sionek@sggw.pl

O jakości wieprzowiny w 25 ÷ 45 % decydują czynniki genetyczne [28], natomiast wpływ czynników środowiskowych ocenia się na 55 ÷ 75 % [26]. Spośród tych drugich największe znaczenie mają takie czynniki, jak: aktywność fizyczna, żywienie, głodówka przedubojowa, transport, ubój i szybkość wychładzania półtuszy po uboju. Działania mające na celu podwyższenie jakości mięsa powinny uwzględniać odpowiedni dobór genetyczny zwierząt oraz poprawę warunków hodowli i postępowania przedubojowego. Pożądany wzrost mięsności niejednokrotnie związany jest z obniżeniem jakości mięsa. Występowanie mięsa bladego, miękkiego i wodnistego, klasyfikowanego jako PSE (ang. *pale, soft, exudative*) lub o ciemnej barwie, twardej konsystencji i suchego, klasyfikowanego jako DFD (ang. *dark, firm, dry*) oraz mięsa kwaśnego stanowi istotny problem ekonomiczny. Zwłaszcza, że wady jakościowe dotyczą głównie najbardziej wartościowych mięśni [27]. W badaniach Przybylskiego i wsp. [40], przeprowadzonych na 390 tuszach wieprzowych, stwierdzono, że w Polsce częstotliwość występowania mięsa wadliwego wynosiła odpowiednio: PSE – 2,31 %, częściowe PSE – 5,13 %, mięso kwaśne – 5,38 % i DFD – 2,56 % [40].

Poubojowe przemiany biochemiczne mięsa wynikają z rozpadu związków energetycznych, głównie glikogenu. Analiza zawartości glikogenu w mięśniach, poznanie czynników modyfikujących jego poziom zarówno w okresie przedubojowym, jak i *post mortem*, mogą przyczynić się do ograniczenia wpływu niekorzystnych czynników. Ważnym i obiecującym kierunkiem jest określenie znaczenia glikogenu resztkowego dla jakości mięsa i wyrobów z niego wyprodukowanych.

Na podstawie literatury przedmiotu dokonano analizy i oceny głównych czynników środowiskowych wpływających na poziom glikogenu w mięsie zwierząt rzeźnych.

Znaczenie glikogenu

Glikogen jest głównym materiałem zapasowym występującym w mięśniach i w wątrobie organizmów zwierzęcych [41]. Jego zawartość waha się od 0,3 do 2 % [35]. Glikogen występuje w dwóch formach jako: proglukogen i makroglukogen. Makroglukogen jest rozgałęzionym polimerem glukozy o masie cząsteczkowej 10^7 Da, zawierającym mało białka (ok. 1 %), rozpuszczalnym w kwasach. Proglukogen ma masę cząsteczkową 400 000 Da, zawiera ok. 10 % białka, nie rozpuszcza się w kwasach [1]. Jego rozpad zachodzi w warunkach beztlenowych, np. *post mortem* [43]. W mięśniach świń proglukogen i makroglukogen występują w różnych proporcjach. Przyczynami różnicowania są: genotyp, typ włókien mięśniowych, wysiłek fizyczny [10]. Proglukogen jest łatwo dostępnym źródłem glikogenu, natomiast makroglukogen stanowi pulę rezerwową.

Przedubojowa zawartość glikogenu ma wpływ zarówno na cechy mięsa kulinarnego, jak również przeznaczonego do przetwórstwa. Podstawowymi parametrami mięsa, będącymi konsekwencją przemian poubojowych są: dynamika i zakres zmian war-

tości pH oraz określona zdolność wiązania wody (wodochłonność). Intensywność przemian glikolitycznych zależy od początkowego poziomu glikogenu w tkance mięśniowej *in vivo* oraz zasobów glikolityczno-energetycznych po uboju [30]. Dobrym i prostym wskaźnikiem jakości mięsa jest pomiar pH po 45 min i po 24 h *post mortem*, ponieważ umożliwia on wyodrębnienie mięsa wadliwego. Wartość pH określa pośrednio stopień i zakres przemian glikolitycznych.

Ocena zawartości glikogenu w mięśniach *in vivo* oraz *post mortem* następuje z wieloma trudnościami. W 1985 roku Monin i Sellier [33] zaproponowali metodę określenia zawartości glikogenu w mięśniach jako sumę wszystkich komponentów, z których po uboju powstaje kwas mlekowy. Wprowadzono termin „potencjał glikolityczny” (ang. *glycolytic potential*, GP), który jest wyrażany w mikromolach kwasu mlekowego na 1 g tkanki mięśniowej. Potencjał glikolityczny wyliczany jest z równania:

$$\text{Potencjał glikolityczny} = 2 \times ([\text{glikogen}] + [\text{glukoza-6-fosforan}] + [\text{glukoza}]) + \text{kwas mlekowy.}$$

Zawartość mięśniowego glikogenu zależy od czynników środowiskowych, które można podzielić na przedubojowe i poubojowe. Do przedubojowych należą: żywienie, warunki hodowlane, aktywność fizyczna, warunki transportu, czas i warunki przebywania w magazynie żywca, przedubojowa głodówka i sposób uboju. Do czynników poubojowych należą m.in. szybkość schładzania tusz, temperatura ich przechowywania. Wpływ czynników środowiskowych na poziom glikogenu mięśniowego zwierząt rzeźnych został omówiony w kolejnych częściach pracy.

Glikogen resztkowy

Nierozłożona *post mortem* część glikogenu, która pozostaje w mięśniach nosi nazwę glikogenu resztkowego (ang. *residual glycogen*). Występowanie glikogenu resztkowego jest wynikiem spowolnienia, a następnie zatrzymania procesu glikogenolizy beztlenowej. Fernandez i wsp. [15] oznaczyli zawartość glikogenu resztkowego w mięśniach świń na poziomie $0 \div 78 \mu\text{mol/g}$, a Przybylski i wsp. [40] na poziomie $0 \div 50 \mu\text{mol/g}$. Immonen i Puolanne [22] stwierdzili, że w mięsie wołowym, którego pH_{24} jest niższe niż 5,75, pozostaje zawsze glikogen resztkowy, którego zawartość waha się od 10 do 85 mmol/kg mięsa. Obecność glikogenu resztkowego ma negatywny wpływ na jakość technologiczną mięsa [40].

Zawartość glikogenu resztkowego w mięsie została oznaczona przez Bee i wsp. [5] po 24 h od uboju, na podstawie zawartości glikogenu, glukozy i glukoza-6-fosforanu. W mięśniu najdłuższym grzbietu (LD – *m. longissimus dorsi*) stwierdzono o 13 $\mu\text{mol/g}$ więcej glikogenu resztkowego w porównaniu z mięśniem półścięgnistym. Autorzy tłumaczą zaobserwowane różnice inaktywacją GDE, spowodowaną spadkiem temperatury mięśni w 60. minucie po uboju poniżej 35 °C i w 330. minucie poniżej 15 °C [5].

Zasięg glikogenolizy *post mortem* zależy od zapasów glikogenu w momencie uboju [54]. Czynniki hamujące przebieg tego procesu przedstawiono w tab. 1.

Tabela 1. Czynniki mające wpływ na glikogenolizę *post mortem*
Table 1. Factors to impact *post-mortem* glycolysis

Czynnik Factor	Zakres oddziaływania Scope of effects	Źródło Source
pH < 5,4	Zanik aktywności enzymów glikolitycznych Activity of glycolytic enzymes disappears	[44]
Spadek temperatury Temperature drop	Obniżenie aktywności enzymu usuwającego rozgałęzienia (GDE –transferazy alfa-1,6-glukozydowej) Activity of debranching enzyme (GDE - <i>transferase</i> α -1,6-glucosidase) is reduced	[31]
Rodzaj mięśni Type of muscle	Obniżenie aktywności GDE jest szybsze w mięśniach czerwonych niż w białych Decrease in GDE activity is more pronounced in red muscles than in white muscles	[31]
Brak AMP Lack of AMP	AMP jest kofaktorem enzymów glikolitycznych i glikogenolitycznych w mięśniach <i>post mortem</i> AMP is a cofactor of glycolytic and glycogenolytic enzymes in <i>post-mortem</i> muscles	[47]
Struktura cząsteczki glikogenu Structure of glycogen molecule	Limitowanie rozkładu przez fosforylazę na skutek dużego upakowania glukozy Degradation by phosphorylase is limited owing to densely packed glucose	[22]

Rozpad glikogenu jest procesem zależnym głównie od dwóch enzymów: fosforylazy glikogenowej i transferazy α -1,6-glukozydowej, nazywanej enzymem usuwającym rozgałęzienia (ang. *glycogen debranching enzyme*, GDE). W początkowej fazie po uboju glikogen ulega szybkiemu rozpadowi, później procesy stają się wolniejsze, co spowodowane jest m.in. zmieniającą się aktywnością enzymów glikogenolitycznych. Aktywność GDE obniża się znacznie, gdy temperatura mięśni wynosi poniżej 35 °C i w temp. 15 °C enzym ten jest praktycznie nieaktywny [31].

Aktywność fizyczna

Aktywność fizyczna świń przyczynia się do zwiększenia zawartości glikogenu mięśniowego. Wzrost ten jest obserwowany głównie w mięśniach intensywnie pracujących. Porównanie zwierząt poddanych regularnej aktywności fizycznej z pozostałymi wykazało niewielkie różnice w zakresie pH₂₄ tkanki mięśniowej i pozostałych cech

jakości mięsa. Brak efektu został wyjaśniony dominującym oddziaływaniem stresu przedubojowego, który zniwelował wpływ ćwiczeń na zapasy glikogenu [32]. Związany z wysiłkiem wzrost temperatury w odpowiednich grupach mięśniowych prowadzi do szybkiego obniżenia pH po uboju i do zwiększenia ilości wycieku naturalnego [53]. W badaniach Younga i wsp. [56] oceniono wpływ wysiłku na zawartość glikogenu w mięsie wieprzowym. Świnie poddano 27-minutowemu wysiłkowi na bieżni. W pierwszej grupie nie zastosowano odpoczynku przed ubojem, w grupie drugiej i trzeciej zastosowano odpoczynek trwający odpowiednio: 1 i 3 h. W porównaniu z grupą kontrolną (bez wysiłku) w mięsie świń poddanych wysiłkowi stwierdzono zmniejszenie całkowitego poziomu glikogenu. Zawartość proglukogenu w mięsie świń, którym zaaplikowano odpoczynek, w pierwszej godzinie *post mortem* uległa zmniejszeniu o $17 \div 20$ % w mięśniu najdłuższym grzbietu i o $25 \div 31$ % w mięśniu dwugłowym uda, w porównaniu z grupą kontrolną. W takich samych mięśniach świń z grupy kontrolnej poziom glikogenu zmniejszył się odpowiednio: o 4 i 12 %. Wyniki te wskazują na wykorzystywanie proglukogenu w czasie wysiłku i w pierwszej godzinie *post mortem*, jako głównego źródła energii [56].

Żywienie

Zawartość glikogenu w momencie uboju zależy od wcześniejszego żywienia zwierząt [43]. Już w latach 60. XX w. Sayre i wsp. [45] zaobserwowali zależność pomiędzy zawartością cukrów prostych w diecie a poziomem glikogenu w wieprzowinie po uboju zwierząt. Rosenvold i wsp. [43] porównali tradycyjne żywienie świń z zastosowaniem na trzy tygodnie przed ubojem diety z małą zawartością łatwo przyswajalnych węglowodanów. Stwierdzili, że modyfikacja diety polegająca na zmniejszeniu zawartości łatwo strawnych węglowodanów i zwiększeniu białka i/lub tłuszczów spowodowała obniżenie poziomu glikogenu, nie wpływając jednocześnie na przyrost masy ciała zwierząt [43].

Żywienie ma wpływ nie tylko na całkowitą zawartość glikogenu, ale też na pulę makroglikogenu i proglukogenu. Rosenvold i wsp. [42] badali zależność między żywieniem świń a zawartością makroglikogenu i proglukogenu w mięśniu najdłuższym grzbietu. Trzy tygodnie przed ubojem zastosowali dietę o małej zawartości strawnych węglowodanów (5 %) i dużej – tłuszczu (18 %), tzw. GLYRED i porównali ją z dietą standardową (49 % strawnych węglowodanów i 5 % tłuszczu). Oznaczenia wykonywano w 1., 21., 22. dniu stosowania diety oraz 45 min po uboju. W 21. dniu w grupie świń żywionych dietą GLYRED, w porównaniu z grupą kontrolną, całkowita zawartość glikogenu uległa zmniejszeniu, przy czym znacząca redukcja dotyczyła puli makroglikogenu. W 45. minucie po uboju w obu badanych grupach zwierząt stwierdzono zmniejszenie całkowitej zawartości glikogenu, przy czym znacząca redukcja dotyczyła puli proglukogenu [42]. Nieznacznie odmienne wyniki uzyskali Bee i wsp. [5], którzy

również badali wpływ zróżnicowanej zawartości węglowodanów w dawce pokarmowej na poziom glikogenu. Stwierdzili, że poziom makroglikogenu mierzony po 25 min od zakończenia uboju był niższy w mięsie świń żywionych dietą niskowęglowodanową, natomiast w okresie od 25. minuty do 24. godziny *post mortem* obie pule glikogenu uległy zmniejszeniu [5]. Można stwierdzić, że przy dużej zawartości proglukogenu jego katabolizm dominuje, a przy niskim poziomie katabolizmowi ulega również makroglikogen. Ponadto wyniki omówionych badań wskazują na istotny wpływ żywienia nie tylko na całkowitą zawartość glikogenu, ale też na jego dwie frakcje. *Post mortem* w mięśniach dominuje rozpad proglukogenu. Makroglikogen jest natomiast frakcją zapasową. Potwierdzają to badania na szczurach przeprowadzone przez Hansena i wsp. [20], którzy wykazali, że przy wzroście zapasów całkowitego glikogenu dominującą formą jest makroglikogen, podczas gdy przy małej ilości glikogenu przeważa proglukogen [20].

W przypadku bydła i innych przeżuwaczy opracowanie diety zwiększającej poziom glikogenu stanowi istotny problem [23]. Trudno jest przewidzieć efekt takiej diety, gdyż poziom glukozy we krwi jest zależny od wątrobowej glukoneogenezy i nie stwierdza się poposiłkowej glikemii. Immonen i wsp. [23] stosowali w żywieniu bydła dietę wysoko- i niskoenergetyczną. Stwierdzili, że dieta wysokoenergetyczna przyczynia się do niewielkiego wzrostu poziomu glikogenu. Efekt ten szczególnie ujawnił się w postaci ochrony przed drastycznym zmniejszeniem poziomu glikogenu mięśniowego przez czynniki stresogenne, takie jak: wysoka temperatura i transport. Wykazano również, że z bydła żywionego dietą o wysokim poziomie energii (dwa tygodnie przed ubojem) uzyskuje się mięso o korzystnej wartości pH. Umożliwia to ograniczenie częstości uzyskiwania wadliwej wołowiny (ang. *dark-cutting*) charakteryzującej się ciemnym zabarwieniem, obniżonymi walorami smakowymi, skróconą przydatnością do spożycia [23].

Głodówka przedubojowa

Przed ubojem poleca się głodzenie zwierząt trwające od 16 do 24 h. Powoduje to zmniejszenie stopnia wypełnienia przewodu pokarmowego, co sprzyja zmniejszeniu ryzyka mikrobiologicznego zakażenia w czasie wykonywania czynności ubojowych [13]. Głodzenie zmniejsza zapasy glikogenu niezbędnego do prawidłowego przebiegu procesu pośmiertnego stężenia i procesu dojrzewania mięsa. Z tego powodu nie dochodzi do odpowiedniego zakwaszenia mięsa, powstają małe ilości kwasu mlekowego, pH przyjmuje wartość 5,8 i powyżej. Niskie zakwaszenie tkanki mięśniowej w okresie dojrzewania wpływa na barwę, strukturę, smak i kruchość. W takich warunkach może powstać w mięsie wołowym wada DFD [25].

Po 40 dniach diety restrykcyjnej Chaosap i wsp. [10] stwierdzili w mięśniach świń wyższy poziom zarówno makroglikogenu, jak i proglukogenu, w stosunku do

świń żywionych bez ograniczeń [10]. Powrót do pełnego żywienia po dwóch dniach skutkowało wzrostem poziomu makroglikogenu, bez istotnej zmiany poziomu proglikogenu. Zastanawiający jest wzrost zawartości obu typów glikogenu w wyniku stosowania diety restrykcyjnej, co zostało wyjaśnione przez autorów metaboliczną adaptacją, polegającą na zwiększonej absorpcji jelitowej, wzroście glikemii oraz poziomu insuliny, zwiększeniu zapasów glikogenu z ograniczeniem jego katabolizmu [10].

Analiza wpływu głodówki przedubojowej powinna dotyczyć poziomu proglikogenu i makroglikogenu. Sterten i wsp. [50] wykazali, że najniższy poziom proglikogenu występował w mięśniach świń poddanych 26,5-godzinnej głodówce, w porównaniu z mięśniami świń głodzonymi 17,5 i 4 h [50]. Ocena znaczenia głodówki przedubojowej na zawartość glikogenu i jakość mięsa jest utrudniona również z powodu wpływu innych występujących czynników. Zmiany środowiska, wymieszanie zwierząt z różnych stad w transporcie i w zakładzie ubojowym oraz spowodowany tym stres, agresja oraz walki zwierząt aktywują korę nadnerczy i współczulny układ nerwowy (wzrost poziomu noradrenaliny i adrenaliny w osoczu krwi). W tym kontekście przedubojowa głodówka ma mniejsze znaczenie i ograniczony wpływ na mięśniowe zapasy glikogenu [34].

Transport

Transport jest nieuniknionym elementem gospodarki mięsnej. Warunki transportu wpływają na dobrostan zwierząt i jakość mięsa. Problemy dotyczące przewożenia zwierząt z gospodarstw do miejsc uboju, w tym humanitarnego postępowania z nimi, stanowią istotne zagadnienia, będące przedmiotem wielu prac badawczych. Czynniki stresowe występują w czasie załadunku, transportu i rozładunku. Są to: strach, obce zapachy, hałas, wibracje, toksyny, głodzenie, brak wody, zmiany temperatury i wilgotności, przepływ powietrza w środkach transportu, kontakt z obcymi osobami. Wymieszanie zwierząt z różnych stad prowadzi do agresji i walk o przywództwo lub przeżywanie, które skutkują dużymi wysiłkami mięśniowymi. Perez i wsp. [37] stwierdzili, że transport ma niekiedy większe znaczenie dla jakości mięsa niż genotyp i płeć zwierząt. Niekorzystne czynniki związane z transportem, poza ubytkiem masy, przyczyniają się do uzyskiwania mięsa o obniżonej jakości, klasyfikowanego jako DFD lub PSE [49].

Załadunek i rozładunek zwierząt należy do czynności szczególnie stresujących [54]. Correa i wsp. [11] wykazali, że traktowanie świń elektrycznymi zaganiaczami w czasie załadunku skutkowało, oprócz obrażeń, utratą glikogenu *post mortem*, co było przyczyną wzrostu pH wieprzowiny [11]. Perez i wsp. [37] porównali jakość mięsa świń transportowanych 15 min i 3 h. W mięsie świń transportowanych 15 min stwierdzono istotny wzrost poziomu kortyzolu i mleczanów. Wartość pH_{24} mięśnia najdłuższego klatki piersiowej (*m. longissimus thoracis*) oraz pH_{24} mięśnia półścięgnistego (*m. semimembranosus*) świń transportowanych 15 min była istotnie niższa, a mięso

charakteryzowało się niższą jakością. Wskazuje to na szybszy spadek pH *post mortem* i większą tendencję do powstawania mięsa PSE u świń transportowanych krócej. Przedłużony transport można porównać i zaliczyć do czasu odpoczynku w zakładzie ubojowym. W tym kontekście świnię przewożoną krócej wymagają dłuższego odpoczynku [37].

Koćwin-Podsiadła i wsp. [28, 29] wykazali, że podczas transportu świń do zakładów mięsnych na odległość 50 km, rezerwy glikogenu mięśniowego ulegają zmniejszeniu o około $36 \div 43 \mu\text{mol/g}$. W badaniach tych nie stwierdzono istotnych różnic między świniami odpornymi na stres a nosicielami genu wrażliwości na stres, co wskazuje na ich zbliżony metabolizm w warunkach stresogennych [29]. Z kolei Fernandez i wsp. [16] stwierdzili istotnie większe zużycie glikogenu w mięśniach świń wrażliwych na stres podczas obrotu przedubojowego ($60 \mu\text{mol/g}$) w porównaniu z mięśniami świń odpornych na stres ($40 \mu\text{mol/g}$) [16].

Istotnym czynnikiem oddziałującym na stan przewożonych zwierząt i jakość mięsa jest gęstość załadunku. Określa się ją w m^2 na 100 kg masy żywca. Guardia i wsp. [18] porównali godzinny przewóz świń. W mięsie zwierząt transportowanych z zastosowaniem wskaźnika gęstości załadunku $0,25 \text{ m}^2/100 \text{ kg}$ stwierdzono istotny wzrost udziału wieprzowiny z wadą PSE w porównaniu z grupą, w której zastosowano wskaźnik $0,5 \text{ m}^2/100 \text{ kg}$. W Unii Europejskiej zgodnie z rozporządzeniem Rady (WE) 1/2005 [58], w przypadku przewozu zwierząt trwającego ponad 3 h zalecany jest wskaźnik gęstości załadunku równy $0,425 \text{ m}^2/100 \text{ kg}$ żywca.

Postępowanie przedubojowe, ubój

W postępowaniu przedubojowym występują czynniki, które mogą przyczyniać się do obniżenia jakości mięsa. Zwierzęta podlegają stresowi psychicznemu (traktowanie przez ludzi, zmiana otoczenia, strach) i fizycznemu (głód, pragnienie, zmęczenie, okaleczenia, temperatura, wilgotność otoczenia). Wpływ czynników stresowych związany jest z pobytem w rzeźni i warunkami uboju [17]. Trudno rozdzielić oba typy stresu i precyzyjnie ocenić ich wpływ na jakość mięsa [38]. Stres związany z postępowaniem przedubojowym ma istotny wpływ na metabolizm mięśni i powoduje redukcję zapasów glikogenu. Bertol i wsp. [6] w mięsie świń głodzonych 24 h przed ubojem, poddanych oddziaływaniu czynników stresowych, stwierdzili obniżony poziom glikogenu w porównaniu z mięsem świń niepoddanych głodówce, a traktowanych w ten sam sposób. Przybylski i wsp. [41] wykazali, że średnio ok. $20 \div 30 \%$ glikogenu mięśniowego jest zużywane podczas stresu związanego z postępowaniem przedubojowym.

Wzajemny kontakt zwierząt pochodzących z różnych stad prowadzi do walk, które wpływają na zmniejszenie glikogenu i wzrost pH₂₄ w mięśniach. Ubój bezpośrednio po przyjeździe do rzeźni prowadzi do zwiększonej częstości występowania mięsa PSE [13]. Stres wywołany krótkotrwałym przebywaniem w rzeźni powoduje wzrost tempe-

ratury ciała i obniżenie pH mięśni jeszcze żywych zwierząt [12]. Można korzystnie wpłynąć na jakość mięsa poprzez zastosowanie odpowiedniego wypoczynku przedubojowego żywca. Wydłużenie tego czasu ponad 30 min do 1,5 h wiązało się ze wzrostem pH_{24} z 5,6 do 5,75 [5]. W mięśniach świń poddanych głodówce i przetrzymywanych w pomieszczeniach rzeźni przez 23 h Sterten i wsp. [50] stwierdzili wyższy poziom glikogenu w porównaniu z grupą, której czas pobytu wynosił 1,5 h. Pobyt zwierząt w magazynie żywca można traktować jako odpoczynek po stresie związanym z transportem, umożliwiającą uzyskanie równowagi metabolicznej.

W uboju świń stosuje się dwie metody: oszołomienie prądem elektrycznym i zastosowanie CO_2 . Obydwie metody przyczyniają się do wystąpienia stresu u zwierząt. Oszołomienie za pomocą prądu elektrycznego wpływa na wzrost poziomu katecholamin i zwiększoną aktywność mięśniową [51, 52]. W przypadku oszołomienia za pomocą CO_2 obserwuje się szybsze obniżenie pH i zmniejszoną zdolność wiązania wody w mięsie. Natomiast nie wykazano różnic pod względem pH_{24} pomiędzy obiema metodami [8, 9].

W przypadku bydła, w wyniku stresu związanego z postępowaniem w rzeźni dochodzi do wzrostu poziomu glikokortykosteroidów i katecholamin, co jest przyczyną intensywnej glikogenolizy powodującej wzrost poziomu glukozy i mleczanów we krwi [21, 48]. Poziom mleczanów został zaproponowany przez Brooma [7] jako kryterium fizycznego stresu i zmęczenia transportowanych zwierząt, a poziom glukozy – jako parametr wskazujący na obecność czynników stresowych [2, 3, 7]. Innymi wskaźnikami odzwierciedlającymi wpływ stresu przedubojowego są: obniżona zdolność wiązania wody i mniejsza kruchość mięsa [14]. Interwencje ograniczające poziom stresu u zwierząt mogą przyczynić się do poprawy jakości mięsa [38].

Szybkość schładzania tusz po uboju

Szybkość schładzania mięsa po uboju jest czynnikiem wpływającym na proces glikolizy *post mortem*. Hannula i wsp. [19] stwierdzili możliwość wystąpienia skurczu włókien mięśniowych, powodującego niekorzystny wzrost twardości mięsa, tzw. skurcz chłodniczy. Obserwowany jest wtedy, gdy temperatura mięśni wyniesie poniżej 7 °C, przy zachowanym ATP w mięsie. Może to mieć miejsce, gdy pH będzie się utrzymywało na poziomie wyższym aniżeli 5,7. Obniżenie temperatury z 40 do 4 °C wywołuje istotne obniżenie aktywności GDE i jest przyczyną spowolnienia glikogenolizy i glikolizy [55]. Potwierdzają to badania Zyberta i wsp. [57], którzy wykazali wpływ szokowego wychładzania półtuszy wieprzowych na spowolnienie poubojowej glikogenolizy, co znalazło swoje odzwierciedlenie w wyższej wartości końcowego pH [57]. Podobne wyniki w odniesieniu do wyższego pH w mięsie szokowo wychładzanych półtuszy wieprzowych uzyskali Josel i wsp. [24]. Ponadto szybkie schładzanie może powodować wystąpienie ciemnej obwódki „*heat ring*”, gdyż w pierwszej kolej-

ności oziębieniu ulegają powierzchniowe warstwy mięsa [36]. Beecher i wsp. [4] stwierdzili niższe pH mięśnia półścięgnistego, gdy temperatura przechowywania wynosiła 37 °C w porównaniu z 4 °C. Podobne rezultaty uzyskali Kyla-Puhju i wsp. [31], którzy stwierdzili brak aktywności GDE w temp. 25 °C w *m. masseter*, podczas gdy w *m. longissimus dorsi* obserwowano aktywność GDE. Świadczyć to może o tym, że w czerwonym mięśniu obniżenie temperatury wcześniej inaktywuje GDE, hamując tym samym glikogenolizę.

Podsumowanie

Na poziom glikogenu mięśniowego wpływają czynniki środowiskowe, takie jak: żywienie, warunki hodowlane, aktywność fizyczna, warunki transportu, czas i warunki przebywania w magazynie żywca, przedubojowa głodówka i sposób uboju. Do zwiększenia zawartości glikogenu mięśniowego przyczynia się regularna aktywność fizyczna zwierząt rzeźnych. Natomiast wysiłek przed ubojem wywołuje obniżenie całkowitego poziomu glikogenu. Zmniejszenie zapasów glikogenu można osiągnąć również poprzez głodzenie przedubojowe lub zastosowanie diety polegającej na zmniejszeniu zawartości łatwo strawnych węglowodanów. Podobny efekt redukcji zapasów glikogenu jest wynikiem stresu spowodowanego postępowaniem przedubojowym. Istotnym problemem jest występowanie wadliwego mięsa klasyfikowanego jako DFD i PSE. Na uzyskanie mięsa o obniżonej jakości wpływ mają niekorzystne czynniki związane z transportem, m.in. gęstość załadunku oraz ubój bezpośrednio po przyjeździe.

Wiedza dotycząca możliwości kształtowania poziomu glikogenu umożliwia również kształtowanie jakości mięsa. Jak wykazano w pracy, modyfikacja niekorzystnych czynników środowiskowych przyczynia się do poprawy jakości konsumenckiej i technologicznej mięsa oraz ogranicza straty związane z występowaniem mięsa wadliwego.

Literatura

- [1] Alonso M.D., Lomako J., Lomako W.M., Whelan W.J.: A new look at the biogenesis of glycogen. *FASEB J.*, 1995, **9** (12), 1126-1137.
- [2] Apple J.K., Kegley E.B., Galloway D.L., Wistuba T.J., Rakes L.K.: Duration of restraint and isolation stress as a model to study the dark-cutting condition in cattle. *J. Anim. Sci.*, 2005, **83**, 1202-1214.
- [3] Averos X., Martin S., Riu M., Serratosa J., Gosálvez L.F.: Stress response of extensively reared young bulls being transported to growing-finishing farms under Spanish summer commercial conditions. *Livest. Sci.*, 2008, **119**, 174-182.
- [4] Beecher G.R., Cassens R.G., Hoekstra W.G., Briskey E.J.: Red and white fiber content and associated post mortem properties of seven porcine muscles. *J. Food Sci.*, 1965, **30** (6), 969-975.

- [5] Bee G., Biolley C., Guex G., Herzog W., Lonergan M., Huff-Lonergan E.: Effects of available dietary carbohydrate preslaughter treatment on glycolytic potential, protein degradation, and quality traits of pig muscles. *J. Anim. Sci.*, 2006, **84** (1), 191-203.
- [6] Bertol T.M., Ellis M., Ritter M.J., McKeith F.K., Hamilton D.N.: Variation in glycolytic potential and fresh pork quality traits along the *longissimus dorsi* of slaughter weigh pigs. *J. Muscle Foods*, 2006, **17** (3), 237-247.
- [7] Broom D.M.: Transport stress in cattle and sheep with details of physiological and other indicators. *Dtsch Tierarztl. Wschr.*, 2003, **110** (3), 83-89.
- [8] Chanon H.A., Payne A.M., Warner R.D.: Halothane genotype, pre-slaughter handling and stunning method and influence pork quality. *Meat Sci.*, 2000, **56** (3), 291-299.
- [9] Chanon H.A., Payne A.M., Warner R.D.: Comparison of CO₂ stunning with manual electrical stunning (50 Hz) of pigs on carcass and meat quality. *Meat Sci.*, 2002, **60** (1), 63-68.
- [10] Chaosap C., Parr T., Wiseman J.: Effect of compensatory growth on forms of glycogen, postmortem proteolysis, and meat quality in pigs. *J. Anim. Sci.*, 2011, **89** (7), 2231-2242.
- [11] Correa J.A., Torrey S., Devillers N., Laforest J.P., Gonyou H.W., Faucitano L.: Effects of different moving devices at loading on stress response and meat quality in pigs. *J. Anim. Sci.*, 2010, **12** (88), 4086-4093.
- [12] D'Souza D.N., Warner R.D., Leury B.J., Dunshea F.R.: The effect of dietary magnesium aspartate supplementation on pork quality. *J. Anim. Sci.*, 1998, **76** (1), 104-109.
- [13] Eikelenboom G., Bolink A.H., Sybesma W.: Effects of feed withdrawal before delivery on pork quality and carcass yield. *Meat Sci.*, 1991, **29** (1), 25-30.
- [14] Ferguson D.M., Warner R.D.: Have we underestimated the impact of pre-slaughter stress on meat quality in ruminant? *Meat Sci.*, 2008, **80** (1), 12-19.
- [15] Fernandez X., Lefaucheur L., Gueblez R., Monin G.: Paris ham processing: Technological yield as affected by residual glycogen content of muscle. *Meat Sci.*, 1991, **29**, 121-128.
- [16] Fernandez X., Neyraud E., Astruc T., Sante V.: Effects of halothane genotype and pre-slaughter treatment on pig meat quality. Part 1. *Post mortem* metabolism, meat quality indicators and sensory traits of *m. longissimus lumborum*. *Meat Sci.*, 2002, **62** (1), 429-437.
- [17] Grandin T.: Assessment of stress during handling and transport. *J. Anim. Sci.*, 1997, **75** (1), 249-257.
- [18] Guardia M.D., Estany J., Balas H.S., Olivier M., Gispert M., Diestre A.: Risk assessment of PSE condition due to pre-slaughter conditions and RYR1 gene in pigs. *Meat Sci.*, 2004, **67** (3), 471-478.
- [19] Hannula T., Puolanne E.: The effect of cooling rate on beef tenderness: the significance of pH at 7° C. *Meat Sci.*, 2004, **67** (3), 403-408.
- [20] Hansen B.F., Derave W., Jensen P., Richter E.A.: No limiting role of glycogenin in determining maximal attainable glycogen levels in rat skeletal muscle. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Met.*, 2000, **278** (3), 398-404.
- [21] Hemsworth P.H., Rice M., Karlen M.G., Calleja L., Barnett J.L. Nash J., Coleman G.J.: Human – animal interactions at abattoirs: relationship between handling and animal stress in sheep and cattle. *App. Anim. Behav.*, 2011, **135** (1), 24-33.
- [22] Immonen K., Puolanne E.: Variation of residual glycogen-glucose concentration at ultimate pH values below 5.75. *Meat Sci.*, 2000, **55** (3), 279-283.
- [23] Immonen K., Ruusunen M., Hissa K., Puolanne E.: Bovine muscle glycogen concentration in relation to finishing diet, slaughter and ultimate pH. *Meat Sci.*, 2000, **55** (1), 25-31.
- [24] Josell A., von Seth G., Tornberg E.: Sensory and meat quality traits of pork in relation to slaughter treatment and RN genotype. *Meat Sci.*, 2004, **66** (1), 115-124.

- [25] Jurczak M.: Ocena jakości mięsa: ocena surowców pochodzenia zwierzęcego. Wyd. SGGW, Warszawa 1997, ss. 1-95.
- [26] Koćwin-Podsiadła M.: Metody wykrywania mięsa wadliwego u świń., Monografia nr 26, Wyd. WSR-P, Siedlce 1993, ss. 1-112.
- [27] Koćwin-Podsiadła M., Krzęcio E., Antosik K.: Rynek mięsa wieprzowego. Postęp w doskonaleniu mięsności i jakości mięsa w Polsce w świetle danych standardów Krajów Unii Europejskiej. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2003, **4 (37) Supl.**, 214-220.
- [28] Koćwin-Podsiadła M., Krzęcio E., Zybert A.: Utilization of molecular genetic achievements in pork quality improvement. Pol. J. Food Nutr. Sci., 2001, **10/51 (3)**, 11-18.
- [29] Koćwin-Podsiadła M., Przybylski W., Fernandez X., Monin G.: The comparison between $RYR1^C RYR1^C$ and $RYR1^C RYR1^T$ pigs for meat quality and glycolytic potential measured before and after slaughter. Ann. Anim. Sci., 2001, **2**, 31-36
- [30] Koćwin-Podsiadła M., Zybert A., Krzęcio E., Antosik K., Sieczkowska H.: Genomika bydła i świń. W: Procesy biochemiczne kontrolujące jakość wieprzowiny i wołowiny. Red. L. Zwierzchowski, M. Świtoński. Katedra Hodowli Trzody Chlewnej i Oceny Mięsa. Akademia Podlaska w Siedlcach, Poznań 2009, ss. 80-94.
- [31] Kyla-Puhju M., Ruusunen M., Puolanne E.: Activity of porcine muscle glycogen debranching enzyme in relation to pH and temperature. Meat Sci., 2005, **69 (1)**, 143-149.
- [32] Lewis P.K., Rakes L.Y., Brown C.J., Noland P.R.: Effect of exercise and pre-slaughter stress on pork muscle characteristics. Meat Sci., 1989, **26 (2)**, 121-129.
- [33] Monin G., Sellier P.: Pork of low technological qualities with a normal rate of muscle pH fall in the immediate post mortem period: the case of hampshire breed. Meat Sci., 1985, **13**, 49-63.
- [34] Murray A.C., Jones S.D.M., Sather A.P.: The effect of preslaughter feed restriction and genotype for stress susceptibility on pork quality and composition. Can. J. Anim. Sci., 1989, **69**, 83-91.
- [35] Niedźwiedz J., Cierach M.: Przemiany poubojowe a mięso wysokiej jakości. Gosp. Mięś., 2009, **61 (4)**, 14-16.
- [36] Orcutt M., Dutson T.R., Cornforth D.P., Smith G.C.: Factors affecting the formation of dark, coarse band ("heat-ring") in bovine *longissimus muscle*. J. Anim. Sci., 1984, **58 (6)**, 1366-1375.
- [37] Perez M.P., Palacio J., Santolaria M.P., Acena M.C., Chacon G., Gascon M., Calvo J.H., Zaragoza P., Beltran J.A., Garcia-Belenguer S.: Effect of transport time on welfare and meat quality in pigs. Meat Sci., 2002, **61 (4)**, 425-433.
- [38] Probst J.K., Spengler Neff A., Leiber F., Kreuzer M., Hillmann E.: Gentle touching in early life reduces avoidance distance and slaughter stress in beef cattle. Appl. Animal Beh. Sci., 2012, **1-2 (139)**, 42-49.
- [39] Przybylski W.: Przemiany glikolityczne. W: Mięso - podstawy nauki i techniki. Red. Pisula A., Pospiech E. Wyd. SGGW, Warszawa 2011, ss. 194-200.
- [40] 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.
- [41] Przybylski W., Monin G., Koćwin-Podsiadła M., Krzęcio E.: Glycogen metabolism in muscle and its effects on meat quality in pigs – a mini review. Pol. J. Food Nutr. Sci., 2006, **3 (15)**, 257-262.
- [42] Rosenvold K., Essen-Gustavsson B., Andersen H.J.: Dietary manipulation of pro- and macroglycogen in porcine skeletal muscle. J. Anim. Sci., 2003, **1 (81)**, 130-134.
- [43] Rosenvold K., Petersen J.S., Laerke H.N., Jensen S.K., Therkildsen M., Karlsson A.H., Moller H.S., Andersen H.J.: Muscle glycogen stores and meat quality as affected by strategic finishing feeding of slaughter pigs. J. Anim. Sci., 2001, **2 (79)**, 382-391.

- [44] Sahlin K.: Intracellular pH and energy metabolism in skeletal muscle of man with special reference to exercise. *Acta Physiol. Scand., Suppl.*, 1978, **455**, 1-56.
- [45] Sayre R.N., Briskey E.J., Hoekstra W.G.: Effects of excitement, fasting and sucrose feeding on porcine phosphorylase and *post mortem* glycolysis. *J. Food Sci.*, 1963, **4 (28)**, 472-477.
- [46] Schwartzkopf-Genswein K.S., Faucitano L., Dadgar S., Shand P., Gonzalez L.A., Crowe T.G.: Road transport of cattle, swine and poultry in North America and its impact on animals welfare, carcass and meat quality: a review. *Meat Sci.*, 2012, **92 (3)**, 227-243.
- [47] Scopes R.K.: Studies with reconstituted muscle glycolytic system - rate and extend of glycolysis in simulated *post mortem* conditions. *Biochem. J.*, 1974, **1 (142)**, 79-86.
- [48] Shaw F.D., Tume R.K.: The assessment of preslaughter and slaughter treatments of livestock by measurement of plasma constituents – a review of recent work. *Meat Sci.*, 1992, **32 (3)**, 311-329.
- [49] Speer N.C., Slack G., Troyer E.: Economic factors associated with livestock transportation. *J. Anim. Sci.*, 2001, **79**, 166-170.
- [50] Sterten H., Oksbjerg N., Froystein T., Ekker A.S., Kjos N.P.: Effects of fasting prior to slaughter on pH development and metabolism *post mortem* in *m. longissimus dorsi* of pigs. *Meat Sci.*, 2010, **84 (1)**, 93-100.
- [51] Troeger K., Woltersdorf W.: Electrical stunning and meat quality in the pig. *Fleischwirtschaft*, 1990, **70 (8)**, 901-904.
- [52] Troeger K., Woltersdorf W.: Gas anaesthesia of slaughter pigs. I. Stunning experiments under laboratory conditions with pigs of known halothane reaction type: meat quality, animal protection. *Fleischwirtschaft*, 1991, **71**, 1063-1068.
- [53] Van der Wal P.G., Engel B., Reimert H.G.M.: The effect of stress, applied immediately before stunning, on pork quality. *Meat Sci.*, 1999, **53 (2)**, 101-106.
- [54] Warris P.D., Brown S.N.: The relationship between initial pH, reflectance and exudation in pig muscle. *Meat Sci.*, 1987, **20 (1)**, 65-74.
- [55] Yla-Ajos M., Puolanne E.: Temperature shows greater impact on bovine *longissimus dorsi muscle* glycogen debranching enzyme activity than does salt concentration. *Meat Sci.*, 2007, **77 (4)**, 587-592.
- [56] Young J.F., Bertram H.C., Oksbjerg N.: Rest before slaughter ameliorates pre-slaughter stress-induced increased drip loss but not stress-induced increase in the toughness of pork. *Meat Sci.*, 2009, **83 (4)**, 634-641.
- [57] Zybert A., Kręcio E., Sieczkowska H., Podsiadły W., Przybylski W.: The influence of chilling method on glycolytic changes and pork meat quality. 53th Int. Congress of Meat Quality and Technology, Beijing, China, 2007, 5-10. 08., pp. 293-294.
- [58] Rozporządzenie Rady (WE) nr 1/2005 z dnia 22 grudnia 2004 r. w sprawie ochrony zwierząt podczas transportu i związanych z tym działań oraz zmieniające dyrektywy 64/432/EWG i 93/119/WE oraz rozporządzenie (WE) nr 1255/97.

IMPACT OF ENVIRONMENTAL FACTORS ON GLYCOGEN CONCENTRATION IN MUSCLES OF SLAUGHTER ANIMALS

S u m m a r y

Defective meat causes economic losses for the meat industries. Biochemical changes occurring *post mortem* in meat depend, mainly, on the glycogen content. A *post mortem* non-converted part of glycogen that remains in muscles is called a residual glycogen. The residual glycogen affects the quality of meat. In

the paper, the impact is presented of selected environmental factors on the glycogen content in muscles of slaughter animals. The structure of glycogen and its role in shaping up the meat quality are discussed. The factors are described, which impact the *post mortem* glycogenolysis. The effect is comprehensively discussed of physical activity, nutrition, pre-slaughter fasting, transport as well as of the treatment of animals prior to slaughter on the glycogen concentration in muscles. Those issues are included that refer to mental and physical stresses at various steps of pre-slaughter proceedings as is their effect on the metabolism of muscles and the reserves of glycogen in muscles. Furthermore, the effect is shown of chilling rate of carcasses after slaughter on the course and extent of *post mortem* glycogenolysis. In order to achieve a higher meat quality, it is required to take multidirectional actions in the domain of genetic selection, optimization of breeding conditions, and *ante mortem* treatment of animals.

Key words: *post mortem* changes, glycogenolysis, glycogen, residual glycogen, pH, meat quality ☒

KINGA KROPIWIEC, MAREK BABICZ, EWA SKRZYPCZAK

CHARAKTERYSTYKA FIZYKOCHEMICZNA PODROBÓW WIEPRZOWYCH UZYSKANYCH Z TUCZNIKÓW O ZRÓŻNICOWANYM GENOTYPIE *RYRI*

Streszczenie

Podroby wieprzowe zaliczane są do grupy jadalnych ubocznych surowców rzeźnych. Ze względu na dużą zawartość żelaza, witamin oraz wysokowartościowego białka mogą być cennymi składnikami potraw kulinarnych. Celem pracy było określenie wpływu genetycznie uwarunkowanej podatności/odporności na stres tuczników rasy puławskiej na wybrane parametry fizyczne i chemiczne wybranych podrobów: ozora, nerek, płuc, wątroby oraz serca.

Badania przeprowadzono na grupie 80 tuczników rasy puławskiej (40 osobników o genotypie C/C w locus *RYRI*, 40 osobników o genotypie C/T w locus *RYRI*). Polimorfizm genu *RYRI* określono metodą PCR-RLFP. W podrobach oznaczono: pH (pH_{45} , pH_{24}), udział wody wolnej oraz zawartość: białka, tłuszczu i związków mineralnych w postaci popiołu.

Najniższym pH_{45} (6,10) charakteryzowała się wątroba pochodząca z tusz o genotypie C/T, natomiast najwyższym – (6,52) płuca uzyskane z tusz tuczników homozygot niepodatnych na stres (*RYRI* C/C). Po 24 h od uboju pH podrobów uległo obniżeniu i zawierało się w zakresie: 5,68 ÷ 6,10. Zawartość białka w badanych elementach wynosiła od 12,97 % w płucach – genotyp C/C do 19,73 % w wątrobie – genotyp C/T. Wykazano istotne różnice ($p \leq 0,05$) pomiędzy genotypami zwierząt pod względem zawartości tłuszczu w sercu, płucach i nerkach. W wymienionych podrobach tuczników o genotypie C/T stwierdzono istotnie mniej ($p < 0,05$) tłuszczu w porównaniu z genotypem C/C. Różnice zawartości tłuszczu w wątrobie zwierząt o genotypie C/C (8,11 %) oraz C/T (5,62 %) były istotne na poziomie $p < 0,01$.

Słowa kluczowe: świnie, rasa puławska, genotyp *RYRI*, podroby wieprzowe

Mgr inż. K. Kropiwiec, dr hab. M. Babicz, prof. UP, Katedra Hodowli i Technologii Produkcji Trzody Chlewnej, Wydz. Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin, dr inż. E. Skrzypczak, Katedra Hodowli i Produkcji Trzody Chlewnej, Wydz. Hodowli i Biologii Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wojska Polskiego 28, 60-637 Poznań. Kontakt: kingakropiwiec@gmail.com

Wprowadzenie

Zgodnie z Polską Normą [18, 20] podroby są to jadalne narządy wewnętrzne oraz inne części ciała zwierząt rzeźnych niewchodzące w skład tusz, półtuszy i ćwierćtuszy. Cechy sensoryczne i fizykochemiczne podrobów są odmienne.

Dużą wartością odżywczą charakteryzuje się wątroba. Jak podają Florek i wsp. [7], wątroba cielęca oraz wołowa zawierają więcej niektórych składników mineralnych, np. żelaza, cynku, magnezu i wapnia niż tkanka mięśniowa. Jest ona również cennym źródłem witaminy A i witamin z grupy B [3]. Podrobami o korzystnym składzie związków mineralnych i witamin są także: mózg, ozór, serce i nerki [16]. Śledziona oraz płuca mają niższą wartość konsumpcyjną i handlową ze względu na budowę histologiczną.

Na jakość surowca wieprzowego wpływają zarówno czynniki środowiskowe (warunki zoohigieniczne, żywienie, czynności związane z ubojem) [24, 28], jak również genetyczne (rasa, płeć, typ użytkowy) [12, 10]. Mięso i tłuszcz o wysokiej jakości technologicznej oraz konsumpcyjnej uzyskuje się ze świń rasy puławskiej [29], dlatego są one wykorzystywane do produkcji wieprzowiny o pożądanych cechach sensorycznych [2]. W odniesieniu do uwarunkowań genetycznych jednym z genów o istotnym oddziaływaniu na jakość mięsa wieprzowego (szczególnie wyglądu ogólnego, kruchości i soczystości) jest gen receptora ryanodiny (*RYR1*) [17]. Gen *RYR1* zlokalizowany jest na 6 chromosomie świni domowej. W przypadku rasy puławskiej występują dwa allele genu *RYR1*: C i T [1]. U świń o genotypie *RYR1* C/T (heterozygotyczne nosiciele mutacji genu) mogą wystąpić klasyczne objawy stresu (PSS) przy silnym działaniu czynników stresogennych, np. w czasie załadunku lub transportu [4]. Uważa się, że indywidualna odpowiedź immunologiczna i neuroendokrynną osobnika na stres może wpływać na homeostazę oraz procesy metaboliczne. Dowiedziono bowiem, że polimorfizm w locus *RYR1* wpływa na zawartość mięsa w tuszy oraz kształtuje jego jakość konsumpcyjną i technologiczną [13]. Pojawienie się u osobników ze zmutowanym allelem genu *RYR1* ujemnie naładowanej cysteiny w miejsce argininy o ładunku dodatnim powoduje przyciąganie jonów Ca^{2+} w okolicy kanału wapniowego i sprzyja wydostaniu się ich z retikulum sarkoplazmatycznego. Nadmierny wypływ jonów Ca^{2+} do cytozolu stwarza konieczność przemieszczania ich powrotnie do retikulum metodą tzw. pompy wapniowej. Jest to proces wymagający dostarczenia energii, co powoduje zmniejszenie zasobów ATP w komórce, a to w konsekwencji prowadzi do intensywnego skurczu mięśni [25]. Wyżej wymienione procesy fizjologiczne mają zatem wpływ na jakość tkanki mięśniowej [14]. Brak jest natomiast danych dotyczących asocjacji polimorfizmu genu *RYR1* z parametrami narządów wewnętrznych tuczników.

Celem pracy było określenie wpływu genotypu *RYR1* C/C i *RYR1* C/T tuczników rasy puławskiej na wybrane parametry fizyczne i chemiczne wybranych podrobów, tj. ozora, nerek, płuc, wątroby oraz serca.

Material i metody badań

Badaniom poddano 80 tuczników rasy puławskiej utrzymywanych w gospodarstwie indywidualnym, realizującym Program Ochrony Zasobów Genetycznych Świń Rasy Puławskiej. Tuczniaki (po 10 szt.) utrzymywano zgodnie z wymaganiami dobrostanu w kojcach ściółkowych o powierzchni 1,1 m²/szt. Osobniki żywione były mieszanką pełnoporcjową zawierającą 15 % białka, 2,2 % tłuszczu, 5,5 % włókna oraz 12,7 MJ energii metabolicznej. Do badań wytypowano tuczniaki o zidentyfikowanych genotypach w locus *RYRI*: C/C – osobniki niepodatne na stres (40 szt.), C/T – osobniki częściowo wykazujące podatność na stres przy działaniu silnych czynników stresogennych (40 szt.). Liczba genotypów *RYRI* C/C i *RYRI* C/T oraz rozkład płci w każdej grupie wynosiły 1 : 1. Materiał biologiczny do izolacji DNA stanowiły cebulki włosowe tuczników. Izolacja DNA została przeprowadzona przy użyciu zestawu Sherlock AX (A&A Biotechnology) zgodnie z procedurą podaną przez producenta. Polimorfizm w locus *RYRI* określano metodą PCR-RLFP [8]. Do reakcji PCR wykorzystano termocykler Engine MJ Research (PTC–200 Peltier Thermal Cycler).

Tuczniaki poddano ubojowi w zakładach mięsnych. Masa ciała tuczników wynosiła od 104,6 do 109,3 kg. Do badań laboratoryjnych pobierano: ozory, nerki, płuca, wątroby i serca. Określano masę tych podrobów.

W próbkach podrobów oznaczano: pH₄₅ i pH₂₄ – pomiary wykonywano za pomocą aparatu PH-STAR CPU, udział wody wolnej metodą Grau'a i Hamma [9] w modyfikacji Pohji i Niinivaary [23] oraz zawartość składników chemicznych: białka – metodą Kjeldahla w aparacie Kjelttec 2100 Foss Tecator zgodnie z PN-75/A-04018 [19], tłuszczu – metodą Soxhleta według PN-ISO 1444:2000 [22] oraz związków mineralnych w postaci popiołu zgodnie z PN-ISO 936:2000 [21].

Za pomocą analizy statystycznej ustalono asocjację polimorfizmu w locus *RYRI* z wybranymi parametrami narządów wewnętrznych tuczników. Poszczególne genotypy genu *RYRI* odniesiono do wyżej wymienionych cech fizycznych i chemicznych charakteryzujących wybrane narządy wewnętrzne.

Obliczenia w odniesieniu do genotypów i cech wybranych narządów wewnętrznych przeprowadzono, wykorzystując pakiet statystyczny SAS. Poziom analizowanych cech przedstawiono jako średnie najmniejszych kwadratów (LSM), podając jednocześnie wartość błędów standardowych (SE) określających wiarygodność szacunków.

Wyniki i dyskusja

W badaniach własnych nie zaobserwowano statystycznie istotnego ($p < 0,05$; $p < 0,01$) związku pomiędzy polimorfizmem w locus *RYRI* a masą wybranych podrobów wieprzowych. Jakkolwiek stwierdzono, że średnia masa poszczególnych podro-

bów uzyskanych z osobników o genotypie C/T w locus *RYRI* była mniejsza niż masa analogicznych elementów pozyskanych z tuczników o genotypie C/C (tab. 1).

Tabela 1. Masa podrobów wieprzowych w zależności od genotypu genu *RYRI*
Table 1. Weight of pork offal depending on the genotype of *RYRI* gene

Podroby wieprzowe Pork offal	Genotyp Genotype	Masa / Weight [g]	
		LSM	SE
Ozór Tongue	C/T	279,8	4,5
	C/C	291,5	5,6
Serce Heart	C/T	391,3	6,3
	C/C	407,2	7,1
Płuca Lungs	C/T	997,4	48
	C/C	1012,7	63
Wątroba Liver	C/T	1830,5	45,1
	C/C	2119,7	51,2
Nerki Kidneys	C/T	200,1	5,9
	C/C	202,9	6,1

Objaśnienia: / Explanatory notes:

LSM – średnia najmniejszych kwadratów / least squares mean; SE – błąd standardowy / standard error.

Babicz i wsp. [2] nie wykazali istotnych różnic w zakresie jakości polędwicy oraz szynki uzyskanych z tusz tuczników rasy puławskiej o odmiennej podatności na czynniki stresogenne, chociaż mięso tuczników o genotypie C/T charakteryzowało się niższym pH₄₅ i pH₂₄ oraz większą zawartością wody wolnej [2].

W badaniach własnych podjęto próbę określenia wpływu podatności świń na stres, na wartości wyżej wymienionych parametrów wybranych podrobów wieprzowych (tab. 2).

W żadnym z badanych podrobów nie stwierdzono różnic statystycznie istotnych pomiędzy wartościami pH (mierzonymi 45 min i 24 h po uboju). Najniższym pH₄₅, równym 6,0 charakteryzowała się wątroba pochodząca z tusz o genotypie C/T, najwyższym zaś (pH = 6,52) – płuca uzyskane z tuczników z grupy homozygot niepodatnych na stres (*RYRI* C/C). Pomiar dokonany dobowo po uboju wykazał obniżenie pH. Uzyskane wyniki zawierały się w granicach od 5,68 (ozór tuczników o genotypie C/T) do 6,10 (nerki tuczników o genotypie C/C).

Tabela 2. Cechy fizykochemiczne podrobów wieprzowych w zależności od genotypu genu *RYRI*Table 2. Physicochemical parameters of pork offal depending on genotype of *RYRI* gene

Podroby wieprzowe Pork offal	Genotyp Genotype	pH ₄₅		pH ₂₄		Woda wolna [%] Free water [%]	
		LSM	SE	LSM	SE	LSM	SE
Ozór Tongue	C/T	6,31	0,12	5,68	0,11	17,6	0,46
	C/C	6,46	0,17	5,83	0,15	16,7	0,48
Serce Heart	C/T	6,13	0,14	5,71	0,19	17,2 ^a	0,29
	C/C	6,20	0,15	5,83	0,18	15,5 ^b	0,32
Płuca Lungs	C/T	6,31	0,29	5,86	0,25	18,8 ^a	0,31
	C/C	6,52	0,22	5,98	0,30	16,6 ^b	0,34
Wątroba Liver	C/T	6,10	0,19	5,61	0,14	19,5	0,38
	C/C	6,35	0,18	5,89	0,20	17,9	0,47
Nerki Kidneys	C/T	6,30	0,25	5,97	0,16	13,4 ^a	0,21
	C/C	6,41	0,35	6,10	0,21	11,4 ^b	0,19

Objaśnienia: / Explanatory notes:

LSM – średnia najmniejszych kwadratów / least squares mean; SE – błąd standardowy / standard error

a, b – różne litery oznaczają różnice statystycznie istotne w obrębie analizowanego parametru charakteryzującego wybrane podroby ($p < 0,05$) / different letters mean statistically significant differences within the parameter analyzed selected pork offal ($p < 0,05$).

Według Dolatowskiego i wsp. [6] pH wpływa na zdolność wiązania wody przez dany mięsień. Wyniki badań własnych (tab. 2) dowiodły, że zawartość wody wolnej była kształtowana również przez genotyp genu *RYRI*. We wszystkich elementach pochodzących z tuczników rasy puławskiej o genotypie C/C, w porównaniu z podrobami tuczników o układzie alleli C/T stwierdzono zmniejszenie zawartości wody wolnej, co jest zbieżne z wynikami Silveiry i wsp. [27]. Istotne różnice statystyczne ($p \leq 0,05$) stwierdzono w przypadku płuc, nerek oraz serca. Różnice zawartości wody wynosiły odpowiednio [%]: 2,2, 2,0 oraz 1,7, z korzyścią dla podrobów uzyskanych z tusz tuczników homozygotycznych *RYRI* C/C.

Atrakcyjność konsumpcyjna wyrobu kształtowana jest przez udział w nim podstawowych składników chemicznych [26]. Zawartość białka, tłuszczu oraz popiołu wpływa jednocześnie na jakość technologiczną surowców zwierzęcych [5]. Jak wykazali Jankowiak i wsp. [11], mutacja w genie *RYRI* oddziaływała na zawartość tłuszczu w mięsie świń rasy złotnickiej pstrej. Mięso z tusz tuczników o genotypie *RYRI* C/T zawierało ok. 2,31 % tłuszczu, natomiast mięso tuczników o genotypie *RYRI* C/C zawierało mniej tego składnika, tj. ok. 2,17 %. Z badań własnych wynika, że polimorfizm w locus *RYRI* oddziaływał na zawartość tłuszczu w podrobach tuczników rasy

puławskiej (tab. 3). Istotne różnice statystyczne ($p \leq 0,05$) zaobserwowano w odniesieniu do serca, płuc oraz nerek. Pomiedzy genotypami C/T a C/C stwierdzone różnice wynosiły odpowiednio [%]: 0,72, 1,56 i 1,01. Statystyczne różnice ($p \leq 0,01$) pod względem zawartości tłuszczu zaobserwowano w przypadku wątroby. W wątrobie z tuczników o genotypie C/C (8,11 % tłuszczu) stwierdzono o 2,49 % więcej tłuszczu w porównaniu z analogicznym elementem z tuczników o genotypie C/T. W odniesieniu do udziału białka oraz zawartości związków mineralnych w postaci popiołu nie zaobserwowano różnic statystycznie istotnych. Udział białka w badanych elementach wynosił od 12,97 % (płuca – genotyp C/C) do 19,73 % (wątroba – genotyp C/T). Zawartość popiołu wahała się od 0,98 % (ozór z tuczników o genotypie C/T w locus *RYRI*) do 1,67 % (wątroba – genotyp C/C). Należy zaznaczyć, że zawartość białka i popiołu w badanych podrobach była zbliżona do danych literaturowych, podczas gdy zawartość tłuszczu była nieznacznie większa [30].

Tabela 3. Skład chemiczny podrobów wieprzowych w zależności od genotypu genu *RYRI*

Table 3. Chemical composition of pork offal depending on genotype of *RYRI* gene

Podroby wieprzowe Pork offal	Genotyp Genotype	Białko Protein [%]		Tłuszcz Fat [%]		Zw. miner. jako popiół Mineral components in the form of ash [%]	
		LSM	SE	LSM	SE	LSM	SE
Ozór Tongue	C/T	15,13	0,51	11,18	0,29	0,95	0,01
	C/C	14,79	0,46	11,85	0,30	1,01	0,03
Serce Heart	C/T	17,24	0,38	2,69 ^a	0,17	0,98	0,03
	C/C	16,74	0,41	3,41 ^b	0,21	1,02	0,03
Płuca Lungs	C/T	13,48	0,32	4,55 ^a	0,15	1,05	0,04
	C/C	12,97	0,42	6,11 ^b	0,17	1,12	0,07
Wątroba Liver	C/T	19,73	0,47	5,62 ^A	0,21	1,30	0,04
	C/C	19,58	0,45	8,11 ^B	0,25	1,67	0,06
Nerki Kidneys	C/T	16,35	0,41	3,30 ^a	0,12	1,13	0,02
	C/C	16,10	0,38	4,31 ^b	0,16	1,08	0,03

Objaśnienia: / Explanatory notes:

LSM – średnia najmniejszych kwadratów / least squares mean; SE – błąd standardowy / standard error
a, b, A, B – różne litery oznaczają różnice statystycznie istotne w obrębie analizowanego parametru charakteryzującego wybrane podroby ($p < 0,05$; $p < 0,01$) / different letters mean statistically significant differences within the parameter analyzed selected porc offal ($p < 0,05$; $p < 0,01$).

Wnioski

1. Nie zaobserwowano zależności pomiędzy genotypem genu *RYR1* a masą wybranych podrobów uzyskanych ze świń rasy puławskiej.
2. Wartości pH₄₅ i pH₂₄ w badanych podrobach wieprzowych nie wykazywały istotnych związków z genotypami *RYR1* C/C i *RYR1* C/T.
3. Wykazano istotne asocjacje między polimorfizmem w locus *RYR1* a zawartością wody wolnej w sercu, płucach i nerkach oraz zawartością tłuszczu w sercu, płucach, nerkach ($p \leq 0,05$) i wątrobie ($p \leq 0,01$).
4. Badane podroby tuczników o genotypie C/T charakteryzowały się istotnie większą zawartością wody wolnej oraz mniejszą zawartością tłuszczu.

Literatura

- [1] Babicz M., Kurył J., Walkiewicz A.: Evaluation of the genetic profile of the Pulawska breed. J. Appl. Genet., 2003, **44** (4), 497-508.
- [2] Babicz M., Kamyk P., Rejduch B., Kozubska-Sobocińska, A., Stasiak A., Lechowski J.: Use of Pulawska breed pig for specific-quality pork production. Med. Weter., 2010, **66** (8), 555-558.
- [3] Biesalski H.: Meat as a component of healthy diet – are there any risk or benefits if meat is avoided in the diet? Meat Sci., 2005, **3** (70), 509-524.
- [4] Ciepielewski Z.M., Stojek W., Glac W., Myślińska D., Kwaczyńska A., Kamyczek M.: The effects of ryanodine receptor 1 (RYR1) mutation on plasma cytokines and catecholamines during prolonged restraint in pigs. Vet. Immunol. Immunop., 2013, **156** (3-4), 176-181.
- [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] Dolatowski Z.J., Twarda J., Dudek M.: Zmiany uwodnienia mięsa podczas dojrzewania. Annales UMCS, Sec. E., 2004, **LIX** (4), 1595-1606.
- [7] Florek M., Litwińczuk Z., Skąlecki P., Kędzińska-Matysek M., Grodzicki T.: Chemical composition and inherent properties of offal from calves maintained under two production systems. Meat Sci., 2012, **90** (2), 402-409.
- [8] Fujii J., Otsu K., Zorzato F., De Leon S., Khanna V.K., Weiler J.E., O'Brien P.J., MacLennan D.H.: Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia. Science, 1991, **253** (5018), 448-451.
- [9] Grau R., Hamm R.: Eine einfache Methode zur Bestimmung der Wasserbindung in Fleisch. Fleischwirtschaft, 1952, **4**, 295-297.
- [10] Grześkowiak E., Borzuta K., Lisiak D., Strzelecki J., Janiszewski P.: Właściwości fizykochemiczne i sensoryczne oraz skład kwasów tłuszczowych mięśnia *longissimus dorsi* mieszańców pbz x wbp oraz pbz x (d x p). Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2010, **6** (73), 189-198.
- [11] Jankowiak H., Kapelański W., Wilkanowska A., Cebulska A., Biegniowska M.: The effect of CLPS and RYR1 gene polymorphism on meat quality of Złotnicka Spotted Pigs. J. Cent. Eur. Agric., 2010, **11** (1), 93-98.
- [12] Koćwin-Podsiadła M.: Genetyczne i żywieniowe czynniki modyfikujące jakość wieprzowiny. W: Stan aktualny i perspektywy rozwoju wybranych dziedzin produkcji żywności i pasz. Wyd. PTTŻ Oddział Wielkopolski, Poznań 1998, ss. 173-216.

- [13] Koćwin-Podsiadła M., Kurył J., Przybylski W.: Fizjologiczne i genetyczne tło występowania wad wieprzowiny indukowanych stresem. *Prace i Mat. Zoot.*, 1993, **44**, 5-32.
- [14] Koćwin-Podsiadła M., Przybylski W., Kurył J., Talmant A., Monin G.: Muscle glycogen level and meat quality in pigs of different halothane genotypes. *Meat Sci.*, 1995, **40** (1), 121-125.
- [15] Kołożyn-Krajewska D., Sikora T.: *Towaroznawstwo żywności*. WSiP, Warszawa 2004.
- [16] Kunachowicz H., Nadolna I., Iwanow K., Przygoda B.: *Wartość odżywcza wybranych produktów spożywczych i typowych potraw*. Wyd. Lek. PZWL, Warszawa 2010.
- [17] Moelich E.I., Hoffman L.C., Conradie P.J.: Sensory and functional meat quality characteristics of pork derived from three halothane genotypes. *Meat Sci.*, 2003, **63** (3), 333-338.
- [18] PN-A-82000:1965. Mięso i podroby zwierząt rzeźnych. Wspólne wymagania i badania.
- [19] PN-A-04018:1975. Produkty rolniczo-żywnościowe. Oznaczanie azotu metodą Kjeldahla i przeliczanie na białko.
- [20] PN-A-82004:1986. Podroby zwierząt rzeźnych.
- [21] PN-ISO 936:2000. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie popiołu całkowitego.
- [22] PN-ISO 1444:2000. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości tłuszczu wolnego.
- [23] Pohja N.S., Niinivaara F.P.: Die Bestimmung der Wasserbindung im Fleisch mittels der Konstantdrückmethode. *Fleischwirtschaft*, 1957, **43** (9), 193-195.
- [24] Przybylski W., Jaworska D., Boruszewska K., Borejko M., Podsiadły W.: Jakość technologiczna i sensoryczna mięsa wieprzowego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **1** (80), 116-127.
- [25] Rossi A.E., Boncompagni S., Dirksen R.T.: Sarcoplasmic reticulum-mitochondrial symbiosis: Bidirectional signalling in skeletal muscle. *Exerc. Sport Sci. Rev.*, 2009, **37** (1), 29-35.
- [26] Sałyga M., Walkiewicz A., Babicz M.: Analiza jakości technologicznej i konsumpcyjnej mięsa świniodzików. *Ann. UMCS, sec. EE*, 2007, **XXV**(2), 127-132.
- [27] Silveira A.C.P., Freitas P.F.A., Cesara.S.M., Antunes R.C., Guimaraes E.C., Batista D.F.A., Torido L.C.: Influence of the halothane gene (HAL) on pork quality in two commercial crossbreeds. *Genet Mol Res.*, 2011, **10** (3), 1479-1489.
- [28] Sobotka W., Pomianowski J. F., Wójcik A.: Wpływ zastosowania genetycznie zmodyfikowanej poekstrakcyjnej śrutu sojowej oraz poekstrakcyjnej śrutu rzepakowej „00” na efekty tuczu, właściwości technologiczne i sensoryczne mięsa świń. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **1** (80), 106-115.
- [29] Stasiak A., Kamyk P.: Skład chemiczny i jakość mięsa tuczników ras wbp, pbz i puławskiej pochodzących z Lubelszczyzny. *Ann. UMCS, sec. EE*, 2001, **XIX** (15), 115-119.
- [30] Zin M., Znamierowska A.: *Ocena i przetwórstwo mięsa*. Wyd. Mitel, Rzeszów 2001.

PHYSICOCHEMICAL PROFILE OF PORK OFFAL DERIVED FROM FATTENERS WITH DIFFERENT *RYRI* GENOTYPE

S u m m a r y

Pork offal are classified as edible by-products of meat derived from slaughtered animals. Owing to a high content of iron, vitamins, and high-valued proteins, pork offal may also be valuable components of food dishes.

The objective of the research study was to determine the effect of genetically determined stress susceptibility/resistance of Pulawska breed fatteners on some physical and chemical parameters of the selected offal: tongue, kidneys, lungs, liver, and heart.

The analyses were conducted on a group of 80 Pulawska breed fatteners (40 fatteners of C/C genotype at *RYRI* locus and 40 fatteners of C/T genotype at *RYRI* locus). The polymorphism of *RYRI* gene was

determined using a PCR-RLFP method. In the offal, the following was determined: pH (pH_{45} , pH_{24}); percent content of free water as well as the contents of protein, fat, and mineral compounds in the form of ash.

The liver derived from the carcasses of fatteners with the C/T genotype was characterized by the lowest value of pH_{45} (6, 10) whereas the lungs derived from the fatteners in the group of homozygotes that were not stress-sensitive (RYR1 C/C) were characterized by the highest pH_{45} value (6.52). 24 hours after slaughter, pH of offal decreased and ranged from 5.68 to 6.10. The content of protein in the elements analyzed was from 12.97 % in the lungs of fatteners with the C/C genotype to 19.73 % in the liver of the C/T genotype). Statistically significant differences ($p \leq 0.05$) were reported between the genotypes of the animals as regards the content of fat in the heart, lungs, and kidneys. In the above listed offal of the fatteners with the C/T genotype, the content of fat was found to be significantly ($p < 0.05$) lower compared to the fatteners having the C/C genotype. Differences ($p \leq 0.01$) in the fat content in livers of animals with the C/C genotype (8.11 %) and C/T genotype (5.62 %) were significant at ($p < 0.05$).

Key words: pigs, Pulawska breed, RYR1 genotype, pork offal ☒

DOROTA KOWALSKA, ANDRZEJ GUGOLEK, PAWEŁ KOBYLARZ

**WPLYW METODY PAKOWANIA I PRZECHOWYWANIA
NA WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNE MIĘSA KRÓLIKÓW
ŻYWIANYCH MIESZANKAMI PASZOWYMI WZBOGACONYMI
OLEJEM RYBNYM I WITAMINĄ E**

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu zróżnicowanego dodatku octanu α -tokoferolu w mieszankach paszowych natłuszczonych olejem rybnym (2 %) na skład kwasów tłuszczowych, zawartość witamin A i E, cholesterolu całkowitego i substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym w mięśniu najdłuższym grzbietu królików, przechowywanym zamrażalniczo 14 i 90 dni oraz porównanie sensorycznej jakości mięsa króliczego w zależności od metody pakowania i przechowywania. Króliki rasy nowozelandzkiej białej (120 szt.) żywiono *ad libitum* od 35. do 90. dnia życia granulowanymi mieszankami pełnoporcjowymi z udziałem: oleju rybnego (2 %) i octanu α -tokoferolu (0, 40 lub 100 mg/kg paszy). Utworzono trzy grupy żywieniowe zwierząt. W wieku 90 dni ubojowi poddano 10 królików z każdej grupy. Wykazano, że zawartość białka w mięśniu najdłuższym grzbietu była podobna we wszystkich grupach ($19,9 \div 20,4$ %). Nie stwierdzono różnic pod względem zawartości wody, tłuszczu i składników mineralnych w postaci popiołu. Po 14 dniach zamrażalniczego przechowywania mięsa najmniejszą zawartość witaminy E (3,00 μ g/g) stwierdzono w mięsie królików, które były karmione mieszanką bez jej dodatku. W grupach karmionych mieszanką z dodatkiem witaminy E jej zawartość w mięsie zwiększała się wraz ze wzrostem jej zawartości w paszy (od 4,13 do 5,14 μ g/g). Zbliżone tendencje utrzymywały się po 90 dniach zamrażalniczego przechowywania mięsa. Wzbogacenie paszy w witaminę E w ilości 100 mg/kg paszy wpłynęło istotnie na zmniejszenie wartości wskaźnika TBARS w mięsie po 90 dniach zamrażalniczego przechowywania (o 59 %). Świadczyło to o wolniejszym tempie utleniania lipidów mięsa. Po 14 i 90 dniach przechowywania stwierdzono najmniejszą zawartość cholesterolu (odpowiednio: 52,3 i 52,7 mg/100 g) w mięsie królików otrzymujących w paszy 100 mg witaminy E. Wykazano, że ocena poszczególnych wyróżników jakości sensorycznej mięsa była różna w zależności od sposobu przechowywania mięsa (próżnia – chłodzenie, 14 dni lub zamrażanie w woreczkach strunowych, 14 dni) i ilości witaminy E podawanej w paszy. Wyżej oceniono smak, zapach i soczystość mięsa pakowanego próżniowo.

Dr hab. D. Kowalska prof. IZ, Dział Ochrony Zasobów Genetycznych Zwierząt Instytut Zootechniki Państwowy Instytut Badawczy, ul. Krakowska 1, 32-083 Balice, prof. dr hab. A. Gugolek, Katedra Zwierząt Futerkowych i Lowiectwa, Wydz. Bioinżynierii Zwierząt, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, ul. Oczapowskiego 5, 10-719 Olsztyn, dr wet. P. Kobylarz, Powiatowy Inspektorat Weterynarii w Siedlcach, ul. Kazimierzowska 29, 08-110 Siedlce. Kontakt: dorota.kowalska@izoo.krakow.pl

Słowa kluczowe: mięso królicze, olej rybny, witamina E, przechowywanie chłodnicze i zamrażalnicze, ocena sensoryczna

Wprowadzenie

Mięso królicze jest wartościowym surowcem spożywczym o cechach produktu dietetycznego, nieobciążonego odczynem alergicznym dla konsumenta. Materiał rzeźny w skupie w 80 % pochodzi z produkcji tradycyjnej – przyzagrodowej, wykorzystującej głównie pasze gospodarskie.

Wartość dietetyczną mięsa króliczego można zwiększyć, wzbogacając je w składniki korzystnie oddziałujące na organizm człowieka, takie jak: witaminy, mikroelementy czy długołańcuchowe kwasy tłuszczowe (LC PUFA), głównie z rodziny *n-3*. Potrzeba wprowadzania tych składników do żywności wynika z częstego ich niedoboru w pokarmie człowieka. Jednym ze sposobów wzbogacania mięsa w wielonienasycone kwasy tłuszczowe (PUFA) z rodziny *n-3* jest dodawanie do mieszanek paszowych olejów roślinnych lub oleju rybnego [15, 18]. Ważne jest jednak utrzymanie odpowiedniego wzajemnego stosunku ilościowego pomiędzy poszczególnymi grupami kwasów tłuszczowych. Wykazano bowiem, że nadmierne spożycie kwasów tłuszczowych z rodziny *n-6* nie jest korzystne dla organizmu, szczególnie przy małym spożyciu kwasów z rodziny *n-3* [1]. Modyfikowanie składu kwasów tłuszczowych w kierunku zwiększenia udziału wielonienasyconych kwasów tłuszczowych może jednak niekorzystnie wpłynąć na jakość sensoryczną, stabilność oksydacyjną i przydatność technologiczną mięsa. W wyniku utleniania lipidów mięsa powstaje wiele związków, które są odpowiedzialne za powstawanie zjełczałego, niepożądanego zapachu i smaku, nieakceptowanego przez konsumentów [21]. Utlenianie lipidów mięsa ma także niekorzystny wpływ na jego barwę, teksturę i wartość odżywczą, gdyż degradacji ulegają NNKT i witaminy. Badania prowadzone w kierunku możliwości przedłużenia trwałości produktów mięsnych wskazują na konieczność zabezpieczenia tłuszczu przed utlenianiem. Do tego celu można wykorzystać przeciwutleniacze syntetyczne lub naturalne, do których należą między innymi α -tokoferole, kwas askorbinowy, karotenoidy, związki fenolowe i niektóre kwasy organiczne [8].

Witamina E (tokoferol) uważana jest za jeden z najlepszych biologicznych przeciwutleniaczy. Funkcję tę spełnia razem z witaminami: A, C i D, bioflawonoidami oraz selenem. Tokoferol niweluje wolne rodniki nadtlenowe, które odpowiadają za uszkodzenie struktur komórkowych i DNA oraz oksydację lipidów [2, 27].

Istotny wpływ na szybkość utleniania lipidów mięsa mają także czynniki zewnętrzne, m.in. światło, tlen i temperatura. Energia promieniowania świetlnego znacznie skraca indukcyjny okres utleniania tłuszczów i jest zaliczana do najsilniejszych aktywatorów powstawania wolnych rodników. Temperatura, podobnie jak energia świetlna, w istotnym stopniu determinuje utlenianie lipidów w wyniku stymulowania

reakcji tworzenia się wolnych rodników. Niskie dodatnie (4 °C) i ujemne (-10 °C) temperatury przechowywania tłuszczu i mięsa umożliwiają wydłużenie okresu indukcyjnego, co nie oznacza jednak, że takie zmiany nie zachodzą [10, 24].

Celem pracy było określenie wpływu 2-procentowego udziału oleju rybnego oraz zróżnicowanego dodatku octanu α -tokoferolu (0, 40, 100 mg/kg) w mieszance paszowej na skład kwasów tłuszczowych, zawartość witamin A i E, cholesterolu całkowitego i substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym w zamrożonym mięśniu najdłuższym grzbietu królików, po krótkim i względnie długim okresie zamrażalniczego przechowywania oraz porównanie sensorycznej jakości mięsa w zależności od metody pakowania i przechowywania.

Material i metody badań

Doświadczenie hodowlane przeprowadzono w latach 2011 - 2012 w prywatnej fermie królików na terenie województwa podkarpackiego. Analizy mięsa wykonywano w Centralnym Laboratorium Instytutu Zootechniki Państwowego Instytutu Badawczego.

Material doświadczalny stanowiły króliki nowozelandzkie białe (NB), jako rasa typowo mięsna, polecana do hodowli fermowej. Badaniami objęto 120 sztuk zwierząt o równym udziale płci (60♂ i 60♀). Króliki utrzymywane były w klatkach piętrowych wykonanych z siatki metalowej, po 4 sztuki jednej płci w każdej, w pomieszczeniu zamkniętym, ogrzewanym. Zwierzęta odsadzone od matek w wieku 35 dni i po identyfikacji płci, zważeniu oraz indywidualnym oznakowaniu (tatuaz z oznaczeniem miesiąca, roku urodzenia, kolejnego numeru i grupy) umieszczano w klatkach dwukondygnacyjnych. Warunki zoohigieniczne i technologiczne były zgodne z ogólnymi założeniami dla tego rodzaju produkcji. Zwierzęta objęte były programem profilaktyki weterynaryjnej przewidzianej dla tej grupy zwierząt.

Od 35. do 90. dnia życia króliki (po 40 sztuk w każdej grupie) żywione były *ad libitum* granulowanymi mieszankami pełnoporcjowymi z 2-procentowym udziałem oleju rybnego, wzbogaconymi witaminą E, wprowadzaną w postaci octanu α -tokoferolu według poniższego schematu:

- grupa I – mieszanka paszowa natłuszczana olejem rybnym (2 %) + 0 mg/kg witaminy E,
- grupa II – mieszanka paszowa natłuszczana olejem rybnym (2 %) + 40 mg/kg witaminy E,
- grupa III – mieszanka paszowa natłuszczana olejem rybnym (2 %) + 100 mg/kg witaminy E.

Mieszanka paszowa, którą żywione były króliki zawierała: susz z lucerny (25 %), otręby pszenne (18,6 %), śrutę jęczmienną (22 %), śrutę kukurydzianą (14 %), śrutę sojową poekstrakcyjną (14 %), mieszankę mlekozastępczą (2 %, Pollac), olej rybny

(2 %), fosforan paszowy (1 %), NaCl (0,4 %) oraz dodatek mineralno-witaminowy – premiks dla królików (1 %) wraz z kokcydiostatykiem (robenidyna).

Wykonany na potrzeby doświadczenia dodatek mineralno-witaminowy dla królików zawierał witaminy: A – 1 000 000 j.m./kg, D₃ – 150 000 j.m./kg, K₃ – 52 mg/kg, B₁ – 50 mg/kg, B₂ – 400 mg/kg, B₃ – 2000 mg/kg, B₅ – 786 mg/kg, B₆ – 50 mg/kg, B₁₂ – 1 500 mcg/kg, biotynę – 10 000 mcg/kg, chlorek choliny – 12 500 mg/kg, kwas foliowy – 57 mg/kg, pierwiastki: Fe – 5 000 mg/kg, Mn – 7 500 mg/kg, Cu – 750 mg/kg, Zn – 5000 mg/kg, I – 100 mg/kg, Co – 100 mg/kg, Se – 20 mg/kg, Ca – 33,2 %.

Olej rybny pochodził z firmy Agro-fish Sp. z o.o w Gniewinie i był otrzymywany jako produkt uboczny o zawartości kwasów tłuszczowych: C18:3 *n*-3 – 3,9 %, C20:5 *n*-3 – 8,4 %, C 22:6 *n*-3 – 13,6 %, C22:5 *n*-3 – 0,9 %.

Mieszanki paszowe zbilansowano według procedur doświadczalnych, a zawartość składników pokarmowych obliczano na podstawie „Zaleceń żywieniowych i wartości pokarmowej pasz” [33]. Utrzymano na stałym poziomie ilość białka i włókna, tłuszcz pozostawiono wynikowo. Mieszanki zbilansowano również pod względem poziomu aminokwasów i składników mineralnych według zaleceń podanych przez Lebasa [17] dla tej grupy zwierząt. Zawartość witaminy E w próbkach gotowych pełnoporcjowych mieszanek paszowych wynosiła odpowiednio w grupach: 23,12, 49,14 i 103,62 mg/kg.

Wyniki produkcyjne określano na podstawie: masy ciała każdego królika w wieku 35 i 90 dni, przyrostów masy od 35. do 90. dnia życia oraz zużycia paszy na 1 kg przyrostu masy ciała. Na ich podstawie określano wskaźnik wydajności królików ras mięsnych, który pozwolił na porównanie wyników produkcyjnych w poszczególnych grupach zwierząt [13].

$$WWPK = \frac{P \times PC}{D \times ZP} \times 100$$

gdzie:

WWPK – wskaźnik wydajności produkcyjnej królików ras mięsnych,

P – przeżywalność wyrażona w procentach,

PC – przyrost masy ciała od odsadzenia do końca tuczu – średnia/1 sztukę [kg],

D – okres odchowu [dni],

ZP – zużycie paszy ogółem na 1 królika – średnia od odsadzenia do końca tuczu [kg].

Po zakończeniu odchowu doświadczalnego, z każdej grupy królików wybierano losowo po 10 sztuk. Zwierzęta były głodzone przez 24 h, a następnie poddawane ubojowi. Ubój przeprowadzano zgodnie z obowiązującą metodyką dla królików, w jednakowych dla wszystkich grup warunkach technologicznych.

Po 24-godzinnym wychładzaniu (temp. 4 °C) z tusz króliczych wycinano mięśnie najdłuższe grzbietu (*musculus longissimus dorsi*), które poddawano dalszym badaniom, po uprzednim podzieleniu ich na pięć próbek o tej samej masie.

W pierwszej próbkę oznaczano kwasowość czynną – pH po 45 min od uboju (pH_{45}) i pH po 24-godzinnym wychłodzeniu (pH_{24}) oraz zawartość: wody, białka, tłuszczu i składników mineralnych w postaci popiołu. Drugą próbkę mięśni, po szczelnym ich zapakowaniu w strunowe torebki foliowe z folii HDPE 14/4/32, przeznaczonej do przechowywania żywności, przechowywano zamrażalniczo przez 14 dni, a trzecią – przez 90 dni w temp. $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Po okresie zamrażalniczego przechowywania w lipidach mięsa oznaczano: skład wyższych kwasów tłuszczowych oraz zawartość witamin A i E, cholesterolu całkowitego i substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym TBARS. Czwartą próbkę mięśni przeznaczano do głębokiego mrożenia przez 14 dni. Mięśnie pakowano również do torebek foliowych (identycznych, jak wyżej), a następnie umieszczano w komorze zamrażalniczej typu Mińsk 15M zasilanej agregatem freonowym (temp. $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$). Pozostałe mięśnie pakowano próżniowo do opakowań termokurczliwych typu laminat PET PVdC/PPP firmy PABEX o wymiarach $200 \times 130\text{ mm}$ wykonanych z folii poliestrowej i nieorientowanej polipropylenowej o wysokiej barierowości dla gazów (przenikalność $\text{O}_2 = 8,73\text{ cm}^3/\text{m}^2/24\text{ h}/0,1\text{ MPa}$, $\text{CO}_2 = 23,89\text{ cm}^3/\text{m}^2/24\text{ h}/0,1\text{ MPa}$, $\text{H}_2\text{O} = 4,25\text{ g}/\text{m}^2/24\text{ h}$). Pakowanie próżniowe wykonywano w maszynie komorowej stołowej – model PP-5MG (0,15) firmy TEPRO, a następnie umieszczano w komorze chłodniczej typu Mińsk 15M zasilanej agregatem freonowym w środowisku powietrza atmosferycznego. Temperaturę ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$) utrzymywano automatycznie za pomocą termostatu przez 14 dni przechowywania. Wilgotność względna powietrza w komorze wynosiła od 40 do 50 %. Po zakończeniu okresu chłodniczego i zamrażalniczego przechowywania mięso poddawano analizom, przy czym mięso zamrożone rozmrażano przed badaniami w temp. $1\text{ }^{\circ}\text{C}$ przez 24 h.

Pomiary pH mięsa wykonywano zawsze w środkowej części mięśnia najdłuższego grzbietu (*m. longissimus dorsi*) za pomocą mikroprocesorowego pH-metru CyberScan PH 10 PMMV METER.

Zawartość wody oznaczano zgodnie z PN-ISO 1442:2000 [37], tłuszczu – metodą Soxhleta wg PN-ISO 1444:2000 [38], białka – metodą Kjeldahla wg PN-75/A-04018 [35], natomiast zawartość popiołu całkowitego – wg PN-ISO 936:2000 [36].

Zawartość lipidów oznaczano po ekstrakcji roztworem chloroformu i metanolu zgodnie z metodą Folcha i wsp. [9]. Estry metylowe kwasów tłuszczowych przygotowywano wg procedury PN-EN ISO 12966-2:2011 [39]. Rozdział i oznaczanie kwasów tłuszczowych prowadzono przy użyciu chromatografu gazowego VARIAN 3400, z wykorzystaniem detektora płomieniowo-jonizacyjnego (FID), stosując kolumnę kapilarną Rtx 2330 o wymiarach $105\text{ m} \times 0,32\text{ mm} \times 0,2\text{ }\mu\text{m}$. Warunki analizy: temperatura kolumny programowania w zakresie $140 - 210\text{ }^{\circ}\text{C}$, temp. dozownika $250\text{ }^{\circ}\text{C}$, gaz nośny hel (przepływ $3\text{ ml}/\text{min}$), nastrzyk $0,7\text{ ncl}$. Do oznaczenia CLA użyto wzorców kwasów firmy Lardon Fine Chemicals AB, a do pozostałych kwasów – wzorców firmy Sigma-Aldrich.

Stopień oksydacji tłuszczu (TBARS) oznaczano metodą P 025:2001 [41] według Pikula w mg aldehydu malonowego na 1 kg mięsa.

Zawartość witamin A i E oznaczano metodą chromatografii cieczowej przy użyciu aparatu firmy Merck-Hitachi, w kolumnie LiChroCART™ 250-4 Superspher™100 RP-18 (4 mikrony), cholesterolu całkowitego – metodą kolorymetryczną [12].

Próbki do oceny sensorycznej ogrzewano w wodzie zawierającej 0,6 % chlorku sodu (proporcja woda : mięso = 1 : 2) do osiągnięcia w centrum próbki temp. 85 °C. Po obróbce termicznej próbki studzono do temp. 20 ±2 °C, krojono w plastry (ok. 20 g) i umieszczano w plastikowych pudełkach. Próbki kodowano i podawano do oceny w kolejności losowej. Ocenę sensoryczną przeprowadzał zespół składający się z 5 osób o sprawdzonej wrażliwości sensorycznej, przeszkolony zgodnie z normą PN-EN ISO 8586-2:1996 [40]. Oceniano: zapach, soczystość, kruchość, smak mięsa i przeprowadzano ocenę ogólną. Zastosowano 4-punktową skalę ocen, o następujących określeniach brzegowych: 5 – mięso bardzo dobrej jakości, 4 – mięso dobrej jakości, 3 – mięso dostatecznej jakości, 2 punkty – mięso złej jakości.

Badania prowadzono w pomieszczeniu o temp. 20 °C, przy świetle dziennym. Każdy oceniający otrzymywał pomiędzy ocenami kolejnych próbek gorącą herbatę bez cukru w celu neutralizacji smaku.

Wyciek termiczny podczas gotowania określano z równania:

$$\text{Wyciek termiczny [\%]} = \frac{\text{masa próbki przed gotowaniem} - \text{masa próbki po gotowaniu} \times 100}{\text{masa próbki przed gotowaniem}}$$

Uzyskane wyniki opracowano statystycznie w układzie jedno- i dwuczynnikowym, stosując analizę wariancji (ANOVA). Istotność różnic pomiędzy wartościami średnimi w grupach szacowano wielokrotnym testem rozstępu Duncana na poziomie istotności $p \leq 0,05$ i $p \leq 0,01$. Obliczenia wykonywano za pomocą pakietu statystycznego Statistica 7.1 PL.

Wyniki i dyskusja

Wskaźnik wydajności produkcyjnej królików (WWPK) przedstawiono w tab. 1.

Wartości wskaźnika WWPK były zbliżone we wszystkich badanych grupach i nie stwierdzono pomiędzy nimi różnic statystycznie istotnych ($p \leq 0,05$). Wskazuje to na brak wpływu czynnika żywieniowego na przeżywalność, przyrostyienne i zużycie paszy w poszczególnych grupach zwierząt.

Kwasowość czynna (pH) jako wskaźnik jakości mięsa jest m.in. wyznacznikiem kształtowania się zmian poubojowych. W przypadku mięsa króliczego po 45 min od uboju średnia wartość pH powinna mieścić się w granicach 6,1 ÷ 6,8, a po 24 h 5,4 ÷ 5,8 [15, 16]. Tempo zmniejszania wartości pH zależy od stanu zwierzęcia w chwili uboju – obniża się szybciej, gdy zwierzę było zdrowe, wypoczęte, niezestresowane.

Tabela 1. Wskaźnik wydajności produkcyjnej (WWPK) królików nowozelandzkich białych, żywionych zróżnicowanymi paszami

Table 1. Specific Performance Ratio (SPR) of meat of New Zealand White rabbits fed diversified feeds

Grupa żywieniowa / Diet type-based group	WWPK / WWPK
1	55,1 ± 6,01
2	56,9 ± 5,08
3	56,8 ± 5,55

Objaśnienia: / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviations; n = 40.

W prowadzonych badaniach wartości pH_{45} i pH_{24} mięsa badanych grup mieściły się w granicach przyjętych dla mięsa normalnego, pozbawionego objawów nienaturalnej konwersji mięśni do mięsa (tab. 2). Podobne wartości pH początkowego mięśni królików rasy NB, mierzonego po 45 min od uboju, wykazali Kowalska i Bielański [14] – 6,57, Kowalska i wsp. [15] – 6,60 oraz Szkucik i Pysz-Lukasik [29] – 6,21. Cavani i wsp. [4] oznaczyli w mięśniach królików $pH_{24} = 5,79$, Kowalska i Bielański [14] – 5,70, a Szkucik i Pysz-Lukasik [29] – 5,71. Zgodnie z obserwacjami Szkucika i Pysz-Lukasik [29], tkanka mięśniowa królików uzyskuje pełne zakwaszenie po 12 h od uboju. Proces ten przebiega znacznie szybciej w mięśniach królików niż bydła czy świń, ale wolniej niż kurcząt brojlerów [22, 25].

Zawartość białka w mięśni najdłuższym grzbiecie była zbliżona we wszystkich grupach i wynosiła $19,88 \div 20,35$ % (tab. 2). Otrzymane wyniki są niższe niż wartości podane przez Szkucika i Libelta [30] – 23,91 %, Szkucika i Pysz-Lukasik [31] – 23,9 %, Kowalską i Bielańskiego [14] – 25,43 %, Cygan-Szczegielniak i wsp. [7] – 23,6 %, czy Pla i wsp. [26] – 22,1 %. Z kolei Xiccato [32], uwzględniając badania różnych autorów, podaje, że poziom białka w mięsie króliczym może kształtować się na poziomie $18,6 \div 21,9$ %. Różnice zawartości białka w mięsie króliczym zależą od rasy, wieku ubijanych zwierząt, składu mieszanki paszowej, części anatomicznej tuszki czy samego przygotowania do uboju.

Jednym z głównych czynników decydujących o sensorycznej jakości mięsa jest tłuszcz śródmięśniowy, który w przypadku królików składa się w 47,3 % z kwasów tłuszczowych nasyconych (SFA), w 35,5 % – z kwasów tłuszczowych jednonienasyconych (MUFA) i w 17,2 % – z kwasów tłuszczowych wielonienasyconych [15]. W badaniach własnych także zawartość tego składnika nie różniła się istotnie ($p \leq 0,05$) pomiędzy grupami objętymi doświadczeniem i wynosiła $1,89 \div 2,04$ %. Uzyskane wyniki wskazują na brak wpływu witaminy E na zawartość białka i tłuszczu w tkankach mięśni króliczych. Mniejszą, niż w niniejszych badaniach, zawartość tłuszczu śródmięśniowego w mięśni najdłuższym grzbiecie oznaczyli Pla i wsp. [26] –

1,20 %, Łapa [19] – 1,71 %, Maj i wsp. [20] – 1,60 %, Szkucik i Libelt [30] – 1,12 %, a większą jedynie Kowalska i Bielański [14] – 2,11 %.

W poszczególnych grupach zawartość wody w mięśni najdłuższym grzbiecie nie różniła się istotnie ($p \leq 0,05$) i zawierała się w przedziale $73,40 \div 74,91$ %, korespondując z wynikami podawanymi przez Łapę [19], Szkucika i Libelta [30] oraz Kowalską [13].

Tabela 2. Właściwości fizykochemiczne mięśni (*m. longissimus dorsi*) królików nowozelandzkich białych, żywionych zróżnicowanymi paszami

Table 2. Physicochemical properties of rabbit muscles (*musculus longissimus dorsi*) of New Zealand White rabbits fed diversified feeds

Cecha Parameter	Grupa żywieniowa / Diet type-based group		
	I	II	III
Sucha masa [%] Dry matter [%]	27,1 ± 0,07	27,7 ± 0,19	27,4 ± 0,14
Białko [%] Protein [%]	20,0 ± 0,18	19,9 ± 0,12	20,4 ± 0,20
Woda [%] Water [%]	74,9 ± 2,38	73,4 ± 1,43	73,7 ± 1,46
Tłuszcz [%] Fat [%]	2,04 ± 0,11	1,95 ± 0,12	1,89 ± 0,09
pH ₄₅ pH ₄₅	6,52 ± 0,18	6,59 ± 0,12	6,62 ± 0,16
pH ₂₄ pH ₂₄	5,62 ± 0,12	5,73 ± 0,17	5,69 ± 0,11

Objaśnienia: / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviations; n = 10.

Po przeprowadzeniu dwuczynnikowej analizy wariancji stwierdzono wpływ dwóch czynników: wielkości dodatku witaminy E i czasu przechowywania mięśni (14 i 90 dni) na zawartość wybranych kwasów tłuszczowych (tab. 3). Biorąc pod uwagę wpływ wielkości dodatku witaminy E, istotne różnice ($p \leq 0,01$) pomiędzy grupami dotyczyły kwasów: oleinowego (C18:1) oraz ($p \leq 0,05$) linolenowego (C18:3), arachidonowego (C20:4), EPA (C20:5), DHA (C22:6) i stosunku kwasów PUFA *n-6/n-3*. Za korzystne należy uznać istotne ($p \leq 0,05$) zmniejszenie wartości stosunku kwasów PUFA *n-6/n-3* w mięśniach królików otrzymujących w mieszance paszowej 100 mg/kg witaminy E. Czas przechowywania mięśni również modyfikował zawartość niektórych kwasów. Miał istotny ($p \leq 0,01$) wpływ na poziom kwasów: palmitynowego (C16:0),

oleinowego (C18:1), linolowego (C18:2), arachidonowego (C20:4), EPA (C20:5), SFA, UFA/SFA, PUFA, PUFA *n*-6, PUFA/SFA i PUFA *n*-6/*n*-3. Istotną ($p \leq 0,05$) interakcję – wielkość dodatku witaminy E \times czas przechowywania – stwierdzono w przypadku kwasu stearynowego (C18:0) zaliczanego do tzw. kwasów hipercholesterolemicznych.

Pieszka i wsp. [23] w badaniach dotyczących drobiu wykazali, że nawet przy zawartości witaminy E równej 240 mg/kg paszy, niezależnie od rodzaju użytego tłuszczu w mieszance (smalec – 5 % lub olej słonecznikowy – 5 %), w mięśniach piersiowych kurcząt obserwuje się istotny wzrost zawartości kwasu stearynowego (C18:0). Koreleski i Świątkiewicz [11] stwierdzili, niezależnie od rodzaju przeciwutleniacza użytego do mieszanek, zwiększenie zawartości tego kwasu ($p \leq 0,05$) w mięśniach piersiowych kurcząt przechowywanych w zamrożeniu przez 6 miesięcy.

Zhang i wsp. [34] za optymalny poziom suplementacji pasz octanem α - tokoferolu uznali 80 mg/kg, już bowiem ta ilość istotnie poprawiała kruchość mięsa i znacząco opóźniała utlenianie lipidów mięsa. Selim i wsp. [28] badali straty witamin oraz zmiany profilu wyższych kwasów tłuszczowych przy różnych dodatkach w paszy: witaminy E (0, 40, 80 mg/kg) i C (0, 200, 400 mg/kg) lub zwiększonej ilości obu witamin (40 E i 200 C, 80 E i 400 C), podczas przechowywania mięsa w temp. -20 °C przez 10 lub 20 dni. Stwierdzili oni istotny ($p \leq 0,01$) wpływ witaminy E na zawartość kwasów PUFA, zwłaszcza linolowego i linolenowego, których ilość zarówno po 10, jak i po 20 dniach zamrażalniczego przechowywania wzrosła w stosunku do grupy kontrolnej (bez dodatku witamin). Corino i wsp. [6] wykazali przy zwiększonej suplementacji pasz witaminą E (z 60 do 240 mg/kg) istotny ($p \leq 0,01$) wzrost zawartości kwasu oleinowego i tym samym sumy kwasów jednonienasyconych, natomiast niższy poziom kwasów wielonienasyconych.

Najniższe wartości TBARS po 90 dniach zamrażalniczego przechowywania mięsa stwierdzono w grupie III (0,41), w której zwierzęta otrzymywały 100 mg witaminy E na kg w paszy, najwyższe zaś w grupie I (0,72), w której nie była ona podawana (tab. 4). Pomiędzy grupą III a I różnice były statystycznie istotne ($p \leq 0,01$). Niską wartość wskaźnika TBARS w grupie III, po 90 dniach przechowywania można wiązać z wysokim poziomem witaminy E w mięsie, która jest naturalnym przeciwutleniaczem chroniącym lipidy mięsa przed procesami utleniania. Podobne wyniki uzyskali Kowalska i wsp. [15], badając wpływ 3-procentowego dodatku oleju rybnego i zróżnicowanego poziomu witaminy E na jakość mięsa króliczego. W grupie otrzymującej zwiększony do 60 mg/kg dodatek witaminy E w mieszance paszowej, wskaźnik TBARS zarówno po 14, jak i 90 dniach zamrażalniczego przechowywania mięsa przyjmował najniższe wartości (odpowiednio: 0,48 i 0,66 mg/kg).

Tabela 3. Zawartość wybranych kwasów tłuszczowych w mięśniach (*m. longissimus dorsi*) królików nowozelandzkich białych, żywnionych źródnicowanymi paszami, determinowana zawartością witaminy E w dawce pokarmowej i czasem zamrażalniczego przechowywania

Table 3. Content of selected fatty acids in muscles (*m. longissimus dorsi*) of New Zealand White rabbits fed diversified feeds depending on content of vitamin E in administered amount of feed and on time period of frozen storage

Czynnik Factor	Dodatek witaminy E (A) / Vitamin E supplement (A) [mg/kg]																
	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:4	C20:5	C22:6	SFA	UFA	UFA/ SFA	PUFA	PUFA n-6	PUFA n-3	PUFA/ SFA	PUFA n-6/n-3	
0	28,6 ±2,67	6,70 ±0,78	27,4 ^A ±1,06	21,1 ±3,23	5,43 ^a ±0,55	75 ^{ab} ±0,35	0,39 ^a ±0,06	1,80 ^a ±0,24	38,8 ±3,32	61,2 ±3,32	1,59 ±0,20	31,1 ±3,92	22,9 ±3,49	63 ±0,85	0,81 ±0,16	2,99 ^a ±0,15	
40	29,8 ±5,66	6,75 ±1,20	25,6 ^{BC} ±0,87	20,7 ±4,69	4,99 ^a ±0,94	2,06 ^a ±0,99	0,45 ^{ab} ±0,22	2,56 ^b ±1,07	40,8 ±6,42	59,1 ±6,42	1,49 ±0,34	31,4 ±7,52	22,8 ±5,51	8,02 ±2,06	0,81 ±0,27	2,89 ^{ab} ±0,30	
100	30,7 ±4,90	6,79 ±0,78	25,7 ^C ±1,33	22,7 ±3,35	6,13 ^b ±1,01	1,54 ^b ±0,29	0,52 ^b ±0,05	2,01 ^{ab} ±0,37	41,8 ±6,95	58,2 ±6,95	1,44 ±0,33	33,7 ±4,45	24,3 ±3,59	8,67 ±1,04	0,82 ±0,10	2,79 ^b ±0,21	
Czas przechowywania (B) / Storage time (B) [dni / days]																	
14	27,3 ^A ±1,62	6,92 ±0,81	25,6 ^A ±1,32	23,9 ^A ±1,78	5,82 ^a ±0,31	2,08 ^A ±0,71	0,52 ^A ±0,06	2,33 ±0,71	37,1 ^A ±1,56	62,9 ±1,56	1,69 ^A ±0,11	34,7 ^A ±2,88	26,0 ^A ±2,28	8,66 ^a ±0,64	0,94 ^A ±0,11	3,01 ^A ±0,13	
90	32,1 ^B ±5,25	6,57 ±1,00	26,8 ^B ±1,12	19,0 ^B ±3,75	5,22 ^b ±1,27	1,48 ^B ±0,41	0,39 ^B ±0,17	1,93 ±0,70	43,9 ^B ±6,46	56,1 ±6,46	1,32 ^B ±0,30	29,4 ^B ±5,23	20,6 ^B ±4,02	7,55 ^b ±1,80	0,68 ^B ±0,16	2,78 ^B ±0,27	
Istotność efektów głównych i interakcji (P) / Significance of major effects and interactions (P)																	
A	0,439	0,969	0,000	0,200	0,004	0,080	0,035	0,021	0,315	0,315	0,305	0,342	0,459	0,138	0,983	0,073	
B	0,001	0,230	0,000	0,000	0,028	0,003	0,003	0,080	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000	0,013	0,000	0,001	
A×B	0,668	0,041	0,326	0,187	0,067	0,374	0,226	0,508	0,658	0,660	0,773	0,156	0,194	0,102	0,393	0,172	

Objaśnienia: / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviations; n = 10; Wartości średnie oznaczone różnymi literami w kolumnach różnią się statystycznie istotnie na poziomie: A, B, C – p ≤ 0,01; a, b – p ≤ 0,05 / Mean values in columns and denoted by different letters differ statistically significantly at: A, B, C – p ≤ 0,01; a, b – p ≤ 0,05.

W grupie I, w porównaniu z II i III, zarówno po 14, jak i po 90 dniach przechowywania mięsa w komorze zamrażalniczej oznaczono mniej witaminy A ($p \leq 0,01$). Miało to związek z niskim poziomem witaminy E, która zapobiega utlenianiu witaminy A.

Ilość witaminy E zgromadzonej w tkankach jest determinowana jej zawartością w paszy. W doświadczeniu, wzrastający dodatek witaminy E do paszy wpływał na zwiększenie jej zawartości w mięsie. Po 14 dniach zamrażalniczego przechowywania mięsa istotne różnice ($p \leq 0,01$) wykazano pomiędzy grupą I a III oraz pomiędzy II a III ($p \leq 0,05$). Po 90 dniach różnice pomiędzy wszystkimi grupami były istotne ($p \leq 0,01$).

Tabela 4. Wskaźnik TBARS w mięsie królików nowozelandzkich białych, żywionych zróżnicowanymi paszami, po 14 i 90 dniach zamrażalniczego przechowywania [mg aldehydu malonowego/kg próbek], zawartość cholesterolu [mg/100g] oraz witamin A [ug/g] i E [ug/g]

Table 4. TBARS indicator in meat of New Zealand White rabbits fed diversified feeds after 14 and 90 days of frozen storage [mg of malonaldehyde/kg of sample], contents of cholesterol [mg/100 g] and vitamins A [$\mu\text{g/g}$] and E [$\mu\text{g/g}$]

Cecha Parameter	Grupa żywieniowa Diet type-based group		
	I	II	III
TBARS _{14dni/days}	0,32 ± 0,04	0,27 ± 0,06	0,27 ± 0,07
TBA-RS _{90dni/days}	0,69 ^A ± 0,34	0,56 ^a ± 0,15	0,41 ^{Bb} ± 0,10
Cholesterol całkowity* Total cholesterol	60,8 ^A ± 0,91	57,4 ^{AB} ± 3,34	53,3 ^B ± 1,63
Cholesterol całkowity** Total cholesterol	61,3 ^A ± 0,85	56,4 ^{AB} ± 3,28	52,7 ^B ± 1,56
Witamina A*/Vitamin A	0,09 ^A ± 0,01	0,16 ^{BC} ± 0,05	0,19 ^C ± 0,01
Witamina A**/Vitamin A	0,09 ^A ± 0,01	0,16 ^{BC} ± 0,05	0,18 ^C ± 0,01
Witamina E*/Vitamin E	3,00 ^A ± 0,33	4,13 ^{B^{Ca}} ± 0,37	5,14 ^{Cb} ± 0,55
Witamina E**/Vitamin E	2,62 ^A ± 0,26	3,85 ^B ± 0,30	5,14 ^C ± 0,52

Objaśnienia: / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviations; n = 10; Wartości średnie oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się statystycznie istotnie na poziomie: A, B – $p \leq 0,01$; a, b – $p \leq 0,05$ / mean values in lines and denoted by different letters differ statistically significantly at: A, B – $p \leq 0,01$; a, b – $p \leq 0,05$;

* – zawartość cholesterolu oraz witamin A i E w tkance mięśniowej po 14 dniach zamrażalniczego przechowywania / contents of cholesterol and vitamin A and E in muscle tissue after 14 days of frozen storage

** – zawartość cholesterolu oraz witamin A i E w tkance mięśniowej po 90 dniach zamrażalniczego przechowywania / content of cholesterol and vitamin A and E in muscle tissue after 90 days of frozen storage.

Najmniejszą zawartość cholesterolu zarówno po 14, jak i 90 dniach zamrażalniczego przechowywania mięsa (odpowiednio: 53,3 i 52,7 mg/100 g) stwierdzono

w mięsie królików otrzymujących w paszy 2-procentowy dodatek oleju rybnego i 100 mg witaminy E/kg paszy, największą – w grupie otrzymującej olej rybny bez dodatku witaminy E (odpowiednio: 60,8 i 61,3 mg/100 g). Wskazuje to na dodatni wpływ zwiększonego dodatku witaminy E na poziom cholesterolu w mięsie tych zwierząt. Badania nad zawartością cholesterolu całkowitego prowadzone przez Szkucika i Pysz-Lukasik [31], Bielańskiego i wsp. [3] oraz Kowalską [13] wskazują na dość duże różnice pod względem jego zawartości w mięsie króliczym, a jego poziom może być determinowany wieloma czynnikami (m.in. rasą, rodzajem mięśnia czy masą przedubojową zwierząt).

Tabela 5. Wyciek termiczny i wyniki oceny sensorycznej mięsa królików nowozelandzkich białych, żywnych zróżnicowanymi paszami, determinowane zawartością witaminy E w dawce pokarmowej oraz sposobem pakowania i przechowywania próbek

Table 5. Thermal loss and results of sensory evaluation of meat of New Zealand White rabbits fed diversified feeds depending on vitamin E content and methods of packaging and storing samples

Czynnik Factor	Wyciek termiczny Thermal loss [%]	Zapach Aroma	Smak Flavour	Soczystość Juiciness	Kruchość Tenderness	Wskaźnik sensorycznej jakości całkowitej Indicator of overall sensory quality
Dodatek witaminy E (A) / Vitamin E supplement (A) [mg/kg]						
0	27,6a ± 2,77	4,10 ^A ± 0,23	4,00 ^A ± 0,53	4,25 ^{Aa} ± 0,28	4,50 ^A ± 0,07	4,21 ^A ± 0,25
40	26,5 ^b ± 2,18	4,45 ^{Ba} ± 0,28	4,45 ^B ± 0,28	4,35 ^b ± 0,16	4,40 ^B ± 0,13	4,41 ^B ± 0,21
100	26,7 ^{ab} ± 2,44	4,55 ^{Bb} ± 0,14	4,58 ^C ± 0,13	4,45 ^{Ba} ± 0,28	4,50 ^A ± 0,06	4,52 ^C ± 0,12
Sposób pakowania i przechowywania: (B) / Packaging and storage method: (B)						
Δ	29,0 ^A ± 0,96	4,20 ^A ± 0,25	4,06 ^A ± 0,44	4,13 ^A ± 0,14	4,43 ^a ± 0,12	4,21 ^A ± 0,19
ΔΔ	24,8 ^B ± 1,42	4,53 ^B ± 0,22	4,62 ^B ± 0,14	4,57 ^B ± 0,13	4,50 ^b ± 0,06	4,55 ^B ± 0,12
Istotność efektów głównych i interakcji (P) / Significance of effects and interaction (P)						
A	0,055	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
B	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
A × B	0,834	0,000	0,000	0,042	0,000	0,000

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Δ – mrożenie w strunowych torebkach foliowych / freezing in plastic zip lock bags; ΔΔ – pakowanie próżniowe / vacuum packaging; W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviations; n = 10; Wartości średnie oznaczone różnymi literami w kolumnach różnią się statystycznie istotnie na poziomie: A, B – p ≤ 0,01; a, b – p ≤ 0,05 / mean values in lines and denoted by different letters differ statistically significantly at: A, B – p ≤ 0.01; a, b – p ≤ 0.05.

Po przeprowadzeniu dwuczynnikowej analizy wariancji wykazano wpływ czynników: dodatek witaminy E i sposób pakowania oraz przechowywania mięśni na ocenę jakości sensorycznej mięsa i wyciek termiczny (tab. 5). Zróżnicowany dodatek witaminy E w dawce pokarmowej miał istotny ($p \leq 0,01$) wpływ na zapach, smak, soczystość, kruchość i wskaźnik sensorycznej jakości całkowitej mięsa oraz ubytek cieplny ($p \leq 0,05$). Natomiast sposób pakowania i przechowywania miał istotny ($p \leq 0,01$) wpływ na wyciek termiczny, zapach, smak, soczystość i wskaźnik sensorycznej jakości całkowitej oraz na kruchość mięsa ($p \leq 0,05$). Istotne interakcje ($p \leq 0,01$): wielkość dodatku witaminy E \times sposób pakowania i przechowywania) stwierdzono w przypadku zapachu, smaku, kruchości i wskaźnika sensorycznej jakości całkowitej, natomiast na poziomie $p \leq 0,05$ w przypadku soczystości.

Wyniki badań pozwalają na stwierdzenie, że obydwie badane czynniki (wielkość dodatku witaminy E oraz sposób pakowania i przechowywania) miały istotny wpływ na końcową ocenę mięsa króliczego. Najwyżej oceniono próbki mięsa pochodzące z królików NB otrzymujących w mieszance paszowej 100 mg/kg witaminy E, pakowane próżniowo. Wyniki te są potwierdzeniem wielu badań wskazujących, że zmiany oksydacyjne i hydrolityczne lipidów zachodzące podczas przechowywania niewłaściwego dla danego gatunku mięsa oddziałują w niekorzystny sposób na jego cechy smakowo-zapachowe.

Chwastowska-Siwiecka i wsp. [5] stwierdzili, że mięśnie ud króliczych pakowane próżniowo i przechowywane chłodniczo przez 10 dni sensorycznie oceniono wyżej za zapach, soczystość, kruchość i smakowitość w porównaniu z mięsem pakowanym w atmosferze gazów ochronnych oraz z mięsem mrożonym.

Istotnym problemem w przypadku mięsa przechowywanego w warunkach chłodniczych i zamrażalniczych, a następnie poddanego działaniu wysokiej temperatury, są ubytki jego masy spowodowane wyciekami soku (w trakcie przechowywania, jak i obróbki termicznej). Jest to bardzo ważny parametr, ponieważ produkty wytworzone z mięsa wodniste cechują się mniejszą soczystością, niekorzystnymi cechami tekstury oraz gorszą smakowitością. Wraz z wyciekami tracone są również witaminy, wolne aminokwasy oraz niskocząsteczkowe peptydy będące prekursorami smakowitości. W niniejszych badaniach stwierdzono istotnie mniejszy ($p \leq 0,01$) wyciek termiczny mięsa pakowanego próżniowo w porównaniu z mięsem przechowywanym zamrażalniczo. Może to świadczyć o mniejszym naruszeniu integralności błon komórkowych i osłabieniu utrzymywania wody przez miofilamenty w trakcie takiego przechowywania.

Wnioski

1. W mięsie królików nowozelandzkich żywionych zróżnicowanymi paszami nie stwierdzono potwierdzonych różnic pod względem zawartości białka, wody, tłuszczu i składników mineralnych w postaci popiołu.
2. Po 14 dniach przechowywania mięsa króliczego w warunkach zamrażalniczych najmniejszą zawartość witaminy E stwierdzono w mięsie zwierząt nieotrzymujących jej dodatku w paszy, w pozostałych wzrost był zależny od jej dawki w mieszance. Zbliżone tendencje utrzymywały się po 90 dniach zamrażalniczego przechowywania.
3. Najniższe wartości TBARS po 90 dniach zamrażalniczego przechowywania mięsa króliczego stwierdzono w grupie zwierząt otrzymujących 100 mg/kg witaminy E w paszy, która jako naturalny przeciwutleniacz chroniła lipidy mięsa przed procesami utleniania.
4. Najmniejszą zawartość cholesterolu po 14 i 90 dniach zamrażalniczego przechowywania (odpowiednio: 52,3 i 52,7 mg/100 g) wykazano w mięsie królików otrzymujących w paszy 100 mg witaminy E.
5. Ocena poszczególnych wyróżników jakości sensorycznej mięsa (zapach, smak, soczystość, kruchość) różniła się w zależności od ilości witaminy E podawanej w paszy oraz sposobu pakowania i przechowywania próbek. Wyżej oceniono mięsa pakowanego próżniowo.

Literatura

- [1] Bartnikowska E.: Fizjologiczne działanie polienowych kwasów tłuszczowych z rodziny *n-3*. *Tłuszcze Jadalne*, 2008, **1-2**, 10-15.
- [2] Bernardini M., Dal Bosco A., Castellini C., Migglano G.: Dietary vitamin E supplementation in rabbit: Antioxidant capacity and meat quality. 6th World Rabbit Congress, July, Toulouse, 1996, pp. 137-140.
- [3] Bielański P., Zajac J., Kowalska D.: Cechy jakościowe mięsa królików różnych ras. *Rocz. Nauk. Zoot., Supl.*, 2000, **8**, 125-129.
- [4] Cavani C., Bianchi M., Lazzaroni C., Luzi F., Minelli G., Petracci M.: Influence of type of rearing, slaughtering age and sex on fattening rabbit: II Meat quality. *Proc. 7th World Rabbit Congress*, Valencia, Spain, 2000, pp. 1-32.
- [5] Chwastowska-Siwiecka I., Baryczka I., Skiepmo N.: Wpływ metody pakowania i czasu chłodniczego przechowywania na właściwości fizykochemiczne i sensoryczne mięsa króliczego. *Chłodnictwo*, 2012, XLVII, **7-8**, 56-60.
- [6] Corino C., Lo Fiego D.P., Macchioni P., Pastorelli G., Di Giancamillo A., Domeneghini C., Rossi R.: Influence of dietary conjugated linoleic acids and vitamin E on meat quality, and adipose tissue in rabbits. *Meat Sci.*, 2006, **76 (1)**, 19-28.
- [7] Cygan-Szczegieliński D., Stasiak K., Janicki B.: Wpływ diety na wybrane parametry oceny poubojowej tuszek oraz jakość mięsa królików. *Med. Weter.*, 2010, **66 (12)**, 839-842.

- [8] Dal Bosco A., Castellini C., Bianchi L., Mugani C.: Effect of dietary α -linolenic acid and vitamin E on the fatty acid composition, storage stability and sensory traits of rabbit meat. *Meat Sci.*, 2004, **66**, 407-413.
- [9] Folch J., Lees M., Stanley G.H.S.: A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 1957, 226-497.
- [10] Kanner J.: Oxidative processes in meat and meat products: quality implications. *Meat Sci.*, 1994, **36**, 703-725.
- [11] Koreleski J., Świątkiewicz S.: Effect of dietary supplementation of vitamin E, antioxidants and A synthetic carotenoid on changes in chicken breast meat quality during storage. *Ann. Anim. Sci.*, 2008, **8** (2), 167-174.
- [12] Korzeniowski W., Ostoja H., Jarczyk A.: Zawartość cholesterolu w tkance tłuszczowej i mięśniowej świń czystych ras i ich krzyżówek. *Med. Weter.*, 1992, **48**, 464-465.
- [13] Kowalska D.: Określenie wartości pokarmowej makuchu rzepakowego w żywieniu królików różnych ras. *Roczniki Naukowe Zootechniki. Monografie i rozprawy*, 2009, z.41.
- [14] Kowalska D., Bielański P.: Zastosowanie pasz rzepakowych w żywieniu królików i ich wpływ na jakość mięsa. *Rocz. Nauk. PTZ*, 2011, **7(2)**, 53-63.
- [15] Kowalska D., Bielański P., Chelmińska A.: Rodzaj tłuszczu w paszy dla królików a profil kwasów tłuszczowych i podatność na utlenianie lipidów mięsa. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, **2 (75)**, 148-159.
- [16] Kowalska D., Gugolek A., Bielański P.: Effect of stress on rabbit meat quality. *Ann. Anim. Sci.*, 2011, **11 (3)**, 465-475.
- [17] Lebas F.: Reflections on rabbit nutrition with a special emphasis on feed ingredients utilization. 8th World Rabbit Congress Mexico, 2004, pp. 686-736.
- [18] Lopez-Bote C., Rey A., Sanz M., Gray J., Buckley D.: Dietary vegetable oils and α -tocopherol reduce lipid oxidation in rabbit muscle. *J. Nut.*, 1997, **127**, 1176-1182.
- [19] Łapa P.: Charakterystyka wskaźników jakości mięsa królików rasy nowozelandzkiej białej i kalifornijskiej oraz ich mieszańców. Praca magisterska, WHiBZ, UR Kraków 2005.
- [20] Maj D., Łapa P., Bieniek J.: Korelacje fenotypowe między wskaźnikami jakości mięsa królików ras mięsnych. *Rocz. Nauk. PTZ*, 2008, **4 (2)**, 105-113.
- [21] Mottram D.S.: Flavour formation in meat and meat products: a review. *Food Chem.*, 1998, **62**, 415-424.
- [22] Pelczyńska E., Libelt K.: pH narządów wewnętrznych świń i bydła. *Med. Weter.*, 1989, **45**, 623-625.
- [23] Pieszka M., Barowicz T., Pietras M.: Wpływ źródła tłuszczu i poziomu octanu α -tokoferolu w diecie na skład kwasów tłuszczowych i zawartość witamin E i A w mięśni piersiowym kurcząt. *Roczn. Nauk. Zoot., Supl.*, 2004, **20**, 293-243.
- [24] Pikul J.: Chemiczna ocena jakości lipidów mięsa drobiu. W: Ocena technologiczna surowców i produktów przemysłu drobiarskiego. Wydawnictwo AR, Poznań 1993, ss. 104-118.
- [25] Pisarski R.K., Szkucik K., Pijarska I., Malec H.: Cechy rzeźne tuszek, skład chemiczny tkanki mięśniowej i ocena sensoryczna mięsa kurcząt brojlerów żywionych jęczmieniem nagoziarnistym. *Med. Weter.*, 2006, **62**, 74-76.
- [26] Pla M., Pascual M., Arino B.: Protein, fat and moisture content of retail cuts of rabbit meat evaluated with the NIRS methodology. *World Rabbit Sci.*, 2004, **2 (12)**, 149-158.
- [27] Sammet K., Duehlmejer R., Sallmann H.P., Canstein C., Mueffling T., Nowak B.: Assessment of the antioxidative potential of dietary supplementation with α -tocopherol in low-nitrite salami-type sausages. *Meat Sci.*, 2006, **72**, 270-279.
- [28] Selim N.A., Abdel-Khalek A.M., Nada S.A., El-Medany Sh. A.: Response of growing rabbits to dietary antioxidant vitamins E and C.2. effects on meat quality. 9th World Rabbit Congress, June 10-13, Verona, 2008, pp. 1437-1442.

- [29] Szkucik K., Pyz-Łukasik R.: pH value of rabbit meat (in Polish). *Annales UMCS*, LXI, 2006, **13**, 115-118.
- [30] Szkucik K., Libelt K.: Wartość odżywcza mięsa królików. *Med. Weter.*, 2006, **62 (2)**, 108-110.
- [31] Szkucik K., Pyz-Łukasik R.: Jakość zdrowotna mięsa królików. *Med. Weter.*, 2009, **65 (10)**, 665-669.
- [32] Xiccato G.: Feeding and meat quality in rabbits: a review. *World Rabbit Sci.*, 1999, **7 (2)**, 75-86.
- [33] Zalecenia żywieniowe i wartość pokarmowa pasz. *Zwierzęta futerkowe*. Red. A. Gugolek. Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt, Jabłonna, 2011, ss. 1-110.
- [34] Zhang W., Wang X.P., Wang C.Y., Li F.C.: Effects of dietary vitamin E supplementation on meat quality, vitamin E contents and oxidative stability of rabbit meat. *Proc. 10th World Rabbit Congress*, September 3-6, 2012, Sharm El-Sheikh 2012, pp. 871-874.
- [35] PN-75/A-04018. Produkty rolniczo-żywnościowe. Oznaczanie azotu metodą Kjeldahla i przeliczanie na białko.
- [36] PN-ISO 936:2000. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości popiołu całkowitego (metoda odwoławcza).
- [37] PN-ISO 1442:2000. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości wody (metoda odwoławcza).
- [38] PN-ISO 1444:2000. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości tłuszczu (metoda odwoławcza).
- [39] PN-EN ISO 12966-2:2011. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Chromatografia gazowa estrów metylowych kwasów tłuszczowych. Część 2. Przygotowanie estrów metylowych kwasów tłuszczowych.
- [40] PN-EN ISO 8586-2:1996. Analiza sensoryczna. Ogólne wytyczne wyboru, szkolenia i monitorowania oceniających. Część 2. Eksperti oceny sensorycznej.
- [41] P 025:2001. Ocena technologiczna surowców i produktów przemysłu drobiarskiego. Red. J. Pikul. Wyd. AR, Poznań 1993, ss. 113-118.

**EFFECT OF PACKAGING AND STORAGE METHOD ON PHYSICOCHEMICAL
PROPERTIES OF MEAT OF RABBITS FED FEED MIXTURES ENRICHED WITH FISH OIL
AND VITAMIN E**

S u m m a r y

The objective of the study was to determine the effect of diversified alpha-tocopherol acetate supplement in fish oil-enriched (2 %) feed mixtures on fatty acid composition, content of vitamins A and E, total cholesterol, and thiobarbituric acid reactive substances (TBA-RS) in the rabbit *longissimus dorsi* muscle frozen-stored for 14 days and 90 days as well as to compare the sensory quality of rabbit meat depending on the packaging and storage method. From 35 to 90 days of their age, New Zealand White rabbits (40 animals per group) were fed *ad libitum* complete pelleted feed mixtures that contained 2 % of fish oil and alpha-tocopherol acetate (0.40 or 100 mg/kg). Three groups of fed animals were made. At 90 days of age, 10 rabbits from every group were slaughtered. It was proved that the content of protein in the *longissimus dorsi* muscle was similar in all the groups (19.9 ÷ 20.4 %). There were reported no differences in the contents of water, fat, and mineral components in the form ash. After 14 days of frozen storage of meat, the level of vitamin E (3.00 µg/g) was the lowest in the meat of rabbits fed the unsupplemented feed mixture. In the groups of rabbits fed the feed supplemented with vitamin E, its content in the meat increased with the increasing supplementation of vitamin E in the diet (from 4.13 to 5.14 µg/g). Similar trends remained after 90 days of the frozen storage of meat. Enriching the feed with 100 mg/kg of vitamin E had a significant ($p \leq 0,05$) effect on the decreased value of TBA-RS indicator of meat after 90 days of

frozen storage (by 59 %). This fact was proof of a slower lipid oxidation rate in meat. After 14 and 90 days of storage, the cholesterol value was reported to be the lowest (52.3 and 52.7 mg/100 g, respectively) in the meat of rabbits fed the feed supplemented with 100 mg of vitamin E. It was proved that the individual scores of the meat sensory quality differed depending on the storage method (vacuum packaging - refrigeration for 14 days or freezing in zip lock bags for 14 days) and on the amount of vitamin E administered in the feed. The flavour, aroma, and juiciness of vacuum packed meat were rated with higher scores.

Key words: rabbit meat, fish oil, vitamin E, refrigerated and frozen storage, sensory evaluation ☒

PIOTR SKAŁECKI, MARIUSZ FLOREK, AGNIESZKA STASZOWSKA,
AGNIESZKA KALINIAK

WARTOŚĆ UŻYTKOWA I JAKOŚĆ FILETÓW RYB KARPIOWATYCH (*CYPRINIDAE*) UTRZYMYWANYCH W POLIKULTURZE

Streszczenie

Celem pracy było porównanie wartości użytkowej i jakości filetów trzech gatunków ryb karpio-
waty: karpia zwyczajnego (*Cyprinus carpio* L.), amura białego (*Ctenopharyngodon iddela* Val.) i tołpygi
pstrej (*Aristichthys nobilis* Rich.), utrzymywanych w polikulturze. Ryby pozyskano ze stawów rybackich
w woj. lubelskim. Analizowano wymiary morfometryczne, masę i udział elementów ciała, właściwości
fizykochemiczne (pH, przewodność elektryczną właściwą, barwę) oraz chemiczne mięsa (woda, związki
mineralne jako popiół, białko, tłuszcz, wybrane makro- i mikroelementy, TBARS), jak również wartość
kaloryczną i wskaźnik INQ. Ryby trzech ocenianych gatunków o zbliżonej masie ciała (ok. 1000 g) różni-
ły się istotnie ($p \leq 0,05$) wymiarami (długością, wysokością i szerokością), nie różniły się natomiast masą
tuszy i filetu. Największy udział tuszy i filetu ($p \leq 0,05$) stwierdzono w przypadku amura białego (odpo-
wiednio: 66,5 i 48,8 %). Filet karpia zwyczajnego 24 h *post mortem* wykazywał istotnie ($p \leq 0,05$) najniż-
sze pH (6,69) i najwyższą przewodność elektryczną ($91,88 \text{ mS}\cdot\text{cm}^{-1}$) oraz był najjaśniejszy (najwyższe $L^* = 55,51$),
w porównaniu z filetami tołpygi pstrej (odpowiednio: $\text{pH}_{24} = 7,31$, $\text{EC}_{24} = 2,10 \text{ mS}\cdot\text{cm}^{-1}$, $L^* = 52,58$)
i amura białego (odpowiednio: $\text{pH}_{24} = 7,08$, $\text{EC}_{24} = 1,33 \text{ mS}\cdot\text{cm}^{-1}$, $L^* = 54,86$). W tkance mięsno-
wej amura białego zmierzono najmniejszą wartość parametru b^* (-1,09). Filet tołpygi pstrej zawierał
istotnie ($p \leq 0,01$) najwięcej tłuszczu (9,60 %) o najwyższym INQ (1,45), ale jednocześnie wykazywał
najmniejszą stabilność oksydacyjną lipidów (najwyższy TBARS = $0,43 \text{ mg MDA kg}^{-1}$ tkanki mięśniowej),
w porównaniu z filetami karpia zwyczajnego i amura białego. Istotnie ($p \leq 0,05$) najwięcej Fe
($9,97 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) i najmniej Cu ($0,15 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) stwierdzono w filecie karpia.

Słowa kluczowe: karp, amur, tołpyga, polikultura, wartość użytkowa, filet, jakość

Wprowadzenie

Ryby mogą być istotnym elementem zbilansowanej diety człowieka, gdyż dostarczają m.in. niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych, pełnowartościowego białka oraz składników mineralnych [31]. W opinii konsumentów spożycie ryb i przetworów rybnych pozytywnie wpływa na zdrowie [30], ale w Polsce występuje zmniejszenie spożycia tej grupy produktów. W 2012 roku przeciętna konsumpcja ryb, przetworów rybnych i owoców morza wynosiła 11,48 kg masy żywej/osobę, podczas gdy na świecie spożycie to przekraczało 19 kg masy żywej/osobę [24]. Polacy najczęściej wybierają ryby mrożone, wędzone oraz przetwory rybne (odpowiednio: 90, 86, 85 % wskazań) [9], chociaż obserwuje się zainteresowanie konsumentów rybami świeżymi. W 2011 roku 39 % przebadanych osób zadeklarowało zakup świeżych karpia, dorsza, pstrągów, śledzi i łososi (odpowiednio: 34, 32, 31, 17, 14 % wskazań). Klienci kupowali także sandacze, szczupaki, tołpygi, płocie i okonie [16]. Z uwagi na łatwiejszy dostęp do świeżych ryb słodkowodnych, w porównaniu z rybami morskimi najczęściej oferowanymi w stanie zamrożonym, powinny one stanowić większy udział w diecie Polaków [15].

Krajowa produkcja ryb słodkowodnych obejmuje głównie dwa gatunki: karpia i pstrąga. Wzrost zainteresowania konsumentów innymi gatunkami wpłynął na zwiększenie produkcji ryb utrzymywanych w polikulturze [24]. W przypadku stawów karpiowych umieszcza się (obok karpia) inne gatunki roślinożerne, jak: tołpyga biała, tołpyga pstra, amur. Gatunki te są dobrze przystosowane do hodowli bazującej na naturalnym pokarmie [10].

Celem pracy było porównanie wartości użytkowej i jakości mięsa trzech gatunków ryb karpiowatych utrzymywanych w polikulturze.

Material i metody badań

Ryby pochodziły z gospodarstwa rybackiego o największym kompleksie stawów w woj. lubelskim. Łączny areal gospodarstwa wynosi ponad 1 020 ha, a największy staw zajmuje powierzchnię 830 ha. Badaniami objęto trzy gatunki ryb karpiowatych: karpia zwyczajnego odmiany bezłuskiej (*Cyprinus carpio* L.), amura białego (*Ctenopharyngodon iddela* Val.) i tołpygę pstrą (*Aristichtys nobilis* Rich.). Ryby utrzymywano w tym samym stawie ziemnym (w systemie nisko intensywnym). Pokarm naturalny uzupełniano paszą składającą się z mieszanki zbóż z przewagą pszenicy i żyta. Ryby, po 12 osobników każdego gatunku, odłowiono w sezonie zimowym w 2013 roku. Osobniki wszystkich gatunków zostały zakwalifikowane jako tzw. lekka handlówka, w wieku 2+. Po odłowieniu z magazynów ryby ogłuszano mechanicznie i uśmiercano (przez przecięcie rdzenia kręgowego), a następnie określano ich masę [g]. Za pomocą liniału mierniczego mierzono [cm] długość całkowitą ryby, długość ciała

i długość boczną głowy. Wysokość głowy, największą i najmniejszą wysokość ciała oraz szerokość ciała mierzono przy użyciu suwaka metrycznego (w cm). Po wykonaniu wstępnej obróbki ryb (odłuszczenie, patroszenie, odgławianie i odpletwianie) określano masę głowy, wnętrzości i płetw. Z uzyskanej tuszy wydzielano kości i filet (tkanka mięśniowa i skóra). Na podstawie masy ww. elementów określano ich udział w ciele ryby. Następnie filety przechowywano chłodniczo (w temp. 4 °C) przez 3 dni.

Ocena jakości fizykochemicznej filetów obejmowała pomiar pH za pomocą pehametru CP-401 z elektrodą szklaną (Elmetron, Polska) i przewodności elektrycznej właściwej – EC [$\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$] za pomocą aparatu PQM I/Kombi (GmbH Aichach, Germany). Pomiarów wykonywano bezpośrednio po wykrojeniu filetów i po 24-godzinnym ich przechowywaniu w temp. 4 °C (odpowiednio: pH_1 i EC_1 oraz pH_{24} i EC_{24}). Barwę świeżej powierzchni filetu oznaczano w systemie CIE Lab za pomocą kolorymetru Minolta CR-310, po 30-minutowej ekspozycji na tlen atmosferyczny, rejestrując wartość parametrów L^* , a^* i b^* [4].

Oznaczenia chemiczne wykonywano w próbkach filetów. Zawartość podstawowych składników chemicznych oznaczano metodami referencyjnymi: wody – metodą suszenia (w temp. 103 °C) wg PN-ISO 1442:2000 [34], składników mineralnych w postaci popiołu – metodą spopielenia w piecu muflowym (temp. 550 °C) wg PN-ISO 936:2000 [35], białka ogólnego – metodą Kjeldahla przy użyciu aparatu Büchi B-324 wg PN-75/A-04018 [36], tłuszczu – metodą Soxhleta (stosując n-heksan jako rozpuszczalnik) przy użyciu aparatu Büchi B-811 wg PN-A-86734:1967 [37]. Wartość kaloryczną brutto [$\text{kJ}\cdot 10\text{-g}^{-1}$] obliczano na podstawie zawartości białka ogólnego i tłuszczu, stosując równoważniki energetyczne: 1g białka = 23,64 kJ, a 1 g tłuszczu = 39,54 kJ. Określano także wskaźnik INQ białka i tłuszczu wg Hansena i wsp. [11], przyjmując do obliczeń referencyjne wartości spożycia energii i składników odżywczych zgodnie z rozporządzeniem PEiR (UE) Nr 1169/2011 z dnia 25.10.2011 r. Dz. Urz. L 304 z 22.11.2011, str. 18). Ponadto oznaczano zawartość wybranych makroelementów: potasu, sodu, wapnia, magnezu oraz mikroelementów: cynku, żelaza, manganu i miedzi. Próbkę filetów mineralizowano w HNO_3 , w systemie mikrofalowym, przy użyciu pieca mikrofalowego MarsXpress (CEM Corporation, Matthews, NC, USA). Oznaczenia wykonywano za pomocą spektrometru Spectra 240FS (Varian), stosując atomizację w płomieniu (FAAS, płomień powietrze – acetylen). Dokładność oznaczeń weryfikowano przy użyciu certyfikowanych materiałów odniesienia – DORM-3 oraz Standard Reference Material 1577c Bovine Liver, uwzględniając limity wykrywalności (LOD) i oznaczalności (LOQ). Ilościowego określenia związków mineralnych dokonywano na podstawie krzywej wzorcowej, a otrzymane wyniki wyrażano w $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ świeżej masy.

Stabilność oksydacyjną lipidów oznaczano metodą Witte'a i wsp. [32], przy użyciu spektrofotometru Varian Cary 300 Bio przy długości fali $\lambda = 530$ nm. Wartość TBARS wyrażano w mg aldehydu malonowego (MDA) w 1 kg mięsa.

Wyniki opracowano statystycznie w programie Statistica ver.6.0. Obliczano wartości średnie i odchylenia standardowe. Zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji [28]. Istotność różnic między wartościami średnimi wyznaczano testem Tukeya ($p \leq 0,05$ i $p \leq 0,01$).

Wyniki i dyskusja

Wartość użytkowa ryb, jako artykułów spożywczych, zależy od ich gatunku, udziału części jadalnych oraz cech jakościowych i ilościowych.

Tabela 1. Cechy morfometryczne wybranych ryb karpiowatych
Table 1. Morphometric features of selected carp fish

Cecha Feature	Karp zwyczajny Common carp	Tołpyga pstra Bighead carp	Amur biały Grass carp
	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$
Masa całkowita [g] Total weight	1020,14 \pm 136,60	981,79 \pm 226,79	1013,10 \pm 77,63
Długość całkowita [cm] Total length	39,25 ^a \pm 1,70	42,50 ^a \pm 2,61	46,75 ^b \pm 2,06
Długość ciała [cm] Body length	32,25 ^A \pm 1,50	35,75 ^B \pm 1,44	40,00 ^C \pm 0,81
Długość boczna głowy [cm] Lateral length of head	9,50 ^{ab} \pm 0,96	10,55 ^b \pm 0,75	9,10 ^a \pm 0,34
Wysokość głowy [cm] Head height	5,90 ^b \pm 0,35	6,22 ^b \pm 0,35	5,35 ^a \pm 0,30
Największa wysokość ciała [cm] The highest body height	12,32 ^C \pm 0,64	10,40 ^B \pm 1,21	8,40 ^A \pm 0,40
Najmniejsza wysokość ciała [cm] The lowest body height	4,73 ^b \pm 0,38	4,02 ^a \pm 0,26	4,28 ^a \pm 0,13
Szerokość ciała [cm] Body width	4,40 ^a \pm 0,28	4,58 ^a \pm 0,53	5,85 ^b \pm 0,25

Objaśnienia: / Explanatory notes:

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

W tab. 1 przedstawiono charakterystykę morfometryczną ryb, a w tab. 2 masę i udział poszczególnych części ciała. Konsumenci przy zakupie ryb świeżych najczęściej preferują osobniki o masie od 1 do 2 kg [18]. Również w przypadku karpia za ryby handlowe uważa się osobniki w ww. zakresie masy (przy stosowanym dwu- lub

trzyletnim systemie chowu). Masa ryb ocenianych gatunków nie była istotnie zróżnicowana i wahała się od 981,8 g w przypadku tołpygi pstrej do 1020,1 g – karpia zwyczajnego. Gatunek istotnie różnicował natomiast wszystkie wymiary morfometryczne ciała ryb. Istotnie największą długością ciała ($p \leq 0,01$) i szerokością ciała ($p \leq 0,05$) charakteryzował się amur biały w porównaniu z pozostałymi gatunkami. Istotnie ($p \leq 0,05$) największe wartości pomiarów morfometrycznych głowy (długość boczna i wysokość) stwierdzono w przypadku tołpygi pstrej, natomiast największymi wartościami obu wysokości ciała charakteryzował się karp zwyczajny.

Tabela 2. Masa i udział poszczególnych części ciała wybranych ryb karpioawatych
Table 2. Weight and percent content of body parts of selected carp fish

Element ciała Body part	Karp zwyczajny Common carp	Tołpyga pstra Bighead carp	Amur biały Grass carp
	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$
Masa / Weight [g]			
Tusza / Carcass	580,29 ± 162,76	540,04 ± 134,27	672,81 ± 41,18
Filet / Fillet	378,30 ± 140,59	395,58 ± 114,86	494,23 ± 39,35
Głowa / Head	281,15 ^{ab} ± 44,14	311,49 ^b ± 47,80	223,99 ^a ± 18,05
Szkielet / Bones	148,93 ^b ± 27,46	108,46 ^a ± 20,22	148,49 ^b ± 15,80
Wnętrznoci / Viscera	92,75 ± 13,30	78,95 ± 35,21	72,89 ± 14,51
Skóra / Skin	95,53 ± 27,30	75,03 ± 4,97	100,05 ± 18,40
Płetwy / Fins	53,06 ^b ± 10,87	36,00 ^a ± 4,82	30,10 ^a ± 2,35
Udział / Percent content [%]			
Tusza / Carcass	56,44 ^{ab} ± 11,07	54,86 ^a ± 4,64	66,50 ^b ± 2,30
Filet / Fillet	36,74 ^a ± 11,51	39,94 ^{ab} ± 5,37	48,84 ^b ± 1,44
Głowa / Head	27,62 ^{ab} ± 3,44	32,43 ^b ± 6,15	22,11 ^a ± 0,65
Szkielet / Bones	14,54 ^B ± 1,12	11,12 ^A ± 0,44	14,68 ^B ± 1,38
Wnętrznoci / Viscera	9,09 ± 0,66	7,81 ± 2,59	7,15 ± 1,00
Skóra / Skin	9,23 ± 1,34	7,89 ± 1,55	9,93 ± 1,97
Płetwy / Fins	5,17 ^b ± 0,41	3,79 ^a ± 0,93	2,98 ^a ± 0,22

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

Największą masę głowy miała tołpyga pstra, a najmniejszą – amur biały (tab. 2), co wynika z budowy anatomicznej tych gatunków (tab. 1). Tołpyga pstra charakteryzowała się natomiast istotnie ($p \leq 0,05$) najmniejszą masą szkieletu, w porównaniu z amurem białym i karpem zwyczajnym. Ten ostatni gatunek miał istotnie ($p \leq 0,05$) większą masę płetw niż tołpyga pstra i amur biały. Nie stwierdzono istotnych różnic

pomiędzy ocenianymi gatunkami w odniesieniu do masy pozostałych części, w tym najcenniejszych elementów tzn. tuszy i filetu, jak również skóry i wnętrzości (tab. 2).

Z uwagi na zbliżoną masę ciała ocenianych gatunków ryb udział poszczególnych części był proporcjonalny. Potwierdzeniem tych obserwacji był udział głowy, szkieletu i płetw. Stwierdzono natomiast istotnie ($p \leq 0,05$) największy udział tuszy i filetu w przypadku amura białego, w porównaniu z tołpygą pstrą i karpem zwyczajnym.

Udział wnętrzości i skóry był zbliżony i nie różnił się istotnie pomiędzy gatunkami. Przeciętna wydajność rzeźna karpia (udział tuszy w masie ryby) w Polsce waha się od 51,2 do 59,4 % [29]. Marcu i wsp. [21] obserwowali zwiększenie udziału tuszy karpia z 50,68 do 60,28 % wraz ze wzrostem masy ryb z 785 do 2010 g.

Tabela 3. Cechy fizykochemiczne filetów wybranych ryb karpiowatych
Table 3. Physical-chemical characteristics of fillets of selected carp fish

Cecha Feature	Karp zwyczajny Common carp	Tołpyga pstra Bighead carp	Amur biały Grass carp
	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$
pH ₁	7,36 ^{ab} ± 0,14	7,33 ^a ± 0,09	7,58 ^b ± 0,08
pH ₂₄	6,69 ^a ± 0,21	7,31 ^b ± 0,16	7,08 ^b ± 0,31
EC ₁ [mS cm ⁻¹] Electrical conductivity	1,87 ^{ab} ± 0,15	2,10 ^b ± 0,61	1,37 ^a ± 0,10
EC ₂₄ [mS cm ⁻¹] Electrical conductivity	1,88 ^b ± 0,12	1,43 ^{ab} ± 0,51	1,33 ^a ± 0,10
CIE			
L*	55,51 ± 2,77	52,58 ± 7,98	54,86 ± 0,43
a*	16,31 ^b ± 1,47	14,19 ^b ± 0,91	10,54 ^a ± 1,28
b*	3,68 ^b ± 2,12	-0,95 ^a ± 0,36	-1,09 ^a ± 0,96

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

Istotnie najniższe początkowe pH oznaczono w filecie tołpygi pstrej, a najwyższe – w filecie amura białego (tab. 3). Po 24-godzinnym przechowywaniu istotnie najniższe pH₂₄ oznaczono w filecie karpia zwyczajnego w porównaniu z pozostałymi gatunkami. Warto nadmienić, że stopień zakwaszenia filetu tołpygi pstrej nie zmienił się, a amura białego – zmniejszył się o 0,5 jedn., przy czym oba gatunki nie przekroczyły wartości pH poniżej 7,0. Brak związku pomiędzy tempem i zakresem obniżania pH₁ w filetach pstrągów tęczowych El Rammouz i wsp. [5] tłumaczą odmiennym uwarunkowaniem tych dwóch parametrów, tzn. ilością glikogenu mięśniowego bezpośrednio *post mortem* i tempem hydrolizy ATP. Tkanka mięśniowa ryb zawiera bardzo mało

glikogenu (0,3 %), dlatego zakwasza się do pH poniżej 6,0 tylko w wyjątkowych przypadkach [7].

Na tempo przemian pośmiertnych tkanki mięśniowej (zakwaszenie i czas wystąpienia *rigor mortis*) istotnie wpływa sposób pozyskania ryb. Erikson i Misimi [6] wykazali, że tkanka mięśniowa łososia atlantyckiego uzyskana po uśpieniu ryb charakteryzowała się wyższym pH (ok. 7,5) w porównaniu z pH tkanki ryb wyczerpanych (ok. 6,7).

Pomiar przewodności elektrycznej jest wykorzystywany do określania zarówno jakości produktów żywnościowych, w tym świeżości ryb [22], jak i kontroli procesów przetwórczych [8]. Yao i wsp. [33] oraz Bao i wsp. [2] potwierdzili (na podstawie analizy modeli kinetycznych) przydatność pomiaru przewodności elektrycznej do dokładnego prognozowania zmian świeżości podczas przechowywania chłodniczego ryb karpiowatych. Przewodność elektryczna właściwa filetów ocenianych gatunków ryb różniła się istotnie ($p \leq 0,05$) tuż po ich wykrojeniu i była najniższa w tkance amura białego, a najwyższa – w tkance tołpygi pstrej. Filet amura białego po 24 h nadal wykazywał istotnie ($p \leq 0,05$) najniższą przewodność elektryczną (EC_{24}), natomiast najwyższą – filet karpia zwyczajnego (tab. 3). Należy nadmienić, że obniżenie wartości EC obserwowano jedynie w przypadku tołpygi pstrej, natomiast w tkance mięśniowej pozostałych gatunków wartość EC_{24} praktycznie nie zmieniała się.

Jedną z najważniejszych cech ocenianych przez konsumentów preferujących filety białe jest ich barwa. Do oceny barwy skóry i mięsa ryb wykorzystywane są zarówno parametry achromatyczne (np. jasność), jak i chromatyczne (wartość a^* i b^* oraz nasycenie C^* i odcień h°) [23, 25]. Jasność (L^*) filetów ocenianych gatunków ryb nie różniła się istotnie, jakkolwiek dużą zmienność tej właściwości obserwowano w przypadku tołpygi pstrej. Istotne zróżnicowanie pomiędzy gatunkami stwierdzono natomiast w przypadku parametrów chromatycznych a^* i b^* . Filet karpia zwyczajnego wykazywał najwyższy udział barwy czerwonej i żółtej. Najniższą wartość a^* wykazano w filecie amura białego, a parametr b^* w przypadku tołpygi pstrej i amura białego przyjmował wartości ujemne, co świadczy o przewodze barwy niebieskiej.

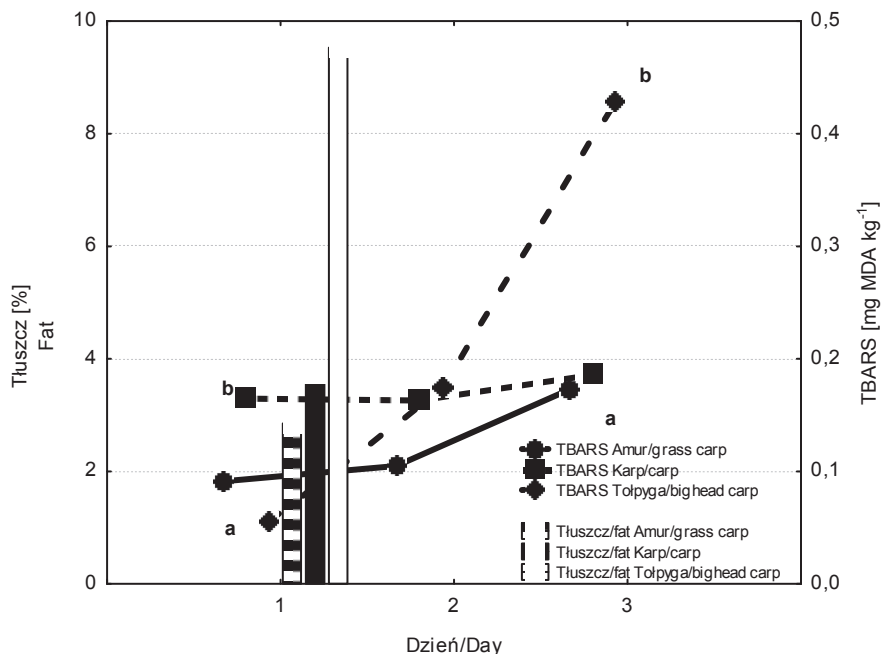
Warto podkreślić, że filet karpia zwyczajnego 24 h *post mortem* wykazywał istotnie ($p \leq 0,05$) najwyższą przewodność elektryczną, najniższe pH, największy udział barwy żółtej (b^*) oraz był najjaśniejszy. Zbliżone tendencje wykazali wcześniej Litwińczuk i wsp. [19], oceniając karasie srebrzyste, których tkanka mięśniowa o istotnie większej przewodności elektrycznej właściwej wykazywała istotnie większą jasność (wyższe L^*) oraz wyższy udział barwy żółtej (b^*). Erikson i Misimi [6] obserwowali zmianę barwy filetów łososi uśpionych lub wyczerpanych, zarówno w fazie *prerigor*, jak i w trakcie rozwoju *rigor mortis*. Kierunek tych zmian był uzależniony początkowo od obniżenia pH, a później od momentu wystąpienia i rozwoju właściwego *rigor*. We wczesnej fazie *post mortem* jasność filetów z ryb znieczulonych zmniejszała się wraz

z obniżaniem pH, natomiast po osiągnięciu fazy *rigor* wartość L^* zwiększała się niezależnie od zmian pH.

Na rys. 1. przedstawiono udział tłuszczu i zmianę wartości TBARS w kolejnych 3 dniach chłodniczego przechowywania tusz ocenianych gatunków ryb. Istotnie ($p \leq 0,05$) najwyższą wartość TBARS w 1. dniu przechowywania stwierdzono w filetach karpia zwyczajnego ($0,16 \text{ mg MDA} \cdot \text{kg}^{-1}$ tkanki mięśniowej) w porównaniu z pozostałymi gatunkami ($0,06 \div 0,09 \text{ mg MDA} \cdot \text{kg}^{-1}$ tkanki mięśniowej). W drugim dniu obserwowano jedynie wzrost wartości TBARS w filecie tołpygi pstrej i taka tendencja utrzymywała się również w 3. dniu przechowywania tego gatunku – poziom TBARS osiągnął istotnie ($p \leq 0,05$) najwyższą wartość ($0,43 \text{ mg MDA} \cdot \text{kg}^{-1}$ tkanki mięśniowej). W filetach amura białego i karpia zwyczajnego końcowa wartość tego wskaźnika wynosiła odpowiednio: $0,17$ i $0,19 \text{ mg MDA} \cdot \text{kg}^{-1}$ tkanki mięśniowej.

Najwyższy wzrost TBARS (o 700 %) w czasie chłodniczego przechowywania stwierdzono w filecie tołpygi pstrej w porównaniu z tkanką karpia zwyczajnego (19 %) i amura białego (89 %). Wyniki te można tłumaczyć istotnie ($p \leq 0,01$) większą zawartością tłuszczu w filecie tołpygi pstrej (9,60 %) w porównaniu z tkanką karpia zwyczajnego (3,70 %) i amura białego (2,85 %). Kulawik i wsp. [16] stwierdzili istotne zróżnicowanie wartości TBA w filecie tilapii (o zawartości tłuszczu – 1,16 %) przechowywanych w lodzie przez 21 dni, jakkolwiek maksymalny poziom – $0,6 \text{ mg MDA} \cdot \text{kg}^{-1}$ oznaczono w 4. dniu. Li i wsp. [17], oceniając zmianę TBA w całych karasiach (*Carassius auratus*) (o przeciętnej zawartości tłuszczu 3,22 %) przechowywanych w temp. $4 \text{ }^\circ\text{C}$ przez 20 dni, stwierdzili stopniowy wzrost wartości tego parametru z $0,19$ do $0,84 \text{ mg MDA} \cdot \text{kg}^{-1}$. Wyższą wartość TBA w filecie tołpygi białej, przechowywanej w podobnych jak wyżej warunkach przez 35 dni, uzyskali Fan i wsp. [7]. W 13. dniu ich obserwacji poziom TBA w tkance tego gatunku osiągnął graniczną wartość $2 \text{ mg MDA} \cdot \text{kg}^{-1}$, wskazującą na obecność niepożądanego smaku i zapachu. Tak wysoki zakres oksydacji lipidów tkanki tego gatunku cytowani autorzy [7] tłumaczą częściową dehydratacją ryb, większą zawartością tłuszczu i zwiększoną oksydacją nienasyconych kwasów tłuszczowych.

Istotnie ($p \leq 0,01$) najmniejszą zawartość wody i jednocześnie największą – tłuszczu stwierdzono w filecie tołpygi pstrej w porównaniu z tkanką karpia zwyczajnego i amura białego (tab. 4). W konsekwencji filet tołpygi pstrej charakteryzował się istotnie ($p \leq 0,01$) największą kalorycznością (energiją brutto) i wartością wskaźnika INQ tłuszczu w porównaniu z pozostałymi gatunkami. Nie potwierdzono natomiast istotnego wpływu gatunku na zawartość białka w filetach ryb.



Rys. 1. Zawartość tłuszczu w filetach wybranych ryb karpiowatych i zmiana wartości TBARS w czasie 3-dniowego przechowywania

Fig. 1. Fat content in fillets of selected carp fish and changes in TBARS value during 3 day storage

Porównywalną, z wynikami badań własnych, zawartość podstawowych składników chemicznych w tkance karpia z różnych hodowli w Polsce podają Tkaczewska i Migdał [29]. Wyniki badań innych autorów wskazują na znaczne zróżnicowanie wyników, zwłaszcza pod względem zawartości tłuszczu. Budi i wsp. [3] oznaczyli w tkance karpia ponad dwa razy więcej tłuszczu (8,97 %), przy zbliżonej zawartości białka (16,60 %) i składników mineralnych oznaczonych w postaci popiołu (1,20 %) oraz mniej wody (73,22 %). Blisko trzy razy mniej tłuszczu w tkance tołpygi pstrej, w porównaniu z wynikami badań własnych, stwierdzili Hadjinikolova i wsp. [10] – 3,07 % oraz Hoseini i wsp. [12] – 3,40 %. Z kolei w tkance mięśniowej amura białego Hadjinikolova i wsp. [10] oznaczyli mniej tłuszczu – 1,91 %, zbliżoną zawartość – 2,52 % podaje Ashraf i wsp. [1], natomiast Romvari i wsp. [26] oznaczyli dwa razy więcej tłuszczu – 5,50 %. Produkty rybne uznawane są za lepsze źródło białka niż inne produkty pochodzenia zwierzęcego, ponieważ dostarczają dużo białka i niewielką ilość energii. Kaloryczność przeciętnej porcji ryb (100 g) wynosi od poniżej 400 do ok. 1225 kJ [14]. Wartość energetyczna nawet bardzo tłustych ryb jest mniejsza niż innych produktów pochodzenia zwierzęcego [13]. W zależności od systemu chowu ryb karpiowatych (ekologiczny czy tradycyjny), Hadjinikolova i wsp. [10] uzyskali mniejszą,

w porównaniu z wynikami badań własnych, kaloryczność filetów karpia zwyczajnego ($437,4 \div 445,0 \text{ kJ} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$), amura białego ($456,6 \div 486,3 \text{ kJ} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) i tołpygi pstrej ($504,4 \div 545,8 \text{ kJ} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$).

Tabela 4. Podstawowy skład chemiczny, wartość energetyczna i indeksy INQ białka i tłuszczu filetów wybranych ryb karpiowatych

Table 4. Basic chemical composition, energy value, and INQ indices for protein and fat in fillets of selected carp fish

Wyszczególnienie Specification	Karp zwyczajny Common carp	Tołpyga pstra Bighead carp	Amur biały Grass carp
	$\bar{x} \pm s / \text{SD}$	$\bar{x} \pm s / \text{SD}$	$\bar{x} \pm s / \text{SD}$
Woda / Moisture [%]	$78,38^{\text{B}} \pm 0,44$	$72,35^{\text{A}} \pm 0,61$	$78,34^{\text{B}} \pm 0,64$
Białko / Protein [%]	$16,83 \pm 0,22$	$17,24 \pm 0,56$	$17,07 \pm 0,68$
Tłuszcz / Fat [%]	$3,70^{\text{A}} \pm 0,96$	$9,60^{\text{B}} \pm 3,15$	$2,85^{\text{A}} \pm 1,24$
Popiół / Ash [%]	$1,01^{\text{a}} \pm 0,08$	$1,19^{\text{ab}} \pm 0,36$	$1,60^{\text{b}} \pm 0,22$
Energia / Energy [$\text{kJ} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$]	$546,27^{\text{A}} \pm 40,40$	$791,58^{\text{B}} \pm 73,83$	$516,16^{\text{A}} \pm 47,27$
INQ / Index of nutritive quality			
Białko / Protein	$5,19^{\text{B}} \pm 0,35$	$3,71^{\text{A}} \pm 0,33$	$5,59^{\text{B}} \pm 0,52$
Tłuszcz / Fat	$0,81^{\text{A}} \pm 0,15$	$1,45^{\text{B}} \pm 0,14$	$0,65^{\text{A}} \pm 0,22$

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

Wskaźnik jakości żywieniowej INQ ryb i ich przetworów wynosi przeciętnie 7,61. INQ mięsa ryb przewyższa nawet analogiczny indeks jaj i jest prawie dwa razy większy niż INQ produktów mięsnych i mleczarskich [14]. We wcześniejszych badaniach autorów [27], porównujących tkankę mięśniową karpia i pstrągów tęczowych, stwierdzono przeciętną wartość INQ białka w zakresie od 4,97 (karp) do 5,59 (pstrąg tęczowy), a INQ tłuszczu – od 0,74 (pstrąg tęczowy) do 0,91 (karp).

Po przeanalizowaniu zawartości makroelementów nie stwierdzono istotnych ($p \leq 0,05$) różnic pod względem tych składników w filetach ocenianych gatunków ryb (tab. 5).

Istotne ($p \leq 0,05$) różnice stwierdzono w przypadku takich mikroelementów, jak żelazo i miedź. Największą zawartość Fe stwierdzono w filecie karpia zwyczajnego ($9,97 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), a najmniejszą w tkance amura białego ($5,49 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). Odwrotną relację wykazano w przypadku miedzi, tzn. filet amura białego zawierał jej istotnie ($p \leq 0,05$) najwięcej ($0,242 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), a filet karpia zwyczajnego – najmniej ($0,150 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). Podobną tendencję, lecz niepotwierdzoną statystycznie obserwowano również w przypadku Zn. Łuczyńska i wsp. [20] w mięśniach karpia stwierdzili mniejszą zawartość żelaza ($2,31 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), a większą miedzi ($0,411 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$).

Tabela 5. Zawartość makro- i mikroelementów w filetach wybranych ryb karpiowatych.

Table 5. Concentration of macro- and microelements in fillets of selected carp fish.

Pierwiastek [mg·kg ⁻¹] Element	Karp zwyczajny Common carp	Tołpyga pstra Bighead carp	Amur biały Grass carp
	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$
Makroelementy / Macroelements			
K	3720,25 ± 430,88	4279,77 ± 510,15	4194,60 ± 178,94
Na	259,75 ± 46,97	207,35 ± 90,27	172,14 ± 31,82
Ca	281,28 ± 86,45	212,40 ± 64,77	371,50 ± 160,30
Mg	265,84 ± 25,73	259,00 ± 56,21	213,09 ± 57,01
Mikroelementy / Microelements			
Fe	9,97 ^b ± 1,95	8,08 ^{ab} ± 2,42	5,49 ^a ± 2,75
Cu	0,150 ^a ± 0,022	0,196 ^{ab} ± 0,054	0,242 ^b ± 0,071
Zn	0,465 ± 0,212	0,505 ± 0,200	0,931 ± 0,546
Mn	0,191 ± 0,034	0,174 ± 0,027	0,196 ± 0,025

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

Wnioski

1. Porównywane gatunki ryb karpiowatych o zbliżonej masie ciała (ok. 1000 g) różniły się istotnie ($p \leq 0,05$) wymiarami (długością, wysokością i szerokością). Nie stwierdzono istotnego zróżnicowania w zakresie masy tuszy, filetu, wnętrzości i skóry. Amur biały charakteryzował się istotnie ($p \leq 0,05$) większym udziałem tuszy i filetu w porównaniu z tołpygą pstrą i karpem zwyczajnym.
2. Filet karpia zwyczajnego wykazywał istotnie ($p \leq 0,05$) najniższe pH końcowe, najwyższą przewodność elektryczną oraz był najjaśniejszy w porównaniu z filetem tołpygi pstrej i amura białego.
3. W czasie chłodniczego przechowywania filetów stwierdzono najniższą stabilność oksydacyjną tkanki mięśniowej tołpygi pstrej, która zawierała równocześnie istotnie ($p \leq 0,01$) więcej tłuszczu w porównaniu z tkanką karpia zwyczajnego i amura białego.
4. Filety karpia zwyczajnego i amura białego wykazywały istotnie ($p \leq 0,01$) wyższy indeks wartości żywieniowej (INQ) białka, a niższy tłuszczu w porównaniu z filetami tołpygi pstrej.
5. Zawartość makroelementów oraz Zn i Mn w filetach ocenianych ryb karpiowatych była zbliżona.

Literatura

- [1] Ashraf M.A., Zafar A., Mehboob R.S., Qureshi N.A.: Nutritional values of wild and cultivated silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). Int. J. Agric. Biol., 2011, **13**, 210-214.

- [2] Bao Y., Zhou Z., Lu H., Luo Y., Shen H.: Modelling quality changes in Songpu mirror carp (*Cyprinus carpio*) fillets stored at chilled temperatures: comparison between Arrhenius model and logistic model. *Int. J. Food Sci. Techn.*, 2013, **48**, 387-393.
- [3] Budi I., Ladosi D., Reka St., Negrea O.: Study concerning chemical composition of fish meat depending on the considered fish species. *Lucrări Stiințifice Zootehnie și Biotehnologii*, 2008, **41 (2)**, 201-206.
- [4] CIE: Colorimetry (3rd ed.). Commission International de l'Eclairage. Vienna Austria, 2004, pp. 16-20.
- [5] El Rammouz R., Abboud J., Abboud M., El Mur A., Yammine S., Jammal B.: Physicochemical characteristics of fillet in commercial freshwater farm - Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) subjected to two different slaughter methods. *J. Appl. Sci. Res.*, 2013, **9 (10)**, 6404-6413.
- [6] Erikson U., Misimi E.: Atlantic salmon skin and fillet color changes effected by perimortem handling stress, rigor mortis, and ice storage. *J. Food Sci.*, 2008, **73, 2**, C50-C59.
- [7] Fan W., Chi Y., Zhang S.: The use of a tea polyphenol dip to extend the shelf life of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) during storage in ice. *Food Chem.*, 2008, **108**, 148-153.
- [8] García-Breijo E., Barat J.M., Torres O.L.: Development of a puncture electronic device for electrical conductivity measurements throughout meat salting. *Sensors and Actuators A: Physical*, 2008, **148**, 63-67.
- [9] Górska-Warsewicz H.: Konsument na rynku ryb i przetworów rybnych. *Przem. Spoż.*, 2007, **5**, 48-50.
- [10] Hadjinikolova L., Nikolova L., Stoeva A.: Comparative investigations on the nutritive value of carp fish meat (*Cyprinidae*), grown at organic aquaculture conditions. *Bul. J. Agric. Sci.*, 2008, **14 (2)**, 127-132.
- [11] Hansen R.G., Wyse B.W., Sorenson A.W.: Nutrition quality index of food. Westport, CT. AVI Publishing Co., 1979.
- [12] Hoseini M., Baboli M.J., Sary A.A.: Chemical composition and fatty acids profile of farmed Big head carp (*Hypophthalmichthys nobilis*) and Grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) filet. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation Int. J. Bioflux Society*, 2013, **6 (3)**, 202-210.
- [13] Jeszka J.: Energia. W: *Żywnienie człowieka. Podstawy nauki o żywieniu*. Red. J. Gawęcki. T. 1. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2010, ss. 133-154.
- [14] Kołakowska A., Kołakowski E.: Szczególne właściwości żywieniowe ryb. *Przem. Spoż.*, 2001, **6 (55)**, 10-13.
- [15] Kołakowska A., Szczygielski M., Bienkiewicz G., Zienkiewicz L.: Some of fish species as a source of n-3 polyunsaturated fatty acids. *Acta Ichthyol. Pisc.*, 2000, **30, 2**, 59-70.
- [16] Kulawik P., Özgül F., Glew R.H.: Quality properties, fatty acids, and biogenic amines profile of fresh tilapia stored in Ice. *J. Food Sci.*, 2013, **78 (7)**, 1063-1068.
- [17] Li T., Li J., Hu W., Zhang X., Li X., Zhao J.: Shelf-life extension of crucian carp (*Carassius auratus*) using natural preservatives during chilled storage. *Food Chem.*, 2012, **135**, 140-145.
- [18] Lirski A., Siwicki K.A., Wolnicki J.: Wybrane zagadnienia dobrostanu karpia. *Wyd. Inst. Rybactwa Śródlądowego, Olsztyn* 2007.
- [19] Litwińczuk A., Skalecki P., Florek M., Grodzicki T.: Wartość użytkowa i jakość fizykochemiczna mięsa karasia srebrzystego (*Carassius auratus gibelio*) odławianego w sezonie wiosennym i jesiennym. *Rocz. Nauk. PTZ*, 2006, **2 (4)**, 97-101.
- [20] 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.
- [21] Marcu A., Nichita I., Nicula M., Marcu B., Kelciov A.: Studies regarding the meat quality of the specie *Cyprinus carpio*. *Lucrări Științifice - Seria Medicină Veterinară*, 2010, **XLIII (2)**, 265-270.

- [22] Ochrem A.S., Zapletal P., Maj D., Gil Z., Żychlińska-Buczek J.: Changes in physical and dielectrical properties of carp meat (*Cyprinus carpio*) during cold storage. *J. Food Process Eng.*, 2014, **37**, 177-184.
- [23] Pavlidis M., Papandroulakis N., Divanach P.: A method for the comparison of chromaticity parameters in fish skin: Preliminary results for coloration pattern of red skin Sparidae. *Aquaculture*, 2006, **258**, 211-219.
- [24] Pieńkowska B., Hryszko K.: Rynek ryb. Stan i perspektywy. Analizy rynkowe. Wyd. IERiGŻ – PIB, Warszawa 2012, **18**.
- [25] Rahmanifarah K., Shabanpour B., Sattari A.: Effects of clove oil on behavior and flesh quality of common carp (*Cyprinus carpio* L.) in comparison with pre-slaughter CO₂ stunning, chilling and asphyxia. *Turk. J. Fish. Aquatic Sci.*, 2011, **11**, 139-147.
- [26] Romvari R., Hancz C.S., Petrasi Z., Molnar T., Horn P.: Non-invasive measurement of fillet composition of four freshwater fish species by computer tomography. *Aquaculture International*, 2002, **10**, 231-240.
- [27] Skąlecki P., Florek M., Litwińczuk A., Staszowska A., Kaliniak A.: Wartość użytkowa i skład chemiczny mięsa karpia (*Cyprinus carpio* L.) i pstrągów tęczowych (*Oncorhynchus mykiss* Walb.) pozyskanych z gospodarstw rybackich regionu lubelskiego. *Rocz. Nauk. PTZ*, 2013, **9**, **2**, 57-62.
- [28] Statsoft Inc., Statistica, data analysis software system, 2003. ver. 6., www.statsoft.com
- [29] Tkaczewska J., Migdał W.: Porównanie wydajności rzeźnej, zawartości podstawowych składników odżywczych oraz poziomu metali ciężkich w mięśniach karpia (*Cyprinus carpio* L.) pochodzących z różnych rejonów Polski. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **6** (**85**), 180-189.
- [30] Trondsen T., Braaten T., Lund E., Eggen A.E.: Consumption of seafood – the influence of overweight on health beliefs. *Food Qual. Prefer.*, 2004, **15**, 361-374.
- [31] Usyduś Z., Szlinder-Richert J., Adamczyk M., Szatkowska U.: Marine and farmed fish in the Polish market: Comparison of the nutritional value. *Food Chem.*, 2011, **126**, 78-84.
- [32] 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.
- [33] Yao L., Luo Y., Sun Y., Shen H.: Establishment of kinetic models based on electrical conductivity and freshness indicators for the forecasting of crucian carp (*Carassius carassius*) freshness. *J. Food Eng.*, 2011, **107**, 147-151.
- [34] PN-ISO 1442:2000. Mięso i przetwory mięsne. Określenie zawartości wody (metoda referencyjna).
- [35] PN-ISO 936:2000. Mięso i przetwory mięsne. Określenie zawartości popiołu ogólnego.
- [36] PN-75/A-04018. Produkty rolniczo-żywnościowe. Oznaczanie azotu metodą Kjeldahla i przeliczanie na białko.
- [37] PN-A-86734:1967. Ryby, przetwory rybne i produkty uboczne z ryb. Oznaczanie zawartości tłuszczu.

USE VALUE AND QUALITY OF FILLETS OF CARP FISH (CYPRINIDAE) REARED IN POLYCULTURE

Summary

The research objective was to compare the use value and quality of fillets of three *Cyprinidae* fish species: common carp (*Cyprinus carpio* L.), grass carp (*Ctenopharyngodon idella* Val.), and bighead carp (*Aristichthys nobilis* Rich.) reared in a polyculture. Fish were captured from farm ponds to raise fish in the Province of Lublin. The following was analyzed: morphometric dimensions, weight and percent content of body parts, physical-chemical characteristics of the fillets (pH, electrical conductivity, colour), chemical features of the fillets (water, mineral compounds as ash, protein, fat, selected macro- and microelements,

TBARS), and, also, value of energy and INQ. Fish of the three assessed species that had a similar weight (about 1000 g) differed significantly ($p \leq 0.05$) in their body dimensions (length, height, and width); however, they did not differ in the weight of carcass and fillet. It was found that the grass carp had the highest percent content of carcass and fillet (66.5 and 48.8%, respectively). The pH value of the fillet of common carp analyzed 24h *post mortem* was significantly ($p \leq 0.05$) the lowest (6.69) and its electrical conductivity was significantly ($p \leq 0.05$) the highest ($91.88 \text{ mS}\cdot\text{cm}^{-1}$), and its colour was the brightest (the highest $L^* = 55.51$) compared to the fillets of bighead carp ($\text{pH}_{24}=7.31$, $\text{EC}_{24}=2.10 \text{ mS}\cdot\text{cm}^{-1}$, $L^* = 52.58$, respectively) and of grass carp ($\text{pH}_{24}=7.08$, $\text{EC}_{24}=1.33 \text{ mS}\cdot\text{cm}^{-1}$, $L^* = 54.86$, respectively). The lowest value of the b^* (-1.09) was measured in the tissue of grass carp. The content of fat (9.60%) in the fillet of bighead carp was significantly ($p \leq 0.01$) the highest with the highest INQ; however, at the same time, the oxidative stability of the lipids thereof was the lowest (the highest TBARS = $0.43 \text{ mg MDA kg}^{-1}$ of the muscle tissue) compared to the fillets of common carp and grass carp. In the fillet of common carp, the concentration of Fe ($9.97 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) was found to be significantly ($p \leq 0.05$) the highest and the concentration of Cu ($9.97 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) to be significantly ($p \leq 0.05$) the lowest.

Key words: common carp, grass carp, bighead carp, polyculture, use value, fillet, quality ☒

JUSTYNA ŻULEWSKA, ALEKSANDRA MORAWSKA

WŁAŚCIWOŚCI PIANOTWÓRCZE KONCENTRATÓW BIAŁEK SERWATKOWYCH O ZMNIĘSZONEJ ZAWARTOŚCI TŁUSZCZU

Streszczenie

Białka serwatkowe mają znaczenie praktyczne ze względu na ich właściwości odżywcze oraz funkcjonalne. Obecność tłuszczu wpływa jednak negatywnie na ich smak oraz właściwości pianotwórcze. Celem pracy było określenie wpływu zawartości tłuszczu na właściwości pianotwórcze koncentratów białek serwatkowych. Porównano pod względem właściwości pianotwórczych koncentraty białek serwatkowych o deklarowanej zawartości białek: 35 % (WPC 35) i 80 % (WPC 80), zawierające tłuszcz i odtłuszczone za pomocą chitozanu. Ponadto dokonano porównania ich z właściwościami pianotwórczymi albuminy białka jaja kurzego. Roztwory WPC po zastosowaniu chitozanu, czyli WPC 35 chitozan i WPC 80 chitozan, wykazywały wyższą wydajność pienienia (odpowiednio: 721,7 % i 776,7 %) niż WPC 35 i WPC 80 (odpowiednio: 338,3 i 588,3 %) oraz EWP i EWP-W (555,0 i 536,7 %). Roztwory WPC 35 chitozan i WPC 80 chitozan wykazywały wyższe wartości spęcznienia pian (odpowiednio: 750,8 i 636,8 %) niż WPC 35 i WPC 80 (odpowiednio: 520,9 % i 568,0 %), również w porównaniu z naturalną albuminą białka jaja kurzego (EWP) i wysokopienistą albuminą białka jaja kurzego (EWP-W) (odpowiednio: 572,6 i 595,7 %). Stabilność pian otrzymanych z roztworów WPC 35 chitozan i WPC 80 chitozan była większa (odpowiednio: 93,6 i 98,1 %) w porównaniu z WPC 35 (32,5 %) i WPC 80 (87,1 %) i porównywalna z EWP (97,63 %) oraz z EWP-W (100,0 %). Zastosowanie chitozanu przyczyniło się do znacznego zmniejszenia mętności WPC.

Słowa kluczowe: koncentrat białek serwatkowych (WPC), chitozan, właściwości pianotwórcze, albumina białka jaja kurzego

Wprowadzenie

Białka serwatkowe stosowane są do produkcji odżywek dla niemowląt, żywności dla sportowców, napojów energetycznych, produktów mleczarskich, mięsnych, piekarniczych i in. [5].

*Dr inż. J. Żulewska, mgr inż. A. Morawska, Katedra Mleczarstwa i Zarządzania Jakością, Wydz. Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, ul. Oczapowskiego 7, 10-719 Olsztyn.
Kontakt: justyna.zulewska@uwm.edu.pl*

Do najczęściej produkowanych preparatów białek serwatkowych należą: proszek serwatkowy – około 11 do 13 % białka, koncentrat białek serwatkowych (ang. *whey protein concentrate*, WPC) – od 34 do 89 % białka oraz izolat białek serwatkowych (ang. *whey protein isolate*, WPI) – >90 % białka [5].

Szeroki zakres zastosowań białek serwatkowych wynika z ich właściwości funkcjonalnych, takich jak: bardzo dobra rozpuszczalność, zdolność wiązania wody, tworzenie pian, podatność na ubijanie, właściwości emulgujące i żelujące oraz pojemność buforowa [3, 12].

Aktualnie wzrasta zainteresowanie zastępowaniem białka jaja kurzego przez białka serwatkowe szczególnie wtedy, gdy wykorzystuje się ich zdolność pienienia [6]. Głównym problemem przy zastosowaniu preparatów z serwatki jest otrzymanie piany o stałej, a jednocześnie wysokiej jakości. Produkowane w warunkach przemysłowych koncentraty białek serwatkowych zawierają od 1 do 7 % tłuszczu [8], a jego obecność ma negatywny wpływ na smak [13] oraz właściwości pianotwórcze [17]. Do redukcji tłuszczu w produktach wytwarzanych na bazie białek serwatkowych stosuje się różne metody. Najczęściej jest to wirowanie oraz techniki membranowe [4, 7, 22]. Stosunkowo nowym sposobem jest zastosowanie chitozanu, który wiąże tłuszcz i barwnik (np. annato) z serwatki, co pozwala otrzymać produkt o mniejszej zawartości tłuszczu ($\leq 0,5\%$) oraz o zmniejszonej mętności [2, 9, 10].

Chitozan jest polimerem otrzymywanym z chityny zawartej w skorupach skorupiaków (najczęściej krabów i krewetek). W środowisku kwaśnym tworzy kompleksy z fosfolipidami i fosfolipoproteinami serwatki, które mogą być usunięte przez wirowanie [2] lub mikrofiltrację [10]. Supernatant czy permeat zawierają wszystkie białka serwatkowe i mogą stanowić surowiec do produkcji WPC o zmniejszonej zawartości tłuszczu. Kompleks tłuszcz – chitozan poddaje się następnie ekstrakcji rozpuszczalnikiem organicznym, co pozwala na uwolnienie polimeru i ponowne jego użycie. Proces umożliwia usunięcie powyżej 92 % lipidów zawartych w serwatce [2].

Celem pracy było określenie wpływu zawartości tłuszczu na właściwości pianotwórcze koncentratów białek serwatkowych o deklarowanej zawartości białek: 35 % (WPC 35) i 80 % (WPC 80). Ponadto dokonano porównania ich z właściwościami pianotwórczymi albuminy białka jaja kurzego.

Material i metody badań

Materiałem doświadczalnym były następujące preparaty:

- koncentrat białek serwatkowych o zawartości białka 35 % (WPC 35),
- koncentrat białek serwatkowych o zawartości białka 35 %, po zastosowaniu chitozanu (WPC 35 chitozan),
- koncentrat białek serwatkowych o zawartości białka 80 % (WPC 80),

- koncentrat białek serwatkowych o zawartości białka 80 % po zastosowaniu chitozanu (WPC 80 chitozan),
- albumina białka jaja kurzego naturalna (EWP),
- albumina białka jaja kurzego wysokopienista (EWP-W).

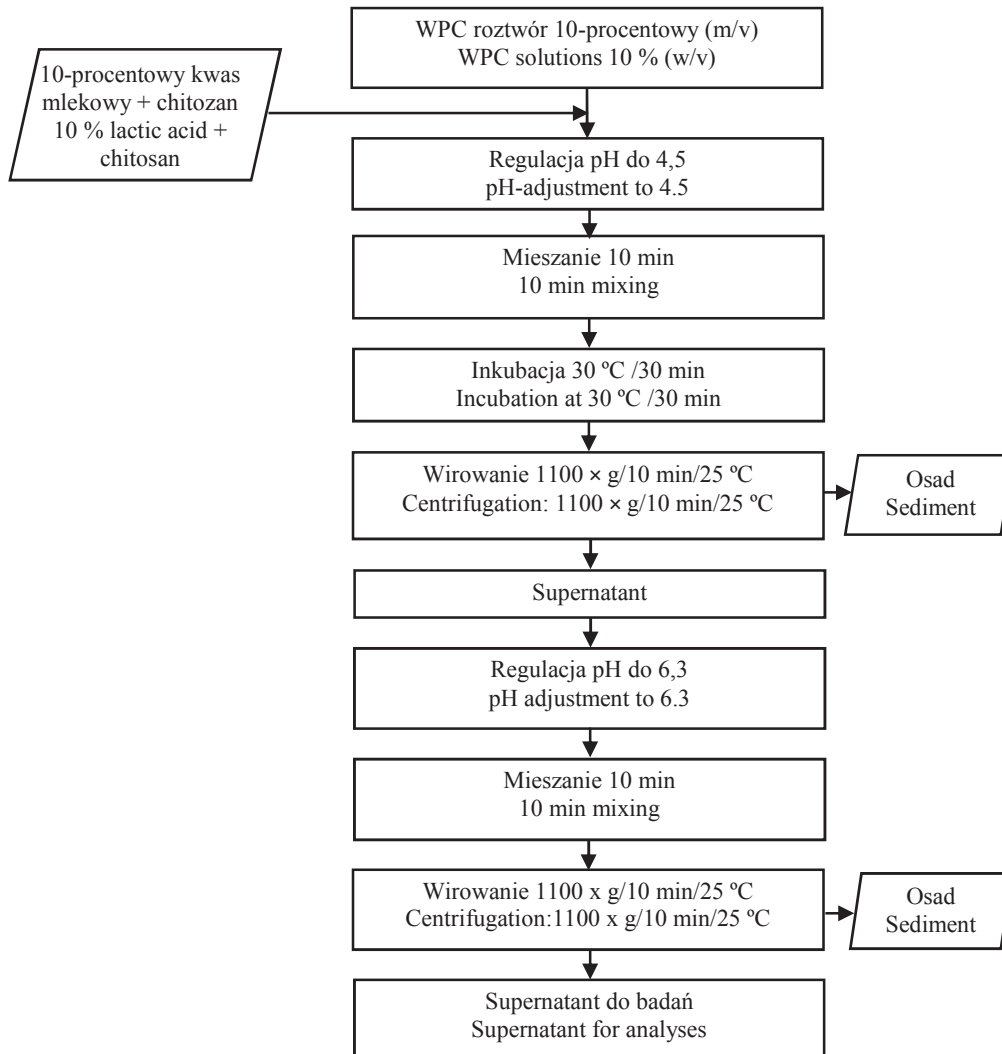
Koncentraty białek serwatkowych o zawartości białka 35 % (WPC 35) wyprodukowano z serwatki podpuszczkowej po produkcji głównie sera gouda w Okręgowej Spółdzielni Mleczarskiej w Łowiczu. Koncentraty białek serwatkowych o zawartości białka 80 % (WPC 80) wyprodukowano z serwatki po produkcji serów typu szwajcarsko-holenderskiego. WPC 80 pozyskano ze Spółdzielni Mleczarskiej Spomlek, zakład w Ostrowi Mazowieckiej. Albuminę białka jaja kurzego i albuminę białka jaja kurzego wysokopienistą zakupiono w Zakładach Jajczarskich Ovopol w Nowej Soli. W produkcji albuminy wysokopienistej jako środek spieniający zastosowano cytrynian trietylowy (E1505). Wszystkie badane produkty pochodziły z trzech różnych partii produkcyjnych. Chitozan zakupiono w sklepie internetowym (www.pestki-moreli.pl).

Koncentraty białek serwatkowych o zredukowanej zawartości tłuszczu otrzymywano stosując dodatek chitozanu (rys. 1), według zmodyfikowanej metody, którą opracowali Lucey i wsp. [10]. Na podstawie zawartości tłuszczu w koncentratkach białek serwatkowych obliczano dodatek chitozanu, przyjmując, że 1 g chitozanu wiąże 4,5 g tłuszczu. Odmierzoną ilość chitozanu roztworzano w 10 ml 10-procentowego kwasu mlekowego (POCH S.A., Gliwice). Otrzymaną mieszaninę dodawano do roztworu białek serwatkowych, następnie doprowadzano pH roztworu do wartości 4,5. Pomiar pH wykonywano za pomocą pH-metru SevenMulti (Mettler-Toledo AG) wyposażonego w elektrodę LE427E (Mettler-Toledo AG, Greifensee, Szwajcaria), stosując 10-procentowy kwas mlekowy, po czym całość mieszano przez 10 min za pomocą mieszadła elektromagnetycznego. Następnie roztwór z dodatkiem chitozanu przetrzymywano w łaźni wodnej (model Lauda Alpha 24, Lauda-Brinkmann, Delran, NJ, USA) o temp. 30 °C. Po 30 min roztwór poddawano wirowaniu przez 10 min w temp. 25 °C z przyspieszeniem $1100 \times g$ (Heraeusmegafuge 16R centrifuge, ThermoScientific, Waltham, MA, USA). Supernatant zlewano do zlewki i doprowadzano pH do wartości 6,3, stosując 1 M NaOH (POCH S.A.). Roztwór mieszano przez 10 min i pozostawiano na kolejne 10 min. W celu usunięcia z roztworu niezwiązanego chitozanu roztwór poddawano drugiemu wirowaniu, stosując te same parametry jak poprzednio. Supernatantu używano do badań właściwości pianotwórczych.

W materiale doświadczalnym oznaczano zawartość: białka, tłuszczu, laktozy i suchej masy. Określano także: właściwości pianotwórcze, wydajność pienienia, stabilność piany, spęcznienie piany oraz udział frakcji powietrza.

Skład chemiczny roztworów koncentratów białek serwatkowych przed zastosowaniem chitozanu i po nim oznaczano za pomocą Milkoscanu (FT2, Foss, Hillerod, Dania). Zawartość tłuszczu w próbkach oznaczano metodą Gerbera [18], a białka ogó-

łem – metodą Kjeldahla wg AOAC, metoda 991.20; 33.2.11 [1]. W przypadku WPC zastosowano przelicznik białkowy równy 6,38, a EWP – 6,25.



Rys. 1. Schemat otrzymywania za pomocą chitozanu koncentratów białek serwatkowych o zmniejszonej zawartości tłuszczu

Fig. 1. Production Flowchart of whey protein concentrate with reduced fat content

Określano właściwości pianotwórcze 10-procentowych (m/v) roztworów WPC 35 i WPC 80 przed zastosowaniem chitozanu, w supernatancie WPC 35 i WPC 80 przy-

gotowanym zgodnie ze schematem zamieszczonym na rys. 1. oraz w 5-procentowych (m/v) roztworach EWP i EWP-W.

Badanie wydajności pienienia oraz stabilności piany przeprowadzano ubijając 50 ml (B) badanego roztworu w ciągu 5 min za pomocą blendera Braun Multiquick 5 MR 540, typ 4191 (Braun GmbH, Kronberg, Niemcy) przy maksymalnych obrotach. Uzyskaną pianę przenoszono natychmiast do cylindra miarowego o pojemności 1000 cm³, uważając, aby nie powstały dodatkowe pęcherze powietrza. Objętość piany odczytywano po przeniesieniu jej do cylindra (A) oraz po 30 min (C). Oznaczenie wykonano w czterech powtórzeniach. Wydajność i stabilność piany (równania 1 i 2) stanowi średnią z dwunastu oznaczeń (4 powtórzenia z 3 partii produkcji).

$$W = \frac{A}{B} 100 \% \quad (1)$$

gdzie:

W – wydajność piany [%],

A – objętość spienionego roztworu bezpośrednio po zakończeniu spieniania [cm³],

B – objętość początkowa roztworu użytego do spieniania [cm³],

$$St = \frac{C}{A} 100 \% \quad (2)$$

gdzie:

St – stabilność piany [%],

A – objętość spienionego roztworu bezpośrednio po zakończeniu spieniania [cm³],

C – objętość całkowita piany po 30 min [cm³].

Spęcznienie piany (Sp) określano według Davisa i Foegedinga [3]. W tym celu 100 ml roztworu białek ubijano za pomocą blendera Braun Multiquick 5 MR 540, typ 4191 przez 10 min, a następnie ważono 100 ml piany umieszczonej w naczynku wagowym. Powierzchnię piany wyrównywano szpatułką. Proces powtarzano trzykrotnie, nie przekraczając 5 min od zakończenia ubijania piany. Średnie spęcznienie piany (równanie 3) stanowi średnią z trzydziestu sześciu powtórzeń (4 powtórzenia każdej z 3 partii produkcji, przy czym wykonano 3 odczyty w każdej analizie).

$$Sp = \frac{MR - MP}{MP} 100 \% \quad (3)$$

gdzie:

Sp – spęcznienie piany [%],

MR – masa 100 ml roztworu użytego do spieniania [g],

MP – masa 100 ml piany [g].

Udział frakcji powietrza (ϕ) według Davisa i Foegedinga [3] obliczano z równania:

$$\phi = \frac{Sp}{(Sp+100)} \quad (4)$$

gdzie: Sp – spęcznienie piany.

W celu określenia różnic między próbkami, wszystkie dane analizowano testem ANOVA przy użyciu procedur Proc. GLM SAS (SAS ver. 9.3, 2002–2010; SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

Wyniki i dyskusja

Wyprodukowane w warunkach przemysłowych koncentraty WPC 35 powinny zawierać 33 ÷ 37 % białka, 43 ÷ 51 % laktozy, 1 ÷ 3,5 % tłuszczu, 7,9 ÷ 9,5 % związków mineralnych w postaci popiołu i maksymalnie 4 % wody [5]. Typowy skład WPC 80 to: 80 ÷ 82 % białka, 4 ÷ 8 % laktozy, 4 ÷ 8 % tłuszczu, 3 ÷ 4 % popiołu i 3,5 ÷ 4,5 % wody [10]. Badane preparaty WPC 35, WPC 80, EWP i EWP-W zawierały białka odpowiednio [%]: 33,9, 73,0, 76,9 i 81,1. Zawartość białka w WPC 80 była mniejsza aniżeli deklarowana, co mogło wynikać z niewłaściwej kontroli procesu produkcyjnego. Początkowa zawartość tłuszczu wynosiła 3,5 % w WPC 35 i prawie 8,0 % w WPC 80. Zastosowanie chitozanu jako czynnika wiążącego tłuszcz przyczyniło się do znaczącej redukcji zawartości tłuszczu, w obu przypadkach wartość ta wyniosła 0,00 %.

W celu określenia właściwości pianotwórczych koncentratów białek serwatkowych przygotowano 10-procentowe (m/v) roztwory. Po usunięciu tłuszczu, według metody przedstawionej na rys. 1., zawartość białka w roztworach badanych koncentratów białek serwatkowych zmalała (tab. 1).

Najmniejszą wydajnością pienienia spośród badanych preparatów charakteryzował się WPC 35 (338,3 %) (tab. 2). Nie stwierdzono istotnych różnic ($p > 0,05$) między wydajnością pienienia WPC 80 i EWP, przy czym roztwory te różniły się zawartością białka. Usunięcie tłuszczu z koncentratów białek serwatkowych wpłynęło na znaczną poprawę wydajności pienienia WPC. W przypadku WPC 35 stwierdzono ponad dwukrotny wzrost wydajności pienienia (tab. 2), mimo że zawartość białka w supernatancie po dodatku chitozanu była mniejsza aniżeli w roztworach wyjściowych (tab. 1). WPC 80 chitozan wykazywał najwyższą wydajność pienienia, jednak różnica między WPC 80 a WPC 80 chitozan (tab. 2) nie była tak znaczna jak to miało miejsce w przypadku WPC 35 i WPC 35 chitozan. Stwierdzono większą ($p < 0,05$) wydajność pienienia koncentratów białek serwatkowych po zastosowaniu chitozanu w porównaniu z naturalną albuminą białka jaja kurzego (EWP), a nawet wysokopienistej EWP-W. Nastaj [14, 15] w badaniach dotyczących właściwości reologicznych pian otrzymywanych z różnych preparatów białkowych uzyskał wydajność pienienia roztworu albuminy wysokopienistej na

poziomie ok. 740 %, a roztworu WPC 80 o 10-procentowej zawartości białka – ok. 570 %.

Tabela 1. Podstawowy skład chemiczny 10-procentowych (m/v) roztworów koncentratów białek serwatkowych o deklarowanej zawartości białka 35 % (WPC 35) i 80 % (WPC 80) oraz supernatantów po zastosowaniu dodatku chitozanu

Table 1. Basic chemical composition of 10 % (w/v) solutions of whey protein concentrates with declared protein content of 35% (WPC 35) and of 80% (WPC 80) as well as of supernatants after application of chitosan

Roztwór Solution	Zawartość białka Content of protein [%]	Zawartość tłuszczu Content of fat [%]	Zawartość laktozy Content of lactose [%]	Zawartość suchej masy Content of dry matter [%]
WPC 35	3,66	0,35	4,56	8,77
WPC 80	7,42	0,81	0,54	9,05
Supernatant				
WPC 35 chitozan/chitosan	2,58	0,00	5,81	8,37
WPC 80chitozan/chitosan	6,87	0,00	0,98	8,53

Objaśnienia: / Explanatory notes:

WPC 35 – koncentrat białek serwatkowych o zawartości białka 35 % / whey protein concentrate with protein content of 35 %; WPC 80 – koncentrat białek serwatkowych o zawartości białka 80 % / whey protein concentrate with protein content of 80 %; WPC 35 chitozan – koncentrat białek serwatkowych o zawartości białka 35 % po zastosowaniu chitozanu / whey protein concentrate with protein content of 35 % after application of chitosan; WPC 80 chitozan – koncentrat białek serwatkowych o zawartości białka 80 % po zastosowaniu chitozanu / whey protein concentrate with protein content of 80 % after application of chitosan.

Zawartość tłuszczu w roztworach białek serwatkowych wpływa w istotny sposób na właściwości pianotwórcze białek. Stwierdzono, że jeżeli występuje on w znacznych ilościach, zajmuje miejsce białek na granicy faz roztwór – powietrze, co jest głównym czynnikiem zmniejszającym powstawanie piany. Powoduje on zmniejszenie siły spoiwości otoczek białkowych pęcherzyków powietrza uwięzionych w roztworze [4, 7].

Piany uzyskane z koncentratów białek serwatkowych cechowały się istotnie ($p < 0,05$) mniejszą stabilnością w porównaniu ze stabilnością pian wyprodukowanych z EWP i EWP-W (tab. 2). Zastosowany w produkcji EWP-W środek spieniający (cytrynian trietylowy) pozwala, według informacji producenta, na osiągnięcie większej wydajności i stabilności pian. Stabilność pian z koncentratów białek serwatkowych o zredukowanej zawartości tłuszczu (WPC 35 chitozan i WPC 80 chitozan) istotnie ($p < 0,05$) wzrosła w porównaniu z roztworami tych preparatów przed zastosowaniem chitozanu (WPC 35 i WPC 80) (tab. 2). Nie stwierdzono istotnych różnic ($p > 0,05$) pod względem stabilności pian uzyskanych z EWP-W, EWP oraz WPC 80 chitozan.

Tabela 2. Wydajność pienienia, stabilność piany, spęcznienie piany i udział frakcji powietrza 10-procentowych roztworów koncentratów białek serwatkowych o deklarowanej zawartości białka 35 % i 80 % przed (odpowiednio WPC 35 i WPC 80) i po (odpowiednio WPC 35 chitozan i WPC 80 chitozan) zastosowaniu chitozanu jako czynnika wiążącego tłuszcz oraz 5-procentowych roztworów albuminy białka jaja kurzego (EWP) i wysokopienistej albuminy białka jaja kurzego (EWP-W)

Table 2. Foam yield, foam stability, foam overrun, and air phase fraction in 10% solutions of whey protein concentrates with declared protein content of 35 and 80% before (WPC 35 and WPC 80, respectively) and after application (WPC 35 chitosan and WPC 80chitosan, respectively) of chitosan as fat binding agent as well as of 5% solutions of natural albumin in egg white (EWP) and of egg white albumin white with high foaming activity (EWP-W)

Produkt Product	Wydajność pienienia Foam yield [%]	Stabilność piany Foam stability [%]	Spęcznienie piany Overrun [%]	Udział frakcji powietrza Air phase fraction (ϕ)
WPC 35	338,33 ^e ± 99,98	32,48 ^d ± 11,04	520,93 ^e ± 77,94	0,84 ± 0,02
WPC 35 chitozan/chitosan	721,67 ^b ± 45,49	93,56 ^b ± 2,41	750,77 ^a ± 97,89	0,88 ± 0,01
WPC 80	588,33 ^c ± 46,29	87,13 ^c ± 6,72	568,04 ^d ± 22,69	0,85 ± 0,01
WPC 80 chitozan/chitosan	776,67 ^a ± 22,29	98,06 ^a ± 1,99	636,80 ^b ± 20,24	0,86 ± 0,00
EWP	555,00 ^{cd} ± 62,74	97,63 ^{ab} ± 2,28	572,62 ^{cd} ± 55,37	0,85 ± 0,01
EWP-W	536,67 ^d ± 26,74	100,00 ^a ± 0,00	595,72 ^c ± 20,79	0,86 ± 0,00
R ²	0,89	0,96	0,68	-
SE	14,89	1,47	8,51	-

Objaśnienia: / Explanatory notes:

WPC 35, WPC 80, WPC 35 chitozan/chitosan; WPC 80 chitozan/chitosan – objaśnienia symboli jak pod tab. 1/ meaning of symbols as in Tab. 1; EWP – naturalna albumina białka jaja kurzego / natural albumin in egg white; EWP-W – wysokopienista albumina białka jaja kurzego / egg white albumin with high foaming activity white. W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviations; a, b, c, d, e – wartości średnie w tej samej kolumnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) / mean values in the same column and denoted by different letters differ statistically significantly ($p < 0,05$); R² – współczynnik determinacji / coefficient of determination; SE – błąd standardowy / standard error.

Wydajność pienienia i stabilność piany zależy w dużej mierze od zawartości białka w roztworze. Piany otrzymane z roztworów o większej zawartości białka wykazują większą zwartość i stabilność, co wynika z większej grubości filmu na granicy faz [21].

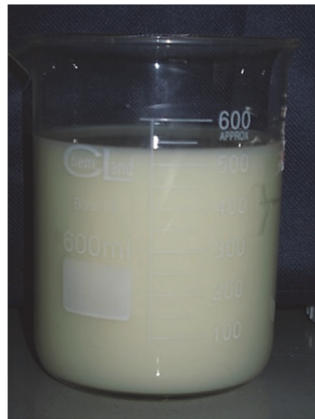
Yang i wsp. [19], badając właściwości pian uzyskiwanych z izolatów białek serwatkowych (WPI) i białka jaja kurzego, wykazali, że roztwór białka jaja tworzy piany o większej stabilności w porównaniu z WPI. Na podstawie badań własnych można stwierdzić, że istnieje możliwość produkcji stabilnych pian z preparatów

serwatkowych. Warunkiem koniecznym jest jednak redukcja zawartości tłuszczu. Patel i Kilara [16] wykazali, że niepożądane działanie tłuszczu na właściwości pianotwórcze białek różni się w zależności od formy tłuszczu. Tłuszcz wolny zajmuje miejsce białek na granicy faz roztwór – powietrze i zmniejsza stopień spienienia roztworu, natomiast związany tłuszcz osłabia sztywność filmu białek, co powoduje zmniejszenie trwałości pian [16].

Według Yanga i wsp. [19] istnieje ujemna liniowa korelacja między stabilnością pian a średnim rozmiarem pęcherzyków powietrza: małe początkowo pęcherzyki powietrza przyczyniają się do wyższej stabilności piany. Yang i Feogeding [20] zaobserwowali, że piany uzyskane z izolatów białek serwatkowych (WPI) szybciej zapadają się niż piany uzyskane z albuminy białka jaja kurzego EWP, a otoczka pęcherzyków powietrza uwięzionych w nich ulega szybszej degradacji. Powoduje to krótszy okres półtrwania pian z WPI w porównaniu z pianami uzyskanymi z EWP [20]. EWP tworzy piany o mniejszych, gęściej ułożonych oraz stabilniejszych pęcherzykach wykazujących większą odporność na działanie przyłożonej siły oraz o mniejszej podatności na załamanie [19].

Roztwór WPC 35 wykazywał najniższe wartości spęcznienia piany (520,9 %) spośród badanych preparatów (tab. 2). Należy jednak wspomnieć, że do analiz przygotowano 10-procentowe (m/v) roztwory w przypadku WPC 35 i WPC 80 i 5-procentowe (m/v) EWP i EWP-W. W roztworach WPC było najmniej białka.

Maksymalną wartość spęcznienia piany uzyskuje się w przypadku roztworów o optymalnym stężeniu białka ($2 \div 8$ %), co wynika z właściwej lepkości fazy płynnej i grubości zaabsorbowanego filmu. Przy wyższych koncentracjach białka powstają piany o drobnych pęcherzykach powietrza, bardziej zwarte i stabilne. Przy większych zawartościach białka w roztworze adsorpcja zachodzi bardzo szybko, co powoduje, że pęcherzyk powietrza przechodząc przez roztwór białka, zostaje skutecznie „owinięty” przez film białka [21]. Spęcznienie pian uzyskanych z WPC 80 nie różniło się istotnie ($p > 0,05$) od pian z EWP (tab. 2), przy czym roztwory te różniły się stężeniem białka. Stwierdzono istotne różnice ($p < 0,05$) spęcznienia piany z preparatów przed zastosowaniem chitozanu i po nim, i to zarówno o zawartości białka 35, jak i 80 % (tab. 2). Niespodziewanie, największe spęcznienie pian uzyskano z WPC 35 chitozan (750,8 %). Prawdopodobnie inne czynniki, np. rozpuszczalność białek, ich hydrofobowość czy czynniki środowiskowe (np. temperatura podczas dokonywania pomiarów) mogły wpłynąć na otrzymane wyniki. Tym niemniej w celu jednoznacznego określenia przyczyn tego przypadku należałoby przeprowadzić w przyszłości dodatkowe badania.



A) WPC 35



B) WPC 35chitozan



C) WPC 80



D) WPC 80 chitozan

Fot. 1. Dziesięcioprocentowe roztwory wodne koncentratów białek serwatkowych o zawartości białka 35 % (A) i 80 % (C) i po zastosowaniu chitozanu jako czynnika wiążącego tłuszcz – WPC 35 chitozan (B) i WPC 80 chitozan (D)

Phot. 1. 10% solutions of whey protein concentrates with protein contents of 35 and 80% before (WPC 35 and WPC 80, respectively) and after application of chitosan as fat binding agent: WPC 35 chitozan (B) and WPC 80 chitozan (D)

Kontrola i prognozowanie właściwości reologicznych układu dyspersyjnego, który stanowią piany, są szczególnie ważne ze względu na stabilność tworzących się struktur oraz teksturę produktów z ich udziałem [3]. Jak podają Davis i Foegeding [3], udział frakcji powietrza (ϕ) w pianach stanowi najważniejszy czynnik fizyczny wpływający na właściwości reologiczne pian. Wraz z przemianą fazową, polegającą na przejściu od lepkich płynów do powstałych struktur, wartość ϕ wzrasta od zera do war-

tości $\phi_{rcp} \approx 0,64$ [11]. Powyżej $\phi_{rcp} \approx 0,64$ sferyczne pęcherzyki zaczynają się stykać, tworząc tak zwaną pianę wielościenną lub suchą [3]. Udział frakcji powietrza (ϕ), obliczony na podstawie równania (4), został przedstawiony w tab. 2. Wszystkie piany wykazywały $\phi \geq 0,84$, a więc powyżej wartości ϕ_{rcp} , co oznacza, że mogą być rozpatrywane jako piany, w których pęcherzyki powietrza mają kształt zbliżony do wielościanu.

Interesujących wyników dostarczyła obserwacja badanych roztworów. Na fot. 1. przedstawiono roztwory preparatów serwatkowych przed zastosowaniem chitozanu i po nim.

Tłuszcz obecny w serwatce jest przyczyną mętności produktów z niej otrzymanych, co ogranicza możliwość zastosowania badanych preparatów nieodtuszczonych w produktach, w których klarowność jest istotna. Zmniejszenie mętności roztworów było wynikiem związania kuleczek tłuszczowych, fosfolipidów oraz pozostałości barwnika przez chitozan [10]. Dzięki zmniejszonej mętności roztwory białek odtuszczonych mogą być wykorzystywane do wzbogacania w białka serwatkowe produktów niemlecznych, takich jak soki czy napoje.

Wnioski

1. Zastosowanie chitozanu jako czynnika wiążącego tłuszcz przyczyniło się do znaczącej redukcji zawartości tego składnika w badanych koncentratkach.
2. Roztwory WPC 35 chitozan i WPC 80 chitozan cechowały się większą ($p < 0,05$) wydajnością pienienia w porównaniu z odpowiednikami WPC 35 i WPC 80 (bez stosowania chitozanu). Wydajność pienienia tych roztworów była większa ($p < 0,05$) aniżeli wydajność roztworów albuminy białka jaja kurzego EWP i EWP-W, przy czym do badań zastosowano roztwory o różnym stężeniu białka.
3. Zastosowanie chitozanu jako czynnika wiążącego tłuszcz wpłynęło na poprawę spęcznienia pian uzyskanych z badanych koncentratów. Koncentraty białek serwatkowych po zastosowaniu chitozanu (WPC 35 chitozan i WPC 80 chitozan) charakteryzowały się wyższymi ($p < 0,05$) wartościami spęcznienia pian niż roztwory przed zastosowaniem chitozanu (WPC 35 i WPC 80), jak również w porównaniu z pianami EWP i EWP-W.
4. Stabilność pian otrzymanych z roztworów koncentratów białek serwatkowych po zastosowaniu chitozanu (WPC 35 chitozan i WPC 80 chitozan) była wyższa ($p < 0,05$) niż przed zastosowaniem chitozanu (WPC 35 i WPC 80) i porównywalna z EWP i EWP-W.
5. Zastosowanie chitozanu do zmniejszenia zawartości tłuszczu w WPC przyczyniło się do znacznego zmniejszenia ich mętności.

Literatura

- [1] AOAC. Official Methods of Analysis. Metoda 991.20; 33.2.11. 17th ed. AOAC, Gaithersburg, MD, 2007.
- [2] Damodaran S.: Removing lipids from cheese whey using chitosan. US patent nr 5436014. 1995.
- [3] Davis J.P., Foegeding E.A.: Comparisons of the foaming and interfacial properties of whey protein isolate and egg white proteins. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2007, **54**, 200-210.
- [4] Díaz O., Pereira C.D., Cobos A.: Functional properties of ovine whey protein concentrates produced by membrane technology after clarification of cheese manufacture by-products. *Food Hydrocoll.*, 2004, **18**, 601-610.
- [5] Evans J., Żulewska J., Newbold M., Drake M.A., Barbano D.M.: Comparison of composition, sensory, and volatile components of thirty-four percent whey protein and milk serum protein concentrates. *J. Dairy Sci.*, 2009, **92**, 4773-4791.
- [6] Foegeding E.A., Luck P.J., Davis J.P.: Factors determining the physical properties of protein foams. *Food Hydrocoll.*, 2006, **20**, 284-292.
- [7] Heino A.T., Uusi-Rauva J.O., Rantamäki P.R., Tossavainen O.: Functional properties of native and cheese whey protein concentrate powders. *Int. J. Dairy Technol.*, 2007, **60**, 277-285.
- [8] Huffman L.M., Harper W.J.: Maximizing the value of milk through separation technologies. *J. Dairy Sci.*, 1999, **82**, 2238-2244.
- [9] Hwang D-H., Damodaran S.: Selective precipitation and removal of lipids from cheese whey using chitosan. *J. Agric. Food Chem.*, 1995, **43**, 33-37.
- [10] Lucey J.A., Jarto I., Smith K.E., Damodaran S.: Low Fat, Clear, Bland Flavored Whey Products. US patent nr 2010/0028525. 2010.
- [11] Mason T.G.: New fundamental concepts in emulsion rheology. *Curr. Opin. Coll. Inter. Sci.*, 1999, **4** (3), 231-238.
- [12] Mleko S., Kristinsson H.G., Liang Y., Gustaw W.: Rheological properties of foams generated from egg albumin after pH treatment. *LWT*, 2007, **40**, 908-914.
- [13] Morr C.V., Ha E.Y.W.: Off-flavors of whey protein concentrates: A literature review. *Int. Dairy J.*, 1991, **1**, 1-11.
- [14] Nastaj M.: Wpływ zmiennego czasu ubijania na właściwości reologiczne pian otrzymywanych z różnych preparatów białek serwatkowych i sproszkowanej albuminy jaja. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, **6** (67), 37-46.
- [15] Nastaj M.: Wpływ chlorku sodu na właściwości reologiczne pian otrzymywanych z albuminy wysokopienistej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **5** (84), 113-123.
- [16] Patel M.T., Kilara A.: Studies on whey protein concentrates. 2. foaming and emulsifying properties and their relationships with physicochemical properties. *J. Dairy Sci.*, 1990, **73**, 2731-2740.
- [17] Pearce R.J., Marshall S.C., Dunkerley J.A.: Reduction of lipids in whey protein concentrates by microfiltration – effect on functional properties. *Int. Dairy Fed.*, 1992. Special Issue 9201. IDF, Bruksela.
- [18] PN-ISO 488:2002. Mleko. Oznaczanie zawartości tłuszczu. Tłuszczomierze Gerbera.
- [19] Yang X., Berry T.K., Foegeding E.A.: Foams prepared from whey protein isolate and egg white protein: 1. Physical, microstructural, and interfacial properties. *J. Food Sci.*, 2009, **74**, 259-268.
- [20] Yang X., Foegeding E.A.: The stability and physical properties of egg white and whey protein foams explained based on microstructure and interfacial properties. *Food Hydrocoll.*, 2011, **25**, 1687-1701.
- [21] Zayas J.F.: *Functionality of food proteins*. Springer, New York 1997.
- [22] Żulewska J., Newbold M.W., Barbano D.M.: Efficiency of serum protein removal from skim milk with ceramic and polymeric membranes at 50°C. *J. Dairy Sci.*, 2009, **92** (4), 1361-1377.

FOAMING PROPERTIES OF REDUCED-FAT WHEY PROTEIN CONCENTRATES**S u m m a r y**

Whey proteins have practical significance on grounds of their nutritive and functional values. However, the presence of fat negatively affects their flavour and foaming properties. The objective of the research was to determine the effect of fat content on foaming properties of whey protein concentrates. Whey protein concentrates, those with fat and those with fat reduced by chitosan, were compared as regards their foaming properties; all of them had a declared protein content of 35 % (WPC 35) and of 80 % (WPC 80). Furthermore, the foaming properties of whey proteins were compared with those of albumin in egg white (EWP). Upon the application of chitosan, the whey protein solutions, i.e. WPC 35 chitosan and WPC 80 chitosan, showed a higher foaming yield level (respectively: 721.7 % and 776.7 %) than that of WPC 35 and WPC 80 (respectively: 338.3 % and 588.3 %) and of EWP and EWP-W (respectively: 555.0 % and 536.7 %). The solutions of WPC 35 chitosan and WPC 80 chitosan showed higher values of foam overrun (750.8 % and 636.8 %, respectively) than the solutions of WPC 35 and WPC 80 (520.93 %, 568.0 %) and than the natural albumin in egg white (EWP) and the albumin of high foaming activity in egg white (EWP-W) (572.6 % and 595.7 %, respectively). The stability of foams produced from WPC 35 chitosan and WPC 80 chitosan solutions was higher (93.6 % and 98.1 %, respectively) compared to the foam stability produced from WPC 35 solution (32.5 %) and from WPC 80 solution (87.1 %); it was comparable with the foam stability from EWP (97.6 %) and EWP-W (100.0 %). The application of chitosan contributed to a significant decrease in turbidity of WPC.

Key words: whey protein concentrates (WPC), chitosan, foaming properties, albumin in egg white ☒

MARZANNA HEŚ, DANUTA GÓRECKA, KRZYSZTOF DZIEDZIC,
JOANNA KOBUS-CISOWSKA, JÓZEF KORCZAK

WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWUTLENIAJĄCE EKSTRAKTÓW Z ZIARNIAKÓW GRYKI I PRODUKTÓW OTRZYMANYCH W PROCESIE ICH PRZEROBU

Streszczenie

Gryka zawiera białka o wysokiej wartości biologicznej, lipidy zasobne w nienasycone kwasy tłuszczowe, witaminy B₁, B₂ i B₆ oraz polifenole o wysokiej aktywności przeciwutleniającej i dzięki tym składnikom jest wartościowym surowcem żywnościowym o właściwościach prozdrowotnych. Celem badań było określenie zawartości polifenoli i aktywności przeciwutleniającej ekstraktów z ziarniaków polskich odmian gryki oraz produktów ubocznych powstałych podczas przerobu ziarniaków na kasze. W celach porównawczych wykorzystano syntetyczny przeciwutleniacz BHT.

Badaniom poddano dwie polskie odmiany gryki: 'Kora' i 'Panda' (*Fagopyrum esculentum* Moench L.). Ekstrakcję prowadzono przy użyciu acetonu, metanolu oraz wody w temp. 20 ± 2 °C przez 24 h. Poziom związków fenolowych oznaczono spektrofotometrycznie z odczynnikiem Folina-Ciocalteu'a, stosując jako wzorzec kwas galusowy. Aktywność przeciwutleniającą ekstraktów badano wobec kwasu linolowego, prowadząc inkubację przez 19 h, metodą neutralizowania trwałych rodników DPPH (2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl) oraz w warunkach testu Oxidograph.

Największą zawartością polifenoli charakteryzowały się ekstrakty metanolowe (ok. 63 - 68 mg GAE/g s.m.), następnie acetonowe (ok. 44 - 48 mg GAE/g s.m.) i wodne (ok. 25 - 30 mg GAE/g s.m.). Ziarniak gryki odmiany 'Kora' cechowały się nieznacznie większą zawartością polifenoli i zbliżoną aktywnością przeciwutleniającą w porównaniu z odmianą 'Panda'. Najwięcej polifenoli stwierdzono w metanolowych ekstraktach z łuski gryki odmiany 'Kora' – 140,4 mg/g s.m. Ekstrakty te charakteryzowały się jednocześnie największą aktywnością przeciwrodnikową (98,8 %). W układzie emulsyjnym, obok ekstraktów metanolowych, wysoką aktywnością odznaczały się również ekstrakty wodne. Otrzymane ekstrakty wykazywały słaby efekt stabilizujący w stosunku do oleju rzepakowego w warunkach testu Oxidograph.

Słowa kluczowe: ziarniak gryki, łuska, otręby, polifenole, aktywność przeciwutleniająca

Wprowadzenie

Zainteresowanie gryką i produktami gryczanymi wiąże się nie tylko z obecnością składników odżywczych, takich jak: białka, sacharydy, lipidy czy składniki mineralne, ale również ze składnikami nieodżywczymi o funkcjach prozdrowotnych, np. z błonnikiem pokarmowym oraz ze związkami fenolowymi [2, 12]. Związki te chronią organizm człowieka przed stresem oksydacyjnym i są pomocne w profilaktyce zmian nowotworowych oraz rozwoju miażdżycy [13]. Działają również antybakteryjnie, przeciwwzapalnie, przeciwalergicznie oraz poprawiają elastyczność żył i wspomagają układ krwionośny [17, 31].

Do związków o właściwościach przeciwutleniających i bakteriostatycznych występujących w ziarniakach gryki należą: flawonoidy, kwasy fenolowe, skondensowane taniny, fitosterole, fagopiryny i tokoferole [7, 12, 26, 28]. Związki polifenolowe występują głównie w zewnętrznych warstwach ziarniaka gryki. W okrywkach owocowych ziarniaka znajdują się: rutyna, kwercetyna, orientyna, izoorientyna i witeksyna [5]. Hung i Morita [15] stwierdzili, że są to związki występujące przeważnie w postaci wolnej. W przeciwieństwie do ziarniaków gryki, polifenole w ziarnach innych zbóż są związane przede wszystkim ze składnikami ścian komórkowych [1].

Grykę przetwarza się przeważnie na kaszę, która w głównej mierze zawiera rutynę i izowiteksynę [5]. W zależności od stosowanych operacji jednostkowych w procesie produkcyjnym, uzyskuje się różne typy i rodzaje kaszy gryczanej (kasze całe i łamane). Zastosowanie zabiegu hydrotermicznego pozwala wyróżnić 2 typy kaszy gryczanej: prażoną i nieprażoną. W obu tych typach, po zabiegu rozdrabniania, otrzymuje się kaszę łamaną (z kaszy prażonej) oraz kaszę łamaną drobną krakowską (z kaszy nieprażonej). Skład chemiczny kasz, a więc także ich wartość odżywcza, zależy od stopnia rozdrobnienia i obłuszczenia ziarna. Podczas produkcji kaszy gryczanej powstają produkty uboczne, takie jak otręby i łuska gryczana, które ze względu na dużą zawartość błonnika można wykorzystać do produkcji preparatów wysokobłonnikowych [6]. Jednocześnie produkty te mogą stanowić cenne źródło związków przeciwutleniających [7, 11].

Jako wartościowy surowiec żywności prozdrowotnej ziarniaki gryki i produkty uboczne powstające podczas wytwarzania kaszy gryczanej zasługują na większe zainteresowanie badawcze.

Celem pracy było określenie aktywności przeciwutleniającej ekstraktów z ziarniaków dwóch odmian gryki oraz produktów ubocznych otrzymanych w procesie wytwarzania kaszy gryczanej.

Material i metody badań

Materiałem doświadczalnym były nieobłuszczone ziarniaki dwóch polskich odmian gryki – ‘Kora’ i ‘Panda’ (*Fagopyrum esculentum* Moench L.) otrzymane ze stacji Doświadczalnej Palikije oraz łuska gryczana, otręby po śrutowaniu i otręby końcowe gryki odmiany ‘Kora’, które otrzymano z Zakładu Zbożowo-Młynarskiego w Białymstoku.

Badany materiał rozdrabniano w młynku Cyclotec. Ekstrakcję związków fenolowych prowadzono 2-krotnie przy użyciu metanolu, acetonu oraz wody, w temp. 20 ± 2 °C, przez 24 h. Zawartość polifenoli ogółem oznaczano kolorymetrycznie metodą Folina-Ciocalteu’a, przy długości fali $\lambda = 750$ nm [14]. Metoda ta polega na barwnej reakcji między polifenolami a odczynnikiem Folina-Ciocalteu’a (FC). W środowisku zasadowym związki fenolowe występują w postaci anionu fenolowego, który redukuje odczynnik FC, tworząc niebieski barwnik. Wyniki analiz przedstawiono jako ekwiwalent stężenia kwasu galusowego w mg/g s.m. ekstraktu (mg GAE/g s.m.).

Właściwości przeciwutleniające ekstraktów szacowano na podstawie zdolności ekstraktów do neutralizowania rodnika DPPH (2,2-difenylo-1-pikrylhydrazyl) wobec kwasu linolowego oraz w warunkach testu Oxidograph [18]. Uzyskane wyniki porównano z aktywnością BHT (butylohydroksytoluenu).

Zdolność neutralizowania rodnika DPPH określano na podstawie oznaczanych kolorymetrycznie zmian stężenia stabilnego rodnika DPPH wobec próby kontrolnej [21, 25]. Pomiaru absorbancji dokonywano przy długości fali $\lambda = 517$ nm, po 30-minutowej inkubacji roztworu w temp. 20 ± 2 °C, bez dostępu światła. Wyniki przedstawiono jako aktywność przeciwutleniającą (AA) wyrażoną równaniem:

$$AA [\%] = 100 - \{[(Abs_{\text{próby właściwej}} - Abs_{\text{próby zerowej}}) \times 100] / Abs_{\text{próby kontrolnej}}\}$$

Zdolność hamowania autooksydacji kwasu linolowego określano metodą Lingnerta i wsp. [20]. Metoda polega na spektrofotometrycznym oznaczaniu przyrostu zawartości dienów sprzężonych w 10 mM emulsji kwasu linolowego o pH 7,2. Do przygotowanej emulsji wprowadzano 0,01 ml badanych ekstraktów, a następnie dokonywano pomiaru absorbancji przy długości fali $\lambda = 234$ nm, zarówno w próbkach bezpośrednio po dodaniu przeciwutleniacza, jak i po 19-godzinnej inkubacji w temp. 37 °C, bez dostępu światła. Zawartość dienów obliczano, wykorzystując molowy współczynnik absorbancji dienów sprzężonych, zgodnie z prawem Lamberta-Beera:

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot l$$

gdzie:

A – absorbancja,

ε – molowy współczynnik absorpcji ($\varepsilon = 2,56 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$),

c – stężenie nadtlenków z dienami sprzężonymi [M],

l – grubość warstwy absorbującej (grubość kuwety = 1 cm).

W aparacie Oxidograph wykonywano pomiar okresu indukcyjnego oleju rzepakowego (Zakłady Przemysłu Tłuszczowego „Kruszwica”), mierzonego zużyciem tlenu za pomocą transduktora ciśnień. W celu skrócenia analizy próbki ogrzewano w temp. 110 °C. Rezultatem utleniania była zmiana ciśnienia w wyniku pochłaniania tlenu przez olej w naczynku reakcyjnym. Cały proces był rejestrowany przez czujniki ciśnieniowe i zapisywany na wykresie, na podstawie którego określano okres indukcyjny badanej próby. Aktywność przeciwutleniającą, wyrażoną współczynnikiem ochronnym, wyznaczano ze stosunku okresu indukcyjnego próby z dodatkiem przeciwutleniacza (t, [h]) do okresu indukcyjnego próby kontrolnej (t_k, [h]):

$$W_o = t / t_k$$

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej. Przedstawione w pracy wyniki stanowią średnią arytmetyczną niezależnych serii pomiarów w trzech powtórzeniach. Analizę najmniejszych istotnych różnic z wykorzystaniem wariancji wieloczynnikowej oraz analizę współczynnika korelacji liniowej przeprowadzono w programie Statistica ver. 9. Wnioskowanie statystyczne przeprowadzono na poziomie istotności p = 0,05.

Wyniki i dyskusja

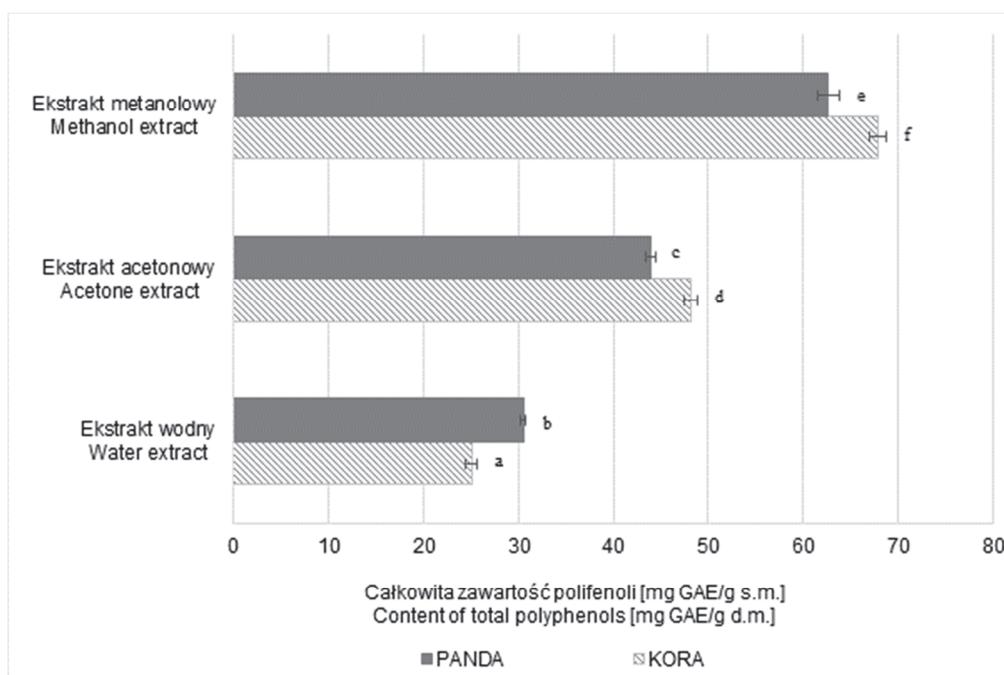
Otrzymane ekstrakty z ziarniaków gryki różniły się pod względem całkowitej zawartości polifenoli. Największą zawartością tych substancji charakteryzowały się ekstrakty metanolowe, mniejszą – acetonowe, a najmniejszą – wodne. Metanolowe i acetonowe ekstrakty z ziarniaków odmiany ‘Kora’ zawierały więcej związków polifenolowych niż z odmiany ‘Panda’ (rys. 1).

Do analizy właściwości przeciwutleniających produktów ubocznych wytypowano odmianę ‘Kora’, uwzględniając nieznacznie większą zawartość polifenoli ogółem w ekstraktach z jej ziarniaków oraz potwierdzoną w literaturze większą wartość odżywczą i większą zawartość rozpuszczalnej frakcji błonnika pokarmowego, w porównaniu z ziarniakami odmiany ‘Panda’ [3, 27].

Najwięcej polifenoli stwierdzono w metanolowych ekstraktach z łuski gryki (140,4 mg/g s.m.). Ekstrakty z otrąb charakteryzowały się ok. 3-krotnie mniejszą zawartością polifenoli w porównaniu z łuską. Aceton i woda w mniejszym stopniu ekstrahowały polifenole w porównaniu z metanolem. Acetonowe i wodne ekstrakty z łuski zawierały odpowiednio o 50 i 86 % mniej związków fenolowych niż ekstrakty metanolowe. Najmniejszą zawartością związków polifenolowych ogółem charakteryzowały się ekstrakty wodne z otrąb końcowych (8,6 mg/g s.m.) (rys. 2).

Zieliński i Troszyńska [35] dowiedli, że zawartość związków fenolowych różni się gatunek surowców roślinnych. Autorzy podają, że w obłuszczonych ziarniakach gryki ogólna zawartość związków fenolowych wynosi 4082 µg/g, natomiast w pszeni-

cy 548 $\mu\text{g/g}$. Ziarniaki gryki zawierają też więcej związków fenolowych niż ziarno owsa i jęczmienia. Li i wsp. [19] stwierdzili z kolei, że całkowita zawartość polifenoli w łusce i otrębach jest większa niż w mące gryczanej, a dominującą formą są związki fenolowe wolne. Hung i Morita [15] wykazali, że mączka z całych ziaren gryki zawiera znacznie więcej polifenoli ogółem w formie wolnej niż związanej, z kolei związków flawonoidowych jest więcej w formie związanej niż wolnej. Od gatunku zboża uzależniona jest również aktywność przeciwutleniająca. Metanolowe ekstrakty z ziarniaków gryki charakteryzują się większą aktywnością przeciwutleniającą niż ekstrakty z ziarna jęczmienia, owsa, pszenicy i żyta [34]. Otręby i łuska gryczana mogą wykazywać nawet 2 - 4 razy większą aktywność przeciwutleniającą niż ziarno jęczmienia, pszenżyta i owsa [33]. Tang i wsp. [29] badali zawartość związków fenolowych i aktywność przeciwutleniającą izolatów białek gryki. Stwierdzili, że zawartość polifenoli zmniejszała się w różnym stopniu w zależności od stopnia hydrolizy. Hydrolizaty wykazywały bardzo dobre właściwości przeciwutleniające, w tym zdolność neutralizowania rodnika DPPH, siłę redukującą oraz zdolność hamowania utleniania kwasu linolowego.

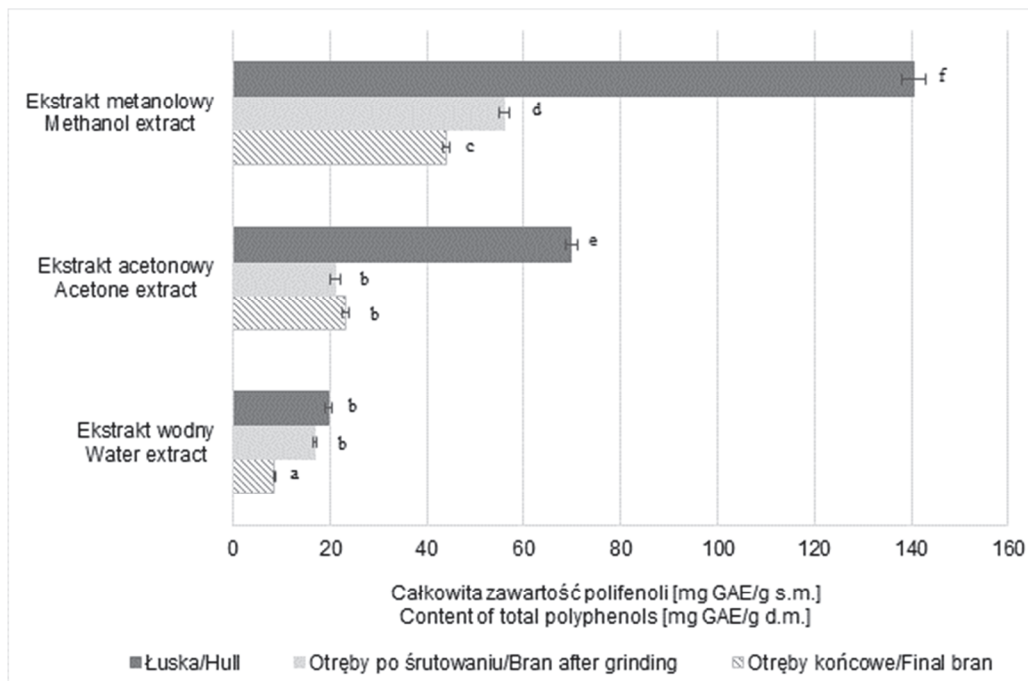


Objaśnienie: / Explanatory note:

a - f – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) / mean values denoted by different letters differ statistically significantly ($p < 0.05$).

Rys. 1. Zawartość polifenoli w ekstraktach z ziarniaków gryki odmiany 'Panda' i 'Kora'

Fig. 1. Content of total polyphenols in extracts from buckwheat grains of 'Panda' and 'Kora' varieties



Objaśnienie: / Explanatory note:

a - f – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) / mean values denoted by different letters differ statistically significantly ($p < 0.05$).

Rys. 2. Zawartość polifenoli w ekstraktach z ubocznych produktów gryki odmiany 'Kora'

Fig. 2. Content of total polyphenols in extracts from buckwheat by-products of 'Kora' variety

W niniejszych badaniach zawartość polifenoli w ekstraktach z gryki oraz ich aktywność przeciwutleniająca uzależnione były od zastosowanego ekstrahenta. Największą zdolność ekstrakcji związków fenolowych wykazywał metanol, co wiąże się z polarnością tego rozpuszczalnika. Stwierdzono, że polarne rozpuszczalniki organiczne charakteryzują się dużą zdolnością ekstrakcji związków fenolowych i w konsekwencji wysoką aktywnością przeciwutleniającą ekstraktów [24]. Zastosowanie 80-procentowego metanolu do ekstrakcji pozwala wyizolować ponad 60 razy więcej związków fenolowych z gryki, a uzyskane ekstrakty mogą wykazywać 4-krotnie większą aktywność przeciwutleniającą niż ekstrakty wodne [34]. Z kolei Gallardo i wsp. [8] wykazali podobny poziom związków fenolowych, ale większą aktywność przeciwutleniającą ekstraktów wodnych w porównaniu z 80-procentowymi ekstraktami metanolowymi z mąki gryczanej. W innych badaniach do ekstrakcji związków fenolowych z mąki gryczanej zastosowano metanol, etanol, butanol, aceton i octan etylu [28]. Pomimo że najlepsze zdolności ekstrakcyjne wykazał aceton, największą aktywnością

przeciwutleniającą charakteryzowały się ekstrakty metanolowe. Inglett i wsp. [16] podają, że stosując do ekstrakcji alkohol absolutny można osiągnąć znacząco większą zawartość polifenoli związanych, z kolei 50-procentowy etanol ekstrahuje więcej niezwiązanych polifenoli w porównaniu z wodą i alkoholem absolutnym.

Tabela 1. Zdolność neutralizowania rodnika DPPH przez ekstrakty z ziarniaków i z produktów ubocznych gryki [%]

Table 1. DPPH scavenging ability of extracts from buckwheat grains and by-products [%]

Próba Sample	Ekstrakt metanolowy Methanol extract	Ekstrakt acetonowy Acetone extract	Ekstrakt wodny Water extract
Odmiana gryki / Buckwheat variety			
'Panda' 0,2%	60,55 ^{fg} ± 0,48	53,64 ^{ef} ± 1,13	21,56 ^b ± 0,89
'Kora' 0,2%	64,43 ^g ± 0,62	51,59 ^e ± 0,59	16,28 ^a ± 0,93
Produkty uboczne gryki odmiany 'Kora' / By-products of 'Kora' buckwheat variety			
Łuska / Hull 0,1%	98,76 ^h ± 0,31	56,94 ^f ± 1,39	16,10 ^a ± 0,69
Otręby po śrutowaniu Bran after grinding 0,2%	55,91 ^f ± 0,37	26,89 ^{bc} ± 0,51	19,19 ^{ab} ± 0,61
Otręby końcowe Final bran 0,2%	39,19 ^d ± 0,31	25,80 ^{bc} ± 1,49	21,98 ^b ± 0,86
BHT 0,02%	30,50 ^c ± 0,92		

Objaśnienie: / Explanatory note:

a - h – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) / mean values denoted by different letters differ statistically significantly ($p < 0,05$).

W tab. 1. przedstawiono zdolność neutralizowania trwałych rodników DPPH przez poszczególne rodzaje ekstraktów. Analizowano wpływ 0,2 ml roztworu ekstraktów o stężeniu 0,1 lub 0,2 % na zdolność neutralizowania DPPH. Największą zdolnością wygaszania rodników charakteryzowały się ekstrakty z łuski ziarniaków gryki, przy czym ekstrakt metanolowy wykazywał odpowiednio o 42 i 83 % większą aktywność niż ekstrakt acetonowy i ekstrakt wodny. Ekstrakty metanolowe z ziarniaków gryki odmiany 'Kora' charakteryzowały się większą aktywnością przeciwrodnikową w porównaniu z odmianą 'Panda', jednak uzyskane różnice nie zostały potwierdzone statystycznie ($p < 0,05$). Aktywność ekstraktów metanolowych i acetonowych z ziarniaków obu odmian była istotnie większa ($p < 0,05$) od aktywności odpowiednich ekstraktów z otrąb gryki odmiany 'Kora'. W przypadku wodnych ekstraktów z całych ziarniaków i wodnych ekstraktów z otrąb, stwierdzono brak istotnych różnic ($p < 0,05$) w neutralizowaniu rodników DPPH. W ekstraktach acetonowych oraz wodnych nie stwierdzono istotnych różnic ($p < 0,05$) aktywności w przypadku otrąb po śrutowaniu i otrąb końcowych. Istotnie większą ($p < 0,05$) aktywność przeciwrodnikową wykazały

natomiast metanolowe ekstrakty z otrąb po śrutowaniu w porównaniu z otrębami końcowymi (odpowiednio: 55,9 i 39,2 %). Acetonowe ekstrakty z otrąb po śrutowaniu wykazywały niewiele większą (ok. 1,4-razy) zdolność neutralizowania rodników niż ekstrakty wodne. Aktywność ekstraktów acetonowych i wodnych z otrąb końcowych również była podobna, wynosiła odpowiednio 25,8 i 22 %. Przeciworodnikowa aktywność ekstraktów acetonowych z otrąb po śrutowaniu i końcowych była najbardziej zbliżona do aktywności syntetycznego przeciwutleniacza BHT, stosowanego na poziomie 0,02 % (30,5 %).

Obserwowany w pracy efekt wygaszania rodnika DPPH przez ekstrakty z ziarniaków i z produktów ubocznych gryki jest większy od tego, jaki uzyskano w przypadku ekstraktów etanolowych z mąki gryczanej [16]. Alvarez-Jubete i wsp. [2] stwierdzili również większą aktywność neutralizowania rodnika DPPH przez ekstrakty z ziarniaków gryki w porównaniu z amarantusem, komosą ryżową oraz pszenicą. Alkoholowe, acetonowe i etylooctanowe wyciągi z ziarniaków gryki powodowały efekt wygaszania w granicach od 40 do 80 %, przy czym w przypadku ekstraktu acetonowego i metanolowego wpływ ten zaznaczył się odpowiednio na poziomie ok. 80 i 60 % [28]. Podobnie wysoką zdolność neutralizowania rodnika DPPH oznaczono w etanolowych ekstraktach z kaszy gryczanej [10].

W badaniach własnych stwierdzono silną dodatnią korelację pomiędzy całkowitą zawartością związków polifenolowych w ekstraktach z ziarniaków i produktów ubocznych gryki a zdolnością dezaktywacji rodników DPPH ($r = 0,95$; $p < 0,05$). Również Stępińska i wsp. [26] dowiedli, że aktywność przeciwutleniająca jest związana z obecnością związków fenolowych w ziarniakach gryki poddanych i niepoddanych obróbce cieplnej (odpowiednio: $r = 0,95$, $r = 0,99$). Jednak nie zawsze istnieje silny związek między zawartością polifenoli a aktywnością przeciwutleniającą, na co wskazują Oomah i Mazza [23]. Wymienieni autorzy uzyskali niską korelację pomiędzy zawartością flawonoidów w ziarniakach gryki a ich aktywnością przeciwutleniającą. Nie stwierdzili też związku pomiędzy zawartością rutyny a aktywnością przeciwutleniającą gryki, co z kolei wykazali Velioglu i wsp. [30] oraz Guo i wsp. [9]. W badaniach Li i wsp. [19] korelacja pomiędzy całkowitą zawartością związków fenolowych w ekstraktach z łuski i otrąb a aktywnością przeciwutleniającą nie była statystycznie istotna, z kolei w przypadku mąki gryczanej stwierdzono związek pomiędzy zawartością polifenoli a zdolnością neutralizowania rodników DPPH ($r_s = 0,79$, $p < 0,05$).

Wpływ 0,01 ml ekstraktów z ziarniaków i produktów ubocznych gryki na stabilność kwasu linolowego w emulsji przedstawiono w tab. 2. Ekstrakty metanolowe i wodne wykazywały większy efekt ochronny w stosunku do kwasu linolowego niż ekstrakty acetonowe. Jednak w porównaniu z BHT aktywność ta była istotnie niższa ($p < 0,05$). Przyrost dienów sprzężonych w największym stopniu ograniczyły metanolowe ekstrakty z łuski i otrąb po śrutowaniu oraz wodne ekstrakty z ziarniaków obu

odmian. Po 19 h inkubacji emulsji, próby z tymi ekstraktami zawierały 82 i 85 % mniej dienów niż próba kontrolna. Aktywność metanolowych ekstraktów z ubocznych produktów gryki była istotnie większa niż ekstraktów z ziarniaków. Tendencji tej nie obserwowano w przypadku ekstraktów acetonowych i wodnych. Najmniejszą aktywnością przeciwutleniającą charakteryzował się acetonowy ekstrakt z łuski oraz z otrąb końcowych, które ograniczyły zawartość dienów sprzężonych w inkubowanej emulsji odpowiednio o 32 i 10 %. Zastosowany w celach porównawczych syntetyczny przeciwutleniacz BHT charakteryzował się istotnie wyższą ($p < 0,05$) aktywnością w układzie emulsyjnym niż ekstrakty gryki. Prawie całkowicie ograniczył powstawanie dienów sprzężonych (przyrost o niespełna 3 %). Przeprowadzona analiza statystyczna nie wykazała korelacji pomiędzy efektywnością przeciwutleniającą a całkowitą zawartością polifenoli.

Tabela 2. Zawartość dienów sprzężonych w emulsji kwasu linolowego [10^{-5} M] determinowana oddziaływaniem ekstraktów z ziarniaków i z produktów ubocznych gryki [%]

Table 2. Content of conjugated dienes in linoleic acid emulsion [10^{-5} M] as determined by impact of extracts from buckwheat grains and buckwheat by-products

Próba Sample	Ekstrakt metanolowy Methanol extract	Ekstrakt acetonowy Acetone extract	Ekstrakt wodny Water extract
Po przygotowaniu emulsji / After emulsion was prepared			
Ziarniak odmiany 'Panda' Grain of 'Panda' variety	0,4 ± 0,012	0,7 ± 0,052	0,4 ± 0,002
Ziarniak odmiany 'Kora' Grain of 'Kora' variety	0,4 ± 0,029	0,7 ± 0,038	0,4 ± 0,007
Łuska / Hull	0,5 ± 0,047	0,7 ± 0,008	0,4 ± 0,014
Otręby po śrutowaniu Bran after grinding	0,4 ± 0,017	0,7 ± 0,009	0,4 ± 0,037
Otręby końcowe / Final bran	0,6 ± 0,004	0,7 ± 0,034	0,3 ± 0,004
BHT	0,4 ± 0,035		
Kontrolna / Control sample	0,5 ± 0,026		
Po 19 h inkubacji emulsji / After emulsion was 19 h incubated			
Ziarniak odmiany 'Panda' Grain of 'Panda' variety	1,9 ^d ± 0,074	3,7 ^f ± 0,046	1,2 ^b ± 0,009
Ziarniak odmiany 'Kora' Grain of 'Kora' variety	2,1 ^d ± 0,036	3,5 ^f ± 0,077	1,2 ^b ± 0,019
Łuska / Hull	1,2 ^b ± 0,020	4,4 ^g ± 0,502	1,8 ^{cd} ± 0,03
Otręby po śrutowaniu Bran after grinding	1,0 ^b ± 0,0003	2,9 ^e ± 0,078	1,3 ^{bc} ± 0,022
Otręby końcowe / Final bran	1,5 ^c ± 0,011	5,9 ^h ± 0,072	3,3 ^{ef} ± 0,014
BHT	0,5 ^a ± 0,015		
Kontrolna / Control	6,6 ⁱ ± 0,295		

Objaśnienie: / Explanatory note:

a - i – wartości średnie po 19 h inkubacji emulsji oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) / mean values after 19 h of emulsion incubation denoted by different letters differ statistically significantly ($p < 0.05$).

Badane ekstrakty z gryki charakteryzowały się wysoką aktywnością hamowania procesów samoutleniania kwasu linolowego w emulsji. Podobne wyniki uzyskali Hęś i wsp. [11], określając aktywność przeciwutleniającą (W_o) jako stosunek różnicy przyrostu absorbancji próby kontrolnej i z dodatkiem przeciwutleniaczy do przyrostu absorbancji próby kontrolnej. Burda i wsp. [4] porównali zdolność ekstraktów z ziarna różnych zbóż do hamowania procesu utleniania β -karotenu i kwasu linolowego. Autorzy stwierdzili, że największą aktywnością cechowały się ekstrakty z ziarna owsa, mniejszą – z żyta i jęczmienia, najmniejszą – z pszenicy. Dodatkowo Wołoch i wsp. [32] wykazali, że całkowity potencjał przeciwutleniający owsa w układzie β -karoten/kwas linolowy jest ściśle skorelowany z zawartością polifenoli w badanym materiale.

Tabela 3. Stabilność oleju rzepakowego z dodatkiem ekstraktów z ziarniaków gryki odmiany ‘Panda’ i ‘Kora’ w aparacie Oxidograph

Table 3. Stability of rapeseed oil with addition of extracts from buckwheat grains of ‘Panda’ and ‘Kora’ varieties in Oxidograph apparatus

Próba Sample	Ekstrakt metanolowy Methanol extract		Ekstrakt acetonowy Acetone extract		Ekstrakt wodny Water extract	
	Okres indukcyjny Induction time [h]	Współcz. ochronny (W_o) Protection factor (PF)	Okres indukcyjny Induction time [h]	Współcz. ochronny (W_o) Protection factor (PF)	Okres indukcyjny Induction time [h]	Współcz. ochronny (W_o) Protection factor (PF)
‘Panda’	5,60	1,13	5,55	1,12	4,78	0,97
‘Kora’	5,55	1,12	5,95	1,20	5,40	1,09
Okres indukcyjny / Induction time [h]				Współczynnik ochronny (W_o) Protection factor (PF)		
BHT	7,60		1,54			
Próba kontrolna Control sample	4,95		–			

Ektrakty z ziarniaków gryki charakteryzowały się niską aktywnością w przyspieszonym teście Oxidograph (tab. 3). Wyznaczone okresy indukcyjne oleju z dodatkiem ekstraktów były niewiele dłuższe od okresów indukcyjnych próby kontrolnej i znacznie krótsze w porównaniu z próbą z dodatkiem BHT. Spośród stosowanych ekstraktów gryki najlepszym przeciwutleniaczem w stosunku do oleju okazał się ekstrakt acetonowy z gryki odmiany ‘Kora’, który wydłużył okres indukcyjny o 1 h. Jest to mniejsza aktywność w porównaniu z BHT, który wydłużył ten okres prawie o 3 h. Efektywność przeciwutleniająca ekstraktów z ziarniaków gryki wyrażona współczynnikiem ochron-

nym (Wo) wyniosła niewiele ponad 1 i była niższa od zastosowanego w celach porównawczych syntetycznego przeciwutleniacza – BHT.

Otrzymane wyniki wskazują na różnorodność mechanizmów działania przeciwutleniaczy zawartych w analizowanym surowcu oraz na wysoki potencjał przeciwutleniający poszczególnych części gryki. Według Sun i Ho [28] naturalne przeciwutleniacze gryki mogą zastąpić przeciwutleniacze syntetyczne. Są bezpieczniejsze, zatem mogą być dodawane do produktów w większych dawkach, a efekt przeciwutleniający będzie porównywalny. Olszak i wsp. [22] udowodnili, że zastosowanie obłuszczonych i nieobłuszczonych ziarniaków gryki, poddanych obróbce hydrotermicznej, a następnie rozdrobnionych, do produkcji wysokołuszczykowych pasztetów mięsnych wpływa na wzrost trwałości przechowalniczej wyrobów poprzez zachowanie odpowiedniej jakości mikrobiologicznej, hamowanie postępujących procesów oksydacyjnych i uzyskanie zadowalającej jakości sensorycznej.

Wnioski

1. Zawartość polifenoli ogółem w ekstraktach z ziarniaków gryki była uzależniona od odmiany. Metanolowe i acetonowe ekstrakty z ziarniaków odmiany ‘Kora’ charakteryzowały się większą zawartością polifenoli w porównaniu z odmianą ‘Panda’. W wodnych ekstraktach ziarniaków większą zawartość związków fenolowych stwierdzono w przypadku odmiany ‘Panda’. W badanych układach obie odmiany wykazywały zbliżoną aktywność przeciwutleniającą.
2. Wśród produktów ubocznych największą zawartością polifenoli oraz najwyższą zdolnością wygaszania rodników DPPH charakteryzowały się metanolowe ekstrakty z łuski gryczanej, natomiast najniższą – wodne ekstrakty z otrąb.
3. Wszystkie ekstrakty z gryki wykazywały słaby efekt stabilizujący w stosunku do oleju rzepakowego w warunkach testu Oxidograph. W układzie emulsyjnym wysoką aktywnością charakteryzowały się natomiast metanolowe i wodne ekstrakty otrzymane z ziarniaków i produktów ubocznych z gryki, a mniejszą – ekstrakty acetonowe.

Pracę wykonano w ramach projektu nr POIG 01.01.02-00-061/09 pt. „Nowa żywność bioaktywna o zaprogramowanych właściwościach prozdrowotnych”.

Literatura

- [1] Adom K.K., Liu R.H.: Antioxidant activity of grains J. Agric. Food Chem., 2002, **50**, 6182-6187.
- [2] Alvarez-Jubete L., Arendt E.K., Gallagher E.: Nutritive value of pseudocereals and their increasing use as functional gluten-free ingredients. Trends Food Sci. Technol., 2010, **21**, 106-113.

- [3] Biel W., Maciorowski R.: Evaluation of chemical composition and nutritional quality of buckwheat groats, bran and hull (*Fagopyrum esculentum* Mönch L.). Ital. J. Food Sci., 2013, **25**, 384-389.
- [4] Burda S., Oleszek W., Junkuszew M.: Przeciwiutleniające właściwości ekstraktów z ziarna zbóż. XXXII Sesja Naukowa KTiChŻ PAN „Technologia żywności a oczekiwania konsumentów”, Warszawa 2001, ss. 1-4.
- [5] Chłopicka J.: Gryka jako żywność funkcjonalna. Buckwheat as functional food. Bromat. Chem. Toksykol., 2008, **41**, 3, 249-252.
- [6] Dziedzic K., Górecka D., Kobus-Cisowska J., Jeszka M.: Możliwości wykorzystania gryki w produkcji żywności funkcjonalnej. Nauka Przym. Technol., 2010, **4**, 2 # 28.
- [7] Dziedzic K., Drożdżyńska A., Górecka D., Czaczyk K.: Zawartość wybranych związków przeciwiutleniających w gryce i produktach powstałych podczas jej przerobu. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2009, **6** (67), 81-90.
- [8] Gallardo C., Jimenez L., Garcia-Conesa M.T.: Hydroxycinnamic acid composition and in vitro antioxidant activity of selected grain fractions. Food Chem., 2006, **99**, 455-463.
- [9] Guo X-D., Wu C-S., Ma Y-J., Parry J., Xu Y-Y., Liu H., Wang M., Comparison of milling fractions of tartary buckwheat for their phenolics and antioxidant properties. Food Res. Inter., 2012, **49**, 53-59.
- [10] Hęś M., Korczak J., Górecka D., Szymandera-Buszka K.: Przeciwiutleniające właściwości ekstraktów z kaszy gryczanej. Antioxidant activities of buckwheat groats extracts. Fragm. Agronom., 2006, **23**, 1 (89), 57-67.
- [11] Hęś M., Górecka D., Dziedzic K.: Antioxidant properties of extracts from buckwheat by-products. Acta Sci. Pol., Technol. Aliment., 2012, **11** (2), 167-174.
- [12] Holasova M., Fiedlerova V., Smrcinova H., Orsak M., Lachman J., Vavreinova S.: Buckwheat – The source of antioxidant activity in functional foods. Food Res. Inter., 2002, **35**, 207-211.
- [13] Hollman P.C.H.: Evidence for health benefits of plant phenols: local or systemic effects? J. Sci. Food Agric., 2001, **81**, 842-852.
- [14] Horwitz W.: Official Methods of Analysis of the Official Analytical Chemists (AOAC). Washington 1970, 15.049 – 15.055.
- [15] Hung P.V., Morita N.: Distribution of phenolic compounds in the graded flours milled from whole buckwheat grains and their antioxidant capacities. Food Chem., 2008, **109**, 325-331.
- [16] Inglett G.E., Chen D., Berhow M., Lee S.: Antioxidant activity of commercial buckwheat flours and their free and bound phenolic compositions. Food Chem., 2011, **125**, 923-929.
- [17] Kim C.D., Lee W-K., No K-O., Park S-K., Lee M-H., Lim S.R., Roh S-S.: Anti-allergic action of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) grain extract. Int. Immunopharmacol., 2003, **3**, 129-136.
- [18] Korczak J., Hęś M.: Porównanie tradycyjnych i instrumentalnych metod badania stabilności tłuszczów i aktywności przeciwutleniaczy. ABiD, 2003, **1**, 49-56.
- [19] Li F., Yuan Y., Yang X., Tao S., Ming J.: Phenolic profiles and antioxidant activity of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Mönch and *Fagopyrum tartaricum* L. Gaerth) hulls, brans and flours. JIA, 2013, **12** (9), 1684-1693.
- [20] Lingnert H., Vallentin K., Eriksson C.E.: Measurement of antioxidative effect in model system. J. Food Proc. Preserv., 1979, **3**, 87-103.
- [21] Mensor L.L., Menezes F.S., Leitao G.G., Reis A.S., dos Santos T.C., Coube C.S., Leitao S.G.: Screening of brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. Phytoter. Res., 2001, **15**, 127-130.
- [22] Olszak M., Jałosińska M., Jaworska D., Dolatowski Z.: Wpływ dodatku przetworów z nasion gryki na jakość pasztetów podczas przechowywania. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2012, **1** (80), 128-141.

- [23] Oomah B., Mazza G.: Flavonoids and antioxidative activities in buckwheat. *J. Agric. Food Chem.*, 1996, **3** (32), 1746-1750.
- [24] Przybylski R., Lee Y.C., Eskin N.A.M.: Antioxidant and radical-scavenging activities of buckwheat seed components. *JAOCs*, 1998, **75**, 1595-1601.
- [25] Sanchez-Moreno C., Larrauri J.A., Saura-Calixto F.: A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J. Sci. Food Agric.*, 1998, **76**, 270-276.
- [26] Stempińska K., Soral-Śmietana M., Zieliński H., Michalska A.: Wpływ obróbki termicznej na skład chemiczny i właściwości przeciwutleniające ziarniaków gryki. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **5** (54), 66-76.
- [27] Stempińska K., Soral-Śmietana M.: Składniki chemiczne i ocean fizykochemiczna ziarniaków gryki – porównanie trzech polskich odmian. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **2** (47) Supl., 348-357.
- [28] Sun T., Ho C.-T.: Antioxidant activities of buckwheat extracts. *Food Chem.*, 2005, **90**, 743-749.
- [29] Tang C-H., Peng J., Zhen D-W., Chen Z.: Physicochemical and antioxidant properties of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) protein hydrolysates. *Food Chem.*, 2009, **115**, 672-678.
- [30] Velioglu Y.S., Mazza L., Gao L., Oomah B.D.: Antioxidant activity and total phenolic in selected fruits, vegetables and grain products. *J. Agric. Food Chem.*, 1998, **46** (10), 4113-4117.
- [31] Wang L., Yang X., Qin P., Shan F., Ren G.: Flavonoid composition, antibacterial and antioxidant properties of tartary buckwheat bran extract. *Industrial Crops and Products*, 2013, **49**, 312- 317.
- [32] Wołoch R., Pysz M., Bieżanowska-Kopeć R.: Potencjał antyoksydacyjny owsa badany trzema metodami. *Biul. Inst. Hod. Rośl.*, 2007, **234**, 109-117.
- [33] Zduńczyk Z., Flis M., Zieliński H., Wróblewska M., Antoszkiewicz Z., Juszkiewicz J.: *In vitro* antioxidant activities of barley, husked oat, naked oat, triticale, and buckwheat wastes and their influence on the growth and biomarkers of antioxidant status in rats. *J. Agric. Food Chem.*, 2006, **54**, 4168-4175.
- [34] Zieliński H., Kozłowska H.: Antioxidant activity and total phenolics in selected cereal grains and their different morphological fractions. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, **48**, 2008-2016.
- [35] Zieliński H., Troszyńska A.: Antioxidant capacity of raw and hydrothermal processed cereal grains. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2000, **9/50**, (3S), 79-83.

ANTIOXIDANT PROPERTIES OF BUCKWHEAT GRAIN EXTRACTS AND OF PRODUCTS PRODUCED DURING THEIR PROCESSING

S u m m a r y

Buckwheat contains high biological value proteins, unsaturated fatty acids-rich lipids, vitamins B₁, B₂ and B₆, and polyphenols showing a high antioxidative activity; owing to those components, it is a valuable raw material for foods with health benefits. The objective of the study was to determine the content of polyphenols in and the antioxidative activity of extracts made from buckwheat grains of the Polish varieties and from by-products produced while processing buckwheat into groats. A synthetic antioxidant BHT was used for comparative purposes.

Two Polish buckwheat varieties were studied: 'Kora' and 'Panda' (*Fagopyrum esculentum* Moench L.). The extraction was performed using acetone, methanol, and water, at a temperature of 20 ± 2 °C, during 24 hours. The level of total phenolic compounds was determined spectrophotometrically using a Folin-Ciocalteu reagent and a gallic acid as a standard. Antioxidative activity of extracts was analyzed in the presence of linoleic acid with the incubation period of 19 hours and using a DPPH stable radical scavenging method (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), under the Oxidograph assay conditions.

Methanol extracts were characterized by the highest content of phenolic compounds (ca. 63 - 68 mg GAE/g d.m.), the next highest contents thereof were reported in the acetone (ca. 44 - 48 mg GAE/g d.m.) and water extracts (ca. 25 - 30 mg GAE/g d.m.). The buckwheat grains of 'Kora' variety were characterized by a slightly higher content of polyphenols and a similar antioxidative activity compared to the 'Panda' variety. The highest content of total phenols was found in the methanol extracts of buckwheat hulls of 'Kora' variety: 140.4 mg/g d.m. Also, those extracts were characterized by the highest antioxidative activity (98.8 %). In the emulsion system, the water extracts were characterized by a high antioxidative activity as were the methanol extracts. The extracts produced showed a weak stabilizing effect on rapeseed oil in the Oxidograph test.

Key words: buckwheat grains, hull, bran, polyphenols, antioxidant activity ☒

BOŻENA KICZOROWSKA, DARIUSZ ANDREJKO,
ANNA WINIARSKA-MIECZAN, WIOLETTA SAMOLIŃSKA,
ELŻBIETA PRYSTUPA-RUSINEK

WPLYW PROCESÓW TERMICZNYCH NA ZMIANY PODSTAWOWEGO SKŁADU CHEMICZNEGO ZIARNA PSZENICY

Streszczenie

Celem pracy było określenie zmian składu chemicznego ziarna pszenicy odmian: 'Finezja', 'Retro' i 'Nikol' zachodzących pod wpływem ekstruzji i naświetlania promieniami podczerwonymi. Ziarno nawilżano do 15 i 25 % wilgotności i ekstrudowano w temp. 110/135/175/180/124 °C oraz naświetlano promieniami podczerwonymi w 100 i 130 °C przez 30 i 90 s. W materiale doświadczalnym oznaczono zawartość: suchej masy, popiołu surowego, tłuszczu surowego, białka ogólnego, włókna surowego, BAW, frakcji włókna (ADF, NDF, CEL, HCEL i ADL) oraz skrobi.

W ziarnie pszenicy naświetlanej w temp. 130 °C przez 90 s stwierdzono istotne zmniejszenie ($p \leq 0,05$) zawartości białka ogólnego (o 7 % w ziarnie 'Finezja' i o 5 % w ziarnie 'Retro') oraz tłuszczu surowego (o 4 % w odmianie 'Finezja'). W analizowanym materiale procesy termiczne spowodowały zmniejszenie zawartości włókna surowego, najwięcej w ekstrudowanym ziarnie 'Finezja', 'Retro' i 'Nikol', odpowiednio o: 38, 26 i 39 %. Zmniejszeniu uległa także zawartość skrobi w ekstrudowanym i w naświetlanym ziarnie 'Finezja' (odpowiednio o: 18,5 i 10 %). Zjawisko to obserwowano również w przypadku frakcji włókna pokarmowego. Największe ubytki dotyczyły: ADF (24 % – 'Nikol'), NDF (12 % – 'Retro' i 9 % – 'Nikol'), CEL (17 % – 'Nikol') oraz HCEL (16 % – 'Retro' i 10 % – 'Nikol'). Niekorzystnym efektem zastosowanych procesów był wzrost zawartości ADL (o 7 % w naświetlanym ziarnie pszenicy 'Finezja' i o 11 % – w ekstrudowanym ziarnie 'Retro'). Najlepszą modyfikację składu chemicznego ziarna w wyniku ekstruzji uzyskano w pszenicy 'Finezja' i 'Nikol', nawilżanej przed procesem do 25 % wilgotności, a w efekcie naświetlania – w odmianie 'Nikol'.

Słowa kluczowe: ziarno pszenicy, ekstruzja, naświetlanie promieniami podczerwonymi, węglowodany

Dr hab. inż. B. Kiczorowska, dr inż. A. Winiarska-Mieczan, dr inż. W. Samolińska, Instytut Żywności i Żywienia Zwierząt i Bromatologii, dr E. Prystupa-Rusinek, Katedra Biochemii i Toksykologii, Wydz. Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Akademicka 13, 20-934 Lublin, prof. dr hab. D. Andrejko, Katedra Biologicznych Podstaw Technologii Żywności i Pasz, Wydz. Inżynierii Produkcji, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Głęboka 28, 20-612 Lublin

Wprowadzenie

Odmiany konsumpcyjne pszenicy przeznaczone są głównie do produkcji mąki o wysokiej jakości. Obok tradycyjnych zbożowych produktów żywnościowych na rynku coraz częściej pojawiają się produkty wytworzone w nowoczesnych procesach przetwarzania surowców roślinnych, tzw. galanteria śniadaniowa [3, 20, 21]. Ich popularność wśród konsumentów wynika nie tylko z wygody w przygotowywaniu posiłków, długiego terminu przydatności do spożycia, ale także wiąże się z pożądaną teksturą i smakiem [10, 12]. Produkty te charakteryzują się również zmienionym składem chemicznym i właściwościami odżywczymi w porównaniu z surowcem [6, 7, 8, 9]. Zboża w żywieniu człowieka są źródłem węglowodanów i głównie ta frakcja ulega modyfikacjom podczas procesów przetwarzania. Do najczęściej stosowanych technologii zalicza się metody termiczne, np. ekstruzję. Natomiast metodą mało popularną w Polsce, a dość rozpowszechnioną w Anglii, jest naświetlanie surowców promieniami podczerwonymi [4, 5].

Celem pracy było określenie zmian podstawowego składu chemicznego, włókna surowego oraz frakcji włókna i skrobi w ziarnie pszenicy odmian: 'Finezja', 'Retro' i 'Nikol', zachodzących pod wpływem procesów ekstruzji i naświetlania promieniami podczerwonymi.

Material i metody badań

Badania przeprowadzono na kwalifikowanym materiale roślinnym wysokiej jakości, pochodzącym ze zbiorów w 2011 i 2012 roku. Do badań wybrano ziarno pszenicy odmian: 'Finezja', 'Retro' i 'Nikol'. Pierwsze dwie odmiany charakteryzują się wysokimi parametrami jakości wypiekowej (typ A), natomiast odmiana pszenicy 'Nikol' zaliczana jest do ziarna o chlebowej jakości wypiekowej (typ B) [18]. W każdym roku doświadczenia, bezpośrednio od producentów w województwach warmińsko-mazurskim, podlaskim, lubelskim i podkarpackim, pobierano po 20 próbek ziarna każdej z odmian.

Ziarno pszenicy wybranych odmian poddawano obróbce termicznej w procesie ekstruzji i naświetlania promieniami podczerwonymi według schematu zamieszczonego w tab. 1.

Surowiec przeznaczony do ekstruzji rozdrabniano w rozbijaczu bijakowym, stosując kolejno sita o średnicy 6 i 3 mm. W rozdrobnionych próbkach przez 3 h stabilizowano zawartość suchej masy (temp. 105 °C). Ziarna pszenicy na 5 h przed ekstruzją nawilżano w suszarce bębnowej do założonych poziomów wilgotności 15 i 25 %. Ekstruzję przeprowadzano w ekstruderze dwuślimakowym. Proces odbywał się przy stałej liczbie obrotów ślimaków (60 obr./min). Temperatura kondycjonowania wynosiła 80 ÷

90 °C, a temp. ekstruzji wahała się od 110 °C, przez 180 °C do 124 °C. Produkt suszono w temp. ok. 30 °C.

Tabela 1. Schemat doświadczenia
Table 1. Schematic diagram of experiment

Odmiana pszenicy Wheat cultivar	Wariant dośw. Variant of experiment	Parametry ekstruzji Parameters of extrusion		Parametry naświetlania promieniami podczerwonymi Parameters of infrared radiation	
		Temperatura Temperature [°C]	Wilgotność Moisture [%]	Temperatura Temperature [°C]	Czas Time [s]
'Finezja'	Ziarno surowe (próba kontrolna) Raw grain (control sample) – F.C		-	-	
	F.E - 1	110/135/175/180/124	15	-	-
	F.E - 2	110/135/175/180/124	25	-	-
	F.IR - 1A	-	-	100	30
	F.IR - 1B	-	-	100	90
	F.IR - 2A	-	-	130	30
	F.IR - 2B	-	-	130	90
'Retro'	Ziarno surowe (próba kontrolna) Raw grain (control sample) – R.C		-	-	
	R.E - 1	110/135/175/180/124	15	-	-
	R.E - 2	110/135/175/180/124	25	-	-
	R.IR - 1A	-	-	100	30
	R.IR - 1B	-	-	100	90
	R.IR - 2A	-	-	130	30
	R.IR - 2B	-	-	130	90
'Nikol'	Ziarno surowe (próba kontrolna) Raw grain (control sample) – N.C		-	-	
	N.E – 1	110/135/175/180/124	15	-	-
	N.E - 2	110/135/175/180/124	25	-	-
	N.IR - 1A	-	-	100	30
	N.IR - 1B	-	-	100	90
	N.IR - 2A	-	-	130	30
	N.IR - 2B	-	-	130	90

Do naświetlania promieniami podczerwonymi ziarno kalibrowano na sitach o prostokątnych oczkach. Do badań wybrano frakcję o średnicy 2,8 mm. Proces prowadzono 2-krotnie przy identycznie ustawionych parametrach. Ziarno zasypywano na taśmę pojedynczą warstwą – około 80-milimetrową (gęstość usypowa 711 kg·m⁻³, kąt usypu 34,9 °). Do obróbki termicznej zastosowano generator promieni podczerwonych z płaszczyznowym promiennikiem podczerwieni ESC-1 o mocy 400 W i średniej tem-

peraturze żarnika ok. 500 °C, a $\lambda = 2,5 - 3 \mu\text{m}$. Promiennik ustawiono w odległości około 100 mm od warstwy ziarna.

Z tak przygotowanych partii ziarna zbóż przetwarzanych i nieprzetwarzanych, po uprzednim uśrednieniu, pobierano 4 próbki o masie około 1 kg. Analizy chemiczne przeprowadzono w co najmniej 3 powtórzeniach. Według standardowych procedur w materiale badawczym oznaczano suchą masę (metoda 44-15A) [1], związki mineralne w postaci popiołu (metoda 08-01) [1], białko ogólne metodą Kjeldahla (46-06) [1], tłuszcz surowy metodą Soxhleta (30-10) [1], włókno surowe metodą weendeńską (32-10) [1] oraz zawartość związków bezazotowych wyciągowych (BAW – obliczone na podstawie podstawowego składu chemicznego).

Zawartość frakcji włókna oznaczano metodą opracowaną przez van Soesta [26, 27]. Metoda ta różnicuje skład włókna na frakcje: neutralno-detergentowe (NDF), kwaśno-detergentowe (ADF), celulozy (CEL), hemiceluloz (HCEL) i lignin (ADL). Pomiary wykonywano w aparacie Ankom²²⁰ Fiber Analyzer (ANKOM Technology, Macedon New York, USA). Neutralne włókno detergentowe (NDF) stanowi cała ściana komórkowa, która składa się głównie z celulozy, hemiceluloz i ligniny. Kwaśne włókno detergentowe (ADF) to przede wszystkim celuloza i ligniny. Różnice między zawartością NDF i ADF stanowi hemiceluloza.

W surowym i przetworzonym ziarnie pszenicy oznaczano zawartość skrobi metodą polarymetryczną [2]. Metoda ta składa się z dwóch etapów oznaczeń. W pierwszym etapie próbkę poddawano działaniu kwasu chlorowodorowego i w celu sklarowania dodawano roztwory Carreza I i Carreza II. Po sklarowaniu i przesączeniu mierzono skręcalność właściwą światła spolaryzowanego. W drugim etapie próbkę ekstrahowano 40-procentowym etanolem. Następnie dodawano kwas chlorowodorowy i gotowano. Po sklarowaniu i przesączeniu w próbce ponownie mierzono kąt skręcenia płaszczyzny światła spolaryzowanego. Różnicę (nie większą niż 0,4 % wartości bezwzględnej) pomiędzy dwoma pomiarami mnożono przez współczynnik skręcalności właściwej czystej skrobi (+ 182,7 °).

Wyniki poddano analizie statystycznej. Obliczano wartości średnie i współczynniki zmienności. Jeżeli współczynnik zmienności przekraczał wyznaczone doświadczalnie granice błędu danej metody, analizy wykonywano ponownie aż do uzyskania właściwego rozrzutu wyników. Obliczano również odchylenia standardowe, równania i współczynniki regresji. Określano różnice pomiędzy średnimi (jedno- lub wieloczynnikową analizą wariancji) z zastosowaniem testu wielokrotnego rozstępu Dunkana ($p = 95$ i 91 %, $p \leq 0,05$ i $p \leq 0,01$). Obliczenia wykonywano w programie Statistica 5.1.M (StatSoft Inc., Tulsa, OK).

Wyniki i dyskusja

Nieprzetworzone ziarno pszenicy, niezależnie od odmiany, charakteryzowało się zawartością wody poniżej 10 % (tab. 2). Zastosowanie ekstruzji, pomimo wcześniejszego nawilżenia surowca, i naświetlania promieniami podczerwonymi zwiększyło zawartość suchej masy, zwłaszcza w ziarnie odmian 'Finezja' i 'Retro'. Zmniejszenie wilgotności materiałów roślinnych w wyniku działania procesów termicznych zwiększa ich bezpieczeństwo mikrobiologiczne i wydłuża okres przydatności do spożycia [5, 13].

Zastosowane procesy przetwarzania nie spowodowały zmian ogólnej zawartości związków mineralnych. Natomiast zmiany wystąpiły we frakcji lipidowej. Stwierdzono istotne zmniejszenie ($p \leq 0,01$) zawartości tłuszczu surowego w ziarnie pszenicy odmiany 'Finezja' naświetlanej promieniami podczerwonymi, która charakteryzowała się największą jego zawartością ze wszystkich badanych odmian. Promienie podczerwone wnikające w głąb struktur tkankowych powodują wzrost temperatury. W takich warunkach wolne rodniki zwiększają aktywność do rekombinacji. Może wówczas dochodzić m.in. do tworzenia się kompleksów lipidowo-skrobiowych. Powstawanie tzw. skrobi odpornej obserwowali De Pilli i wsp. [14] w surowcach zbożowych z dodatkami wysokotłuszczowymi poddawanych ekstruzji.

Zmniejszenie zawartości białka ogólnego ($p \leq 0,01$) wykazano jedynie w wyniku naświetlania promieniami podczerwonymi i dotyczyły one ziarna odmian 'Finezja' i 'Retro'. Zjawisko to nasiliło się w ziarnie przetwarzanym w najwyższej temperaturze i w najdłuższym czasie (wariant IR – 2B). Jak podają Chaiyakul i wsp. [9], zmiany frakcji białkowej wiążą się głównie ze stratą aminokwasów. Szczególnie wrażliwe na prażenie są: lizyna, metionina i cysteina. Powstają wówczas nie tylko trudno strawne kompleksy białkowo-tłuszczowe, ale również tworzą się melanoidyny – lotne związki reakcji Maillarda, odpowiedzialne m.in. za zapach i barwę produktów. Należy do nich metianol, powstający z metioniny i bardzo łatwo przekształcany w lotne reaktywne związki siarkowe (metanotiol, disulfid dimetylowy).

W całym materiale badawczym wykazano istotne zmniejszenie ($p \leq 0,05$) zawartości włókna surowego. W próbkach F.E-2, R.E-2, N.E-2 oznaczono mniej tej frakcji w porównaniu z ziarnem surowym (odpowiednio o: 38, 26 i 39 %). Podobne zmiany stwierdzono w ziarnie naświetlanym promieniami podczerwonymi. Największe straty, nawet o 30, 18 i 37 % w odniesieniu do próby kontrolnej, stwierdzono w wariantach F.IR - 2B, R.IR - 1B i N.IR-1B. Jednocześnie w całym przetwarzanym materiale doświadczalnym, niezależnie od zastosowanej technologii, obserwowano zwiększenie ($p \leq 0,01$) zawartości cukrów łatwo hydrolizujących (BAW). Ze względu na zastosowaną metodę oznaczania, zmiany zawartości włókna surowego nie pozwalają na

Tabela 2. Podstawowy skład chemiczny ziarna wybranych odmian pszenicy [% suchej masy]
 Table 2. Basic chemical composition of grains of selected wheat cultivars [% dry matter]

Warianty dośw. Variants of experiment	Sucha masa Dry matter		Zw. miner. jako popioły surowy Mineral components in the form of crude ash		Tłuszcz surowy Crude fat (Ether extract)		Białko ogólne Total protein		Włókno surowe Crude fibre		BAW NFE	
	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD
'Finezja'	91,15	± 0,28	1,86	± 0,18	1,84 ^A	± 0,17	13,41 ^A	± 0,12	5,87 ^a	± 0,18	68,48 ^B	± 0,17
F.C	92,41	± 0,24	1,84	± 0,13	1,86 ^A	± 0,16	13,33 ^A	± 0,13	3,88 ^c	± 0,16	71,50 ^B	± 0,28
F.E - 1	93,65	± 0,18	1,86	± 0,17	1,87 ^A	± 0,13	13,14 ^A	± 0,17	3,64 ^c	± 0,17	73,14 ^A	± 0,16
F.E - 2	92,83	± 0,24	1,85	± 0,28	1,81 ^{AB}	± 0,14	12,85 ^{AB}	± 0,13	4,24 ^b	± 0,13	72,08 ^{AB}	± 0,23
F.IR - 1A	93,67	± 0,17	1,83	± 0,21	1,79 ^{AB}	± 0,15	12,72 ^{AB}	± 0,14	4,18 ^b	± 0,15	73,15 ^A	± 0,28
F.IR - 1B	93,39	± 0,16	1,84	± 0,16	1,83 ^A	± 0,21	12,90 ^{AB}	± 0,17	4,33 ^b	± 0,17	72,49 ^{AB}	± 0,17
F.IR - 2A	93,92	± 0,23	1,86	± 0,18	1,76 ^B	± 0,15	12,51 ^B	± 0,16	4,09 ^{bc}	± 0,13	73,70 ^A	± 0,16
F.IR - 2B	'Retro'											
R.C	92,16	± 0,09	1,79	± 0,16	1,77	± 0,23	12,13 ^A	± 0,21	6,17 ^a	± 0,24	70,30 ^B	± 0,17
R.E - 1	93,54	± 0,18	1,76	± 0,23	1,78	± 0,14	11,84 ^{AB}	± 0,21	4,78 ^c	± 0,21	73,38 ^A	± 0,16
R.E - 2	94,58	± 0,17	1,78	± 0,24	1,81	± 0,21	11,97 ^A	± 0,21	4,56 ^c	± 0,15	74,46 ^A	± 0,17
R.IR - 1A	95,68	± 0,24	1,75	± 0,15	1,76	± 0,16	12,00 ^A	± 0,16	5,12 ^b	± 0,16	75,05 ^A	± 0,18
R.IR - 1B	96,58	± 0,18	1,74	± 0,17	1,74	± 0,34	11,76 ^{AB}	± 0,23	5,07 ^{bc}	± 0,17	76,27 ^A	± 0,16
R.IR - 2A	95,14	± 0,17	1,76	± 0,19	1,76	± 0,16	11,95 ^A	± 0,16	5,32 ^b	± 0,16	74,35 ^A	± 0,18
R.IR - 2B	94,58	± 0,16	1,77	± 0,24	1,73	± 0,14	11,53 ^B	± 0,12	5,13 ^{bc}	± 0,24	74,42 ^A	± 0,19

'Nikol'												
N.C	93,48	± 0,21	1,83	± 0,15	1,69	± 0,21	12,69	± 0,23	4,97 ^a	± 0,20	72,30 ^B	± 0,24
N.E - 1	94,58	± 0,16	1,82	± 0,14	1,71	± 0,24	12,51	± 0,23	3,19 ^{bc}	± 0,23	75,35 ^{AB}	± 0,16
N.E - 2	95,87	± 0,17	1,84	± 0,16	1,73	± 0,15	12,34	± 0,13	3,03 ^c	± 0,15	76,93 ^A	± 0,16
N.IR - 1A	96,85	± 0,09	1,82	± 0,21	1,66	± 0,16	12,53	± 0,14	3,45 ^b	± 0,17	77,39 ^A	± 0,17
N.IR - 1B	95,84	± 0,08	1,79	± 0,17	1,65	± 0,17	12,46	± 0,18	3,12 ^c	± 0,19	76,82 ^A	± 0,19
N.IR - 2A	93,84	± 0,15	1,86	± 0,17	1,72	± 0,15	12,67	± 0,17	3,57 ^b	± 0,16	74,02 ^A	± 0,21
N.IR - 2B	94,56	± 0,17	1,84	± 0,16	1,70	± 0,13	12,40	± 0,13	3,24 ^{bc}	± 0,17	75,38 ^B	± 0,23

Objaśnienia: / Explanatory notes:

BAW – związki bezazotowo-wyciągowe / NFE – nitrogen-free extract fraction; \bar{x} – wartość średnia / mean value; s – odchylenie standardowe / SD – odchylenie standardowe / standard deviation; n = 24

a, b, c – wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) / mean values in columns and denoted by different small letters differ statistically significantly ($p \leq 0,05$); A, B, C – wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,01$) / mean values in columns and denoted by different capital letters differ statistically significantly ($p \leq 0,01$)

dokładną analizę zachodzących w nim zmian. W tym celu oznaczono zawartość poszczególnych frakcji wchodzących w jego skład. Jednak wykazane różnice ($p < 0,05$) zawartości włókna surowego w badanych ziarnach mogą sygnalizować kierunek konwersji jego struktur chemicznych. Zmniejszanie ogólnej zawartości włókna pokarmowego związane jest ze zwiększaniem rozpuszczalności frakcji trudno strawnych. Może dochodzić wówczas do formowania się nowych wiązań anhydroglukozy za pomocą dodatkowych transglukozydationów [6, 25]. Rehman i wsp. [22] oraz Guillon i Champ [16] wykazali, że gotowanie surowców roślinnych pod ciśnieniem powoduje degradację polisacharydów: celulozy i hemicelulozy do cukrów prostych, łatwiej trawionych w przewodzie pokarmowym. Jednocześnie produkt traci swoje właściwości włókniste i nie spełnia już swojej roli balastowej [24]. Duża zawartość frakcji rozpuszczalnej włókna w diecie jest jednak pożądana, ponieważ prowadzi do obniżenia poziomu cholesterolu i triacylogliceroli we krwi poprzez wiązanie cholesterolu dostarczanego z pożywieniem w strukturze żelowej, a to powoduje zmniejszenie jego wchłaniania oraz zwiększenie wydalania z kałem [12].

W przetworzonym ziarnie pszenicy obserwowano zmniejszenie ($p \leq 0,01$ i $p \leq 0,05$) zawartości frakcji ADF. Na taki efekt duży wpływ miała frakcja celulozy (tab. 3). Wśród próbek ekstrudowanych największe zmiany frakcji ADF ($R^2 = 0,88$) i CEL ($R^2 = 0,88$) stwierdzono w ziarnie 'Nikol' (odpowiednio 24 i 17 % w porównaniu z próbą kontrolną) – tab. 3 i 4.

Podobne zjawisko obserwowano w ziarnie pszenicy naświetlanej promieniami podczerwonymi. W tym przypadku wpływ procesu najmocniej zaznaczył się w stratach frakcji ADF ($R^2 = 0,64 - 0,81$) i CEL ($R^2 = 0,73 - 0,85$) pszenicy odmian 'Retro' i 'Nikol' (R.IR-2 – odpowiednio o około 8 i 10 % oraz N.IR-2 – odpowiednio o 11 i 16 % w odniesieniu do próby kontrolnej). Straty celulozy mogą wynikać z rozrywania wiązań wodorowych, związanych z grupą hydroksylową. Szczególnie istotne jest pękanie wiązań międzycząsteczkowych łączących łańcuchy celulozy, które są odpowiedzialne za wiele właściwości celulozy, takich jak: pęcznienie, rozpuszczalność i higroskopijność [19].

Zmiany frakcji NDF związane były głównie ze zmianami zawartości hemiceluloz. We wszystkich analizowanych wariantach stwierdzono zmniejszenie zawartości NDF w porównaniu z nieprzetworzonym ziarnem pszenicy. Największe straty wykazano w ziarnie ekstrudowanym (R^2 (NDF) = 0,82 - 0,85, R^2 (HCEL) = 0,82 - 0,88) – tab. 4. Wynosiły one nawet 12, 9 i 8 % NDF oraz 16, 10 i 7 % HCEL w porównaniu z próbą kontrolną (odpowiednio wariant RE, NE i FE) – tab. 3.

Tabela 3. Zawartość frakcji włókna pokarmowego oraz skrobi w ekstrudowanym i naświetlanym promieniami podczerwonymi ziarnie pszenicy [% suchej masy]

Table 3. Content of dietary fibre fraction and starch in extruded and infrared irradiated wheat grain [% dry matter]

Warianty dośw. Variants of experiment	ADF		NDF		ADL		CEL		HCEL		Skrobia Starch	
	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD
'Finezja'												
F.C	3,25 ^a	± 0,28	11,34 ^a	± 0,18	0,56 ^B	± 0,24	2,69	± 0,18	8,09	± 0,17	66,54 ^a	± 0,23
F.E - 1	2,95 ^b	± 0,24	10,56 ^{ab}	± 0,13	0,60 ^A	± 0,21	2,35	± 0,16	7,61	± 0,28	56,12 ^b	± 0,28
F.E - 2	2,97 ^b	± 0,18	10,48 ^{ab}	± 0,17	0,61 ^A	± 0,16	2,36	± 0,17	7,51	± 0,16	54,13 ^b	± 0,24
F.IR - 1A	3,15 ^{ab}	± 0,24	10,89 ^{ab}	± 0,28	0,59 ^A	± 0,17	2,56	± 0,13	7,74	± 0,23	61,24 ^{ab}	± 0,19
F.IR - 1B	3,18 ^{ab}	± 0,17	10,84 ^{ab}	± 0,21	0,58 ^{AB}	± 0,15	2,6	± 0,15	7,66	± 0,28	60,13 ^{ab}	± 0,16
F.IR - 2B	3,24 ^{ab}	± 0,16	10,94 ^{ab}	± 0,16	0,59 ^A	± 0,13	2,65	± 0,17	7,7	± 0,17	59,47 ^{ab}	± 0,25
F.IR - 2B	3,19 ^{ab}	± 0,23	10,23 ^b	± 0,18	0,60 ^A	± 0,09	2,59	± 0,13	7,04	± 0,16	58,46 ^{ab}	± 0,24
'Retro'												
R.C	3,18	± 0,09	10,87 ^a	± 0,16	0,61 ^b	± 0,28	2,57	± 0,24	7,69 ^A	± 0,17	63,17	± 0,17
R.E - 1	2,87	± 0,18	9,54 ^b	± 0,23	0,66 ^{ab}	± 0,16	2,21	± 0,21	6,67 ^B	± 0,16	60,15	± 0,13
R.E - 2	2,89	± 0,17	9,34 ^b	± 0,24	0,68 ^a	± 0,21	2,21	± 0,15	6,45 ^B	± 0,17	61,03	± 0,15
R.IR - 1A	2,98	± 0,24	10,78 ^a	± 0,15	0,61 ^b	± 0,13	2,37	± 0,16	7,8 ^B	± 0,18	61,48	± 0,17
R.IR - 1B	3,08	± 0,18	10,68 ^a	± 0,17	0,64 ^b	± 0,14	2,44	± 0,17	7,6 ^B	± 0,16	62,18	± 0,16
R.IR - 2A	2,94	± 0,17	10,09 ^{ab}	± 0,19	0,63 ^b	± 0,17	2,31	± 0,16	7,15 ^{AB}	± 0,18	63,08	± 0,13
R.IR - 2B	2,93	± 0,16	9,87 ^b	± 0,24	0,63 ^b	± 0,16	2,3	± 0,24	6,94 ^B	± 0,19	61,12	± 0,14

'Nikol'													
N.C	2,98	± 0,21	11,68	± 0,15	0,66	± 0,15	2,32 ^a	± 0,20	8,7 ^a	± 0,24	67,89 ^A	± 0,21	
N.E - 1	2,56	± 0,16	10,54	± 0,14	0,70	± 0,17	1,86 ^c	± 0,23	7,98 ^b	± 0,16	63,45 ^B	± 0,23	
N.E - 2	2,47	± 0,17	10,37	± 0,16	0,71	± 0,13	1,76 ^c	± 0,15	7,9 ^b	± 0,16	63,12 ^B	± 0,24	
N.IR - 1A	2,78	± 0,09	11,26	± 0,21	0,68	± 0,21	2,1 ^b	± 0,17	8,48 ^{ab}	± 0,17	65,48 ^{AB}	± 0,26	
N.IR - 1B	2,81	± 0,08	11,37	± 0,17	0,69	± 0,20	2,12 ^b	± 0,19	8,56 ^{ab}	± 0,19	64,12 ^{AB}	± 0,19	
N.IR - 2A	2,76	± 0,15	11,56	± 0,17	0,70	± 0,15	2,06 ^b	± 0,16	8,8 ^a	± 0,21	63,15 ^B	± 0,17	
N.IR - 2B	2,65	± 0,17	11,49	± 0,16	0,71	± 0,17	1,94 ^{bc}	± 0,17	8,84 ^a	± 0,23	62,45 ^B	± 0,16	

Objasnienia: / Explanatory notes:

ADF – włókno kwaśno-detergentowe / ADF: Acid-detergend fibre; NDF – włókno neutralno-detergentowe / NDF: Neutral-detergent fibre; ADL – ligniny / ADL: lignin; CEL – celuloza / CEL: cellulose; HCEL – hemicelulozy / HCEL: hemicellulose. Pozostate objaśnienia jak pod tab. 2. / Other explanatory notes as in Tab. 2.

Tabela 4. Równania regresji liniowej zmian zawartości frakcji włókna i skrobi w ziarnie pszenicy w zależności od przeprowadzonego procesu termicznego oraz współczynniki determinacji

Table 4. Linear regression equations of changes in contents of fibre fraction and starch in wheat grain depending on thermal process conducted and on coefficient of determination

Wyszczególnienie Specification	‘Finezja’		‘Retro’		‘NikoI’	
	E	IR	E	IR	E	IR
ADF						
y	-0,14 x + 3,34	-0,003 x + 3,21	-0,145 x + 3,3	-0,054 x + 3,18	-0,255 x + 3,18	-0,068 x + 3
R ²	0,6967	0,0127	0,6985	0,6440	0,8775	0,8124
NDF						
y	0,43 x + 11,65	-0,22 x + 11,49	-0,76 x + 11,4	-0,27 x + 11,26	0,655 x + 12,173	0,008 x + 11,45
R ²	0,8191	0,8191	0,8461	0,9001	0,8455	0,0060
ADL						
y	0,025 x + 0,54	-0,011 x + 2,65	0,035 x + 0,58	-0,08 x + 2,348	0,025 x + 0,64	0,012 x + 0,652
R ²	0,8929	0,1133	0,9423	0,5000	0,8929	0,9730
CEL						
y	-0,165 x + 2,79	0,008 x + 0,56	-0,18 x + 2,69	-0,06 x + 2,578	-0,28 x + 2,54	-0,08 x + 2,348
R ²	0,7214	0,6957	0,7512	0,75	0,8789	0,8457
HCEL						
y	-0,29 x + 8,317	0,214 x + 8,288	-0,62 x + 8,18	-0,215 x + 8,08	-0,4 x + 8,9933	0,06 x + 8,496
R ²	0,8748	0,7946	0,8782	0,8378	0,8242	0,3801
Skrobia / Starch						
y	-6,205 x + 71,34	-1,79 x + 66,55	-1,07 x + 63,59	-0,25 x + 62,96	-2,385 x + 69,59	-1,321 x + 8,581
R ²	0,8667	0,8006	0,4746	0,1838	0,1838	0,9406

Objasnienia: / Explanatory notes:

E – ziarno poddane ekstruzji / extruded grain; IR – ziarno naswietlane promieniami podczerwonymi / infrared irradiated grain; y – zmienna zależna / the dependent variable ; R² – współczynnik determinacji / coefficient of determination.

W całym materiale doświadczalnym, niezależnie od zastosowanych procesów, obserwowano zwiększenie zawartości ligniny, zwłaszcza w ziarnie odmiany 'Finezja' (F.IR-2B – 7 %, $p \leq 0,01$) i 'Retro' (R.E. – 11 %, $p \leq 0,05$) – tab. 3. Ligniny zbożowe są polimerami fenylopropanu, a ich rola w komórce roślinnej polega na jej ochronie w wyniku silnego scementowania włókienek celulozy. Dzięki temu lignina jest bardzo odporna na działanie czynników chemicznych oraz enzymatycznych i jednocześnie niemal całkowicie niestrawna [6].

Proces ekstruzji i naświetlania promieniami podczerwonymi spowodował zmniejszenie zawartości skrobi w ziarnie wybranych odmian pszenicy (tab. 3). Najbardziej wrażliwe na zastosowane czynniki procesów było ziarno 'Finezja'. Pod wpływem ekstruzji strata skrobi wyniosła w nim (F.E-2, $R^2 = 0,87$) 18,5 % ($p \leq 0,05$), a w wyniku naświetlania promieniami podczerwonymi (F.IR, $R^2 = 0,80$) – ponad 10 % (tab. 3 i 4). W ziarnie pszenicy 'Nikol' zarówno proces ekstruzji, jak i naświetlania promieniami podczerwonymi, wywołał średnio 7,5-procentowe zmniejszenie ($p \leq 0,05$) ilości tego składnika pokarmowego. Straty zawartości skrobi występują wskutek jej żelatynizacji zachodzącej w warunkach wysokiej temperatury. Jest ona definiowana jako nieodwracalne zniszczenie krystalicznej struktury skrobi w taki sposób, że każda cząsteczka jest udostępniana dla rozpuszczalników i reagentów [17]. Proces żelatynizacji zwiększa również zdolność skrobi do absorpcji dużych ilości wody, co może sugerować poprawę strawności produktu. Ponadto modyfikacja formy spirali amyloz może wpływać na strukturę produktów żywnościowych [15, 23, 28].

Wnioski

1. Stwierdzono wielokierunkowość zmian podstawowego składu chemicznego, charakterystycznego dla ziarna każdej z badanych odmian pszenicy, poddawanego procesom ekstruzji i naświetlania promieniami podczerwonymi. Głównie dotyczyły one zmniejszenia zawartości tłuszczu surowego (odmiana 'Finezja') i białka ogólnego (odmiana 'Finezja' i 'Retro'). W całym materiale roślinnym wystąpił również efekt podsuszenia, w wyniku którego zwiększyła się zawartość składników pokarmowych.
2. W ziarnie wszystkich analizowanych odmian pszenicy zastosowane procesy termiczne wpłynęły istotnie na zmniejszenie zawartości włókna surowego i skrobi. Efekt ten obserwowano również w przypadku frakcji włókna pokarmowego: ADF ('Finezja'), NDF ('Finezja' i 'Retro'), CEL ('Nikol') oraz HCEL ('Retro' i 'Nikol'). Niekorzystnym wynikiem zastosowania ekstruzji i naświetlania promieniami podczerwonymi był istotny wzrost zawartości niestrawnej ligniny ('Finezja' i 'Retro').
3. Pod względem żywieniowym najlepszą modyfikację składu chemicznego uzyskano w wyniku ekstruzji ziarna pszenicy 'Finezja' i 'Nikol', nawilżanej przed proce-

sem do 25 % wilgotności. Ziarno pszenicy 'Nikol' okazało się najmniej podatne na straty białka ogólnego i tłuszczu surowego oraz na tworzenie niestrawnych lignin podczas naświetlania promieniami podczerwonymi.

Literatura

- [1] AACC: Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists. American of Cereal Chemists. St. Paul, Minnesota, USA, 2000.
- [2] AOAC: Official Methods of Analysis. 12th ed., Washington, USA, 1975. AOAC: Official methods of analysis of AOAC International. 17th edition. Gaithersburg, MD, USA, 2000.
- [3] Albertson A.M., Thompson D., Franko D.L., Kleinman R.L., Barton B.A., Crockett S.J.: Consumption of breakfast cereal is associated with positive health outcomes: evidence from the National Heart, Lung, and Blood Institute Growth and Health Study. *Nutr. Res.*, 2008, **28** (11), 744-752.
- [4] Alsaffar A.: Effect of thermal processing and storage on digestibility of starch in whole wheat grains. *J. Cereal Sci.*, 2010, **52** (3), 480-485.
- [5] Andrejko D.: Effect of micronization on the content of bacteria and fungi in a finely ground wheat grain (in Polish) *Inż. Roln.*, 2001, **10** (30), 9-14.
- [6] Anioła J., Górecka D.: Characteristics of the content and composition of the new high-fibers's preparations (in Polish). *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2004, **37**, 145-148.
- [7] Arntfield S.D., Scanlon M.G., Malcolmson L.J., Watts B., Ryland D., Savoie V.: Effect of tempering and end moisture content on the quality of micronized lentils. *Food Res. Int.*, 1997, **30** (5), 371-380.
- [8] Camire M.E.: Extrusion and nutritional quality. In: Guy R.: *Extrusion cooking*, Woodhead Publishing Ltd, Cambridge, 2001.
- [9] Chaiyakul S., Jangchud K., Jangchud A., Wuttijumnong P., Winger R.: Effect of extrusion conditions on physical and chemical properties of high protein glutinous rice-based snack. *LWT - Food Sci. Technol.* 2009, **42** (3), 781-787.
- [10] Charalampopoulos D., Wang R., Pandiella S.S., Webb C.: Application of cereals and cereal components in functional foods: a review. *Int. J. Food Microbiol.*, 2002, **79**, 131-141.
- [11] Chaunier L., Valle G.D., Lourdin D.: Relationships between texture, mechanical properties and structure of cornflakes. *Food Res. Int.*, 2007, **40** (4), 493-503.
- [12] Cohn J.S., Kamili A., Wat E., Chung R.W.S., Tandy S.: Reduction in intestinal cholesterol absorption by various food components: Mechanisms and implications. *Atherosclerosis Suppl.*, 2010, **11** (1), 45-48.
- [13] Datta A.K., Ni H.: Infrared and hot-assisted microwave heating of food for control of surface moisture. *J. Food Eng.*, 2002 **51**, 355-364.
- [14] De Pilli T., Derossi A., Talja R.A., Jouppila K., Severini C.: Study of starch-lipid complexes in model system and real food produced using extrusion-cooking technology. *Innov. Food Sci. Emerg.*, 2011, **12** (4), 610-616.
- [15] Elleuch E., Bedigian D., Roiseux O., Besbes S., Blecker Ch., Attia H.: Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: A review. *Food Chem.*, 2011, **124** (2), 411-421.
- [16] Guillon F., Champ M.: Structural and physical properties of dietary fiber, and consequence of processing on human physiology. *Food Res. Int.*, 2000, **33**, 233-245.
- [17] Hernández-Salazar M., Agama-Acevedo E., Sáyago-Ayerdi S.G., Tovar J., Bello-Pérez L.A.: Chemical composition and starch digestibility of tortillas prepared with non-conventional commercial nixtamalized maize flours. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 2006, **57** (1-2), 143-150.

- [18] KR- National Register of Variety (in Polish), Krajowy Rejestr Odmian, Centralny Ośrodek Badań Roślin Uprawnych, 2006.
- [19] Muensri P., Kunanopparat T., Menut P., Siriwattanayotin S.: Effect of lignin removal on the properties of coconut coir fiber/wheat gluten biocomposite. *Composites Part A: Appl. Sci. Manufact*, 2011, **42** (2), 173-179.
- [20] Niemeier H.M., Raynor H.A., Lloyd-Richardson E.E., Rogers M.L., Wing R.R.: Fast food consumption and breakfast skipping: Predictors of weight gain from adolescence to adulthood in a nationally representative sample. *J. Adolescent Health*, 2006, **39** (6), 842-849.
- [21] Panagiotakos D.P., Antonogeorgos G., Papadimitriou A., Anthracopoulos M.B., Papadopoulos M., Konstantinidou M., Fretzayas A., Priftis K.P.: Breakfast cereal is associated with a Lower prevalence of obesity among 10-12-year-old children: The PANACEA study. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 2008, **18** (9), 606-612.
- [22] Rehman Z.U., Islam M., Shah W.H.: Effect of microwave and conventional cooking on insoluble dietary fibre components of vegetables. *Food Chem.*, 2003, **80** (2), 237-240.
- [23] Stojceska V., Ainsworth P., Plunkett A., Ibanoglu S.: The advantage of sing extrusion processing for increasing dietary fibre level in gluten-free products. *Food Chem.*, 2010, **121**, 156-164.
- [24] Toeller M.: Fibre consumption, metabolic effects and prevention of complications in diabetic patients: epidemiological evidence. *Digest. Liver Dis.*, 2002, **34** (2), 145-149.
- [25] Vasanthan T., Gaosong J., Yeung J., Jihong L.: Dietary fiber profile of barley as affected by extrusion cooking. *Food Chem.*, 2002, **77**, 35-40.
- [26] Van Soest P.: Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. I: Preparation of fiber residues of low nitrogen content. *J. Offic. Agricult. Chem.*, 1963, **46** (5), 825-829.
- [27] Van Soest P.: Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II: A rapid method for the determination of fiber and lignin. *J. Offic. Agric. Chem.*, 1963, **46** (5), 829-835.
- [28] Zarkadas L.N., Wiseman J.: Influence of processing variables during micronization of wheat on starch structure and subsequent performance and digestibility in weaned piglets fed wheat-based diets. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 2001, **93** (1-2), 93-107.

EFFECT OF THERMAL PROCESSES ON CHANGES IN BASIC CHEMICAL COMPOSITION OF WHEAT GRAIN

Summary

The objective of the research study was to determine the changes in the chemical composition of grains of the 'Finezja', 'Retr' and 'Nikol' wheat cultivars resulting from the processes of extrusion and infrared radiation. The grains were moisturized to obtain 15 and 15 % of moisture therein and extruded at a temperature of 110/135/175/180/124 °C as well as irradiated by infrared radiation at 100 and 130 °C for 30 and 90 s. In the material analyzed, the following was determined: dry matter, crude ash, ether extract (crude fat), total protein, crude fibre, NFE, fibre fractions (ADF, NDF, CEL, HCEL and ADL), and starch.

In the wheat grains irradiated at a temperature of 130 °C for 90, a significant ($p \leq 0.05$) decrease in the content of crude protein was reported (about 7 % in the 'Finezja' grains and 5 % in the 'Retro' grains) and in the content of crude fat (4 % in the 'Finezja' grains). In the analyzed material, the thermal processes performed caused the content of crude fibre to decrease (the highest decrease was in the extruded 'Finezja', 'Retro', and 'Niko' grains, respectively: 38, 26, and 39 %). Additionally, the content of starch decreased in the extruded and irradiated 'Finezja' grains (respectively: 18.5 % and 10 %). The same phenomenon was also found in the case of dietary fibre fraction. The highest losses referred to the following: ADF (24 % - 'Nikol'); NDF (12 % - 'Retro' and 9 % - 'Nikol'); CEL (17 % - 'Nikol'); and HCEL (16 % -

and 10 % 'Retro' – 'Nikol'). An unfavourable effect of the processes applied was the increase in ADL (7 % in the irradiated 'Finezja' wheat grains and 11 % in the extruded 'Retro' grains). The best modification of the chemical composition was achieved by the process of extruding the 'Finezja' and 'Nikol' wheat grains that were moisturized to 25 % prior to the process; the infrared irradiation process resulted in the best modification of the chemical composition of the 'Nikol' wheat grains.

Key words: wheat grains, extrusion, infrared radiation, carbohydrates ☒

RAFAŁ ZIOBRO, DOROTA LITWINEK, BARBARA MICKOWSKA

PORÓWNANIE SKŁADU CHEMICZNEGO I WŁAŚCIWOŚCI TEKSTURALNYCH MUFFIN Z MIESZANKI BEZGLUTENOWEJ I MĄK OWSIANYCH

Streszczenie

Handlowa mąka owsiana i certyfikowana bezglutenowa mąka owsiana z pełnego przemiału były surowcami do produkcji muffin według receptury na bezglutenowe wyroby ciastkarskie. Użycie mąk owsianych w miejsce mieszanki mąki ryżowej i kukurydzianej ze skrobią kukurydzianą spowodowało istotny ($p \leq 0,05$) wzrost zawartości białka ogółem ($9,11 \div 10,29$ % s.m.), tłuszczu całkowitego ($15,06 \div 15,41$ % s.m.) i związków mineralnych w postaci popiołu ogółem ($1,75 \div 2,03$ % s.m.) w otrzymanych muffinach. Szczególnie duże zmiany stwierdzono w przypadku frakcji błonnika, którego zawartość zwiększyła się niemal trzykrotnie po zastosowaniu mąki całościarnowej. Mąki owsiane, zwłaszcza bezglutenowa, były w muffinach źródłem znaczących ilości β -D-glukanów ($2,89$ % s.m.), stanowiących ważny składnik rozpuszczalnej frakcji włókna pokarmowego. Różnice w objętości uzyskanych muffin były statystycznie istotne ($p \leq 0,05$), lecz niewielkie i nie wpłynęły znacząco na parametry tekstury. W przypadku produktów owsianych parametry te zmieniały się wolniej w całym okresie przechowywania. Muffiny z mąki owsianej charakteryzowały się mniejszą twardością ($34,8 \div 36,9$ N) w porównaniu z produktami z mieszanki mąk ($51,0$ N) już w dniu wypieku, a różnice te pogłębiały się po upływie kolejnych 3 dni przechowywania (odpowiednio: $40,8 \div 44,1$ N, $88,8$ N). Niezależnie od typu zastosowanej mąki owsianej produkty otrzymane z niej charakteryzowały się korzystnym wyglądem zewnętrznym oraz przyjemnym smakiem i zapachem. Spośród analizowanych mąk owsianych, jedynie certyfikowana mąka bezglutenowa zapewniła odpowiednio małą zawartość białek glutenowych ($12,8$ mg glutenu/kg), dzięki czemu uzyskane produkty można było uznać za bezglutenowe. Muffiny z mąki owsianej handlowej ($166,0$ mg glutenu/kg) mogą być zatem spożywane jedynie przez osoby zdrowe, wybierające produkty owsiane ze względu na ich walory prozdrowotne i smakowe.

Słowa kluczowe: mąka owsiana, muffiny bezglutenowe, skład chemiczny, tekstura

Wprowadzenie

Mąka owsiana rzadko jest stosowana do produkcji ciastkarskiej, pomimo odpowiednich walorów żywieniowych i sensorycznych [5]. Wiąże się to z nieobecnością glutenu, który w typowym pieczywie, wytwarzanym z mąki pszennej, często decyduje o strukturze i właściwościach mechanicznych uzyskiwanych produktów [16].

Opracowano wiele receptur na produkty przeznaczone dla osób chorych na celiakię, w których mąka pszenna została zastąpiona przez odpowiednie mieszanki mąk bezglutenowych. Skłania to do wykorzystania w nich mąk owsianych, które mogą stanowić alternatywę dla mąki ryżowej i kukurydzianej oraz kompozycji mąk bezglutenowych. Zgodnie z Codex Alimentarius [6], przetwory owsiane mogą być wprowadzone do diety większości osób nietolerujących glutenu, jednak decyzja taka powinna być regulowana krajowymi przepisami. Produkty owsiane wykorzystywane w diecie osób chorych na celiakię powinny spełniać podstawowe wymagania stawiane żywności bezglutenowej – muszą być w szczególny sposób produkowane, przygotowywane lub przetwarzane, aby uniknąć zanieczyszczenia ziarnem pszenicy, żyta i jęczmienia, a zawartość glutenu w takich produktach nie może przekraczać 20 mg/kg [6, 21].

Produkty bezglutenowe, zgodnie z wytycznymi Codex Alimentarius [6], powinny dostarczać podobną ilość składników odżywczych jak produkty tradycyjne. Osiągnięcie w bezglutenowych produktach zbożowych składu chemicznego podobnego jak w produktach glutenowych jest prawie niemożliwe ze względu na całkowicie odmienny skład chemiczny podstawowego surowca. Produkty bezglutenowe na ogół odznaczają się niższą wartością odżywczą, wynikającą z mniejszej zawartości białka, włókna pokarmowego, witamin i soli mineralnych [12, 27]. Brak glutenu w produktach piekarskich wpływa także na ich teksturę [8, 15, 24]. Poszukiwane są więc dodatki, które wpłyną zarówno na zwiększenie wartości odżywczej produktów bezglutenowych, jak również na ich objętość i teksturę. Surowce wzbogacające często muszą być limitowane, gdyż znacznie pogarszają teksturę produktu finalnego [2, 9, 10]. Stosowanie mąki owsianej jako całkowitego zamiennika mąki bezglutenowej, tj. mieszanki mąki ryżowej i kukurydzianej ze skrobią kukurydzianą, przy produkcji pieczywa bezglutenowego może być zatem uzasadnione szczególnymi prozdrowotnymi właściwościami ziarna owsa i jego przetworów [5].

Celem pracy było porównanie składu chemicznego i parametrów tekstury muffin wypieczonych z mąki bezglutenowej i mąki owsianej, bez udziału i z udziałem naparu kawy.

Material i metody badań

Material doświadczalny stanowiły muffiny wypiekane z własnej kompozycji mąki bezglutenowej — MS, składającej się z mąki ryżowej (50 %) (Thai Pride, Tajlan-

dia), skrobi kukurydzianej (35 %) (Roquette, Francja) i mąki kukurydzianej (15 %) (Boly Zrt, Węgry) oraz dostępnych na rynku mąk owsianych: mąki owsianej handlowej z owsa uprawianego w Polsce – MOH (Młyn Gospodarczy Paweł Bogutyn, Polska) oraz całościarnowej mąki owsianej firmy PROVENA, wyprodukowanej z czystego certyfikowanego ziarna owsa bezglutenowego uprawianego w Finlandii – MOBG.

Muffiny przygotowywano ze 180 g odpowiedniej mąki, 100 g cukru, 50 g maślanki naturalnej, 30 g oleju rzepakowego, 5 g bezglutenowego proszku do pieczenia i 3 szt. jaj (ok. 153 g), zakupionych w lokalnym sklepie. Suche i mokre składniki (poza białkami jaj) łączono za pomocą miksera ręcznego, na końcu dodawano pianę ubitą z białek. Ciasto w ilości 45 g przekładano do silikonowych foremek do wypieku muffin i wypiekano w temp. 180 °C przez 25 min. Wypiekano również muffiny z ww. mąk z udziałem dodatku smakowo-zapachowego w postaci naparu z kawy (oznaczonych odpowiednio KS, KOH, KOBG). W tych recepturach 30 g maślanki naturalnej zastępowano 30 g naparu kawy, który uprzednio przygotowano, zalewając 15 g zmielonej kawy (Woseba Arabica, Woseba Sp. z o.o, Polska) wrzącą wodą do objętości 100 ml.

Po wypieczeniu określano objętość (objętościomierzem VolScan Profiler 60, Stable Micro Systems, Wielka Brytania) i wysokość muffin oraz wilgotność miększu (AOAC 925.10).

Skład chemiczny muffin, bez udziału naparu z kawy, określano w próbkach wysuszonych i rozdrobnionych w młynku bijakowym. Metodami AOAC [1] oznaczano zawartość: białka ogółem (AOAC 950.36), związków mineralnych w postaci popiołu całkowitego (AOAC 930.05) i włókna pokarmowego ogółem, w tym frakcji rozpuszczalnej i nierozpuszczalnej w wodzie (AOAC 935.38). Zawartość tłuszczu surowego oznaczano zgodnie z PN-A-74108:1996 [19]. Ponadto metodą R5-ELISA oznaczano zawartość białek glutenowych, używając zestawu odczynników Ridascreen® (R-Biopharm, Niemcy). W analizie tej wykorzystano monoklonalne przeciwciało R5, które rozpoznaje toksyczne sekwencje aminokwasów (epitopy) QQPFP, QQQFP, LQPFP i QLFPF w gliadynie pszenicy i w odpowiadającym jej białkom glutenowym zawartym w jęczmieniu (hordeinie) i życie (sekalinie). Mimo że przeciwciało R5 nie wykazuje reaktywności krzyżowej z białkiem owsa, to jednak awenina zawierająca sekwencję QQQPF może także z nim przereagować [28, 29].

Do pomiaru parametrów tekstury muffin (profil tekstury, twardość i sprężystość) używano analizatora tekstury TA.XT Plus (Stable Micro Systems, Wielka Brytania). Pomiarów wykonywano w dniu wypieku oraz po 3 dniach przechowywania. Analizom poddawano dolną część muffin, odcinaną na wysokości 2,5 cm. Do charakterystyki tekstury zastosowano test TPA (*texture profile analysis*). Jako element pomiarowy zastosowano sondę aluminiową P-100 o większej średnicy niż średnica próbki. Pomiarów wykonywano przy następujących ustawieniach: szybkość przesuwu sondy – 1 mm/s, 50-procentowe odkształcenie całkowitej wysokości próbki, 5 s przerwy pomiędzy

pierwszą i drugą kompresją. Na podstawie otrzymanych teksturogramów wyznaczano twardość [N], sprężystość, spójność, żujność [N] i odbojność miękiszu muffin, czyli zdolność powrotu miękiszu do formy pierwotnej. Ponadto określano twardość i sprężystość miękiszu muffin przy użyciu sondy cylindrycznej P/35, w teście penetracji, polegającym na ścisaniu próbki z prędkością 1,0 mm/s do 25 % jej pierwotnej wysokości, utrzymywaniu zadanego odkształcenia przez 30 s, a następnie wycofaniu sondy. Podczas testu próbka była umieszczana centralnie pod sondą. W celu rejestracji i analizy danych posługiwano się standardową aplikacją *Measurement of the firmness and springiness of muffins* – MUF1/P36R (Stable Micro Systems, Wielka Brytania).

Ocenę organoleptyczną ostudzonych muffin przeprowadził piętnastoosobowy przeszkolony zespół oceniający, o sprawdzonej wrażliwości sensorycznej, metodą 5-punktową, zgodnie z PN-A-88115:1998 [20] z modyfikacją własną, uwzględniającą wymagania dotyczących wyrobów z ciast biszkoptowo-tłuszczowych. Oceniano wyróżniki jakości sensorycznej: wygląd zewnętrzny, strukturę, smak i zapach.

Wyniki przedstawiono w postaci wartości średnich z minimum 2 powtórzeń i odchyłeń standardowych. Do oceny statystycznej wyników zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA). Istotność różnic między wartościami średnimi weryfikowano testem Duncana przy $p = 0,05$. Obliczenia wykonano w programie Statistica v.10 (StatSoft Inc., USA).

Wyniki i dyskusja

Zarówno objętość, jak i wysokość muffin zależały istotnie ($p \leq 0,05$) od mąki zastosowanej do ich wypieku (tab. 1). Największą objętością charakteryzowały się muffiny wyprodukowane z mąki owsianej handlowej, niezależnie od tego, czy w ich recepturze uwzględniono udział naparu kawy. Muffiny te wyróżniały się jednocześnie dużą wysokością, a zatem lepszym wyrośnięciem od pozostałych. Najniższe były muffiny z własnej kompozycji mąki bezglutenowej, mimo że ich objętość była nieznacznie większa od tych z całościarnowej bezglutenowej mąki owsianej. Mała objętość tych ostatnich muffin wynikała ze składu mąki całościarnowej użytej do wypieku, która zawierała znacznie więcej włókna pokarmowego niż pozostałe mąki. Włókno pokarmowe, a zwłaszcza jego nierozpuszczalna frakcja wpływa negatywnie na objętość produktów piekarskich [9, 10].

Muffiny otrzymane ze standardowej kompozycji mąki bezglutenowej odznaczały się znacznie mniejszą zawartością poszczególnych składników odżywczych, w porównaniu z pozostałymi badanymi muffinami (tab. 2). Wpływ na uzyskane wyniki wywarła przede wszystkim zastosowana mąka, gdyż pozostałe składniki ciasta, tj. cukier, maślanka naturalna, olej rzepakowy i jaja występowały w tych samych ilościach we wszystkich recepturach.

Tabela 1. Charakterystyka fizyczna badanych muffin

Table 1. Physical profile of analyzed muffins

Rodzaj muffin Type of muffins	Objętość [cm ³] Volume [cm ³]	Wysokość [cm] Height [cm]
MS	102 ^c ± 3	47.86 ^a ± 0.74
MOBG	99 ^b ± 4	51.61 ^c ± 1.02
MOH	108 ^d ± 2	53.85 ^d ± 2.39
KS	105 ^c ± 2	46.96 ^a ± 1.34
KOBG	96 ^a ± 2	49.22 ^b ± 0.90
KOH	107 ^d ± 3	53.86 ^d ± 1.50

Objaśnienia/Explanatory notes:

MS – muffiny standardowe z mąką bezglutenową / standard muffins with gluten-free wholemeal flour; MOBG – muffiny z mąką owsianą bezglutenową / muffins with gluten-free oat whole-meal flour; MOH – muffiny z mąką owsianą handlową / muffins with commercial oat flour. Próbkę z literą K, w miejsce M, zawierają napar kawy / Samples with a K letter instead of M letter contain coffee infusion.

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviations; n = 6. Wartości średnie oznaczone różnymi literami w kolumnach różnią się statystycznie istotnie przy p ≤ 0,05. / Mean values in columns and denoted by different letters differ statistically significantly at p ≤ 0.05.

Tabela 2. Skład chemiczny badanych muffin bez udziału naparu z kawy

Table 2. Chemical composition of analyzed muffins without the addition of coffee infusion

Zawartość Content		Rodzaj muffin / Type of muffins			
		MS	MOBG	MOH	
Białko ogółem / Total protein		6,11 ^a ± 0,19	10,29 ^c ± 0,11	9,11 ^b ± 0,08	
Tłuszcz surowy / Raw fat		10,89 ^a ± 0,06	15,06 ^b ± 0,05	15,41 ^c ± 0,08	
Zw. miner. w postaci popiołu całkowitego / Total ash		1,33 ^a ± 0,04	2,03 ^c ± 0,01	1,75 ^b ± 0,01	
Włókno pokarmowe Dietary fibre	Fracja rozpuszczalna Soluble fraction	0,96 ^a ± 0,04	3,02 ^c ± 0,03	1,13 ^b ± 0,02	
	Fracja nierozpuszczalna Insoluble fraction	1,06 ^a ± 0,01	2,71 ^c ± 0,01	1,53 ^b ± 0,05	
	Ogółem / Total	2,02 ^a ± 0,02	5,73 ^c ± 0,04	2,65 ^b ± 0,07	
	β-D-glukany β-D-glucans	0,10 ^a ± 0,01	2,89 ^c ± 0,01	1,16 ^b ± 0,01	
Gluten (R5 ELISA)		[mg/kg]	15,4	12,8	166,0

Objaśnienia/Explanatory notes:

MS – muffiny standardowe z mąką bezglutenową / standard muffins with gluten-free flour; MOBG – muffiny z mąką owsianą bezglutenową / muffins with gluten-free wholemeal oat flour; MOH – muffiny z mąką owsianą handlową / muffins with commercial oat flour.

W tabeli przedstawiono wartości średnie \pm odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviations; $n = 2$. Wartości średnie oznaczone różnymi literami w rzędach różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$ / Mean values in rows and denoted by different letters differ statistically significantly at $p \leq 0.05$.

Zawartość białka ogółem i popiołu w muffinach z mąki owsianej bezglutenowej była istotnie większa ($p \leq 0,05$) niż w muffinach z mąki owsianej handlowej (tab. 1). Zawartość tłuszczu w muffinach z mąk owsianych była zbliżona (mimo różnicy statystycznie istotnej – $p \leq 0,05$) i o około 30 % większa niż zawartość tłuszczu w muffinach wypieczonych z własnej kompozycji mąki bezglutenowej (tab. 1).

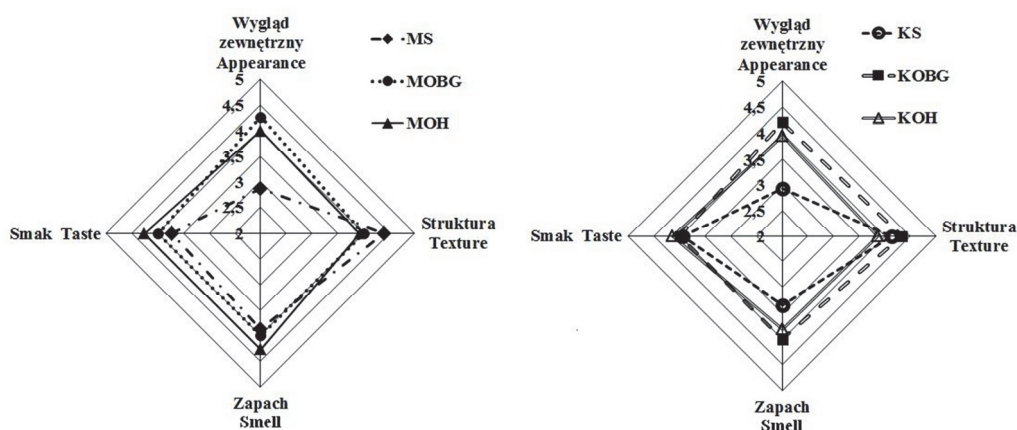
Zawartość włókna pokarmowego w muffinach wypieczonych z mąki owsianej handlowej była prawie dwukrotnie mniejsza niż w muffinach, w skład których wchodziła mąka owsiana bezglutenowa. W muffinach tych oznaczono również więcej frakcji rozpuszczalnej włókna pokarmowego, w tym β -glukanów. Istotnie mniejszą ($p \leq 0,05$) zawartość włókna pokarmowego, zarówno frakcji rozpuszczalnej, jak i nierozpuszczalnej, oznaczono w muffinach z kompozycji mąki bezglutenowej. W wyrobach tych praktycznie nie stwierdzono obecności β -glukanów (tab. 1).

Mąki owsiane mają inny skład chemiczny niż mąka ryżowa i kukurydziana oraz skrobia kukurydziana stosowane do produkcji muffin. Większa zawartość tłuszczu i białka powoduje poprawę smakowitości produktów, składniki te wpływają bowiem na uwalnianie związków lotnych, wpływając tym samym na smak i zapach [13].

Produkty bezglutenowe są żywnością specjalnego przeznaczenia żywieniowego, dlatego szczególnie ważne jest, aby zawartość glutenu była w nich ściśle kontrolowana. Żywność przeznaczona do bezpośredniego spożycia może być określana mianem bezglutenowej wówczas, gdy zawiera mniej glutenu niż 20 mg/kg produktu. Spośród badanych próbek jedynie muffiny wypieczone z własnej kompozycji mąki bezglutenowej i mąki owsianej bezglutenowej spełniały to kryterium (tab. 1), dlatego można je nazwać bezglutenowymi. Jak wykazano testem ELISA, muffiny z mąki owsianej handlowej nie mogą być spożywane przez osoby chore na celiakię. Mąka stanowiąca ich podstawowy składnik była produkowana z odmian owsa uprawianego w Polsce i pozyskiwana w zakładzie, w którym przetwarzają się produkty zawierające gluten, co mogło doprowadzić do jej wtórnego zanieczyszczenia podczas przemiału. Ponadto immunoreaktywność owsa w dużej mierze zależy od odmiany tego zboża [3]. Zawartość glutenu w różnych przetworach owsianych jest bardzo zmienna i może wynosić nawet 4000 mg/kg [11, 26]. Dlatego produkty owsiane stosowane w diecie osób z chorobą trzewną powinny być każdorazowo badane, aby były w pełni bezpieczne dla tych osób.

Do produkcji bezglutenowych wyrobów ciastkarskich zazwyczaj używana jest mąka ryżowa, uboga w składniki odżywcze [12]. Stosowanie innych dodatków często prowadzi do obniżenia jakości tych produktów i uzyskania niezadowolającej jakości sensorycznej [4, 14, 15, 24]. Na ocenę konsumencką duży wpływ wywiera wygląd

zewnątrzny ocenianego produktu oraz jego zapach, smak i tekstura. Muffiny badane w pracy, sporządzone z własnej kompozycji mąki bezglutenowej (mąki ryżowej, skrobi kukurydzianej i mąki kukurydzianej), zostały najniżej ocenione podczas oceny organoleptycznej, niezależnie od tego, czy stosowano udział naparu kawy (rys. 1). Najniższa ocena tych produktów wynikała z ich niekorzystnego wyglądu zewnętrznego, spowodowanego niewielkim wyrośnięciem oraz brakiem charakterystycznego górnego pęknięcia. Muffiny te zostały także niżej ocenione za smak i zapach (rys. 1).



Objaśnienie symboli jak pod tab. 1. / Explanation of symbols as in Tab. 1.

Rys. 1. Wyniki oceny organoleptycznej badanych muffin

Fig. 1. Results of organoleptic assessment of tested muffins

Na wysoką ocenę smaku i zapachu muffin z mąką owsianą wpłynął prawdopodobnie przyjemny „orzechowy” posmak, odczuwalny także przy dodatku przetworów owsianych do tradycyjnych wypieków z surowców glutenowych [5].

Głównym czynnikiem strukturotwórczym w produktach piekarskich jest gluten, a jego usunięcie z produktów prowadzi do zmniejszenia objętości i pogorszenia tekstury produktów bezglutenowych [14]. Brak glutenu w mniejszym stopniu wpływa na jakość wyrobów ciastkarskich, w porównaniu z typowym pieczywem z mąką chlebowych z udziałem drożdży. Zasadniczy wpływ na objętość wyrobów z ciast biszkoptowo-tłuszczowych, do których można zaliczyć muffiny, ma bowiem jakość tłuszczów dodawanych do ciasta [22].

Jakość bezglutenowych wyrobów ciastkarskich zależy od ich wilgotności i tekstury. Parametry te ulegają znacznym zmianom podczas przechowywania. Wilgotność produktów piekarskich w dniu wypieku zależy zwykle od ilości wody dodanej wraz z surowcami, stosowanych dodatków, wodochłonności poszczególnych surowców oraz parametrów podczas wypieku [16]. Wilgotność muffin bezglutenowych w dniu wypie-

ku wynosiła od 29,7 do 35,7 % (tab. 3) i w większości różnice między próbkami pod względem tego parametru były statystycznie nieistotne ($p \leq 0,05$). Istotnie mniejszą ($p \leq 0,05$) wilgotnością wyróżniały się muffiny z własnej kompozycji mąki bezglutenowej z udziałem naparu kawy (KS). Zdecydowanie mniejszą wilgotność ($21,0 \div 31,6$ %) muffin oznaczyli Man i wsp. [14] oraz Bhaduri [4] ($24,8 \div 26,6$ %). Wilgotność muffin, także tych z udziałem kawy, po przechowywaniu malała średnio o 3 % w odniesieniu do dnia wypieku. Nie stwierdzono natomiast wpływu użycia różnych rodzajów mąki na wilgotność badanych ciastek.

W celu prześledzenia zmian cech tekstury podczas przechowywania muffin przeprowadzono test TPA, z uwzględnieniem warunków zbliżonych do przyjętych przez innych autorów w podobnych badaniach [4, 15, 23]. Dodatkowo przeanalizowano twardość i sprężystość mięksizu podczas testu penetracji

Niezależnie od zastosowanej metody pomiaru, uzyskane wartości były ze sobą porównywalne. Twardość badanych muffin z mąk owsianych, oznaczona testem TPA, zawierała się w granicach $33,1 \div 38,8$ N, podczas gdy muffiny wypiekane z własnej kompozycji mąki bezglutenowej charakteryzowały się dużo większą wartością tego parametru (tab. 3). Pomimo najmniejszej objętości, muffiny z mąki owsianej bezglutenowej nie okazały się istotnie ($p \leq 0,05$) twardsze od muffin na bazie mąki owsianej handlowej. W badaniach innych autorów twardość muffin oznaczana testem TPA wahała się w dość szerokich granicach $4,42 \div 123$ N [15, 23], co jest wynikiem stosowania zupełnie innych receptur oraz surowców, w tym mąki pszennej.

Mniejszą sprężystość mięksizu, oznaczoną sondą P/35, miały muffiny z własnej kompozycji mąki bezglutenowej, natomiast nie stwierdzono podobnych zależności po przeprowadzeniu testu TPA. Nie zaobserwowano wyraźnego wpływu stosowania różnych mąk owsianych na spójność mięksizu muffin, jedynie ciastka z własnej kompozycji mąki bezglutenowej odznaczały się istotnie większą ($p \leq 0,05$) spójnością i odbojnością w odniesieniu do muffin owsianych z tymi samymi dodatkami (tab. 3). W dniu wypieku i po 3 dniach przechowywania statystycznie istotnie największą ($p \leq 0,05$) żujnością charakteryzowały się muffiny z własnej kompozycji mąki bezglutenowej, niezależnie od stosowania udziału naparu kawy (tab. 3).

Parametry tekstury badanych muffin, oznaczone testem TPA, zawierały się w podobnym zakresie, jaki uzyskali Matos i wsp. [15], w badaniach dotyczących wpływu różnych białek na jakość muffin bezglutenowych, oraz Bhaduri [4], oceniający możliwość zastosowania komosy ryżowej w produkcji bezglutenowych muffin. Muffiny jako wyrób z ciasta biszkoptowo-tłuszczowego powinny odznaczać się delikatnym, miękkim mięksizem, czyli powinny wykazywać jak najmniejszą twardość i żujność, ale wysoką sprężystość, a także niewielką odbojność, co jest charakterystyczne dla produktów zawierających cukry i tłuszcze [23].

Tabela 3. Wyniki analizy profilu tekstury (TPA) oraz testu penetracji badanych muffin w dniu wypieku i po 3 dniach przechowywania
 Table 3. Results of texture profile analysis (TPA) and penetration test of analyzed muffins on the day of baking them and after 3 days of storage

Rodzaj muffin Type of muffin	Test TPA / TPA test						Test penetracji Penetration test		
	Wilgotność Moisture [%]	Twardość Hardness [N]	Sprężystość Springiness	Spójność Cohesiveness	Żujność Chewiness [N]	Odbojność Resilience	Twardość Hardness [N]	Sprężystość Springiness	
Dzień wypieku / Day of baking									
MS	34,9 ^b ± 1,6	51,0 ^b ± 5,9	0,90 ^a ± 0,03	0,58 ^c ± 0,03	26,5 ^c ± 3,5	0,28 ^c ± 0,02	20,4 ^d ± 1,0	65,4 ^c ± 1,3	
MOBG	34,5 ^b ± 0,5	36,9 ^a ± 0,9	0,85 ^a ± 0,03	0,50 ^b ± 0,03	12,6 ^a ± 1,5	0,23 ^b ± 0,02	11,6 ^{ab} ± 0,1	54,5 ^b ± 0,9	
MOH	34,2 ^b ± 0,3	34,8 ^a ± 2,3	0,85 ^a ± 0,01	0,45 ^{ab} ± 0,01	11,6 ^a ± 3,3	0,17 ^a ± 0,02	12,0 ^{ab} ± 0,1	54,0 ^b ± 7,8	
KS	31,4 ^a ± 1,5	46,9 ^b ± 0,8	0,84 ^a ± 0,01	0,57 ^c ± 0,04	16,2 ^b ± 0,5	0,29 ^c ± 0,03	17,2 ^c ± 3,1	62,8 ^c ± 4,8	
KOBG	35,7 ^b ± 0,6	33,1 ^a ± 0,5	0,83 ^a ± 0,01	0,41 ^a ± 0,03	9,3 ^a ± 1,5	0,18 ^a ± 0,02	9,5 ^a ± 1,0	48,8 ^a ± 1,5	
KOH	33,8 ^b ± 1,1	38,8 ^a ± 1,0	0,85 ^a ± 0,03	0,41 ^a ± 0,05	10,2 ^a ± 1,7	0,16 ^a ± 0,03	12,4 ^{ab} ± 0,2	44,3 ^a ± 0,1	
3 dzień przechowywania / 3rd day of storing									
MS	31,3 ^b ± 0,9	88,8 ^b ± 3,5	0,76 ^c ± 0,01	0,28 ^b ± 0,03	18,9 ^d ± 0,2	0,12 ^a ± 0,01	33,4 ^b ± 5,3	18,3 ^a ± 3,6	
MOBG	31,5 ^b ± 0,7	40,8 ^a ± 3,3	0,71 ^{bc} ± 0,01	0,29 ^b ± 0,02	8,9 ^a ± 0,6	0,12 ^a ± 0,01	16,3 ^a ± 1,3	42,3 ^{bc} ± 0,1	
MOH	31,4 ^b ± 1,4	44,1 ^a ± 1,8	0,74 ^c ± 0,01	0,32 ^b ± 0,02	10,5 ^b ± 0,2	0,12 ^a ± 0,01	17,9 ^a ± 4,0	34,7 ^b ± 2,3	
KS	29,7 ^a ± 0,8	82,9 ^b ± 4,4	0,66 ^a ± 0,02	0,22 ^a ± 0,04	12,8 ^c ± 1,1	0,11 ^a ± 0,03	33,2 ^b ± 1,3	17,6 ^a ± 2,2	
KOBG	31,7 ^b ± 0,4	38,6 ^a ± 3,1	0,68 ^{ab} ± 0,01	0,28 ^b ± 0,01	8,2 ^a ± 1,2	0,14 ^a ± 0,03	16,0 ^a ± 4,2	46,0 ^c ± 3,0	
KOH	31,5 ^b ± 1,2	38,3 ^a ± 1,1	0,69 ^{ab} ± 0,01	0,30 ^b ± 0,01	7,9 ^a ± 1,1	0,12 ^a ± 0,01	16,9 ^a ± 0,4	36,9 ^b ± 5,5	

Objaśnienie symboli jak pod tab. 1. / Explanation of symbols as in Tab. 1.

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviations; n = 4. Wartości średnie oznaczone różnymi literami w kolumnach w danym dniu różnią się statystycznie istotnie przy p ≤ 0,05. / Mean values referring to given days, in columns and denoted by different letters differ statistically significantly at p ≤ 0,05.

O wysokiej jakości produktów piekarskich świadczy zachowanie przez nie cech świeżości przez długi okres przechowywania. Piekarskie wyroby bezglutenowe zazwyczaj bardzo szybko ulegają procesowi czerstwienia, co zależy od wielu czynników, m.in. od szybkiej retrogradacji skrobi i słabszego wiązania wody niż w produktach zawierających gluten [2, 18]. Podczas procesu czerstwienia zmienia się profil tekstury miększu produktu oraz, na skutek wysychania i redystrybucji wody między składnikami miększu, zmienia się jego wilgotność [16, 18]. We wszystkich badanych muffinach obserwowano wzrost twardości miększu podczas przechowywania. Największą twardością po 3 dniach przechowywania odznaczały się muffiny wypiekane z własnej kompozycji mąki bezglutenowej. Nie wykazano wpływu stosowanej mąki owsianej na twardość muffin (tab. 3).

Sprężystość pozwala określić zdolność powrotu miększu ze stanu zdeformowanego do stanu początkowego. Wraz z okresem przechowywania wartość tego parametru maleje. Istotnie większą ($p \leq 0,05$) sprężystością po przechowywaniu charakteryzowały się muffiny bez udziału naparu z kawy, niezależnie od stosowanej mąki (tab. 3), co może świadczyć o korzystnym wpływie maślanki na tę cechę.

Muffiny z własnej kompozycji mąki bezglutenowej (mąki ryżowej i kukurydzianej oraz skrobi), zarówno w dniu wypieku, jak i po okresie przechowywania odznaczały się największą twardością, a także wykazywały większą spójność niż ich odpowiedniki z mąk owsianych, dlatego produkty te odznaczały się również największą żujnością.

Wnioski

1. Muffiny z mąk owsianych (bezglutenowej certyfikowanej i handlowej) charakteryzowały się wyższą jakością pod względem cech teksturalnych i organoleptycznych niż ciastka z własnej kompozycji mąki bezglutenowej.
2. Zastosowanie mąki owsianej handlowej w recepturze wyrobów ciastkarskich spowodowało przekroczenie dopuszczalnej zawartości glutenu, oznaczonej metodą ELISA. Produkty z tej mąki nie mogą być zatem uznane za bezglutenowe, w przeciwieństwie do muffin wyprodukowanych z certyfikowanej bezglutenowej mąki owsianej.
3. Muffiny z mąk owsianych odznaczały się korzystnym składem chemicznym, dużą zawartością białka i błonnika, a zwłaszcza znaczącym udziałem β -D-glukanów, co może skłaniać do produkcji tego rodzaju artykułów cukierniczych, z przeznaczeniem dla osób tolerujących niewielkie dawki glutenu.
4. Zmiany wilgotności i wartości parametrów tekstury oznaczane w trakcie przechowywania wskazują na spowolnienie procesów starzenia się muffin, spowodowane wprowadzeniem do receptury mąk owsianych. Udział naparu z kawy nie wpłynął istotnie na cechy fizyczne i ocenę organoleptyczną badanych produktów.

Literatura

- [1] AOAC: Official Methods of Analysis, 18th Editio, Association of Analytical Chemists International. Gaithersburg 2006.
- [2] Arendt E.K., Morrissey A., Moore M.M., Dal Bello F.: Gluten-free breads. In: Gluten-Free Cereal Products and Beverages. Eds. Arendt E.K., Dal Bello F. Food Science and Technology, International Series. Elsevier, 2008, pp. 289-319.
- [3] Ballabio C., Uberti F., Manferdelli S., Vacca E., Boggini G., Redaeli R., Catassi C., Lionetti E., Penas E., Restani P.: Molecular characterisation of 36 oat varieties and in vitro assessment of their suitability for coeliac's diet. J. Cereal Sci., 2011, **54** (1), 110-115.
- [4] Bhaduri S.: A comprehensive study on physical properties of two gluten – free flour fortified muffins. J. Food Process Technol., 2013, 4 (251), doi:10.4172/2157-7110.1000251.
- [5] Butt S.M., Tahir-Nadeem M., Khan M.K.I., Sabir R.: Oat: unique among cereals. Eur. J. Nutr., 2008, **47** (2), 68-79.
- [6] Codex Standard For Foods For Special Dietary Use For Persons Intolerant To Gluten, Codex Stan 118-1979 (revised 2008).
- [7] Darewicz M., Dziuba J.: Dietozależny charakter enteropatii pokarmowych na przykładzie celiakii. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2007, **1** (50), 5-15.
- [8] Diowksz A., Sucharzewska D., Ambroziak W.: Wpływ składu mieszanek skrobiowych na właściwości chleba bezglutenowego. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2008, **2** (57), 40-50.
- [9] Gambuś H., Gambuś F., Sabat R.: Próby poprawy jakości chleba bezglutenowego przez dodatek mąki z szarlatu. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2002, **2** (31), 99-112.
- [10] Gambuś H.: Nasiona lnu oleistego (*Linum usitatissimum* L.) jako źródło składników odżywczych w chlebie bezglutenowym. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2005, **4** (45), 61-74.
- [11] Gélinas P., McKinnon C.M., Mena M.C., Méndez E.: Gluten contamination of cereal foods in Canada. Int. J. Food Sci. Technol., 2008, **43** (7), 1245-1252.
- [12] Hager A.S., Wolter A., Jacob F., Zannini E., Arendt E.K.: Nutritional properties and ultra-structure of commercial gluten free flours from different botanical sources compared to wheat flours. J. Cereal Sci, 2012, **56**(2), 239-247.
- [13] Kostyra E.: Interakcje substancji smakowych i zapachowych ze składnikami żywności – aspekty fizykochemiczne. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2004, **4** (11), 30-43.
- [14] Man S., Paucean A., Muste S., Pop A.: Studies on the formulation and quality properties of rice based gluten free muffins. J. Agroaliment. Proc. Technol., 2014, **20** (2), 122-127.
- [15] Matos M.E., Sanz T., Rosell C.M.: Establishing the function of proteins on the rheological and quality properties of rice based gluten free muffins. Food Hydrocoll., 2014, **35**, 150-158.
- [16] Mondal A., Datta A.K.: Bread baking – a review. J. Food Eng., 2008, **86** (4), 465-474.
- [17] Niewinski M.M.: Advances in celiac disease and gluten-free diet. J. Am. Diet. Assos., 2008, **108** (4), 661-672.
- [18] Pająk P., Kuczera D., Fortuna T.: Wpływ opakowania na jakość przechowywanego pieczywa bezglutenowego. Acta Agrophysica, 2013, **20** (4), 633-649.
- [19] PN-A-74108:1996. Pieczywo. Metody badań.
- [20] PN-A-88115:1998. Wyroby ciastkarskie. Wyroby biszkoptowe i biszkoptowo-tłuszczowe.
- [21] Rozporządzenie Komisji (WE) nr 41/2009 z dnia 20 stycznia 2009 r. dotyczące składu i etykietowania środków spożywczych odpowiednich dla osób nietolerujących glutenu. Dz. Urz. UE L 16 z 21.01.2009, str. 3
- [22] Rutkowska J., Żbikowska A.: Możliwości wykorzystania margaryn płynnych do produkcji ciast biszkoptowo-tłuszczowych. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2005, **3** (44), 113-126.

- [23] Sanz T., Salvador A., Baixauli R., Fiszman S.M.: Evaluation of four types of resistant starch in muffins. II. Effects in texture, colour and consumer response. *Eur. Food Res. Technol.*, 2009, **229** (2), 197-204.
- [24] Schamne C., Dutcosky S.D., Demiate I.M.: Obtention and characterization of gluten-free baked products. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 2010, **30** (3), 741-750.
- [25] Størsrud S., Olsson M., Arvidsson Lenner R., Nilsson L.A., Nilsson O., Kilander A.: Adult coeliac patients do tolerate large amounts of oats. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 2003, **57** (1), 163-169.
- [26] Størsrud S., Yman I.M., Lenner R.A.: Gluten contamination in oat products and products naturally free from gluten. *Eur. Food Res. Technol.*, 2003, **217** (6), 481-485.
- [27] Thompson T., Dennis M., Higgins L.A., Lee A.R., Sharrett M.K.: Gluten-free diet survey: are Americans with coeliac disease consuming recommended amounts of fibre, iron, calcium and grain foods? *J. Hum. Nutr. Diet.*, 2005, **18** (3), 163-169.
- [28] Thompson T., Méndez E.: Commercial assays to assess gluten content of gluten-free foods: why they are not created equal. *J Am Diet Assoc*, 2008, **108** (10), 1682-1687.
- [29] Van Eckert R., Bond J., Rawson P., Klein Ch.L., Stern M., Jordan T.W.: Reactivity of gluten detecting monoclonal antibodies to a gliadin reference material. *J. Cereal Sci.*, 2010, **51** (2), 198-204.

COMPARING CHEMICAL COMPOSITION AND TEXTURE PROPERTIES OF MUFFINS FROM GLUTEN-FREE MIX AND FROM OAT FLOURS

S u m m a r y

Commercial oat flour and certified gluten-free wholemeal oat flour were used to make muffins according to a recipe for gluten-free bakery wares. The use of oat flours instead of a mix of rice and maize flours with maize starch caused the content of the following components in the muffins produced to significantly ($p \leq 0.05$) increase: total proteins ($9.11 \div 10.29$ % d.m.), fat ($15.06 \div 15.41$ % d.m.), and minerals in the form of total ash ($1.75 \div 2.03$ % d.m.). Particularly large changes were reported in the case of the fibre fraction; its content increased almost three times upon the application of wholemeal oat flour. Oat flours, especially gluten-free flour, were, in the muffins, a source of substantial amounts of β -D-glucans (2.89 % d.m.), an important component of the soluble fraction of dietary fibre. The differences in the volume of muffins produced were statistically significant ($p \leq 0.05$) but minor, and they did not significantly impact the texture parameters. As for the oat products, the rate of changes in those parameters was lower over the entire period of storage. As early as on the day of baking, the muffins made from oat flour were characterized by a lower hardness ($34.8 \div 36.9$ N) compared to the products from flour mix (51.0 N); those differences increased on the 3 subsequent days of storing (respectively, $40.8 \div 44.1$ N, 88.8 N). Irrespective of the type of oat flour used, the products made from it were characterized by a good appearance and an attractive taste and flavour. Of the analyzed oat flours, the certified gluten-free flour was the only one to provide an appropriately low content of gluten proteins (12.8 mg gluten/kg); therefore, the products produced could be considered to be gluten-free. Thus, the muffins from commercial oat flour (166 mg gluten/kg) can be consumed only by healthy people who choose oat products owing to their pro-health values and taste.

Key words: oat flavour, gluten-free muffins, chemical composition, texture ☒

ANETA OCIECZEK, JOLANTA SCHUR

OCENA WPLYWU WYBRANYCH DODATKÓW NA WŁAŚCIWOŚCI SORPCYJNE MIĘKISZU PIECZYWA PSZENNEGO

Streszczenie

Celem pracy była weryfikacja hipotezy zakładającej zróżnicowaną zdolność utrzymywania wody przez powierzchnię miękiszu pieczywa pszennego w wyniku zastosowania w procesie produkcji dodatku margaryny lub płatków ziemniaczanych. Oceny tej dokonano na podstawie przebiegu izoterm sorpcji pary wodnej miękiszu oraz wybranych parametrów mikrostruktury powierzchni miękiszu oszacowanych z zastosowaniem metod adsorpcyjnych.

Materiał do badań stanowiło pieczywo pszenne z dodatkiem margaryny (M) oraz z dodatkiem płatków ziemniaczanych (Z) wyprodukowane przemysłowo.

Stwierdzono, że izoterm sorpcji miękiszu chleba z dodatkiem margaryny, jak i skrobi ziemniaczanej (pochodzącej z płatków ziemniaczanych), charakteryzowały się zbliżonym przebiegiem ($t_{obl.} = 1,820$, $t_{kryt.} = 2,228$) w całym zakresie a_w . Obecność tłuszczu (pochodzącego z margaryny) w miększu pieczywa pszennego nie spowodowała zróżnicowania mikrostruktury jego powierzchni ($a_{sp.} = 180,4 \text{ m}^2/\text{g}$, $r_k = 2,4 \text{ nm}$, $o.o.k. = 127,8 \text{ cm}^3/100 \text{ g s.m.}$) w porównaniu z miększem pieczywa pszennego wyprodukowanego z dodatkiem skrobi (pochodzącej z płatków ziemniaczanych) ($a_{sp.} = 176,8 \text{ m}^2/\text{g}$, $r_k = 2,5 \text{ nm}$, $o.o.k. = 136,1 \text{ cm}^3/100 \text{ g s.m.}$). Wartości oszacowanych parametrów mikrostruktury powierzchni miękiszu chleba pszennego M i Z wskazywały na wystąpienie retrogradacji frakcji skrobiowej.

Słowa kluczowe: pieczywo pszenne, czerstwienie, monowarstwa, powierzchnia właściwa sorpcji

Wprowadzenie

W pieczywie po wypieczeniu zachodzą zmiany fizykochemiczne prowadzące do starzenia, które decydują o jego przydatności do spożycia. Proces starzenia pieczywa traktuje się jako „ogół zmian zachodzących w pieczywie po wypieku” [1, 4]. Zmiany te dotyczą przede wszystkim właściwości fizycznych miękiszu, związanych z procesem wysychania i zmianą stopnia uporządkowania granul skrobi. W konsekwencji tych

*Dr hab. inż. A. Ociecek, mgr inż. J. Schur, Katedra Organizacji Usług Turystyczno-Hotelarskich, Wydz. Przedsiębiorczości i Towaroznawstwa, Akademia Morska w Gdyni, ul. Morska 81-87, 81-225 Gdynia.
Kontakt: a.ociecek@wpit.am.gdynia.pl*

zmian, których istota polega na redystrybucji wody w czasie przechowywania, miękisz staje się twardy, suchy i kruchy [5, 20]. Analizując powypiekowe zmiany temperatury bochenka można określić istotne etapy jego wysychania oraz rozpoczęcie zjawiska czerstwienia. Wskutek procesu wysychania, który następuje jednocześnie ze stygnięciem, pieczywo traci 5 % masy. Szybkość wysychania pieczywa uzależniona jest od struktury miękiszu, przepuszczalności pary uwarunkowanej rozwinięciem i grubości skórki, temperatury, wilgotności względnej i prędkości ruchu powietrza w miejscu jego przechowywania [1]. Za przyczynę czerstwienia pieczywa uważa się przede wszystkim zjawisko retrogradacji skrobi. Polega ono na przechodzeniu skrobi z formy amorficznej w uporządkowaną formę krystaliczną [18]. Proces ten prowadzi do zmniejszenia rozpuszczalności skrobi i usztywnienia jej struktury, czego konsekwencją jest podwyższenie twardości miękiszu. Duże znaczenie przypisuje się zmianom, jakim podlega amyloza. Zjawisku temu towarzyszy wydzielanie wody, która migruje w kierunku glutenu [20]. Zatem rola białka w procesie czerstwienia jest również istotna. Jednak ze względu na to, że w chlebie jest 6 ÷ 7 razy więcej skrobi niż białka, wiodącą rolę w czerstwieniu pieczywa przypisuje się skrobi.

Dla konsumentów istotną cechą pieczywa jest świeżość, stąd wprowadza się zmiany w recepturze oraz w procesie technologicznym służące jej wydłużaniu. Jednym ze sposobów umożliwiających wydłużenie okresu świeżości pieczywa jest stosowanie dodatków technologicznych, takich jak tłuszcz czy skrobia ziemniaczana. Dodatek tłuszczu podwyższa wartość odżywczą i jednocześnie wartość energetyczną pieczywa, ponadto wpływa na poprawę smaku i aromatu. Korzystnie oddziałuje również na porowatość miękiszu oraz opóźnia zachodzące w nim procesy czerstwienia [4, 20]. Dodatek tłuszczu może ograniczać migrację wody uwolnionej z uwodnionych w czasie wypieku granul skrobiowych i zmniejszać zmiany wywołane redystrybucją wody w pieczywie w czasie jego przechowywania. Do produkcji pieczywa stosuje się również ziemniaki, mąkę ziemniaczaną, syrop glukozowy lub glukozę krystaliczną. Dodatki te wpływają na walory smakowe i zapachowe pieczywa, pełniąc rolę naturalnych czynników przedłużających świeżość oraz zmiękczających strukturę miękiszu. Obecność skrobi ziemniaczanej w recepturze chleba zwiększa wodochłonność mieszanki mąki z dodatkami, korzystnie wpływa na charakter miękiszu, czyniąc go bardziej wilgotnym i porowatym oraz zwiększa zdolność utrzymywania wody przez miękisz gotowego produktu [1]. Na świeżość pieczywa wpływa wiele czynników, dlatego ich badanie wydaje się uzasadnione.

Celem przeprowadzonych badań była weryfikacja hipotezy zakładającej zróżnicowaną zdolność utrzymywania wody przez powierzchnię miękiszu chleba pszennego wyprodukowanego z dodatkiem skrobi ziemniaczanej lub margaryny.

Material i metody badań

Materiałem doświadczalnym było pieczywo pszenne z dodatkiem margaryny (bułka paryska – M) i pieczywo pszenne z dodatkiem płatków ziemniaczanych (tzw. chleb ziemniaczany – Z), pochodzące z gdańskiej piekarni.

Bułka paryska jest pieczywem pszennym o kształcie spłaszczonego walca i delikatnej strukturze miękiszu. Do produkcji użyto: mąki pszennej typu 550, margaryny (o 70-procentowej zawartości tłuszczu), cukru, drożdży i soli. Ciasto prowadzono metodą pośrednią. Rozczyn (20 kg) sporządzano z mąki i wody w stosunku 1 : 1 oraz drożdży (0,2 kg) następnie łączono go z mąką (100 kg), wodą (58 kg), solą (0,15 kg) i cukrem (0,3 kg). Po wstępnym wymieszaniu składników dodawano tłuszcz (3 kg w przeliczeniu na 100 kg użytej mąki) i wyrabiano w mieszarce przez 10 min, aby nabrało sztywnej konsystencji. Fermentację ciasta prowadzono przez 40 min w temp. 33 °C. Następnie ciasto dzielono na kęsy, formowano ręcznie i poddawano końcowemu rozrostowi przez 10 min. Uformowane kęsy ciasta nacinano na powierzchni licowej bezpośrednio przed wypiekiem. Wypiek prowadzono przez 6 - 8 s w temp. 240 °C, przy pełnym zaparowaniu komory, następnie w tej samej temperaturze i przy wilgotności względnej powietrza 75 - 85 % przez 4 min i dalej w temp. 180 °C przy wilgotności względnej powietrza 30 - 40 % przez 29 min.

Chleb ziemniaczany produkowano na zakwasie uzyskanym metodą fermentacji wielofazowej z dodatkiem drożdży. W recepturze zastosowano mąkę pszenną typu 550, drożdże, sól i wodę oraz płatki ziemniaczane, będące źródłem naturalnej skrobi ziemniaczanej. Ciasto prowadzono metodą pośrednią. Do 30 kg dojrzałego rozczynu (mąka z wodą w stosunku 1 : 1 i 0,3 kg drożdży) dodawano mąkę (100 kg), wodę (70 kg), płatki ziemniaczane (30 kg) i sól (0,23 kg). Następnie ciasto poddawano fermentacji przez 25 - 35 min. w temp. 29 °C. Po jej zakończeniu odważano kęsy o masie 0,35 kg i ręcznie nadawano im kulisty kształt. Rozrost końcowy odbywał się w aparatach załadowczych. Zabiegiem końcowym przed wypiekiem było nakłuwanie ciasta szpikulcem oraz posypanie mąką. Po załadowaniu ciasta do komory wypiekowej następowało wypełnianie pieca parą wodną. Wypiek prowadzono przez 8 - 12 s w temp. 260 °C, przy pełnym zaparowaniu komory, następnie w tej samej temperaturze i przy wilgotności względnej powietrza 80 - 90 % przez 6 min i dalej w temp. 200 °C przy wilgotności względnej powietrza 50 - 60 % przez 40 min.

Gotowe pieczywo schładzano, a następnie przewożono do laboratorium, gdzie dzielono je na kromki o grubości około 5 mm i suszono w temp. 130 °C przez 1 h. Tak przygotowane próbki stanowiły materiał badawczy (M i Z). Celem tego zabiegu było przekształcenie amorficznej struktury składników miękiszu (skrobi i białka) charakteryzujących się stanem gumowatym do stanu szklistego, co związane było ze znaczną i szybką redukcją zawartości wody. Dzięki temu podczas eksperymentu każdorazowo badano jedynie zjawisko adsorpcji polegające na powierzchniowym pochłanianiu pary

wodnej przez matrycę ciała stałego. Celowe wyeliminowanie zjawiska desorpcji w kształtowaniu stanu równowagi dynamicznej podyktowane było znacznymi różnicami w dynamice obu procesów, na co wskazywali Marzec i Lewicki [8]. W dalszej części eksperymentu badano pochłanianie pary wodnej z otoczenia, które sprzyjało przejściu składników o strukturze amorficznej szklistej poprzez gumowatą do struktury krystalicznej. W warunkach eksperymentu można było obserwować podatność badanych próbek na wzrost ruchliwości łańcuchów biopolimerów, prowadzącej do ich krystalizacji utożsamianej z czerstwieniem. Znaczne skryształizowanie struktury matrycy prawdopodobnie wpływa na zmniejszenie powierzchni właściwej sorpcji w wyniku postępującej agregacji biopolimerów [5, 20]. Na podstawie przedstawionych przesłanek założono, że rozwinięcie powierzchni właściwej sorpcji oraz wartości pozostałych parametrów mikrostruktury może zostać wykorzystane do oszacowania stopnia czerstwienia miękiszu pieczywa. Oceny tej dokonywano na podstawie charakterystyki właściwości sorpcyjnych miękiszu, poprzez wyznaczenie izoterm sorpcji pary wodnej oraz zastosowanie modelu GAB do oszacowania wybranych parametrów mikrostruktury powierzchni.

Oznaczanie zawartości wody w badanych produktach wykonywano, na wszystkich etapach doświadczenia, metodą odwoławczą według PN-ISO 712:2002 [17].

Wyznaczenie aktywności wody prowadzono w aparacie AquaLab (Seria 3 model TE firmy Decagon Devices, Inc., Pullman, WA, USA) o dokładności $\pm 0,003$ w temp. 293,15 K (20 °C).

Izotermy sorpcji wyznaczano w temp. 20 °C, stosując metodę statyczno-eksykatorową. Zakres badań obejmował aktywność wody od 0,07 do 0,98. Czas ustalania równowagi układu wynosił 50 dni od umieszczenia próbek w ekscyktorach. W ekscyktorach o aktywności wody powyżej 0,7 umieszczono tymol, w celu ochrony próbek przed rozwojem mikroflory. Próbkę pieczywa pszenne (M i Z) o masie $1 \pm 0,0001$ g, przeznaczone do wyznaczania izoterm sorpcji, umieszczano w naczynkach wagowych o średnicy ok. 35 mm, tak aby całkowicie i równomiernie pokryły ich powierzchnię. Po tym czasie (50 dni) oznaczano masy próbek i umieszczano je w ekscyktorach z nasyconymi roztworami odpowiednich soli. Na podstawie początkowej masy produktu oraz zmian zawartości wody obliczano równowagowe zawartości wody.

Empiryczne izotermy sorpcji wyznaczano w trzech powtórzeniach, każdorazowo na podstawie trzech próbek.

Parametry równania GAB (1) wyznaczono na podstawie danych empirycznych:

$$v = \frac{v_m \cdot C \cdot K \cdot a_w}{(1 - K \cdot a_w)(1 - K \cdot a_w + C \cdot K \cdot a_w)} \quad (1)$$

gdzie: a_w – aktywność wody (–), v – równowagowa zawartość wody [g H₂O/100 g s.m.], v_m – zawartość wody w monowarstwie [g H₂O/100 g s.m.], C – stała energetycz-

na Guggenheima, K – stała korygująca właściwości cząsteczek tworzących wielowarstwę w porównaniu z fazą ciekłą [3, 15, 16].

Powierzchnię właściwą adsorbentu obliczano z równania:

$$a_{sp} = \omega \cdot \frac{V_m}{M} \cdot N \quad (2)$$

gdzie: a_{sp} – powierzchnia właściwa sorpcji [$\text{m}^2/\text{g s.m.}$], N – liczba Avogadra ($6,023 \cdot 10^{23}$ cząsteczek/mol), M – masa cząsteczkowa wody (18 g/mol), ω – powierzchnia siadania wody ($1,05 \cdot 10^{-19}$ $\text{m}^2/\text{cząsteczkę}$) [3, 15, 16].

Rozmiary i objętość kapilar badanego materiału wyznaczono dla obszaru kondensacji kapilarnej, stosując równanie Kelvina zakładające cylindryczny ich kształt:

$$\ln a_w = - \frac{2 \cdot \sigma \cdot V}{r_k \cdot R \cdot T} \quad (3)$$

gdzie: σ – napięcie powierzchniowe cieczy w temperaturze T [N/m], r_k – promień kapilary [nm], R – uniwersalna stała gazowa [$\text{kJ/mol} \cdot \text{K}$], T – temperatura procesu [K], V – objętość molowa adsorbentu [m^3/mol] [3, 15, 16].

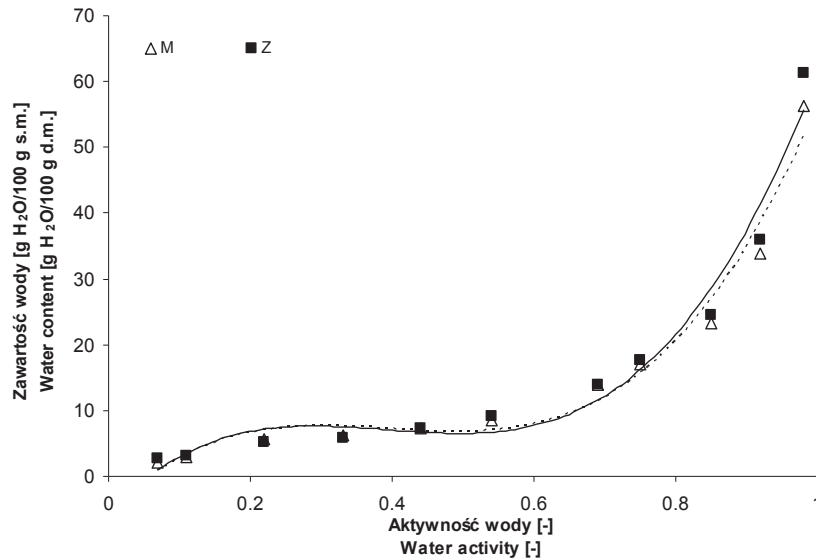
W celu obiektywizacji uzyskanych wyników, charakteryzujących zróżnicowanie przebiegu izoterm sorpcji w całym zakresie a_w , przeprowadzono test t -Studenta różnic między wartościami średnimi par wiązanych. Uznawano za statystycznie istotne różnice na poziomie nieprzekraczającym $p = 0,05$ [7, 19].

Parametry równania GAB wyznaczono stosując regresję nieliniową i algorytm Monte Carlo. Estymacji parametrów dokonano metodą najmniejszych kwadratów [9]. Obliczenia wykonano w arkuszu kalkulacyjnym Excel 2003. Błędy parametrów odpowiednich równań wyznaczono przy wykorzystaniu makropolecenia SolverAid, które dostarcza estymaty niepewności (odchylenia standardowe, macierz kowariancji i ewentualnie macierz liniowych współczynników korelacji) wartości parametrów uzyskanych z Solvera.

Wyniki i dyskusja

W przygotowanym wstępnie, poprzez suszenie w temp. 130 °C przez 1 h, materiale badawczym oznaczono zawartość wody. Stwierdzono, że chleb ziemniaczany silniej utrzymywał wodę niż bułka paryska. Po procesie gwałtownego odwadniania produkt Z charakteryzował się większą zawartością wody (0,579 g $\text{H}_2\text{O}/100$ g s.m.) niż produkt M (417 g $\text{H}_2\text{O}/100$ g s.m.).

Właściwości sorpcyjne miększu pieczywa oceniono przez porównanie wzajemnego położenia izoterm adsorpcji (rys. 1).



Rys. 1. Izotermy adsorpcji pary wodnej bułki paryskiej z dodatkiem margaryny (M) i chleba z dodatkiem płatków ziemniaczanych (Z), wyznaczone w temp. 20°C

Fig. 1. Isotherms of water vapour adsorption by baguette with margarine (M) added and by bread with potato flakes added (Z), determined at 20°C

Wyznaczone empirycznie izotermy adsorpcji pary wodnej bułki M i chleba Z charakteryzowały się kształtem sigmoidalnym, wykazując podobieństwo do izoterm typu II według klasyfikacji Brunauera. Ten typ izoterm sorpcji pary wodnej jest powszechny w przypadku produktów zawierających duże ilości skrobi oraz białka [8].

Ze względu na brak jednoznacznej różnicy wynikającej z porównania wzajemnego położenia izoterm, przeprowadzono statystyczną weryfikację hipotezy zerowej zakładającej brak różnic w przebiegu izoterm adsorpcji pary wodnej bułki M i chleba Z. Obliczona wartość statystyki t wynosiła 1,820 ($p = 0,05$) i była niższa od wartości krytycznej statystyki t dla tego poziomu istotności i 10 stopni swobody, która wynosiła 2,228. Hipotezę zerową należało zatem przyjąć, że położenie wyznaczonych izoterm nie było statystycznie różne.

Przy $a_w = 0,70$ w obu rodzajach pieczywa stwierdzono wystąpienie przegięcia krzywej sorpcji. Tendencję tę należy utożsamiać z wystąpieniem zjawiska kondensacji kapilarnej, któremu towarzyszy pojawienie się w ciele stałym wody słabo związanej, wykazującej właściwości zbliżone do właściwości wody wolnej.

W czasie przechowywania pieczywa zachodzą procesy prowadzące do nadania produktowi nowych właściwości, które uwarunkowane są przede wszystkim stopniem krystalizacji skrobi określanej mianem retrogradacji. Stopień skryształowania skrobi, a zatem zaawansowanie procesu porządkowania miceli składających się z amylozy

i amylopektyny na skutek tworzenia się wiązań wodorowych decyduje o strukturze produktu i znajduje odzwierciedlenie w zdolności sorpcji pary wodnej opisywanej za pomocą izotermy sorpcji. Stan równowagi pomiędzy produktem i jego otoczeniem ustala się w wyniku zbliżania się zawartości wody do poziomu, który można uznać za równowagowy zgodnie z przebiegiem podobnym do tzw. gasnącej sinusoidy, na co wskazywać mogą wyniki badań uzyskane przez Marzec i Lewickiego [8]. Autorzy ci podają, że równowagowa zawartość wody obliczona na podstawie kinetyki adsorpcji pary wodnej po 24 h procesu była nieznacznie większa niż równowagowa zawartość wody wyznaczona z izotermy sorpcji opisującej stan równowagi dynamicznej po 3 miesiącach [8]. Osiąganie stanu równowagi określanej mianem dynamicznej można zatem opisać jako wynik procesu o przebiegu gasnącej sinusoidy. Zmiany dystrybucji wody w pieczywie w czasie jego przechowywania uzależnione są przede wszystkim od parametrów otoczenia. Z kolei czas przechowywania może mieć wpływ na zaawansowanie krystalizacji granул skrobiowych [18]. Krystalizacja jest bowiem procesem zachodzącym stosunkowo powoli. Zatem właściwości sorpcyjne pieczywa wyrażające się w postaci krzywej sorpcji uwarunkowane są stanem uporządkowania frakcji skrobiowej, jaki osiągnął badany materiał w warunkach (temperatury, wilgotności i czasu) eksperymentu. W konsekwencji przebieg krzywych sorpcji może być wynikiem wzajemnego stosunku amylozy do amylopektyny. Można zatem przypuszczać, że dodatek skrobi ziemniaczanej w postaci płatków ziemniaczanych, cechującej się większym udziałem frakcji amylopektynowej, odgrywa pewną rolę w aktywnym oddziaływaniu z molekułami wody prowadzącym do procesu wtórnej krystalizacji skrobi. Istnieją również opracowania [20] informujące o istnieniu wpływu kompleksów skrobiowo-tłuszczowych na procesy retrogradacji skrobi. Ustalono, że w momencie kleikowania skrobi i uwalniania się amylozy dostępność monoglicerydów może powodować otaczanie powierzchni granул skrobiowych hydrofobowymi kompleksami, które uniemożliwiają lub zmniejszają dalszy wpływ amylozy. W ten sposób część granул skrobi może zachować naturalną strukturę w wyższej temperaturze, a jednocześnie ilość uwolnionej amylozy ulega zmniejszeniu. Zmniejszenie ilości wolnej amylozy może powodować poprawę elastyczności i wilgotności miękiszu chleba.

Na podstawie empirycznych izoterm sorpcji wyznaczono parametry równania GAB (v_m , C , K) oraz a_w odpowiadającą v_m , a wyniki przedstawiono w tab. 1.

Oszacowana zawartość wody tworzącej warstwę monomolekularną bułki M wynosiła 5,03 g H₂O/100 g s.m. i była mniejsza niż chleba Z – 5,13 g H₂O/100 g s.m. Wartościom tym odpowiadały zbliżone wartości aktywności wody, odpowiednio: 0,242 i 0,246. Wzajemne relacje obu parametrów wskazują na podobny stopień związania wody przy podobnym rozwinięciu monowarstwy (tab. 1). Jednocześnie należy podkreślić, że stwierdzonej tendencji nie należy przypisywać przypadkowego charak-

teru. Niskie wartości błędów standardowych, wyznaczone na podstawie macierzy Hessego, wskazują na znaczną pewność wartości wyznaczonych parametrów (tab. 1).

Tabela 1. Oszacowane parametry oraz ich asymptotyczne błędy równania GAB oraz a_w odpowiadająca wypełnieniu v_m

Table 1. Estimated parameters and their asymptotic errors of GAB equation as well as a_w that corresponds to v_m

Produkt Product	SKO	v_m	a_w	C	K
M	3,351 ± 0,692	5,033 ± 0,149	0,242	11,88 ± 3,54	0,930 ± 0,003
Z	1,943 ± 0,527	5,134 ± 0,109	0,246	11,23 ± 2,44	0,935 ± 0,002

Objaśnienia / Explanatory notes:

M – bułka paryska z dodatkiem margaryny / baguette with margarine added; Z – chleb pszenny z dodatkiem płatków ziemniaczanych / wheat bread with potato flakes added; SKO – suma kwadratów odchyłeń / sum of squared deviations; v_m – zawartość wody w monowarstwie [g H₂O/100 g s.m.] / water content in monolayer [g H₂O/100 g d.m.]; a_w – aktywność wody [-] / water activity [-]; C – stała energetyczna Guggenheima / Guggenheim energy constant; K – stała korygująca właściwości cząsteczek wielowarstwy w porównaniu z fazą ciekłą / constant that corrects properties of molecules of multilayer in relation to liquid phase.

Zastosowanie dodatku skrobi ziemniaczanej lub tłuszczu może być istotną przyczyną zmiany mikrostruktury powierzchni miększu (ogólna objętość kapilar, promień kapilar ulegających wypełnieniu po zainicjowaniu zjawiska kondensacji kapilarnej, promień kapilar dominujących, ogólna objętość kapilar, powierzchnia właściwa sorpcji) i powodować zróżnicowanie zdolności wiązania molekuł wody przez powierzchnię miększu. Uzasadnione jest więc twierdzenie, że zastosowanie dodatków może mieć wpływ na podatność pieczywa na starzenie związane z jego wysychaniem i retrogradacją.

Można przypuszczać, że powodem podobnych właściwości sorpcyjnych obu badanych próbek pieczywa była zbliżona podatność na zmiany stopnia uporządkowania granul skrobi. W przypadku bułki paryskiej (M) obecność tłuszczu dodanego w procesie technologicznym może powodować powstawanie kompleksów skrobiowo-tłuszczowych, mających wpływ na przebieg retrogradacji skrobi [4]. Uważa się bowiem, że dostępność monoglicerydów może być przyczyną ograniczenia uwalniania amylozy poprzez otaczanie powierzchni granul skrobiowych hydrofobową frakcją lipidową. Zmniejszenie ilości uwolnionej amylozy, powodującej szybkie wystąpienie zjawiska krystalizacji, sprzyja zdolności utrzymywania wody, a tym samym zmniejsza zmiany wywołane redystrybucją wody w pieczywie w czasie jego przechowywania. W przypadku chleba Z obecność skrobi ziemniaczanej, będącej źródłem amylopektyny, powoduje, że proces retrogradacji zachodzi wolniej na skutek obecności rozgałę-

zien bocznych utrudniających agregację i wykazujących właściwości hydrofilowe związane z wiązaniem znacznych ilości wody, w wyniku czego tworzy się struktura gumowata. W konsekwencji większa ilość wody pozostaje w oddziaływaniu z matrycą ciała stałego [20]. Choć mechanizm decydujący o stopniu utrzymywania wody był w każdym przypadku inny, to skutek okazał się niemal identyczny. W wyniku czerstwienia prawdopodobnie dochodziło do zmniejszenia powierzchni właściwej sorpcji w wyniku procesu krystalizacji granul skrobiowych. Obecność skrobi ziemniaczanej z charakterystycznym, wyższym udziałem amylopektyny, prawdopodobnie powodowała ograniczenie szybkości czerstwienia. Z kolei obecność czynnika hydrofobowego była przyczyną zmniejszenia ilości wolnej amylozy, zwiększając zdolność utrzymywania wody i elastyczność miękiszu [20].

Lewicki [6] wykazał, że równanie GAB może być użyte do opisu eksperymentu tylko wówczas, gdy $0,24 < K \leq 1$. Zatem wyznaczone parametry równania GAB można uznać za dobrze opisujące izotermy. Caurie [2] wykazał, że parametr K powinien być traktowany jako parametr określający ciśnienie nasycenia pary wodnej i służyć określaniu granic adsorpcji wielowarstwowej. Wartość parametru K ($K \leq 0,5$) określa adsorpcję monomolekularną i ($K > 0,5$) wielowarstwową. Wyznaczone wartości parametru K (tab. 1) były zbliżone, co pozwala przypuszczać, że stan energetyczny obu układów doświadczalnych był podobny. Zakładać można, że choć mechanizm badanego procesu adsorpcji pary wodnej był różny (M i Z), nie stał się powodem różnic w stanie energetycznym cząsteczek wody tworzących układ wielowarstwowy.

Drugim parametrem potwierdzającym przydatność modelu GAB jest wartość stałej C większa niż 5,67, która warunkuje uzyskanie błędu obliczenia zawartości wody w monowarstwie na poziomie niższym niż 15,5 % [6].

Podstawiając wartości v_m do równania (2) obliczono powierzchnię właściwą sorpcji. Stosując równanie Kelvina oszacowano mikrostrukturę powierzchni badanych próbek (M i Z), określając promień kapilar ulegających wypełnieniu w początkowej fazie zjawiska kondensacji oraz ogólną objętość kapilar przy $a_w = 0,70$.

Tabela 2. Charakterystyka strukturalna badanych produktów
Table 2. Structural characteristics of products tested

Produkt Product	Powierzchnia właściwa sorpcji Specific surface of sorption [m ² /g]	Ogólna objętość kapilar przy $a_w = 0,70$ Total capacity of capillaries at $a_w = 0.70$ [cm ³ /100 g s.m.]	Promień kapilar przy $a_w = 0,70$ Radius of capillaries at $a_w = 0.70$ [nm]
M	176,8	127,8	2,4
Z	180,4	136,1	2,5

Stwierdzono, że nieznacznie większą powierzchnią właściwą sorpcji charakteryzował się chleb Z (tab. 2). Porównanie uzyskanych wyników z danymi dotyczącymi charakterystyki mikrostruktury powierzchni z zastosowaniem metod sorpcyjnych w badaniach skrobi pszennej bezglutenowej [14] oraz mąki pszennej [10-13] pozwoliło stwierdzić, że zarówno skrobia (364 - 370 m²/g) [14], jak i mąki pszenne (194 - 384 m²/g) [10, 11, 12, 13] cechowały się bardziej rozwiniętą powierzchnią właściwą sorpcji niż miękisz badanego w niniejszej pracy pieczywa pszennego z dodatkiem skrobi ziemniaczanej i margaryny. Można zatem przypuszczać, że w procesie czerstwienia pieczywa dochodziło do znaczących zmian mikrostruktury uwarunkowanych krystalizacją skrobi oraz zmianami frakcji białkowej. Jednocześnie wyniki badań dotyczące skrobi pszennej bezglutenowej charakteryzowały natywną, a zatem semikrystaliczną strukturę jej granul [14]. Z kolei wyniki dotyczące mąki pszennej pasażowej [13] oraz mąk handlowych [10, 11, 12] opisywały wypadkową stanu skrobi natywnej oraz frakcji białkowej. Pod względem ilościowym głównym składnikiem miękiszu chleba jest skrobia, stąd można sądzić, że stosunkowo mała powierzchnia właściwa sorpcji miękiszu chleba była konsekwencją znacznego uporządkowania struktury skrobi w procesie jej retrogradacji.

Kolejnym parametrem mikrostruktury powierzchni była ogólna objętość kapilar ulegających wypełnieniu przy $a_w = 0,70$ (tab. 2). Wyższe wartości tego parametru charakteryzowały chleb Z, co wskazywało na jego bardziej porowatą strukturę, rozumianą jako wypadkowa rozmiarów i objętości kapilar. Dla porównania skrobia pszenna bezglutenowa cechowała się ogólną objętością kapilar na poziomie 88 - 91 cm³/100 g s.m. [14], natomiast mąki pszenne na poziomie 18 - 85 cm³/100 g s.m. [10, 11, 12, 13]. Można przypuszczać, że powierzchnia miękiszu chleba wraz z postępującą retrogradacją stawała się bardziej otwarta na skutek powiększania się rozmiarów i objętości kapilar, przy jednoczesnym zmniejszaniu się grubości ścianek kapilar [4]. Z kolei początkowi procesu kondensacji kapilarnej towarzyszyło wypełnienie kapilar o promieniu w zakresie 2,4 - 2,5 nm w przypadku obu badanych produktów. W badaniach dotyczących surowców stosowanych w produkcji pieczywa pszennego wykazano, że najmniejszymi rozmiarami charakteryzowały się kapilary mąki Fariny (około 3 nm), największymi zaś mąki pszennej typu 2000 (około 6,5 nm) [10, 11, 12, 13]. Taki rozkład szacowanego parametru można interpretować jako potwierdzenie przypuszczenia, że retrogradacja powoduje wzrost porowatości miękiszu na skutek zapadania się jego ścian, czemu towarzyszy powstawanie kapilar o małym promieniu.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że przyjęta hipoteza została zweryfikowana negatywnie. Stwierdzono, że zdolność utrzymywania wody przez powierzchnię miękiszu chleba pszennego wyprodukowanego z dodatkiem skrobi ziemniaczanej albo margaryny jest zbliżona. Różnice w wartościach badanych parametrów nie mogą być uznane za statystycznie istotne.

Wnioski

1. Izotermy sorpcji miękiszu pieczywa z dodatkiem margaryny i płatków ziemniaczanych charakteryzowały się zbliżonym przebiegiem w całym zakresie a_w .
2. Próbkę miękiszu obu rodzajów pieczywa charakteryzowały się zbliżoną mikrostrukturą powierzchni, pomimo zastosowania w procesie produkcji dodatków charakteryzujących się odmiennymi właściwościami chemicznymi (tłuszcz i skrobia).
3. Wartości wybranych parametrów mikrostruktury powierzchni miękiszu chleba pszennego z dodatkiem margaryny i płatków ziemniaczanych wskazywały na wystąpienie zmian uwarunkowanych procesem retrogradacji frakcji skrobiowej.

Literatura

- [1] Ambroziak Z.: Produkcja piekarsko-ciastkarska. Część I i II. WSiP, Warszawa 1999.
- [2] Caurie M.: The derivation of the GAB adsorption equation from the BDDT adsorption theory. Int. J. Food Technol., 2006, **41**, 173-179.
- [3] Figura L.O., Teixeira A.A.: Food Physics. Physical Properties – Measurement and Applications. Springer-Verlag, Berlin 2007.
- [4] Fik M.: Czerstwienie pieczywa i sposoby przedłużania jego trwałości. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2004, **2 (39)**, 5-22.
- [5] Hallberg L.M., Chinachoti P.: A fresh perspective on staling: The significance of starch recrystallization on the firming of bread. J. Food Sci., 2002, **67**, 1092-1096.
- [6] Lewicki P.P.: The applicability of the GAB model to food water sorption isotherms. Int. J. Food Sci. Technol., 1997, **32**, 553-557.
- [7] Łomnicki A.: Wprowadzenie do statystyki dla przyrodników. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2003.
- [8] Marzec A., Lewicki P.P.: Właściwości sorpcyjne pieczywa chrupkiego. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2004, **4 (41)**, 44-56.
- [9] Nowak R.: Statystyka dla fizyków. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2002.
- [10] Ociecek A.: Comparison of sorption properties of semolina and farina. Acta Agrophysica, 2007, **9 (1)**, 135-145.
- [11] Ociecek A., Kostek R.: Sorptive properties of type 2000 wheat and rye flours. Acta Agrophysica, 2009, **14 (2)**, 393-402.
- [12] Ociecek A.: Sorption properties of various types of commercial wheat flour. Acta Agrophysica, 2012, **19 (2)**, 365-377.
- [13] Ociecek A.: Właściwości hydratacyjne jako wyróżnik jakości użytkowej mąk pszennych pasażowych. Prace Naukowe Akademii Morskiej w Gdyni, Gdynia 2012.
- [14] Ociecek A.: Impact of comminution on adsorption properties of gluten-free wheat starch. Acta Agrophysica, 2013, **20 (1)**, 125-136.
- [15] Paderewski M.L.: Procesy adsorpcyjne w inżynierii chemicznej. WNT, Warszawa 1999.
- [16] Właściwości fizyczne żywności. Red. Z. Pałacha, I. Sitkiewicz. WNT, Warszawa 2010.
- [17] PN-ISO 712 : 2002. Zboża i przetwory zbożowe.
- [18] Skotnicka M., Palich P.: Wpływ warunków przechowywania na stopień czerstwienia mrożonych wyrobów ciastkarskich. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2007, **5 (54)**, 84-92.
- [19] Sobczyk M.: Statystyka. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2004.
- [20] Szajewska A., Ceglińska A.: Czerstwienie pieczywa. Przegl. Piek. Cuk., 2004, **3**, 6-7.

IMPACT ASSESSMENT OF SELECTED ADDITIVES ON SORPTIVE PROPERTIES OF WHEAT BREAD CRUMB

S u m m a r y

The objective of the research was to verify the hypothesis assuming that the diversified water retaining capacity of crumb surface of wheat bakery products resulted from the addition of potato flakes or margarine during the production process. The assessment was carried out based on water vapour sorption isotherms for crumb and on selected parameters of crumb microstructure estimated using adsorption methods.

The research material consisted of wheat bakery products with margarine (M) and potato flakes (Z) added.

It was found that the sorption isotherms for bread crumb with added margarine and potato starch (derived from potato flakes) were characterized by a similar flow ($t_{cal} = 1.820$, $t_{crit} = 2.228$) within the whole a_w range. The presence of fat (derived from margarine) in the wheat bread crumb did not cause the microstructure of its surface to become significantly diversified ($a_{sp.} = 180.4 \text{ m}^2/\text{g}$; $r_k = 2.4 \text{ nm}$; $t.c.c. = 127.8 \text{ cm}^3/100 \text{ g d.m.}$) compared to the wheat bread crumb produced with the addition of starch (derived from potato flakes) ($a_{sp.} = 176.8 \text{ m}^2/\text{g}$; $r_k = 2.5 \text{ nm}$; $t.c.c. = 136.1 \text{ cm}^3/100 \text{ g d.m.}$). The values of the estimated surface microstructure parameters of M and Z wheat bread crumb proved the occurrence of retrogradation of the starch fraction.

Key words: wheat bakery products, getting stale, monolayer, specific surface of sorption 

AGNIESZKA ZAWIŚLAK, MAGDALENA MICHALCZYK

WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWIUTLENIAJĄCE NISKOPRZETWORZONYCH PŁATEKÓW RÓŻY POMARSZCZONEJ (*ROSA RUGOSA*)

Streszczenie

Celem pracy była ocena wpływu dodatku sacharozy oraz temperatury i czasu przechowywania niskoprzetworzonych produktów z płatków róży pomarszczonej (*Rosa rugosa*) na zawartość składników fenolowych oraz właściwości przeciwutleniające. Produkty sporządzano z 0,5-procentowym dodatkiem kwasu cytrynowego i dodatkiem sacharozy wynoszącym 50 ÷ 75 %, a następnie przechowywano je przez 378 dni w temperaturze 6 i 21 °C. Stwierdzono, że temperatura składowania miała istotny wpływ na zawartość antocyjanów w badanych produktach, nie wpłynęła ona natomiast istotnie na zawartość polifenoli oraz na właściwości przeciwutleniające. Do 126. dnia składowania w próbach o zawartości 50 i 60 % sacharozy obserwowano wzrost zawartości związków polifenolowych (odpowiednio do: 1720 mg/100 g i 1150 mg/100 g), których ilość zmniejszała się następnie wraz z wydłużającym się czasem przechowywania (odpowiednio do: 770 mg/100 g i 778 mg/100 g). Najsilniejsze właściwości przeciwutleniające, wyrażone zarówno jako EC₅₀ (1,6 g/g DPPH), jak i wielkością siły redukującej (1,67 A₇₀₀) wykazywały produkty o zawartości sacharozy 50 - 55 %, pomiędzy 84. a 126. dniem ich przechowywania. Po upływie tego czasu obserwowano obniżanie aktywności przeciwutleniającej.

Słowa kluczowe: niskoprzetworzone płatki *Rosa rugosa*, aktywność przeciwutleniająca, polifenole, antocyjany

Wprowadzenie

Kwiaty i ich części w wielu krajach są elementami potraw. Służą zwiększaniu ich atrakcyjności sensorycznej poprzez nadanie barwy i aromatu, a niekiedy mogą mieć pozytywny wpływ na zdrowie konsumentów [24]. Do najczęściej używanych w Europie należą kwiaty: róż (*Rosa rugosa*, *Rosa damascena*, *Rosa centifolia*, *Rosa gallica*), fiołka wonnego, hibiskusa, nagietka lekarskiego, mniszka pospolitego, czarnego bzu,

Dr inż. A. Zawiślak, dr inż. M. Michalczyk, Katedra Chłódnictwa i Koncentratów Spożywczych, Wdz. Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków. Kontakt: a.zawislak@ur.krakow.pl

robinii pseudoakacji, ogórecznika lekarskiego, dyni i cukinii. Szafran pozyskiwany z kwiatów krokusa jest stosowany w kuchni jako barwnik, a pączki kwiatów nasturcji często zastępują kapary [24]. Kwiaty mogą być też źródłem substancji o właściwościach prozdrowotnych, np. przeciwcukrzycowych [4].

Kwiaty róży pomarszczonej (*Rosa rugosa* Thunb.) są surowcem od dawna stosowanym w tradycyjnej medycynie chińskiej [41]. Stwierdzono, że przeciwdziałają one nadciśnieniu, mają właściwości przeciwbakteryjne oraz działają hamująco na enzym odwrotnej transkryptazy (RT) retrowirusów HIV-1 i HTLV-1, a także są cytotoksyczne względem linii komórek nowotworowych oraz wykazują silne właściwości przeciwutleniające [12, 15, 24, 29, 41]. Aktywnymi biologicznie składnikami tego surowca są związki fenolowe, głównie taniny hydrolizujące o wysokiej masie cząsteczkowej, pochodne kwasu galusowego oraz rutyna, izokwercetyna, awikularyna i astragalina oraz antocyjany [15, 28, 29].

Celem pracy była ocena wpływu dodatku sacharozy oraz temperatury i czasu przechowywania niskoprzetworzonych płatków róży pomarszczonej na ich właściwości przeciwutleniające. Oznaczono także zawartość wybranych składników biologicznie czynnych badanych produktów podczas ich składowania.

Material i metody badań

Płatki róży pomarszczonej (*Rosa rugosa*) pochodzące z upraw z okolic Krakowa przetwarzano do 4 h po zbiorze. Produkt sporządzano poprzez rozdrobnienie płatków z sacharozą i kwasem cytrynowym z zastosowaniem urządzenia Thermomix (Vorwerk, Niemcy). Stężenie sacharozy było zróżnicowane w poszczególnych partiach wyrobu i wynosiło 50, 55, 60, 65, 70 oraz 75 g na 100 g gotowego produktu, natomiast dodawana ilość kwasu cytrynowego była stała i wynosiła 0,5 g na 100 g gotowego produktu. Nieutralne termicznie wyroby przechowywano w słoikach przez 378 dni, bez dostępu światła, w temp. 6 ± 1 °C i 21 ± 1 °C. Analizy wykonywano co 42 dni.

Ogólną zawartość polifenoli oznaczano metodą Singletona i wsp. [33] z użyciem odczynnika Folina-Ciocalteu'a. Absorbancję mierzono w spektrofotometrze (Cecil CE 9500), przy długości fali $\lambda = 750$ nm, a wyniki wyrażano w mg kwasu galusowego na 100 g wyrobu.

Zawartość antocyjanów oznaczano metodą różnicowego pomiaru pH [21]. Absorbancję mierzono przy $\lambda = 510$ nm i $\lambda = 700$ nm, a całkowitą zawartość antocyjanów wyrażano w mg cyjanidyno-3-glukozydu na 100 g produktu.

Aktywność przeciwutleniającą oznaczano poprzez pomiar zdolności wygaszania wolnych rodników DPPH, wyrażanej jako EC_{50} [6]. Drugą miarę zdolności przeciwutleniających niskoprzetworzonych płatków róży pomarszczonej stanowiła siła redukująca mierzona przy $\lambda = 700$ nm [42].

Analizy wykonywano w trzech powtórzeniach, a otrzymane wyniki opracowano w programie CSS Statistica (Stat Soft, Tulsa, OK., USA). Obliczono wartości średnie i odchylenia standardowe oraz wyznaczono błędy pomiaru. Istotność różnic między średnimi weryfikowano testem t-Studenta na poziomie $p \leq 0,05$. Jednorodność grup ustalano testem RIR Tukeya. Stopień powiązania zmiennych określano współczynnikami korelacji liniowej Pearsona oraz poprzez analizę modeli regresji wielorakiej [10].

Wyniki i dyskusja

Parametry wyjściowe niskoprzetworzonych płatków róży pomarszczonej

Wartości EC_{50} oznaczone w produktach świeżych zawierających różne dodatki sacharozy nie różniły się istotnie pomiędzy sobą na poziomie $p \leq 0,05$ (tab. 1). Świadczy o tym niewielka różnica pomiędzy oznaczonymi skrajnymi wartościami tej wielkości ($\Delta = 0,2$) w porównaniu z błędami pomiaru ($s = 0,1$). Oznaczenia siły redukującej wyrobów wyjściowych także wskazują na brak wpływu dodatku sacharozy na ich początkową aktywność przeciwutleniającą ($\Delta = 0,17$; $s \approx 0,07$). Test RIR Tukeya zastosowany do tych zmiennych potwierdza brak statystycznie istotnego ($p \leq 0,05$) wpływu dodatku sacharozy na ich wartości początkowe. W przypadku polifenoli i antocyjanów zastosowany dodatek sacharozy wpłynął na zawartość tych związków w produktach wyjściowych, a statystyczna obróbka wyników z zastosowaniem testu Tukeya wykazała trzy grupy jednorodne w zakresie zawartości polifenoli i dwie w zakresie zawartości antocyjanów (tab. 1).

Tabela 1. Wartości początkowe badanych parametrów niskoprzetworzonych płatków róży pomarszczonej
Table 1. Initial values of analyzed parameters of low-processed wrinkled rose petals

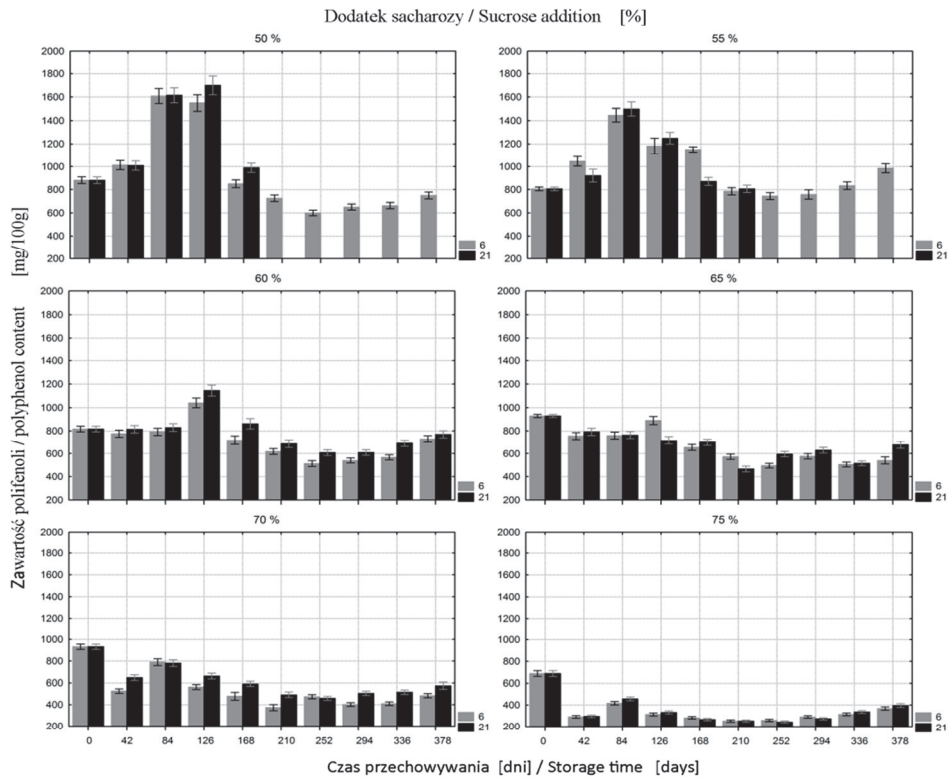
Dodatek sacharozy Sucrose addition [%]	Zawartość polifenoli Content of polyphenols [mg/100 g]	Zawartość antocyjanów Content of anthocyanins [mg/100 g]	EC_{50} [g/g DPPH]	Siła redukująca Reducing power (A_{700})
50	881 ^a ± 29	71 ^a ± 7	1,8 ^a ± 0,1	1,37 ^a ± 0,07
55	806 ^b ± 16	45 ^b ± 2	2,0 ^a ± 0,1	1,20 ^a ± 0,09
60	817 ^b ± 24	37 ^b ± 4	1,9 ^a ± 0,1	1,21 ^a ± 0,05
65	929 ^a ± 14	35 ^b ± 2	1,8 ^a ± 0,1	1,29 ^a ± 0,04
70	932 ^a ± 24	40 ^b ± 4	1,8 ^a ± 0,1	1,34 ^a ± 0,06
75	688 ^c ± 26	36 ^b ± 3	1,9 ^a ± 0,1	1,23 ^a ± 0,08

Objaśnienia: Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviations; wartości średnie oznaczone tą samą literą w kolumnach nie różnią się statystycznie istotnie na poziomie $p \leq 0,05$ / mean values in columns and designated by the same letter do not differ statistically significantly at $p \leq 0,05$.

Zmiany zawartości polifenoli w przechowywanych produktach

Zawartość związków polifenolowych w badanych produktach zmieniała się w czasie przechowywania nieregularnie. Na zmiany te wpływała również zawartość sacharozy (rys. 1). Przy wszystkich jej dodatkach obserwowano ogólny ubytek ilości polifenoli w czasie (jednak przy pewnym ponownym ich wzroście pod koniec okresu przechowywania), jak również wyraźny przyrost ich zawartości obserwowany w próbkach zawierających 50 i 60 % sacharozy do 126. dnia przechowywania. W próbkach zawierających 55 % sacharozy wzrost zawartości składników fenolowych występował jedynie do 84. dnia składowania. Test t-Studenta zastosowany do porównania średnich zawartości polifenoli oznaczonych w poszczególnych próbkach z wartościami zmierzonymi w sąsiednich do nich okresach składowania potwierdził statystyczną istotność tych różnic ($p < 0,01$).



Rys. 1. Wpływ czasu i temperatury przechowywania na zawartość polifenoli w niskoprzetworzonych płatkach róży pomarszczonej, zawierających różne dodatki sacharozy

Fig. 1. Effect of storage time and storage temperature on content of polyphenols in low-processed wrinkled rose petals containing different sucrose additions

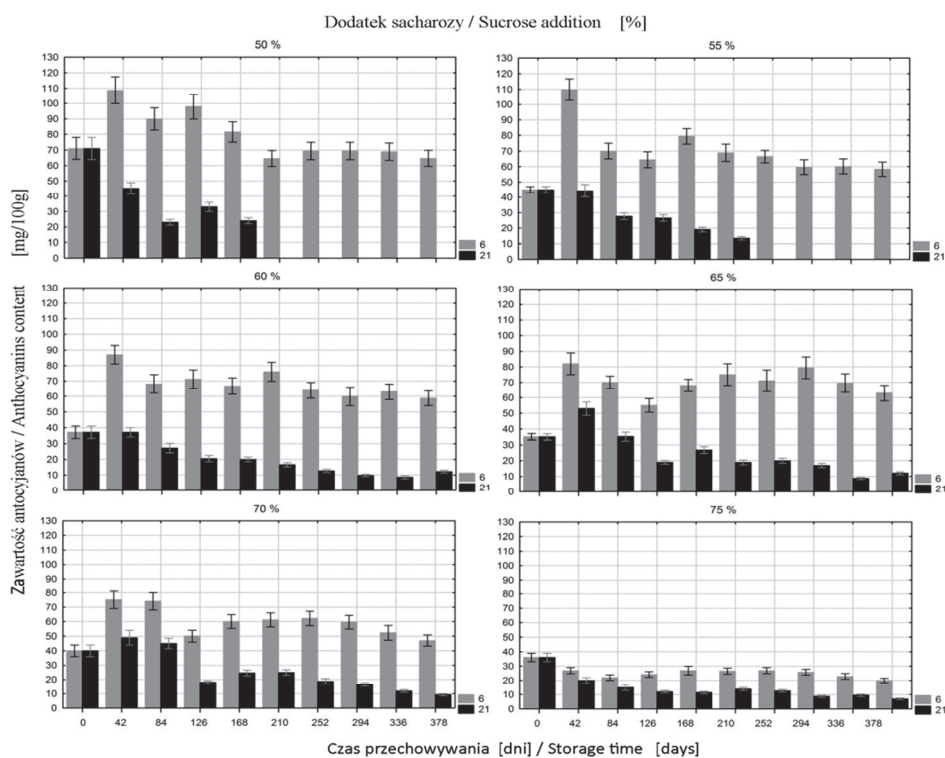
Stosowane temperatury składowania nie miały wpływu na zawartość polifenoli w przechowywanych produktach (rys. 1). Próbkę zawierającą 50- i 55-procentowy dodatek sacharozy, przechowywane w temp. 21 °C uległy mikrobiologicznemu zepsuciu (odpowiednio po 168 i 210 dniach). Na ich powierzchni stwierdzono obecność pleśni.

Obserwowane w niniejszej pracy zmiany zawartości polifenoli mogą być wynikiem ich przemian powodowanych reakcjami hydrolizy, utleniania, transestryfikacji i kompleksowania, w których związki te mogą brać udział w trakcie składowania produktów. Podobne tendencje w zmianach ilości polifenoli zaobserwowali Klimczak i wsp. [19], którzy po sześciu miesiącach przechowywania soków pomarańczowych w temp. 18, 28 i 38 °C stwierdzili, że zawartość tych związków wzrosła istotnie, mimo wcześniejszego zmniejszania się ich ilości. Autorzy ci sugerowali, że możliwą przyczyną tego zjawiska były nowo powstałe podczas składowania soków związki, które reagowały z odczynnikiem Folina-Ciocalteu'a. Arroyo-Lopez i wsp. [2] oznaczali metodą HPLC zawartość poszczególnych związków fenolowych w przechowywanych oliwkach w zalewie. Wzrost zawartości niektórych z tych substancji w czasie składowania wyrobu przypisali hydrolizie bardziej złożonych polifenoli, w wyniku czego zmiana ulegała również ogólna ilość polifenoli. Z kolei Murakami i wsp. [27] stwierdzili, że mieszanina czterech różnych polifenoli ogrzewana przez 180 h w temp. 100 °C była stosunkowo termostabilna, a ich rozkład następował stopniowo. Amakura i wsp. [1] wykazali brak większych zmian ogólnej ilości związków polifenolowych w dżemach z owoców jagodowych w stosunku do wyjściowej ich zawartości w surowcu. Z kolei Recamales i wsp. [32] stwierdzili zmniejszenie się ilości polifenoli w winie po 12 miesiącach jego składowania. Ubytek zawartości związków polifenolowych był mniejszy w materiale przechowywanym w temperaturze stałej ($17,5 \pm 2,5$ °C) niż w warunkach temperatury zmiennej (butelki z winem przechowywano w pomieszczeniu, w którym temperatura wahała się w zależności od pory dnia i roku).

Skupień i Wójcik-Stopczyńska [34] analizowały w trakcie zamrażalniczego przechowywania zmiany zawartości polifenoli w homogenatach z truskawek odmiany 'Elsanta' z 5- i 10-procentowym dodatkiem sacharozy oraz bez dodatku cukru. W trakcie pierwszych 6 miesięcy składowania ilość polifenoli zmniejszyła się istotnie we wszystkich wariantach przecierów. W homogenacie bez dodatku cukru ubytek ten był najmniejszy (o 11,2 %), natomiast w próbach słodzonych zmniejszenie zawartości polifenoli było większe i zbliżone do siebie (o ok. 14 %). Po następnych 6 miesiącach w przecierach bez dodatku cukru i z 5-procentowym jego dodatkiem zaobserwowano istotny wzrost zawartości polifenoli (powyżej wartości początkowych), a w wariacie z 10-procentowym dodatkiem sacharozy wystąpiło dalsze zmniejszenie zawartości związków polifenolowych (o 9 %).

Zmiany zawartości antocyjanów

W przeciwieństwie do polifenoli na zawartość antocyjanów w składowanych niskoprzetworzonych płatkach róży duży wpływ wywierała temperatura przechowywania (rys. 2). W próbkach zawierających 65 i 70 % sacharozy, przechowywanych w temp. 21 °C, oznaczona spektrofotometrycznie zawartość antocyjanów zwiększyła się w 42. dniu przechowywania (w próbce z zawartością 65 % sacharozy istotnie, $p = 0,003$; w próbce z 70-procentową zawartością sacharozy – nieistotnie, $p = 0,072$). Do końca trwania eksperymentu obserwowano stały ubytek tych związków. We wszystkich próbkach zawierających natomiast mniej niż 75 % sacharozy i składowanych w temp. 6 °C stwierdzono w pierwszych sześciu tygodniach wyraźny i istotny ($p < 0,01$) wzrost zawartości tych związków do wartości maksymalnych, które następnie powoli malały, pozostając jednak przez cały czas na poziomie istotnie wyższym ($p < 0,01$, z wyjątkiem próbki z 50-procentowym dodatkiem sacharozy) od zawartości wyjściowych.



Rys. 2. Wpływ czasu i temperatury przechowywania na zawartość antocyjanów w niskoprzetworzonych płatkach róży pomarszczonej, zawierających różne dodatki sacharozy

Fig. 2. Effect of storage time and storage temperature on content of anthocyanins in low-processed wrinkled rose petals containing different sucrose additions

Zawartość barwników antocyjanowych w próbkach składowanych w temp. 6 oraz 21 °C różniła się istotnie ($p < 0,001$) w trakcie całego okresu przechowywania wszystkich produktów zawierających mniej niż 75 % sacharozy. Można stwierdzić, że w próbkach składowanych w temp. 21 °C następowała większa redukcja tych związków niż w temp. 6 °C. Wielu autorów obserwowało w swoich badaniach podobne zjawiska [8, 13, 30, 35, 36, 39]. Odnotowany silny przyrost zawartości antocyjanów po 42 dniach składowania w temperaturze chłodniczej mógł być spowodowany nakładaniem się efektu kopigmentacji z zastosowaną spektrofotometryczną metodą oznaczania ilości barwników antocyjanowych. Zjawisko kopigmentacji jest jednym ze sposobów stabilizacji i zwiększania intensywności barwy na skutek oddziaływań pomiędzy antocyjanami a cząsteczkami kopigmentów. Kopigmentami mogą być flawonoidy, alkaloidy, aminokwasy, kwasy organiczne, nukleotydy, jony metali, a także same antocyjany. W wyniku kopigmentacji następuje zwiększenie intensywności barwy (efekt hiperchromowy) oraz przesunięcie maksimum absorpcji w kierunku fal dłuższych (efekt batochromowy) [23].

Antocyjany są wrażliwe na wiele czynników, w tym na pH, temperaturę, promieniowanie rozproszone czy obecność degradujących je enzymów, a także innych związków chemicznych. Sacharoza wykazuje zdolności wiązania wody i zwiększenie jej stężenia w roztworze powoduje zmniejszenie mogącej uczestniczyć w reakcjach chemicznych ilości H_2O w układzie, a tym samym wpływa na wzrost trwałości antocyjanów [37, 38]. Stasiak i wsp. [35] stwierdzili, że duża ilość sacharozy (65 %) dodanej do koncentratów barwników antocyjanowych zwiększyła trzykrotnie stabilność tych związków w stosunku do ich trwałości w napojach bez dodatku cukru i z 13-procentowym jego dodatkiem. Wrolstad i wsp. [40] wykazali niewielki, lecz statystycznie istotny efekt ochronny sacharozy w stosunku do monomerycznych barwników antocyjanowych w mrożonych truskawkach podczas trzyletniego ich przechowywania, co mogło być spowodowane działaniem sacharozy jako inhibitora enzymów rozkładających te barwniki lub jako czynnika blokującego reakcje kondensacji antocyjanów dzięki budowie i rozmiarom swojej cząsteczki chemicznej. W badaniach prowadzonych przez Kmiecika i wsp. [20] wpływ sacharozy na stabilność antocyjanów w mrożonych truskawkach był niewielki i zależał od zastosowanej postaci cukru (sacharoza krystaliczna drobno rozdrobniona z dodatkiem pektyny lub kwasu L-askorbinowego oraz syrop sacharozowy z analogicznymi dodatkami).

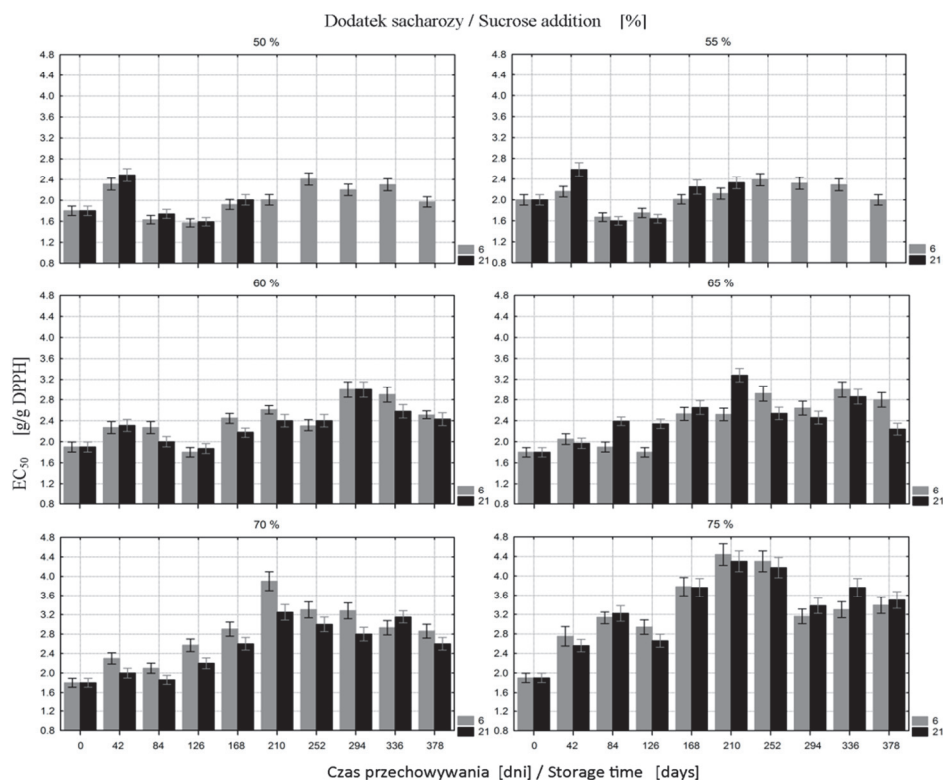
Oszmiański [31] opracował sposób otrzymywania i stabilizacji barwników z wyłoków aroniowych za pomocą flawonów z tarczycy bajkalskiej. Zastosowanie dodatków tarczycy bajkalskiej pozwoliło ograniczyć degradację antocyjanów w uzyskanych preparatach. Napoje zawierające barwniki antocyjanowe składowano w różnych warunkach. W doświadczeniu zostały zastosowane zróżnicowane dawki stabilizatora, które wykazywały maksimum działania po różnych okresach przechowywania napo-

jów. Podjęto również próbę utrwalenia barwników antocyjanowych w kompotach i dżemach truskawkowych przy udziale flawonów tarczycy bajkalskiej [17]. Dodatek stabilizatora wpłynął pozytywnie na trwałość czerwonej barwy oraz ilość antocyjanów tylko w dżemach truskawkowych. Wzbogacanie soków truskawkowych polifenolami płatków róży *Rosa damascena* [25] skutkowało ograniczeniem termicznej degradacji antocyjanów.

Antocyjany są związkami labilnymi i pod wpływem różnych czynników łatwo ulegają przemianom chemicznym. Podczas przechowywania produktów spożywczych generalnie następują straty antocyjanów na skutek ich degradacji. Istnieją jednak zjawiska, dzięki którym straty te mogą być ograniczane. Zalicza się do nich m.in. kopigmentację wewnątrz- i zewnątrzcząsteczkową oraz samoasocjację antocyjanów, która dotychczas nie została dokładnie poznana [7, 18]. Samoasocjacja antocyjanów powoduje dodatnie odchylenie od prawa Lamberta-Beera, co może sprawić, że zawartość antocyjanów liczona na podstawie oznaczeń spektrofotometrycznych może zostać zawyżona [7, 11, 14]. Ponadto zastosowana w pracy metoda różnicowego pH, chociaż pozwala na szybki pomiar całkowitych antocyjanów, zależy od obecności polimeryzowanych pigmentów zdegradowanych i innych związków, które mogą zakłócać obiektywność pomiaru [16]. Zmiany te są najintensywniejsze w początkowym okresie przechowywania, gdy najbardziej zaznacza się obecność substancji towarzyszących, mogących powodować wewnętrzne interakcje. Należy uwzględnić szereg różnych czynników, jak choćby zjawiska kopigmentacji, które mogą również przejawiać się efektem batochromowym i hiperchromowym [5, 7], co również nie pozostaje bez znaczenia, jeśli obliczenia stężenia antocyjanów w próbce bazują na pomiarach spektrofotometrycznych. Z najnowszych doniesień literatury wynika, że zjawiska kopigmentacji nie są natychmiastowe, ale mogą pojawiać się w próbce w miarę upływu czasu [11, 14]. Efekt kopigmentacji zależy od wielu zmiennych, takich jak rodzaj i stężenie kopigmentu, a efekt stabilizacji antocyjanów może być silniejszy przy niższych stężeniach reagentów [16, 18]. Podobny kierunek zmian ogólnej zawartości antocyjanów jak w niniejszej pracy, jednak na znacznie mniejszą skalę, zaobserwowano w badaniach modelowych z wykorzystaniem antocyjanów z różnych roślin i katechin zielonej herbaty podczas przechowywania w temp. 4 °C [16]. Przytoczone dane literaturowe oraz wyniki uzyskane w niniejszej pracy wskazują, że celowe jest prowadzenie dalszych badań z zastosowaniem bardziej selektywnych metod badawczych pozwalających na dokładne wyjaśnienie problemu. Jest to tym istotniejsze, że dane na temat składu chemicznego płatków róży, szczególnie frakcji kwasów fenolowych i flawonoidów są wciąż przedmiotem wielu badań, a prace na temat biologicznie aktywnych metabolitów płatków róży są nadal rzadkością [29].

Zmiany właściwości przeciwutleniających

Średnia aktywność przeciwutleniająca, oznaczona na podstawie ilości wygaszanego wolnego rodnika DPPH, badanych przetworów malała wraz ze zwiększającym się czasem składowania i wzrostem stężenia sacharozy w produkcie (rys. 3). Wyraźne zmniejszanie tej aktywności można zauważyć począwszy od 168. dnia składowania przede wszystkim w próbkach zawierających duże dodatki sacharozy. Średnie warunkowe EC_{50} dwóch przedziałów czasowych składowania (pierwszy – od 0 do 126 dni, drugi – od 168 do 378 dni) są istotnie ($p < 0,001$) różne bez względu na dodatek sacharozy. Obserwowane, pokrywające się w ramach błędów, wykresy średnich EC_{50} (rys. 3) grup o różnych temperaturach wskazują na brak wpływu temperatury przechowywania na wartości EC_{50} .

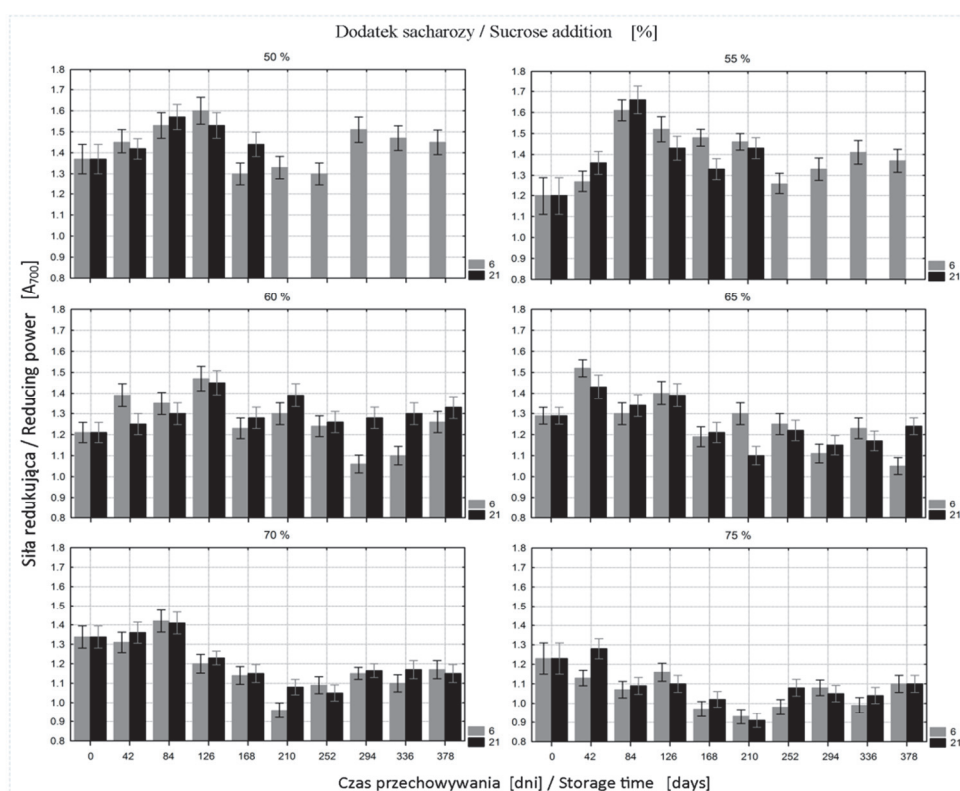


Rys. 3. Wpływ czasu i temperatury przechowywania na EC_{50} w niskopretworzonych płatkach róży pomarszczonej, zawierających różne dodatki sacharozy

Fig. 3. Effect of storage time and storage temperature on EC_{50} in low-processed wrinkled rose petals containing different sucrose additions

Najsilniejszymi właściwościami przeciwutleniającymi charakteryzowały się próbki zawierające 50 - 55 % sacharozy pomiędzy 84. a 126. dniem składowania. Wartości te różniły się istotnie ($p < 0,001$) od pozostałych EC_{50} wyrobów o tej samej zawartości cukru, ale innym czasie przechowywania.

Na rys. 4. przedstawiono zmiany średnich wartości siły redukującej w zależności od czasu i temperatury przechowywania oraz stężenia sacharozy. Zmiany te potwierdzają spostrzeżenia sformułowane przy omawianiu EC_{50} . Odwrotne przebiegi wykresów wskazują na wyraźną ujemną korelację między tymi wielkościami.



Rys. 4. Wpływ czasu i temperatury przechowywania na siłę redukującą w niskoprzetworzonych płatkach róży pomarszczonej, zawierających różne dodatki sacharozy

Fig. 4. Effect of storage time and storage temperature on reducing power in low-processed wrinkled rose petals containing different sucrose additions

Wartości współczynników korelacji pomiędzy wszystkimi badanymi parametrami przedstawiono w tab. 2. Wyliczone współczynniki korelacji wskazują, że o właściwościach przeciwutleniających badanych produktów z płatków róży pomarszczonej decyduje głównie zawartość związków polifenolowych. Potwierdzają to wysokie wartości

współczynników korelacji ($r = -0,81$ i $r = 0,83$) między zawartością polifenoli i obiema miarami aktywności antyoksydacyjnej, tj. EC_{50} i siłą redukującą. Wpływ dodanej sacharozy jest widoczny, ale jej korelacja ($r = -0,75$) z zawartością polifenoli pozwala przypuszczać, że jest to wpływ pośredni. Dodatek sacharozy prawdopodobnie zmienia stężenie polifenoli, a tym samym także właściwości przeciwutleniające produktów. Wpływ czasu składowania i zawartości antocyjanów na aktywność przeciwutleniającą wyrobów jest niewielki ($r = 0,35 \div 0,4$) i może wynikać z wzajemnych interakcji pomiędzy tymi parametrami a zawartością polifenoli i sacharozy. Temperatura składowania miała wpływ tylko na zawartość antocyjanów.

Tabela 2. Współczynniki korelacji pomiędzy badanymi parametrami przechowywanych niskoprzetworzonych płatków róży

Table 2. Correlation coefficients between analyzed parameters of stored low-processed wrinkled rose petals

Parametry Parameters	Siła redukująca Reducing power	EC_{50}	Antocyjany Anthocyanins	Polifenole Polyphenols	Czas składowania Storage time	Dodatek sacharozy Sucrose addition
Temperatura Temperature	0,04	-0,05	-0,73*	0,07	-0,09	0,00
Dodatek sacharozy Sucrose addition	-0,70*	0,67*	-0,48*	-0,75*	0,00	-
Czas składowania Storage time	-0,37*	0,41*	-0,20	-0,39*	-	-
Polifenole Polyphenols	0,83*	-0,81*	0,34*	-	-	-
Antocyjany Anthocyanins	0,36*	-0,39*	-	-	-	-
EC_{50}	-0,84*	-	-	-	-	-

Objaśnienia: Explanatory notes:

* – współczynniki korelacji istotne na poziomie $p = 0,001$ / correlation coefficients, which are significant at $p = 0.001$.

Wnioski wynikające z analizy współczynników korelacji potwierdził model regresji wielorakiej dotyczący zdolności wygaszania wolnych rodników (EC_{50}). Z modelu uwzględniającego 5 badanych parametrów jako zmiennych objaśniających wynika, że wpływ antocyjanów i temperatury na EC_{50} nie jest istotny, natomiast zależność od pozostałych zmiennych (polifenole, sacharoza i czas przechowywania) jest istotna (wszystkie z $p < 0,00001$) i opisuje ją równanie regresji:

$$EC_{50} = 1,835 \pm 0,33 - 0,0011 \pm 0,0001 \times \text{Polifenole} + 0,0186 \pm 0,004 \times \text{Sacharoza} + 0,00137 \pm 0,0002 \times \text{Czas}$$

Miara dyspersji wartości obserwowanych wokół linii regresji jest równa 0,385, a poprawiona wartość współczynnika determinacji $R^2 = 0,66$, co oznacza, że model opisywany powyższym równaniem wyjaśnia około 66 % ogólnej zmienności EC_{50} .

Benvenuti i wsp. [4], analizując właściwości przeciwutleniające aronii i różnych odmian malin oraz porzeczek, stwierdzili mniejszy wpływ zawartości antocyjanów niż polifenoli ogółem na aktywność przeciwutleniającą tych owoców, mierzoną zdolnością wygaszania wolnych rodników DPPH. Podobne zależności wykazali Moyer i wsp. [22], Chaovanalikit i Wrolstad [9] oraz Lohachoompol i wsp. [18]. Niskoprzetworzone płatki róży pomarszczonej charakteryzowały się wysoką aktywnością przeciwutleniającą, która utrzymywała się na stosunkowo wyrównanym poziomie przez ponad cztery miesiące przechowywania w obu temperaturach składowania. Produkty te utrwalone łagodną osmoaktywną metodą, zawierające co najmniej 60 % cukru, mogą zatem stanowić źródło stabilnych przeciwutleniaczy pochodzących z bardzo nietrwałego surowca roślinnego, jakim są płatki kwiatów jadalnych. Przeprowadzane obserwacje wskazują, że wyroby o mniejszej zawartości cukru (50 ÷ 55 %) powinny być przechowywane w temperaturze chłodniczej.

Wnioski

1. Temperatura przechowywania nie miała wpływu na zawartość polifenoli, natomiast wpływała istotnie ($r = -0,73$, $p = 0,001$) wyłącznie na zawartość antocyjanów w badanych produktach.
2. Dodatek sacharozy silnie wpływał na zawartość polifenoli ($r = -0,75$, $p = 0,001$) w produktach podczas ich przechowywania, a pośrednio również na właściwości przeciwutleniające badanych wyrobów.
3. Do 126. dnia składowania w próbkach o zawartości 50 i 60 % sacharozy obserwowano wzrost zawartości związków polifenolowych, których ilość zmniejszała się następnie wraz z wydłużającym się czasem przechowywania. W próbach zawierających 55 % sacharozy wzrost zawartości składników fenolowych występował jedynie do 84. dnia składowania.
4. Wykazano silną zależność pomiędzy zawartością polifenoli w badanych produktach a ich właściwościami przeciwutleniającymi (siłą redukującą – $r = 0,83$ oraz EC_{50} – $r = -0,81$; $p = 0,001$).
5. Najsilniejsze właściwości przeciwutleniające wykazywały produkty o zawartości sacharozy 50 ÷ 55 % pomiędzy 84. a 126. dniem przechowywania. Po upływie tego czasu obserwowano obniżenie aktywności przeciwutleniającej wszystkich badanych produktów.

Literatura

- [1] Amakura Y., Umino Y., Tsuji S., Tonogai Y.: Influence of jam processing on the radical scavenging activity and phenolic content in berries. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, **48**, 6292-6297.
- [2] Arroyo-Lopez F.N., Duran-Quintana M.C., Romero C., Rodriguez-Gomez F., Garrido-Fernandez A.: Effect of storage process on the sugars, polyphenols, color and microbiological changes in cracked Manzanilla-Alorena table olives. *J. Agric. Food Chem.*, 2007, **55**, 7434-7444.
- [3] Benvenuti S., Pellati F., Melegari M., Bertelli D.: Polyphenols, anthocyanins, Ascorbic acid, and radical scavenging activity of *Rubus*, *Ribes*, and *Aronia*. *Food Chem. Toxicol.*, 2004, **69** (3), 164-169.
- [4] Bhaskar J.J., Shobha M.S., Sambaiah K., Salimath P.V.: Beneficial effects of banana (*Musa* sp. Var. elakki bale) flower and pseudostem on hyperglycemia and advanced glycation end-products (AGEs) in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Physiol Biochem.*, 2011, **67**, 415-425.
- [5] Boulton R.: The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: A critical review. *Am. J. Enol. Viticul.*, 2001, **52**, 67-87.
- [6] Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C.: Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm.-Wiss.u.-Technol.*, 1995, **28** (1), 25-30.
- [7] Cavalcanti R.N., Santos D.T., Meireles M.A.A.: Non-thermal stabilization mechanisms of anthocyanins in model and food systems - An overview. *Food Res. Int.*, 2011, **44**, 499-509.
- [8] Cendrowski A., Mitek M., Siestrzewitowska K.: Wpływ procesu technologicznego na zawartość antocyjanów i barwę konfitur z płatków róży pomarszczonej (*Rosa rugosa*). *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **5** (84), 47-59.
- [9] Chaovanalikit A., Wrolstad R.E.: Total anthocyanins and total phenolics of fresh and processed cherries and their antioxidant properties. *J. Food Sci.*, 2004, **69** (1), 67-72.
- [10] Czermiński J.B., Iwasiewicz A., Paszek Z., Sikorski A.: *Metody statystyczne dla chemików*. PWN, Warszawa 1991.
- [11] Fei He, Na-Na L., Lin Mu, Qiu-Hong P., Jun Wang, Reeves M.J., Chang-Qing D.: Anthocyanins and their variation in red wines I. Monomeric anthocyanins and their color expression. *Molecules*, 2012, **17** (2), 1571-1600.
- [12] Fu M., Ng T.B., Jiang Y., Pi Z.F., Liu Z.K., Li L., Liu, F.: Compounds from rose (*Rosa rugosa*) flowers with human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase inhibitory activity. *J. Pharm. Pharmacol.*, 2006, **58** (9), 1275-1280.
- [13] Garcia-Viguera C., Zafrilla P., Romero F., Abellán P., Artés F., Tomás-Barberán F.A.: Color stability of strawberry jam as affected by cultivar and storage temperature. *J. Food Sci.*, 1999, **64** (2), 243-247.
- [14] González-Manzano S., Santos-Buelga C., Duenas M., Rivas-Gonzalo J.C., Escribano-Bailón T.: Colour implications of self-association processes of wine anthocyanins. *Eur. Food Res. Technol.*, 2008, **226**, 483-490.
- [15] Hashidoko Y.: The phytochemistry of *Rosa rugosa*. *Phytochemistry*, 1996, **43**, 535-549.
- [16] Hui-Chun Hsiao B.S.: Anthocyanin color enhancement by using catechin as copigments and stability during storage. Thesis. Presented in Partial Fulfilment of the Requirements for the Degree Master in the Graduate School of The Ohio State University. Graduate Program in Food Science and Technology. Advisor: Dr. M. Monica Giusti. The Ohio State University 2014.
- [17] Kalisz B., Kalisz S., Oszmiański J.: Wpływ flawonoidów tarczycy bajkalskiej na aktywność przeciwutleniającą i stabilizację antocyjanów oraz barwę kompotów i dżemów truskawkowych. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 2004, **3** (1), 73-83.

- [18] Kalisz S., Oszmiański J., Hładyszowski J., Mitek M. Stabilization of anthocyanin and skullcap flavone complexes – Investigations with computer simulation and experimental methods. *Food Chem.*, 2013, **138**, 491-500.
- [19] Klimczak I., Małecka M., Szlachta M., Gliszczyńska-Świgło A.: Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. *J. Food Comp. Anal.*, 2007, **20**, 313-322.
- [20] Kmiecik W., Jaworska G., Lisiewska Z.: Effect of sucrose, L-ascorbic acid and pectin on the quality of frozen strawberries. *EJPAU, Food Sci. Technol.*, 2000, **3 (2)**, www.ejpau.media.pl.
- [21] Lee J., Durst R.W., Wrolstad R.E.: Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. *J. AOAC Int.*, 2005, **88 (5)**, 1269-1278.
- [22] Lohachoompol V., Szrednicki G., Craske J.: The change of total anthocyanins in blueberries and their antioxidant effect after drying and freezing. *J. Biomed. Biotechnol.*, 2004, **5**, 248-252.
- [23] Mazza G., Brouillard R.: The mechanism of co-pigmentation of anthocyanins in aqueous solutions. *Phytochemistry*, 1990, **29**, 1097-1102.
- [24] Mlcek J., Rop O.: Fresh edible flowers of ornamental plants – A new source of nutraceutical foods. *Trends Food Sci. Technol.*, 2011, **22**, 561-569.
- [25] Mollov P., Mihalev K., Shikov V., Yoncheva N., Karagyozov V.: Colour stability improvement of strawberry beverage by fortification with polyphenolic copigments naturally occurring in rose petals. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2007, **8**, 318-321.
- [26] Moyer R.A., Hummer K.E., Finn C.E., Frei B., Wrolstad R.E.: Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity in diverse small fruits: *Vaccinium*, *Rubus*, and *Ribes*. *J. Agric. Food Chem.*, 2002, **50 (3)**, 519-525.
- [27] Murakami M., Yamaguchi T., Takamura H., Matoba T.: Effects of thermal treatment on radical-scavenging activity of single and mixed polyphenolic compounds. *JFS: Food Chem. Toxicol.*, 2004, **69 (1)**, 7-10.
- [28] Ng T.B., He J.S., Niu S.M., Zhao L., Pi Z.F., Shao W., Liu F.: A gallic acid derivative and polysaccharides with antioxidant activity from the rose (*Rosa rugosa*) flowers. *J. Pharm. Pharmacol.*, 2004, **56 (4)**, 537-545.
- [29] Nowak R., Olech M., Pecio Ł., Oleszek W., Los R., Malm A., Rzymowska J.: Cytotoxic, antioxidant, antimicrobial properties and chemical composition of rose petals. *J. Sci. Food Agric.* 2013, 2014, **94 (3)**, 560-567.
- [30] Ochoa M.R., Kessler A.G., Vullioud M.B., Lozano J.E.: Physical and chemical characteristics of raspberry pulp: storage effect on composition and color. *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.*, 1999, **32**, 149-153.
- [31] Oszmiański J.: Stabilizacja i zastosowanie barwnika antocyjanowego aronii do barwienia napojów. *Acta Sci. Pol., Technol. Alimen.*, 2002, **1 (1)**, 37-45.
- [32] Recamales. Á.F., Sayago A., González-Miret M.L., Hernaz D.: The effect of time and storage conditions on the phenolic composition and colour of white wine. *Food Res. Int.*, 2006, **39**, 220-229.
- [33] Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M.: Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Cocalteau reagent. *Method. Enzymol.*, 1999, **299**, 152-178.
- [34] Skupień K., Wójcik-Stopczyńska B.: Ocena jakości przecierów z truskawek odmiany 'Elsanta'. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 2005, **4 (2)**, 25-35.
- [35] Stasiak A., Pawlak M., Sosnowska D., Wilska-Jeszka J.: Szybkość degradacji barwników antocyjanowych i kwasu askorbinowego w roztworach o różnych stężeniach sacharozy. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 1998, **12**, 33-34.

- [36] Ścibisz I., Gasik A., Mitek M., Cendrowski A.: Wpływ warunków przechowywania na barwę dżemów z owoców kolorowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, **1** (74), 99-111.
- [37] Tsai P.J., Huang H-P.: Effect of polymerization on the antioxidant capacity of anthocyanins in Roselle. *Food Res. Int.*, 2004, **37**, 313-318.
- [38] Tsai P.J., Delva L., Yu T. Y., Huang Y.T., Dufossé L.: Effect of sucrose on the anthocyanin and antioxidant capacity of mulberry extract during high temperature heating. *Food Res. Int.*, 2005, **38**, 1059-1065.
- [39] Wicklund T., Rosenfeld H.J., Martinsen B.K., Sundfør M.W., Lea P., Bruun T., Blomhoff R., Haffner K.: Antioxidant capacity and colour of strawberry jam as influenced by cultivar and storage conditions. *Lebensm.-Wiss.u.-Technol.*, 2005, **38**, 387-391.
- [40] Wrolstad R.E., Skrede G., Lea P., Enersen G.: Influence of sugar on anthocyanin pigment stability in frozen strawberries. *J. Food Sci.*, 1990, **55** (4), 1064-1065, 1072.
- [41] Xie Y., Zhang W.: Antihypertensive activity of *Rosa rugosa* Thunb. Flowers: angiotensin I converting enzyme inhibitor. *J. Ethnopharmacol.*, 2012, **144** (3), 562-566.
- [42] Yen G.-C., Chen H.-Y.: Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *J. Agric. Food Chem.*, 1995, **43**, 27-32.

ANTIOXIDANT PROPERTIES OF LOW-PROCESSED WRINKLED ROSE (*ROSA RUGOSA*) PETALS

Summary

The objective of the research study was to assess the impact of sucrose addition as well as of temperature and storage time of low-processed products produced from wrinkled rose (*Rosa rugosa*) petals on the content of phenolic compounds and antioxidant properties. The products to be analyzed were made by adding 0.5 % of citric acid and 50 - 75 % of sucrose. Next, those products were stored during a period of 378 days at a temperature of 6 and 21°C. It was found that the storage temperature had a significant impact on the anthocyanin content in the products analyzed; however, it did not significantly affect the content of polyphenols therein and their antioxidant properties. In the samples containing 50 and 60 % of sucrose, an increase in the content of total polyphenols was reported after a 126 day storage period (to a level of 1720 mg/100 g and 1150 mg/100 g, respectively); after that period, their quantity decreased along with the extension of storage time (to a level of 770 mg/100 g and 778 mg/100 g, respectively). The strongest antioxidant properties, expressed both as EC₅₀ (1.6 g/g DPPH) and as the reducing power (1.67 A₇₀₀), had the products with 50 - 55 % of sucrose, between the 84th and 126th day of storage. After this time, a decrease in the antioxidant activity was reported.

Key words: low-processed *Rosa rugosa* petals, antioxidant activity, polyphenols, anthocyanins 

GRAŻYNA GOZDECKA, JOANNA KANIEWSKA, MAREK DOMORADZKI,
KATARZYNA JĘDRYCZKA

OCENA ZAWARTOŚCI WYBRANYCH SKŁADNIKÓW BIOAKTYWNYCH W PRZETWORACH Z BORÓWKI CZERNICY

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu sposobu przygotowania przetworów z borówki czernicy na zawartość wybranych związków przeciwutleniających. Materiał do badań stanowiły przetwory otrzymane z owoców zebranych w lasach województwa kujawsko-pomorskiego. Przetwory przygotowano ze świeżych oraz mrożonych owoców według domowych receptur. Badaniom poddano owoce mrożone, dżem niskosłodzony, syrop przygotowany „na ciepło”, syrop przygotowany „na zimno” oraz zupy borówkowe w dwóch wariantach. W przetworach oznaczono ekstrakt ogólny, pH, zawartość polifenoli ogółem oraz antocyjanów. Spośród badanych produktów największą zawartością polifenoli i antocyjanów charakteryzował się syrop, który nie był poddany obróbce termicznej, tzw. na zimno, odpowiednio: 1859 mg GAE/100 g i 549 mg/100 g. Dodatek soku z cytryny do zupy przed gotowaniem ograniczył degradację antocyjanów i ich zawartość (414 mg/100 g owoców) nie różniła się istotnie ($p \leq 0,05$) w porównaniu z ich ilością w zupie przygotowanej z owoców mrożonych (444 mg/100 g). Wraz z wydłużaniem czasu obróbki cieplnej następowało zwiększanie degradacji badanych związków nawet do 80 % zawartości początkowej antocyjanów.

Słowa kluczowe: borówka czernica, przetwory, polifenole, antocyjany

Wprowadzenie

Szczególną rolę w profilaktyce tzw. chorób cywilizacyjnych przypisuje się przeciwutleniaczom znajdującym się w owocach i warzywach [15, 27]. Należą do nich m.in. kwas askorbinowy, tokoferole, kwasy organiczne, selen, a także liczna grupa związków polifenolowych, do których zalicza się m.in. kwasy fenolowe, izoflawony czy antocyjany. Polifenole wykazują zdolność neutralizacji szkodliwego działania

*Dr inż. G. Gozdecka, mgr inż. J. Kaniewska, dr hab. inż. M. Domoradzki, prof. UTP, inż. K. Jędryczka,
Katedra Aparatury i Technologii Żywności, Wydz. Technologii i Inżynierii Chemicznej, Uniwersytet
Technologiczno-Przyrodniczy w Bydgoszczy, ul. Seminaryjna 3, 85-326 Bydgoszcz.
Kontakt: grazyna.gozdecka@utp.edu.pl*

wolnych rodników, a ponadto wpływają na zmniejszenie stężenia cholesterolu w surowicy krwi oraz na obniżenie ciśnienia tętniczego [21]. Dużą aktywnością przeciwutleniającą charakteryzują się owoce jagodowe, wśród których na szczególną uwagę zasługuje borówka czernica.

Borówka czernica (*Vaccinium myrtillus* L.) powszechnie występuje w lasach Azji, Europy i Ameryki Północnej. Jej owoce, zależnie od odmiany, warunków wzrostu i terminu zbioru zawierają $25 \div 497$ mg/100 g antocyjanów, które nadają ciemnogrnatą barwę wszystkim jej produktom [10]. Häkkinen i Törrönen [5] stwierdzili, że mogą występować różnice zarówno pod względem zawartości związków fenolowych, jak i ich składu w zależności od geograficznego miejsca zbioru owoców. W borówce czernicy wykryto 18 związków z grupy antocyjanów, wśród których największy udział mają pochodne delfinidyny i cyjanidyny, odpowiednio: 29,73 i 29,6 %. W owocach tych występują jeszcze pochodne malwidyny (16,97 %), petunidyny (16,96 %) i peonidyny (6,57 %) [20]. Owoce borówki czernicy zawierają także kwasy fenolowe, takie jak galusowy, na poziomie $614 \div 800$ mg/100 g [15, 16].

Antocyjany są naturalnymi barwnikami zaliczanymi do grupy flawonoidów, odpowiedzialnymi za niebieską, purpurową lub czerwoną barwę owoców i kwiatów [11]. Związki te charakteryzują się małą stabilnością z powodu ich wrażliwości na wiele czynników środowiskowych. W zależności od odczynu środowiska, w jakim się znajdują, ulegają one przemianom, co skutkuje zmianą ich barwy [29]. Czynnikiem wpływającym niekorzystnie na zawartość antocyjanów są enzymy z grupy fenolaz i polifenolaz. Stopień degradacji barwników antocyjanowych zależy również od temperatury, która w wyższych zakresach bardzo intensywnie przyspiesza ich rozkład. Także obecność tlenu wpływa niekorzystnie na poziom zawartości antocyjanów, a jego usunięcie może powodować istotne zmniejszenie efektów degradacji. Ekspozycja barwników antocyjanowych na światło rozproszone działa podobnie jak wysoka temperatura, natomiast duże stężenie cukru (powyżej 20 %) chroni je [6, 14, 22].

Antocyjany borówki czernicy wykazują szerokie działanie prozdrowotne, m.in. wpływają na zmniejszenie przepuszczalności i kruchości naczyń krwionośnych, hamują agregację płytek krwi, poprawiają widzenie po zmierzchu i adaptację do ciemności, a także chronią siatkówkę przed uszkodzeniami [12, 17]. Podejmowane są również badania mające na celu określenie właściwości przeciwnowotworowych antocyjanów pochodzących z gatunku *Vaccinium* [12]. Wywary z borówki czernicy mają właściwości przeciwzapalne, przeciwbiegunkowe i przeciwwrzodowe, dlatego stosowane są w niezżytach żołądka i jelit oraz w leczeniu infekcji dróg moczowych i szkorbutu [17]. Borówka czernica przerabiana jest często w gospodarstwach domowych na dżemy, soki czy nalewki.

Celem pracy było określenie wpływu sposobu przygotowania przetworów z borówki czernicy na zawartość w nich wybranych związków przeciwutleniających.

Materiały i metody badań

Materiałem do badań były mrożone owoce borówki czernicy oraz produkty przygotowane ze świeżych oraz mrożonych owoców według domowych receptur. Owoce borówki zebrano w lasach Dąbrowy Chełmińskiej koło Bydgoszczy na początku lipca 2012 roku. Przetwory przygotowano zgodnie z poniższym opisem:

- A – owoce mrożone – świeże owoce zapakowano próżniowo w opakowaniach z PE o pojemności 250 cm³, zamrażano i przechowywano w temp. -22 °C przez 90 dni;
- B – dżem wytworzono ze świeżych owoców borówki czernicy i cukru żelującego z udziałem pektyn Żelfix 3 : 1 Dr. Oetker (wsad 75 g owoców i 25 g cukru). Po zagotowaniu owoców z cukrem produkt utrzymywano w stanie wrzenia przez 15 min, następnie masę rozlewano do wysterylizowanych opakowań szklanych, zamykano i chłodzono do temp 4 °C. Oznaczenia wykonywano w ciągu 24 h od rozlania dżemu;
- C – syrop „na ciepło” otrzymywano przez zasypanie świeżych owoców cukrem w stosunku wagowym 1 : 1, zagotowanie i utrzymanie w stanie wrzenia przez 5 min. Następnie miazgę oddzielano na sicie, a syropem napełniano wysterylizowane opakowania szklane, zamykano je i chłodzono do temp 4 °C. Oznaczenia wykonywano w ciągu 24 h od rozlania syropu;
- D – syrop „na zimno” otrzymywano przez zasypanie świeżych owoców cukrem w stosunku wagowym 1 : 1 i pozostawienie mieszaniny na 60 dni w temp. 20 ± 2 °C bez dostępu światła. Po tym czasie miazgę oddzielano na sicie, a syropem napełniano wysterylizowane opakowania szklane. Zamykano je i przechowywano w warunkach chłodniczych (4 °C). Oznaczenia wykonywano w ciągu 24 h od rozlania syropu;
- E1, E2 – zupa borówkowa z dodatkiem soku z cytryny, przygotowana na podstawie składu surowcowego zupy Sagolika Blåbärssoppa dostępnej na rynku duńskim, z owoców mrożonych (85 g) i cukru (90 g) w 1 dm³ wody. Do zupy E1 dodawano 5 cm³ soku z cytryny przed rozpoczęciem gotowania, do zupy E2 dodawano tę samą ilość soku po zakończeniu gotowania. Po osiągnięciu stanu wrzenia do przygotowywanych zup dodawano 12 g skrobi ziemniaczanej rozpuszczonej w 25 cm³ zimnej wody, następnie ponownie doprowadzono je do stanu wrzenia. Zupy o zawartości owoców wynoszącej 7 % (m/m) przelewano do wysterylizowanych opakowań szklanych, zamykano i przechowywano w warunkach chłodniczych w temp. 4 °C. Oznaczenia wykonywano następnego dnia po przygotowaniu zup.

We wszystkich produktach mierzono ekstrakt ogólny refraktometrem J257 firmy Rudolph Research Analytical [18], natomiast pH produktów mierzono pH-metrem CPC-505 firmy ELMETRON. Owoce mrożone przed oznaczeniami poddawano

homogenizacji w homogenizatorze laboratoryjnym H-500 firmy POL-EKO (20000 obr./min przez 3 min). Zawartość związków polifenolowych oznaczano spektrofotometrycznie w spektrofotometrze Rayleigh UV 2601 przy $\lambda = 765$ nm według zmodyfikowanej metody z odczynnikiem Folin-Ciocalteu'a w przeliczeniu na kwas galusowy (GAE) [28]. Zawartość antocyjanów oznaczano metodą różnicowanego pH przy $\lambda = 510$ nm w przeliczeniu na cyjanido-3-glukozyd [4].

W celu oznaczenia zawartości antocyjanów w owocach oraz dżemach pobierano 20 g produktu i poddawano 3-minutowej homogenizacji (20000 obr./min) ze 100 cm³ mieszaniny metanolu z 1,5-molowym kwasem solnym (85 : 15). Homogenat odwirowywano przez 20 min w wirówce przy 4000 obr./min. Do oznaczeń pobierano klarowną ciecz. Pozostałe produkty były odpowiednio rozcieńczane buforami, tak aby przeprowadzić pomiar spektrofotometryczny w zakresie absorbancji od 0,3 do 0,8. W zależności od próbki współczynnik rozcieńczenia (DF) wynosił od 12,5 w przypadku dżemu do 42 – syropu otrzymanego „na zimno”.

Wszystkie oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach. Uzyskane wyniki zawartości antocyjanów i polifenoli przeliczono na 100 g owoców w badanych produktach.

Wyniki poddano analizie statystycznej w programie Statistica 10, stosując jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA). Istotność różnic pomiędzy wartościami średnimi weryfikowano testem Tukeya, na poziomie istotności $p = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Najmniejszą zawartością ekstraktu charakteryzowały się owoce mrożone (A) i zupy (E1 i E2). Wartość ekstraktu w tych produktach nie różniła się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$). Natomiast dżem niskosłodzony (B) różnił się istotnie ($p \leq 0,05$) pod względem zawartości ekstraktu (39,5 %) od pozostałych przetworów. Wartość ta była znacznie wyższa od ekstraktu w owocach i zupach i znacznie niższa od ekstraktu w syropach. Jak podają Drużyńska i Plewka [2], ekstrakt w tej grupie produktów powinien wynosić 60 %, co oznacza, że syropy otrzymane według domowych receptur nie osiągnęły tego poziomu ze względu na mniejszy ekstrakt (C – 50,3 %, D – 47,0 %). Ekstrakt w dżemie (B) (39,5 %) zawierał się w granicach przyjętych dla dżemu niskosłodzonego i był analogiczny z wartościami ekstraktu dżemów otrzymanych przez Cendrowskiego i wsp. [1] oraz Ścibisz i Mitek [23]. Giovanelli i Buratti [3] w dziko rosnących owocach borówek oznaczyły 11,1 % ekstraktu, a w uprawnych – 10,8 %. Należy jednak zaznaczyć, że różnice w ekstrakcie mogą być spowodowane wieloma czynnikami, np. warunkami pogodowymi czy stopniem dojrzałości owoców.

Badane przetwory były znacznie mniej zróżnicowane pod względem wartości pH niż w zakresie ekstraktu ogólnego. Kwasowość (pH) zupy, do której dodano sok z cytryny przed jej obróbką termiczną (E1), była najwyższa (pH = 3,91), natomiast

zupa E2 charakteryzowała się niższym pH = 3,49. Owoce mrożone (A) oraz pozostałe przetwory (B, C, D) charakteryzowały się pH niższym, wynoszącym ok. 3,1 i nieróżniącym się istotnie ($p \leq 0,05$) od pH zupy E2 (tab. 1). Przyjmuje się, że pH dżemów niskosłodzonych powinno wynosić od 3 do 6, ze względu na warunki żelowania dodawanych w procesie technologicznym pektyn [25]. Cendrowski i wsp. [1] oraz Ścibisz i Mitek [23], badając dżemy m.in. z borówki wysokiej, uzyskali znacznie niższe wartości (pH ok. 2,31), co może być związane m.in. z różnym stopniem dojrzałości owoców. Giovanelli i Buratti [3] uzyskały pH owoców borówek dziko rosnących i uprawnych zbliżone do otrzymanych w niniejszej pracy, a mianowicie: 3,13 i 3,22.

Tabela 1. Ekstrakt ogólny i pH przetworów przygotowanych z owoców borówki czernicy
Table 1. Total soluble solids and pH of preserves made from bilberry fruits

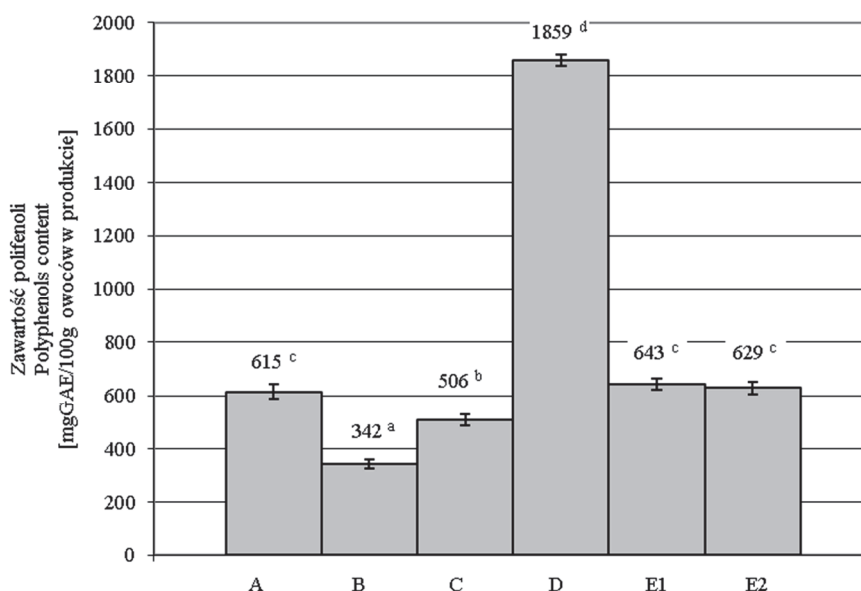
Parametr Parameter	Badane przetwory / Products analyzed					
	A Owoce mrożone Frozen fruits	B Dżem Jam	C Syrop „na ciepło” Syrup made ‘with heat’	D Syrop „na zimno” Syrup made ‘without heat’	E1 Zupa borówkowa wariant I Bilberry soup – variant I	E2 Zupa borówkowa wariant II Bilberry soup – variant II
Ekstrakt ogólny Total soluble solids [%]	9,1 ^a ± 0,2	39,5 ^b ± 0,5	50,3 ^d ± 0,7	47,0 ^c ± 0,7	11,1 ^a ± 0,7	11,0 ^a ± 0,6
pH	3,09 ^a ± 0,1	3,09 ^a ± 0,1	3,10 ^a ± 0,2	3,04 ^a ± 0,2	3,91 ^b ± 0,2	3,49 ^{ab} ± 0,2

Objaśnienia: / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviations; n = 6; a, b, c, d – wartości średnie oznaczone tymi samymi literami w obrębie tego samego parametru (w wierszach) nie różnią się statystycznie istotnie ($p = 0,05$) / mean values within the same parameter and denoted by the same letters do not differ statistically significantly ($p = 0,05$).

Na rys. 1. przedstawiono wyniki oznaczania związków fenolowych w badanych produktach, w przeliczeniu na 100 g owoców w produkcie. Największą zawartością polifenoli charakteryzował się syrop borówkowy otrzymany „na zimno” (D – 1859 mg GAE). Owoce podczas przygotowania syropu „na zimno” były poddane długotrwałej maceracji (60 dni) cukrem, podczas której związki polifenolowe mogły stopniowo uwalniać się ze struktur komórkowych i przechodzić w zdecydowanej większości do syropu. Taka obróbka mogła spowodować uzyskanie większej zawartości polifenoli w syropie „na zimno” niż w owocach mrożonych, które poddano tylko krótkotrwałej homogenizacji. Całkowita zawartość polifenoli w owocach mrożonych wyniosła ok.

615 mg GAE/100 g. Giovanelli i Buratti [3] uzyskały zbliżone wartości w owocach borówki rosnącej w rejonie Abetone we Włoszech (577 i 614 mg GAE/100 g). Najmniejszą zawartością związków polifenolowych charakteryzowały się przetwory, których wytworzenie wiązało się z oddziaływaniem podwyższonej temperatury – dżem (B – 342 mg GAE/100 g) i syrop „na ciepło” (C – 506 mg GAE/100 g). Produkty te zawierały istotnie mniej ($p \leq 0,05$) polifenoli w przeliczeniu na kwas galusowy w porównaniu z ich zawartością w syropie „na zimno” (D) i w mrożonych owocach (A). Im dłuższą obróbkę cieplną zastosowano, tym mniej polifenoli zawierały przetwory. Najkrótsze ogrzewanie zastosowano podczas przygotowywania zup (E1, E2), w których poziom polifenoli nie różnił się istotnie ($p \leq 0,05$) od ich zawartości w owocach mrożonych.



Objaśnienie: / Explanatory note:

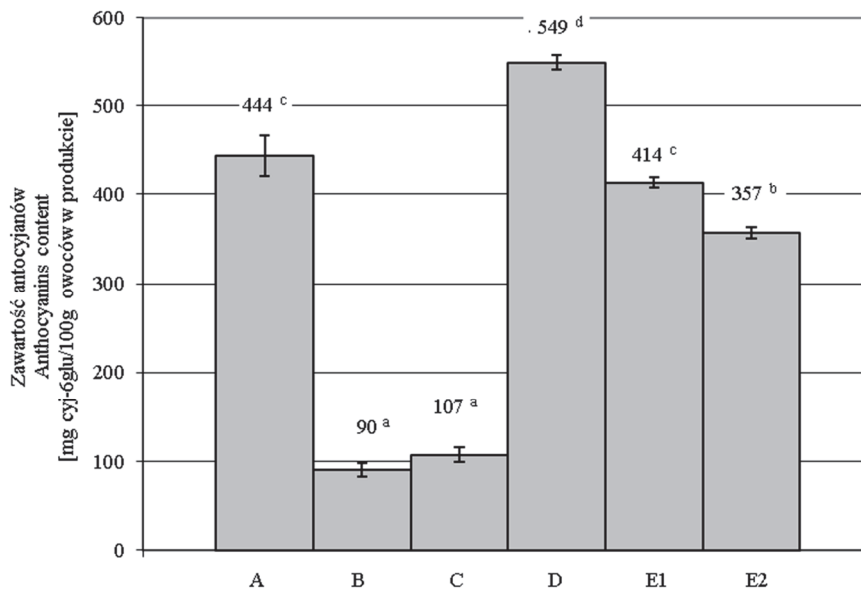
a, b, c, d – wartości średnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie istotnie ($p = 0,05$) / mean values in denoted by the same letters do not differ statistically significantly ($p = 0.05$)

Rys. 1. Całkowita zawartość związków fenolowych w przetworach z borówki czernicy, w przeliczeniu na kwas galusowy

Fig. 1. Total content of polyphenols in bilberry preserves expressed as gallic acid

Porównując zawartość antocyjanów w przetworach (rys. 2) można zauważyć, że rodzaj obróbki istotnie wpłynął na ich poziom w porównaniu z ilością antocyjanów w borówkach mrożonych (A – 444 mg cyj-6-glu/100 g). Ścibisz i Mitek [24] potwierdziły wpływ mrożenia na wzrost zawartości antocyjanów w owocach borówki czerni-

cy. Autorki zasugerowały poprawę efektywności ekstrakcji barwników przez powstające w czasie mrożenia kryształki lodu, które mogą powodować mechaniczne uszkodzenie tkanek. W ten sposób ułatwione jest przenikanie antocyjanów z rozerwanych tkanek do roztworu ekstrakcyjnego. Podobne obserwacje poczynili Kaniewska i wsp. [8].



Objaśnienie jak pod rys. 1. / Explanatory note as in Fig. 1.

Rys. 2. Zawartość antocyjanów w przetworach z borówki czernicy

Fig. 2. Content of anthocyanins in bilberry preserves

Zupa borówkowa (E1), do której dodano przed gotowaniem sok z cytryny, nie różniła się istotnie ($p \leq 0,05$) pod względem zawartości antocyjanów (414 mg/100 g) od owoców mrożonych (A), natomiast syrop „na zimno” zawierał istotnie więcej ($p \leq 0,05$) antocyjanów (549 mg/100 g), co można tłumaczyć lepszą maceracją tkanki i uwalnianiem barwników z wakuoli komórkowych, podobnie jak obserwowano to w przypadku polifenoli. W przetworach (B, C), które przygotowywano w wysokiej temperaturze, straty antocyjanów wyniosły ok. 80 %. Podobne wyniki uzyskali Wang i wsp. [26]. Mitek i Gasik [14] podają, że podczas gotowania dżemu truskawkowego straty antocyjanów sięgają 90 %. Ścibisz i Mitek [23] wykazały, że zawartość antocyjanów w dżemie z borówki wysokiej zmniejsza się 3 - 4-krotnie w porównaniu z antocyjanami obecnymi w świeżych owocach. Jednocześnie autorki zaznaczyły, że w badaniach innych autorów odnotowano straty antocyjanów w dżemach na niższym

poziomie (10 i 38 %). Zróżnicowane straty mogą wynikać zarówno z odmiennego składu surowcowego, jak i z innych okresów obróbki termicznej oraz ze sposobu prowadzenia procesu. Również Szajdek i wsp. [21] wykazały degradujący wpływ wysokiej temperatury na zawartość antocyjanów w sokach z owoców jagodowych poddanych pasteryzacji. Także Ścibisz i wsp. [22] badali wpływ obróbki termicznej na straty antocyjanów wyizolowanych z owoców borówki wysokiej i stwierdzili, że ogrzewanie badanych ekstraktów powoduje zmniejszenie zawartości antocyjanów, a ich degradacja przebiega zgodnie z reakcją pierwszego rzędu. Wymienieni autorzy wykazali największe straty pochodnych delfinidyny, a najmniejsze – pochodnych malwinidyny. W owocach borówki czernicy, jak podają Ştefănuţ i wsp. [20], występuje w znacznej ilości delfinidyna wrażliwa na działanie podwyższonej temperatury, co potwierdza duże straty antocyjanów w badanych przetworach.

Wielu badaczy podaje, że zarówno dodatek cukru, jak i pektyn, wpływa stabilizująco na antocyjany [7, 9, 14]. Najwięcej cukru, zgodnie z recepturą, znajdowało się w syropie „na ciepło” (C) oraz w syropie „na zimno” (D), który dodatkowo nie był poddany obróbce termicznej. W dżemie (B) znajdowały się również pektyny dodane z cukrem. W tym przypadku równoczesna obecność cukru i pektyn nie chroniła jednak antocyjanów przed degradacją pod wpływem obróbki termicznej. Należy wziąć pod uwagę, że istotne są zarówno rodzaj i stężenie antocyjanów oraz preparatów pektynowych, jak i obecność substancji towarzyszących, co było przedmiotem prac z tego zakresu [7, 13]. Mitek i Gasik [14] podają, że dodatek kwasów organicznych, np. kwasu cytrynowego i kwasu askorbinowego, przyczynia się pośrednio do stabilizacji antocyjanów poprzez hamowanie reakcji enzymatycznego brunatnienia, podczas którego antocyjany ulegają utlenieniu. Rola kwasu askorbinowego nie jest jednoznaczna. W obecności tlenu ulega on nieenzymatycznemu utlenianiu, a powstający nadtlenek wodoru degraduje antocyjany. Starr i Francis [19] wykazali, że wraz ze wzrostem stężenia kwasu askorbinowego degradacja antocyjanów w soku żurawinowym nasila się. Na rozkład tych barwników wpływ ma ich stosunek ilościowy do witaminy C. Przewaga ilościowa kwasu askorbinowego nad antocyjanami wywołuje ich degradację, jeżeli zaś stężenie antocyjanów jest wyższe od stężenia kwasu askorbinowego, wówczas, jako przeciwutleniacz, działa on ochronnie poprzez redukcję chinonów utleniających antocyjany, a także poprzez hamowanie reakcji polimeryzacji antocyjanów [14]. W zupach (E1 i E2) zastosowano niewielki dodatek soku z cytryny. Oznaczona ilość antocyjanów była istotnie różna ($p \leq 0,05$) w obu zupach (E1 – 414 mg/100 g, E2 – 357 mg/100 g). Może być to związane z inną kolejnością dodawania soku (E1 – dodatek soku z cytryny przed gotowaniem, E2 – dodatek po gotowaniu). Dodatek soku z cytryny przed gotowaniem w większym stopniu wpłynął ochronnie na zawartość antocyjanów, ograniczając w pewnym stopniu ich redukcję wywołaną obróbką cieplną,

niż jego dodatek zaraz po przeprowadzeniu krótkotrwałego gotowania, z uwagi na wyższą stabilność antocyjanów w środowisku kwaśnym.

Wnioski

1. Obróbka termiczna owoców borówki czernicy wpływa degradująco na zawartość w nich polifenoli ogółem i antocyjanów. Spośród badanych przetworów największą ich zawartością charakteryzują się te, które otrzymano bez stosowania obróbki cieplnej, czyli syrop przygotowany „na zimno” oraz owoce mrożone.
2. Otrzymywanie syropu „na zimno” po 60-dniowym przetrzymywaniu owoców w cukrze umożliwia uwolnienie ze struktur komórkowych największej ilości polifenoli i antocyjanów w porównaniu z pozostałymi metodami otrzymywania przetworów.
3. Dodatek soku z cytryny przed procesem gotowania zupy działa ochronnie na zawartość antocyjanów.

Literatura

- [1] Cendrowski A., Ścibisz I., Mitek M.: Wpływ warunków przechowywania na zawartość hydroksymetylofurfuralu, furfuralu i kwasu askorbinowego w dżemach z owoców jagodowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, **6 (79)**, 155-166.
- [2] Drużyńska B., Plewka K.: Ocena towaroznawcza syropów malinowych. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2012, **45 (3)**, 634-638.
- [3] Giovanelli G., Buratti S.: Comparison of polyphenolic composition and antioxidant activity of wild Italian blueberries and some cultivated varieties. *Food Chem.*, 2009, **112**, 903-908.
- [4] Giusti M.M., Wrolstad R.E.: Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. *Curr. Protocols Food Anal. Chem.*, 2001, F 1.2.1-F 1.2.13.
- [5] Häkkinen S.H., Törrönen A.R.: Content of flavonols and selected phenolic acids in strawberries and *Vaccinium* species: influence of cultivar, cultivation site and technique. *Food Res. Int.*, 2000, **33**, 517-524.
- [6] Horbowicz M., Kosson R., Grzesiuk A., Dębski H.: Anthocyanins of fruit and vegetable – their occurrence, analysis and role in human nutrition. *Vegetable Crops Research Bulletin*, 2008, **68**, 5-22.
- [7] Kalisz S., Mitek M., Nowicka M.: Wpływ dodatku pektyn wysokometylowanych na zawartość składników o właściwościach przeciwutleniających w sokach truskawkowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **2 (51)**, 145-154.
- [8] Kaniewska J., Gozdecka G., Domoradzki M., Szambowska A.: Przydatność przetwórcza i charakterystyka owoców jagody kamiczackiej i jej przetworów. *NIT*, 2013, **4 (11)**, 58-67.
- [9] Kolniak J.: Wpływ sposobu zamrażania, rozmrażania oraz dodatków kriochronnych na zawartość polifenoli ogółem, antocyjanów i pojemność przeciwutleniającą mrożonek truskawkowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **5 (60)**, 135-148.
- [10] Lauro G.J., Francis F.J. (Red.). *Natural Food Colours, Science and Technology*. IFT Basic Symposium Series 14, Marcel Dekker, 2000.
- [11] Lohachoompol V., Mulholland M., Srzednicki G., Craske J.: Determination of anthocyanins in various cultivars of highbush and rabbiteye blueberries. *Food Chem.*, 2008, **111**, 249-254.

- [12] Madhavi D.L., Bomser J., Smith M.A.L., Singletary K.: Isolation of bioactive constituents from *Vaccinium myrtillus* (Billberry) fruits and cell cultures. *Plant Science*, 1998, **131**, 95-103.
- [13] Marszałek K., Kalisz S., Mitek M.: Wpływ dodatku preparatów pektyn niskometylowanych na jakość nektarów truskawkowych. Jakość i prozdrowotne cechy żywności. Wyd. UP we Wrocławiu. Wrocław 2010, ss. 17-26.
- [14] Mitek M., Gasik A.: Polifenole w żywności Wpływ na cechy organoleptyczne żywności. *Przem. Spoż.*, 2009, **5**, 34-39.
- [15] Moyer R.A., Hummer K.M., Finn C.E., Frei B., Wrolstad R.E.: Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity in diverse small fruits: *Vaccinium*, *Rubus*, and *Ribes*. *J. Agric. Food Chem.*, 2002, **50**, 519-525.
- [16] Ovaskainen M-L., Törrönen R., Koponen J.M., Sinkko H., Hellström J., Reinivuo H., Mattila P.: Dietary intake and major food sources of polyphenols in Finnish. *J. Nutr.*, 2008, **138** (3), 562-566.
- [17] Piątkowska E., Kopeć A., Leszczyńska T.: Antocyjany- charakterystyka, występowanie i oddziaływanie na organizm człowieka. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, **4** (77), 24-35.
- [18] PN-90/A-75101/02 Az1:2002. Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. Oznaczanie zawartości ekstraktu ogólnego.
- [19] Starr M.S., Francis F.J.: Oxygen and ascorbic acid effect on the relative stability of four anthocyanin pigments in cranberry juice. *Food Technol.*, 1968, **22**, 1293-1295.
- [20] Ștefănuț M.N., Căta A., Pop R., Moșoarcă C., Zamfir A.D.: Anthocyanins HPLC-DAD MS characterization. Total phenolics and antioxidant activity of some berries extracts. *Analytical Letters*, 2011, **44** (18), 2843-2855.
- [21] Szajdek A., Dąbkowska E., Borowska E.J.: Wpływ obróbki enzymatycznej miazgi owoców jagodowych na zawartość polifenoli i aktywność przeciwutleniającą soku. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **4** (49), 119-126.
- [22] Ścibisz I., Kalisz S., Mitek M.: Termiczna degradacja antocyjanów owoców borówki wysokiej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **5** (72), 56-66.
- [23] Ścibisz I., Mitek M.: Aktywność przeciwutleniająca i zawartość związków fenolowych w dżemach otrzymywanych z owoców borówki wysokiej (*Vaccinium corymbosum* L.) oraz ich zmiany podczas przechowywania. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **2** (43) Supl., 210-221.
- [24] Ścibisz I., Mitek M.: Wpływ procesu mrożenia i zamrażalniczego przechowywania owoców borówki wysokiej na zawartość antocyjanów. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **5** (54), 231-238.
- [25] Ścibisz I.: Technologia przetworów słodzonych. W: Wybrane zagadnienia z technologii żywności Red. M. Mitek i M. Słowiński. Wyd. SGGW, Warszawa 2006, ss. 22-23.
- [26] Wang B.C., He R., Li Z.M.: The stability and antioxidant activity of anthocyanins from blueberry. *Food Technol. Biotechnol.*, 2010, **48** (1), 42-49.
- [27] Wang H., Cao G., Prior R.L.: Total antioxidant capacity of fruits. *J. Agric. Food Chem.*, 1996, **44**, 701-705.
- [28] Waterhouse A.L.: Determination of total phenolics. *Curr. Protocols Food Anal. Chem.*, 2002, S. 6, I 1.1.1-I 1.1.8.
- [29] Wilska-Jeszka J.: Barwniki. W: Chemia żywności Składniki żywności tom 1. Red. Z.E. Sikorski. Wyd. V, WNT, Warszawa 2007, ss. 155-163.

ASSESSING CONTENT OF SELECTED BIOACTIVE COMPOUNDS IN BILBERRY PRESERVES**S u m m a r y**

The objective of the research study was to determine the effect of the method for making bilberry preserves on the content of selected antioxidant compounds. The research material consisted of the products derived from bilberry fruits harvested in the forests in the Kuyavia and Pomerania Provinces. The preserves were made from fresh and frozen fruits according to the home cooking recipes. The following was analyzed: frozen fruits, low-sugar jam, syrup made "with heat", syrup made "without heat" and two variants of bilberry soups. In the preserves, the following parameters were determined: total soluble solids, pH, total polyphenols, and anthocyanins. Of all the products analyzed, the thermally untreated syrup, i.e. the syrup made "without heat", was characterized by the highest level of polyphenols and anthocyanins: 1.859 mg GAE/100 g and 549 mg/100 g, respectively. The addition of lemon juice to soup before cooking reduced the degradation of anthocyanins and their content (414 mg/100g) did not significantly differ ($p \leq 0.05$) compared to the amount thereof in the soup made with frozen fruits (444 mg/100 g). As the time of thermal treatment was extended, the degradation of the compounds increased even to 80 % of the initial content of anthocyanins.

Key words: bilberry, preserves, polyphenols, anthocyanins ☒

EWA PIĄTKOWSKA, ANETA KOPEĆ, TERESA LESZCZYŃSKA

BASIC CHEMICAL COMPOSITION, CONTENT OF MICRO- AND MACROELEMENTS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF DIFFERENT VARIETIES OF GARLIC'S LEAVES POLISH ORIGIN

Streszczenie

The aim of this study was to comparison of chemical components and antioxidant activity in leaves of winter and spring varieties of garlic, obtained from POLAN Company; Krakow, Poland) as well as in leaves of wild (bear's) garlic. The content of basic chemical components were determined according to the AOAC methods. Selected minerals content was determined according to the PN procedure. Vitamin C and polyphenols were determined using the Tillman's and Folin-Ciocalteau's methods, respectively. The ability to scavenging of the ABTS^{•+} was analyzed by Re et al. method.

Leaves of wild garlic had the significantly lowest amount of dry matter (79.0 g·kg⁻¹), proteins (13.7 g·kg⁻¹), total carbohydrates (50.8 g·kg⁻¹), dietary fiber (26.9 g·kg⁻¹), ash (8.9 g·kg⁻¹), vitamin C (956.1 mg·kg⁻¹), and antioxidant activity (25.0 mmol TEAC·kg⁻¹), but the highest level of crude fat (5.6 g·kg⁻¹), potassium (34.6 g·kg⁻¹), magnesium (1.72 g·kg⁻¹), iron (230.3 mg·kg⁻¹) and zinc (58.8 mg·kg⁻¹) as compared to winter and spring varieties. At the same time, there was no unambiguous differences in the level of basic chemical components (proteins 20.9 ÷ 35.7 g·kg⁻¹, fat 1.6 ÷ 2.8 g·kg⁻¹, total carbohydrates 61.3 ÷ 116.5 g·kg⁻¹, fibre 33.7 ÷ 57.0 g·kg⁻¹, ash 8.9 ÷ 14.1 g·kg⁻¹), antioxidants (vitamin C 75.4 ÷ 459.7 mg·kg⁻¹, polyphenols 335.3 ÷ 1895.1 mg·kg⁻¹), antioxidant activity (27.0 ÷ 30.1 mmol TEAC·kg⁻¹) and the amount of minerals (calcium 7.55 ÷ 28.9 g·kg⁻¹, potassium 15.9 ÷ 28.0 g·kg⁻¹, magnesium 0.85 ÷ 1.32 g·kg⁻¹, sulphur 2.41 ÷ 6.22 g·kg⁻¹, iron 34.4 ÷ 85.7 mg·kg⁻¹, zinc 9.32 ÷ 13.8 mg·kg⁻¹) between winter and spring varieties, as well as between winter varieties.

Słowa kluczowe: garlic leaves, wild garlic, chemical composition, phenolic compounds, vitamin C

Introduction

Garlic (*Allium sativum* L.) contains many bioactive substances, mainly organo-sulphur derivatives, but also flavonoids as well as vitamins (C, E), which have strong

antioxidant activity. Several studies showed that garlic and its bioactive compounds may be used in prevention of many diseases. This vegetable may be used in the prevention and treatment of cardiovascular diseases (atherosclerosis, heart attack, blood pressure control), cancer, bacterial, viral and fungal infections. What is more garlic improves the elasticity of blood vessels. Additionally, epidemiological studies indicate, that in areas where garlic is consumed regularly, the incidence of cardiovascular diseases are lower [4, 7, 10, 32]. It has been well reported that this plant reduces many risk factors, which play a key role in the formation and development of atherosclerosis (anti-inflammatory properties, lowers total and low density lipoproteins cholesterol, increases high density lipoproteins cholesterol, reduces triglycerides and fibrinogen levels) [13, 20, 21].

Some data suggested that bioactive compounds of garlic may decrease body gain and affect adipose tissue metabolism as well as decreased mRNA gene expression involved in adipogenesis [12].

It has been also reported that garlic, its products (fermented garlic, garlic oil) and isolated from it bioactive compounds have the ability to reduce blood glucose levels and modulate insulin secretion. What is more experimental and epidemiological studies provide evidence between garlic consumption and reduced risk of various types of the cancer (i.e. esophagus, stomach, liver, colon, bladder, brain, skin, prostate, breast and lung) [12, 27, 39]. For anticarcinogenic properties are probably responsible sulphur compounds, but also soluble dietary fibre (pectins, inulin), phenolic compounds also can reduce risk of various types of cancer [4, 9, 12, 13, 27, 37, 40]. It is well known that the consumption of garlic during antibiotic therapy enhances its effectiveness. Garlic also activates antioxidant enzymes such as catalase, superoxide dismutase and glutathione reductase. On the other hand some studies reported that garlic supplementation could cause interactions between food and drugs as well as change the therapeutic efficacy of any drugs administrated [3, 5].

Wild garlic (*Allium ursinum* L.), called also ramson or bear's garlic, is very often used as a traditional medicine [17]. Bear's garlic can be found in Northern and Central Europe and North Asia. It is adapted to humid temperate climate, grows best in shady, rich in humus forests near streams. Wild garlic frequently grows in large groups, forming extensive meadows in nature. From all white, narrow, onion grows two leaves. Wild garlic acts upon in the body generally improving strengthens and regenerates. It also helps in the treatment of diseases of the cardiovascular system, gastrointestinal tract or skin infections. Its flavour is more delicate compared to agriculture-garlic. Culinary uses of the wild garlic are limited mainly to use the leaves. They can be used as raw, pickled, salted or in brine with oil. They are added to salads, soup, potatoes, cabbage, stewed vegetables and meat dishes [1, 16].

The cloves of garlic are commonly used, but there is no habit of using garlic's leaves. The development and introduction of new products containing leaves of garlic could significantly increase its consumption. Leaves mainly are the waste product of this plant. Few published papers suggested that leaves have the same, and even richer than the cloves content of sulphur compounds (allicin), chlorophylls, carotenoids, phenolic compounds, and vitamin C [2, 8, 32].

The objective of this study was the assessment of chemical composition of leaves of winter and spring varieties of garlic as well as wild garlic.

Materials and methods

Fresh leaves of garlic (*Allium sativum* L.) varieties 'Harnaś', 'Ornak', 'Mega', 'Arkus', 'Huzar', 'Zawrat' (winter varieties) and 'Jankiel' (spring variety), have been purchased in 2011 from the Krakowska Hodowla i Nasiennictwo Ogrodnicze (KHNO POLAN PLC) (Kraków, Poland). Garlic has been cultivated for the production of bulbs. Wild garlic has been obtained from Poręba Wielka, Malopolska Region (cultivated on the private area). The winter varieties have been harvested at the beginning of July and the Jankiel variety at the end of July (during the final period of the variety vegetation). Wild garlic has been harvested at the end of May, 2011.

Chemical composition of fresh and dry garlic leaves

In fresh leaves of garlic the level of dry matter (AOAC method No. 934.06 [32]), vitamin C (ascorbic acid and dehydroascorbic acid; Tillman's method; [36]) was determined. Additionally fresh leaves were used for preparation of methanolic extracts (to determine total phenolic compounds content and the antioxidant activity). For determination of chemical composition AOAC [26] methods were used. Leaves of garlic were freeze dried with Christ Alpha 1-4 freeze-drier (Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH, Germany).

In dried leaves of garlic the total proteins (AOAC method No. 950.36), raw fat (AOAC method No. 935.38), total dietary fibre (AOAC method No. 991.43) and ash (AOAC method No. 930.05) content were determined. The content of total carbohydrates was calculated as a difference between content of dry matter and the sum of protein, fat and ash.

Methanolic extracts preparation

The fresh leaves were homogenized with a homogenizer (CAT type X 120, CAT Scientific, Inc. Paso Robles, CA, USA) and were used to prepare methanol extracts (5 g of raw leaves in 80 ml of 70 % methanol solution). In each case, homogenized samples of plant material were extracted by shaking (Elpan, water bath shaker type 357, Elpin-Plus, Lubawa Poland) at room temperature for 2 hours, and solution was

centrifuged (Centrifuge type MPW-340, MPW Medical Instruments, Warsaw, Poland), filtered and then the extracts were stored at $T = -22\text{ }^{\circ}\text{C}$ [29].

Total phenolic compounds content

Methanolic extracts were used to measure the total phenolic compounds content, using the Folin-Ciocalteu reagent. This method involved colorimetric determination of colored products which are formed when polyphenolic compounds react with the Folin-Ciocalteu reagent (Sigma, St. Luis, Missouri, USA). The level of total polyphenolic compounds in the garlic's leaves extracts was determined spectrophotometrically (at a wavelength of $\lambda = 760\text{ nm}$ using a Rayleigh UV-1800 spectrophotometer, Beijing Beifen-Ruili Analytical Instrument, Beijing, China) according to the Folin-Ciocalteu method [38]. Results have been expressed as chlorogenic acid equivalents (CGA) in milligrams per kilogram of fresh matter, based on a standard curve.

The antioxidant activity

Methanol extracts were also used to determine antioxidant activity by the sample's ability to scavenge a free radical i.g. ABTS^{•+} (2, 2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) [34]. The absorbance was measured at a wavelength of $\lambda = 734\text{ nm}$ using a Rayleigh UV-1800 spectrophotometer. Values obtained for each sample were compared to the concentration–response curve of the standard Trolox solution and expressed as millimoles of Trolox equivalent per kilogram of fresh weight.

Micro- and macroelements content

The samples for the measurement of minerals were prepared according to the EN 13804 Standard [30]. Mineralization was performed with the dry-ashing method, modified according to AOAC 985.01 method [26]. Modification concerned a lowered temperature and prolonged time of ashing. Applied temperature was lowered from $T = 500\text{ }^{\circ}\text{C}$ to $460\text{ }^{\circ}\text{C}$ and ashing time in both steps was three times longer than in original method. Content of Ca, P, Mg, S, Fe and Zn in the solution obtained after mineralization (ash was dissolved in HNO_3) were measured with the inductively coupled plasma atomic emission spectrometer JY 238 Ultratrace (Jobin-Yvon, Longjumeau Cedex, France) following procedures presented in EN-14084 Standard [31].

Statistical analysis

For each sample the chemical analyses were done in three replicates. The standard deviations (SD) were calculated for all mean values. All calculations were made by using Statistica 9.1. package (Stat Soft, Tulsa, Oklahoma, USA). One-way analyses of

variance were applied. The significance of differences was estimated with Duncan test at the critical significance level of $p < 0.05$.

Results and discussion

Basic chemical composition

The lowest content of dry matter was determined in leaves of wild garlic as compared to other evaluated leaves. The highest content of this parameter was determined in varieties 'Mega' and 'Jankiel' ($p < 0.05$). The lowest content of protein was found in wild garlic leaves compared to other examined varieties ($p < 0.05$). Leaves of garlic were characterized by low content of fat (range from $1.6 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ of fresh matter to $5.6 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ f.m.). The higher content of this compound was found in leaves of wild garlic and the lowest one in 'Huzar' and 'Zawrat' varieties ($p < 0.05$). Total carbohydrates content was lowest in wild garlic leaves compared to rest examined varieties. The highest content of total carbohydrates was determined in 'Mega' variety ($p < 0.05$). Content of the dietary fibre was determined in range $26.9 \div 57.0 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ f.m. The highest content of this compound was determined in the 'Mega' variety. The lowest level of fibre was found in wild garlic variety ($p < 0.05$). The lowest content of ash was found in the leaves of 'Arkus' variety and the highest one in 'Zawrat' ($p < 0.05$) (Tab. 1).

Table 1. Content of nutrient components in different garlic's leaves varieties (in fresh matter) [$\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$]
Tabela 1. Zawartość składników odżywczych w liściach różnych odmian czosnku (w świeżej masie) [$\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$]

Variety Odmiana	Dry matter Sucha masa	Protein Białko	Fat Tłuszcz	Total carbohydrates Węglowodany ogółem	Fibre Błonnik	Minerals as ash Związki mineralne jako popiół
'Harnaś'	$118.9^{cd} \pm 4.8$	$22.8^d \pm 0.5$	$2.4^d \pm 0.0$	$79.6^d \pm 5.9$	$43.4^e \pm 0.7$	$14.1^g \pm 0.0$
'Ornak'	$132.5^d \pm 8.2$	$28.0^g \pm 0.1$	$2.5^e \pm 0.0$	$89.0^e \pm 0.3$	$40.2^c \pm 0.1$	$13.1^f \pm 0.1$
'Mega'	$157.4^e \pm 3.1$	$25.9^e \pm 0.4$	$2.8^f \pm 0.0$	$116.5^h \pm 9.7$	$57.0^h \pm 0.9$	$12.2^e \pm 0.0$
'Arkus'	$100.7^b \pm 0.2$	$26.7^f \pm 0.2$	$1.8^b \pm 0.0$	$61.3^b \pm 4.7$	$33.7^b \pm 0.3$	$10.9^c \pm 0.0$
'Jankiel'	$152.1^e \pm 7.2$	$35.7^h \pm 0.2$	$1.9^c \pm 0.0$	$105.6^g \pm 1.1$	$42.9^d \pm 1.0$	$8.9^a \pm 0.1$
'Huzar'	$113.2^c \pm 1.5b$	$22.5^c \pm 0.2$	$1.6^a \pm 0.0$	$78.0^c \pm 6.4$	$47.1^g \pm 0.6$	$11.1^d \pm 0.0$
'Zawrat'	$134.4^d \pm 1.8$	$20.9^b \pm 0.1$	$1.6^a \pm 0.0$	$102.5^f \pm 8.9$	$47.0^f \pm 0.6$	$9.4^b \pm 0.0$
Wild garlic	$79.0^a \pm 4.1$	$13.7^a \pm 0.2$	$5.6^g \pm 0.0$	$50.8^a \pm 3.6$	$26.9^a \pm 0.5$	$8.9^a \pm 0.1$

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Table shows mean values and standard deviation / W tabeli przedstawiono wartości średnie \pm odchylenia standardowe; $n = 3$. Mean values shown in columns and denoted by different letters are statistically significant ($p < 0.05$) / Wartości średnie przedstawione w kolumnach i oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p < 0.05$).

Vitamin C, phenolic compounds content and antioxidant activity

The highest content of vitamin C was determined in leaves of ‘Harnaś’ variety compared to other examined leaves. The lowest level of vitamin C was determined in leaves of wild garlic ($p < 0.05$). The significantly highest content of phenolic compounds was determined in leaves of ‘Arkus’ variety compared to other ones. The significantly lowest level of phenolic compounds was determined in ‘Ornak’ variety compared to other examined varieties ($p < 0.05$). The highest antioxidant activity was determined in the leaves of ‘Zawrat’ variety compared to leaves of the ‘Harnaś’, ‘Ornak’, ‘Mega’ and wild garlic varieties ($p < 0.05$) (Tab. 2).

Table 2. Content of vitamin C, total phenolic components and antioxidant activity of different garlic’s leaves varieties (in fresh matter)

Tabela 2. Zawartość witaminy C, fenoli ogółem i aktywność przeciwutleniająca liści różnych odmian czosnku (w świeżej masie)

Variety Odmiana	Vitamin C Witamina C [mg·kg ⁻¹]	Total phenolic components CGA Fenole ogółem jako kwas chlorogenowy [mg·kg ⁻¹]	Antioxidant activity Aktywność przeciwutleniająca [mmol TEAC·kg ⁻¹]
‘Harnaś’	459.7 ^g ± 26.0	649.5 ^d ± 9.0	27.43 ^{bc} ± 1.14
‘Ornak’	98.8 ^{cd} ± 5.1	335.3 ^a ± 01.6	26.96 ^b ± 1.63
‘Mega’	75.4 ^{ab} ± 5.3	849.3 ^e ± 55.0	28.12 ^{bc} ± 0.59
‘Arkus’	83.5 ^{bc} ± 14.2	1895.1 ^f ± 30.7	29.22 ^{cd} ± 1.33
‘Jankiel’	125.0 ^e ± 0.0	400.4 ^b ± 15.2	28.74 ^{bcd} ± 0.74
‘Huzar’	148.5 ^f ± 18.7	827.6 ^e ± 62.0	28.66 ^{bcd} ± 1.48
‘Zawrat’	106.3 ^{de} ± 5.2	579.1 ^c ± 17.6	30.14 ^d ± 0.72
Wild garlic	56.1 ^a ± 5.3	529.7 ^c ± 23.5	24.98 ^a ± 0.11

Explanatory notes as in Tab. 1. / Objasnienia jak w tab. 1.

Mineral compounds content

The significantly highest content of calcium was determined in the leaves of ‘Harnaś’ variety compared to other examined varieties ($p < 0.05$). The significantly lowest level of calcium was determined in ‘Jankiel’ variety compared to the other leaves ($p < 0.05$). The significantly highest level of potassium, magnesium, iron and zinc was found in the leaves of wild garlic compared to other varieties ($p < 0.05$). The significantly highest content of sulphur was found in leaves of ‘Ornak’ variety com-

pared to other ones ($p < 0.05$). The lowest content of sulphur was determined in the leaves of 'Huzar' variety compared to the other varieties ($p < 0.05$) (Tab. 3).

Table 3. Content of macro- and microelements in different garlic's leaves varieties (in dry matter)

Tabela 3. Zawartość makro- i mikroelementów w liściach różnych odmian czosnku (w suchej masie)

Variety Odmiana	Calcium / Ca [g·kg ⁻¹]	Potassium / K [g·kg ⁻¹]	Magnesium / Mg [g·kg ⁻¹]	Sulphur / S [g·kg ⁻¹]	Iron / Fe [mg·kg ⁻¹]	Zinc / Zn [mg·kg ⁻¹]
'Harnaś'	28.96 ^e ± 0.47	23.28 ^d ± 0.65	0.86 ^a ± 0.03	5.39 ^d ± 0.10	58.94 ^b ± 1.03	9.79 ^a ± 0.04
'Ornak'	17.79 ^c ± 0.39	22.38 ^d ± 0.53	1.32 ^c ± 0.01	6.22 ^e ± 0.12	83.61 ^c ± 1.15	13.78 ^a ± 0.80
'Mega'	13.45 ^b ± 0.01	15.92 ^a ± 1.56	1.13 ^b ± 0.14	5.10 ^d ± 0.11	85.71 ^c ± 0.01	12.32 ^a ± 0.27
'Arkus'	25.33 ^d ± 0.22	20.47 ^c ± 0.18	1.06 ^b ± 0.01	4.35 ^c ± 0.05	61.51 ^b ± 0.01	11.71 ^a ± 0.25
'Jankiel'	7.55 ^a ± 0.08	17.94 ^b ± 0.18	0.85 ^a ± 0.01	3.06 ^b ± 0.01	34.38 ^a ± 0.31	10.60 ^a ± 0.07
'Huzar'	18.73 ^c ± 0.1	27.99 ^d ± 0.35	0.86 ^a ± 0.02	2.41 ^a ± 0.02	58.41 ^b ± 1.00	9.32 ^a ± 0.09
'Zawrat'	12.50 ^b ± 0.38	17.35 ^{ab} ± 0.47	1.13 ^b ± 0.02	3.33 ^b ± 0.09	79.67 ^c ± 3.95	11.32 ^a ± 0.31
Wild garlic	13.44 ^b ± 0.02	34.64 ^f ± 1.21	1.72 ^d ± 0.03	5.08 ^d ± 0.03	230.34 ^d ± 9.55	58.76 ^b ± 7.14

Table shows mean values and standard deviation/ W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe; n = 3. Mean values shown in columns and denoted by different letters are statistically significant ($p < 0.05$) / Wartości średnie przedstawione w kolumnach i oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p < 0.05$).

The content of dry matter in different leaves of the garlic was in the range 79.0 ÷ 157.4 g·kg⁻¹. Results obtained in this study are similar to Dyduch and Najda [11] data. These authors reported that the dry matter in leaves of garlic was in the range 10.7 ÷ 15.8 %. The content of proteins was in the range 13.7 ÷ 35.7 g·kg⁻¹ f.m. In comparison to parsley leaves 14.0 g·kg⁻¹ the level of the proteins in garlic's leaves is similar. Additionally in comparison to other vegetables for *Allium* family the level of proteins is in similar range, for example leek roots contains 22.0 g·kg⁻¹ f.m. and chives – 14.0 g·kg⁻¹ f.m.. On the other hand the content of proteins was lower compared to the garlic cloves (64.0 g·kg⁻¹ f.m. ÷ 92.6 g·kg⁻¹ f.m.) [15, 19, 23].

The content of crude fat in leaves of different varieties of garlic was low (1.6 ÷ 5.6 g·kg⁻¹ f.m.). The highest content of crude fat was determined in leaves of wild garlic. Compared to the onion and leek roots (4.0 g·kg⁻¹ f.m., 8.0 g·kg⁻¹ f.m. respectively), garlic leaves have lower content of this component.

The level of total carbohydrates in leaves of different varieties was in the range 50.8 ÷ 116.5 g·kg⁻¹ f.m. Dyduch and Najda [11] reported higher content of total carbohydrates in leaves of autumn garlic cultivated from the air bulbs i.g. 188.2 ÷

215.2 g·kg⁻¹ f.m. Garlic leaves have lower content of total carbohydrates compared to garlic cloves (260 ÷ 320 g·kg⁻¹ f.m.) [20].

The content of dietary fibre was in the range 26.9 ÷ 57.0 g·kg⁻¹ f.m. These results are different from data published by Dyduch and Najda [11] which showed that content of fiber in leaves of garlic was in the range 13.7 ÷ 16.0 g·kg⁻¹ f.m. Garlic leaves are also the source of vitamin C and phenolic compounds. The level of vitamin C was in the range 56.1 ÷ 459.7 mg·kg⁻¹ f.m. These results are different from data published by Dyduch and Najda [11] which reported that content of vitamin C in leaves of garlic was in the range 71.6 ÷ 85.1 mg·kg⁻¹ f.m. As compared to the chives 310 mg·kg⁻¹ f.m. the level of vitamin C in leaves of garlic is similar [19]. On the other hand Kmieciak and Lisiewska [18] showed that chive leaves contained about two times less vitamin C of edible parts. The amount of phenolic components depended on the variety of garlic's leaves. The highest level of these compounds was determined in 'Arkus' variety. This result is similar to data published by Mahmutovic et al. [23]. These authors reported that the level of phenolic components in leaves of autumn garlic was 1970 mg·kg⁻¹. They also reported higher content of polyphenols in leaves of spring and wild garlic (1490 mg·kg⁻¹, 1280 mg·kg⁻¹ respectively). The content of phenolic components in leaves of different varieties used in our studies was lower than the level of these compounds in cloves. Some authors reported that garlic cloves contained 4000 ÷ 5500 mg·kg⁻¹ f.m. polyphenols [22]. According to Oszmiański et al. [28] the kaempferol derivatives were found to be predominant in yellow leaves (2362.96 mg/100 g d.m.), followed by green leaves (1856.31 mg/100 g of d.m.) of *A. ursinum*. These results are different from data published by Błażewicz-Woźniak and Michowska [6]. They reported that dependent upon the ecotype, the sum of all flavonoids and *O*-dihydroxyphenyls varied from 318.5 and 788.2 mg/100 g of leaf d.m. of 'Dukla' ecotype to 342.9 and 709.0 mg/100 g of leaf d.m. in 'Roztocze' ecotype, respectively. Nencini et al. [25] reported that polyphenol content in leaves of three *Allium* species growing wild in Italy and two clones of *Allium sativum* L. ranged from 0.41 mg of GAE/g fresh weight to 0.59 mg of GAE/g fresh weight and was generally directly correlated with the antioxidant/antiradical activity. In our study we did not show this correlation. Rice-Evans [35] has explained that differences in activity among and within various classes of polyphenols result from their chemical structure and individual ability to transfer a hydrogen atom to a radical. The Folin-Ciocalteu method is a routine and commonly used to determine polyphenols. According to Prior et al. [33] this method is characterized by great simplicity and usability to a standard biological materials. It seems necessary to add that the disadvantage of this method is the low specificity. Folin-Ciocalteu reagent reacts with many compounds include sugars, ascorbic acid, amino acids and proteins, thereby increasing the result of the analysis of phenolic compounds.

Antioxidant activity of methanolic extracts of garlic was in the range $24.98 \div 29.22$ mmol TEAC \cdot kg $^{-1}$. In available literature there is a lack of data concerning antioxidant capacity of garlic leaves extract. Compared to the antioxidant activity of extracts prepared from fresh garlic cloves the antioxidant activity showed as the percentage of scavenged of free radicals was lower (mean for all varieties 48 %). There was no general differences in the antioxidant activity despite the differences between the content of total polyphenols and vitamin C, among the varieties of garlic. Antioxidant capacity is affected by mentioned antioxidants and another ones which were not detected, for example beta-carotene and chlorophyll. Gorinstein et al. [14] reported that the percentage of scavenged of free radicals for fresh cloves was 68.9 %. Nencini et al. [25] reported that leaves of tested clones of *Allium sativum* seem to have higher antioxidant capability than the bulbs, and what is more garlic exhibited very low antioxidant power in comparison with species growing wild.

The level of minerals compounds in leaves of garlic was varied. Albeit the leaves of wild garlic had the highest level of potassium, magnesium, iron and zinc. 'Harnaś' variety had the highest content of calcium. Leaves of 'Ornak' variety had highest level of magnesium, sulphur and zinc compared to the other cultivars (Tab. 3).

Compared to the content of selected minerals in cloves of garlic the leaves are better source of calcium. Haciseferogullari et al. [15] reported that in garlic cloves the content of calcium was 0.36 g \cdot kg $^{-1}$ f.m. The level of potassium and magnesium in our study are comparable with content of these compounds in cloves of garlic reported by Haciseferogullari et al. [15].

The content of sulphur in leaves of garlic was in the range 2.41 d.m. \div 6.22 g \cdot kg $^{-1}$ d.m. Muradic et al. [24] reported that the leaves of garlic contained similar level of sulphur. Additionally these authors did not report differences in content of this mineral in leaves and cloves. Arzanlou and Bohloodi [2] reported that green parts of garlic are good source of allicin.

Conclusions

1. Leaves of wild garlic had the significantly lowest amount of dry matter, proteins, total carbohydrates (including dietary fiber), ash, vitamin C, and antioxidant activity, but the highest level of crude fat, potassium, magnesium, iron and zinc as compared to winter and spring varieties.
2. At the same time, in most cases there were no significant differences in the level of basic chemical components, antioxidants, antioxidant activity and in the amount of minerals between winter and spring varieties as well as between winter varieties.

Literatura

- [1] Anonim.: Hela Gusto czosnek niedźwiedzi. Gosp. Mięś., 2005, **12**, 46 (in Polish).
- [2] Arzanlou M., Bohlooli S.: Introducing of green garlic plant as a new source of allicin. Food Chem., 2010, **120** (1), 179-183.
- [3] Asdaq SM, Inamdar MN.: Potential of garlic and its active constituent, S-allyl cysteine, as antihypertensive and cardioprotective in presence of captopril. Phytomedicine, 2010, **17**, 1016-1026.
- [4] Bat-Chen W., Golan T., Peri I., Ludmer Z., Schwartz B.: Allicin purified from fresh garlic cloves induces apoptosis in colon cancer cells via Nrf2. Nutr. Cancer, 2010, **62** (7), 947-57.
- [5] Berginc K, Trdan T, Trontelj J, Kristl A.: HIV protease inhibitors: garlic supplements and first-pass intestinal metabolism impact on the therapeutic efficacy. Biopharm. Drug Dispos., 2010, **31**, 495-505.
- [6] Błażewicz-Woźniak M., Michowska A.E.: The growth, flowering and chemical composition of leaves of three ecotypes of *Allium ursinum* L. Acta Agrobot., 2011, **64** (4), 171-180.
- [7] Bordia T., Mohammed N., Thomson M., Ali M.: An evaluation of garlic and onion as antithrombotic agents. Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids, 1996, **54** (3), 183-186.
- [8] Condrat D, Mosoarca C, Zamfir AD, Crisan F, Szaba MR, Lupea AX.: Qualitative and quantitative analysis of gallic acid in *Alchemilla vulgaris*, *Allium ursinum*, *Acorus calamus* and *Solidago virgaurea* by chip- electrospray ionization mass spectrometry and high performance liquid chromatography. Cent. Eur. J. Chem., 2010, **8** (3), 530-535.
- [9] Dębski B., Milner JA.: Molecular mechanisms of anticancer properties of garlic; the role of free radicals. Bromat. Chem. Toksykol., 2007, **40** (3), 223-228 (in Polish).
- [10] Durak I., Kavutcu M., Ayta B.: Effects of garlic extract consumption on blood lipid and oxidant/antioxidant parameters in humans with high blood cholesterol. J. Nutr. Biochem., 2004, **15**, 373-377.
- [11] Dyduch J., Najda A.: Estimation of the biological value of winter garlic leaves from early cultivation on bunch crop. Part II. Plants grown from planting air bulbs. EJPAU, 2001, **4** (2), 04.
- [12] Elkayam A., Mirelman D., Oleg E.: The effects of allicin on Wright in fructose-induced hyperinsulinemic, hyperlipidemic hypertensive rats. Am. J. Hypertens., 2003, **12**, 1053-1056.
- [13] Gonen A., Harats D., Rabinkov A., Miron T., Mirelman D., Wilchek M., Weiner L., Ulman E., Levkovitz H., Ben-Shushan D., Shaish A.: The antiatherogenic effect of allicin: possible mode of action. Pathobiology, 2005, **72** (6), 325-34.
- [14] Gorinstein S., Drzewiecki J., Leontowicz H., Leontowicz M., Najman K., Jastrzębski Z., Zachwieja Z., Barton H., Shtabsky B., Katrich E., Trakhtenberg S.: Comparison of bioactive compounds and antioxidant potentials of fresh and cooked Polish, Ukrainian, and Israeli garlic. J. Agric. Food Chem., 2005, **53**, 2726-2732.
- [15] Haciseferogullari H., Özcan M., Demir F.: Calisir, S.: Some nutritional and technological properties of garlic (*Allium sativum* L.). J. Food Eng., 2005, **68**, 463-469.
- [16] Ivanova A, Mikhova B, Najdenski H, Tsvetkova I, Kostova I.: Chemical composition and antimicrobial activity of wild garlic *Allium ursinum* of Bulgarian origin. Nat. Prod. Commun., 2009, **4** (8), 1059-1062.
- [17] Janeczko Z., Sobolewska D.: Bear's garlic. A valuable herbal plant. Wiad. Ziel., 1995, **4**, 12-14.
- [18] Kmiecik W., Lisiewska Z.: Effect of pretreatment and conditions and period of storage on some quality indices of frozen chive (*Allium schoenoprasum* L.). Food Chem., 1999, **67**, 61-66.
- [19] Kunachowicz H., Nadolna I., Iwanow K., Przygoda B.: Tabele składu i wartości odżywczej żywności. Wyd. Lekarskie PZWL, Warszawa 2005.
- [20] Kwiecień H.: Skład chemiczny i aktywność biologiczna czosnku (Chemistry and biological activity of garlic (*Allium sativum*)). Wiad. Chem., 2008, **62**, 900-942.


- [21] Kwiecień M., Winiarska-Mieczan A.: Czosnek jako zioło kształtujące właściwości prozdrowotne. *Probl. Hig. Epidemiol.*, 2011, **92** (4), 810-812 (in Polish).
- [22] Leelarungrayub N., Rattanapanone V., Chanarat N., Gebicki J.M.: Quantitative evaluation of the antioxidant properties of garlic and shallot preparations. *Nutrition*, 2006, **22**, 266-274.
- [23] Mahmutovic O., Mujic E., Toromanovic J., Mustovic F., Muradic S., Huseinovic S., Sofic E.: Comparative analysis of total phenols and sulfur content in some plant organs of ramsons and two garlic species. *Planta Med.*, 2009, **75**, PD43. DOI: 10.1055/s-0029-1234522.
- [24] Muradic S., Karacic D., Mahmutovic O., Mutovic F., Sofic E., Kroyer G.: Total sulphur and organo-sulphur compounds in garlic and ramsons plant organs at the end of vegetative. *Planta Med.*, 2010, **76**, P292. DOI: 10.1055/s-0030-1264590.
- [25] Nencini C., Cavallo F., Capasso A., Franchi G.G., Giorgio G., Micheli L.: Evaluation of antioxidative properties of *Allium* species growing wild in Italy. *Phytother. Res.*, 2007, **21**, 874-878.
- [26] Official Methods of Analysis of AOAC International. 18th Ed., Gaintersburg, Association of Official Analytical Chemists International, 2006.
- [27] Omar S.H., Al-Wabel N.A.: Organosulfur compounds and possible mechanism of garlic in cancer. *Saudi Pharmac. J.*, 2010, **18**, 51-58.
- [28] Oszmiański J., Kolniak-Ostek J., Wojdyło A.: Characterization and content of flavonol derivatives of *Allium ursinum* L. *Plant. J. Agric. Food Chem.*, 2013, **61** (1), 176-184.
- [29] Swain T., Hillis W. E.: The phenolic constituents of *Prunus domestica* (L.). The quantity of analysis of phenolic constituents. *J. Sci. Food Agric.*, 1959, **10**, 63-68.
- [30] Pellegrini N., Serafini M., Colombi B., Del Rio D., Salvatore S., Bianchi M., Brighenti F.: Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *J. Nutr.*, 2003, **133**, 2812-2819.
- [31] PN-EN-13804. Food products. Determination of trace elements. Criteria.
- [32] PN-EN-14084:2003. Food products. Determination of trace elements. Determination of Pb, Cd, Zn, Cu, and Fe content by the use of atomic absorption spectroscopy (AAS) after microwave mineralization.
- [33] Preuss H. G., Clouatre D., Mohamadi A., Jarrell S.T.: Wild garlic has a greater effect than regular garlic on blood pressure and blood chemistries of rats. *Int. Urol. Nephrol.*, 2001, **32** (4), 525-30.
- [34] Prior R.L., Wu X., Schaich K.: Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agric. Food Chem.*, 2005, **53**, 4290-4302.
- [35] Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C.: Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.*, 1999, **26**, 1231-1237.
- [36] Rice-Evans C.: Flavonoid antioxidants. *Curr. Med. Chem.*, 2001, **8** (7), 797-807.
- [37] Rutkowska U.: Wybrane metody badań składu i wartości odżywczej żywności. PZW, Warszawa 1981.
- [38] Shirazd H., Taji F., Rafeian-Kopaei M.: Correlation between antioxidant activity of garlic extracts and WEHI-164 fibrosarcoma tumor growth in BALB/c mice. *J. Med. Food*, 2011, **14** (9), 969-974.
- [39] Tang FY, Chiang EP, Chung JG, Lee HZ, Hsu CY.: S-allylcysteine modulates the expression of E-cadherin and inhibits the malignant progression of human oral cancer. *J. Nutr. Biochem.*, 2009, **20**, 1013-1020
- [40] Zhang W., Ha M., Gong Y., Xu Y., Dong N., Yuan Y.: Allicin induces apoptosis in gastric cancer cells through activation of both extrinsic and intrinsic pathways. *Oncol. Rep.*, 2010, **24** (6), 1585-1592.

**PODSTAWOWY SKŁAD CHEMICZNY, ZAWARTOŚĆ MIKRO- I MAKROELEMENTÓW
ORAZ WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWUTLENIAJĄCE LIŚCI RÓŻNYCH ODMIAN CZOSNKU
POLSKIEGO POCHODZENIA**

S u m m a r y

Celem badań było porównanie podstawowego składu chemicznego, zawartości mikro- i makroskładników, aktywności przeciwutleniającej w liściach czosnku odmian ozimych i jarej otrzymanych z firmy POLAN (Kraków, Polska), a także w liściach czosnku niedźwiedziego. Analizowano zawartość: suchej masy, białka, tłuszczu, węglowodanów ogółem, błonnika pokarmowego oraz popiołu standardowymi metodami AOAC, jak również zawartość wybranych składników mineralnych metodą ASA. Oznaczono także zawartość witaminy C (metodą Tillmansa), polifenoli metodą Folina-Ciocaltea'a. Wykonano ponadto oznaczenie zdolności eliminowania wolnego rodnika ABTS^{•+} metodą Re i wsp.

Liście czosnku niedźwiedziego charakteryzowały się istotnie najmniejszą zawartością suchej masy (79,0 g·kg⁻¹), białka (13,7 g·kg⁻¹), węglowodanów (50,8 g·kg⁻¹), błonnika pokarmowego (26,9 g·kg⁻¹), popiołu (8,9 g·kg⁻¹), witaminy C (956,1 mg·kg⁻¹) i najmniejszą aktywnością przeciwutleniającą (25,0 mmol TEAC·kg⁻¹), ale największą zawartością tłuszczu surowego (5,6 g·kg⁻¹), potasu (34,6 g·kg⁻¹), magnezu (1,72 g·kg⁻¹), żelaza (230,3 mg·kg⁻¹) i cynku (58,8 mg·kg⁻¹) w stosunku do czosnku odmian ozimych i odmiany jarej. Równocześnie nie stwierdzono jednoznacznych różnic w składzie podstawowym (białko 20,9 ÷ 35,7 g·kg⁻¹, tłuszcz 1,6 ÷ 2,8 g·kg⁻¹, węglowodany ogółem 61,3 ÷ 116,5 g·kg⁻¹, błonnik 33,7 ÷ 57,0 g·kg⁻¹, popiół 8,9 ÷ 14,1 g·kg⁻¹), poziomie przeciwutleniaczy (witamina C 75,4 ÷ 459,7 mg·kg⁻¹, polifenole 335,3 ÷ 1895,1 mg·kg⁻¹), aktywności antyoksydacyjnej (27,0 ÷ 30,1 mmol TEAC·kg⁻¹) i poziomie składników mineralnych (wapń: 7,55 ÷ 28,9 g·kg⁻¹, potas: 15,9 ÷ 28,0 g·kg⁻¹, magnez: 0,85 ÷ 1,32 g·kg⁻¹, siarka: 2,41 ÷ 6,22 g·kg⁻¹, żelazo: 34,4 ÷ 85,7 mg·kg⁻¹, cynk: 9,32 ÷ 13,8 mg·kg⁻¹) pomiędzy odmianami ozimymi a odmianą wiosenną, jak również pomiędzy odmianami zimowym.

Key words: liście czosnku, czosnek niedźwiedzi, skład chemiczny, fenole ogółem, witamina C 

ADRIAN WIATER, ROMAN PADUCH, KATARZYNA PRÓCHNIAK,
MAŁGORZATA PLESZCZYŃSKA, MAREK SIWULSKI, WOJCIECH BIAŁAS,
JANUSZ SZCZODRAK

**OCENA AKTYWNOŚCI BIOLOGICZNEJ
KARBOKSYMETYLOWANYCH POCHODNYCH
 α -(1→3)-GLUKANÓW WYIZOLOWANYCH Z OWOCNIKÓW
UPRAWNYCH GATUNKÓW BOCZNIAKA (*PLEUROTUS*)**

Streszczenie

α -(1→3)-Glukany stanowią najmniej poznaną grupę polisacharydów budujących ścianę komórkową grzybów. Celem pracy była ocena aktywności biologicznej karboksymetylowanych pochodnych α -(1→3)-glukanów uzyskanych z owocników uprawnych gatunków rodzaju *Pleurotus* (*P. citrinopileatus*, *P. djamon*, *P. erynii* i *P. precocis*). Polisacharydy wyizolowane z owocników poddano analizom strukturalnym (FT-IR i ^1H NMR), w wyniku czego wykazano, że są one liniowymi α -(1→3)-glukanami. Po zastosowaniu metody karboksymetylacji nierozpuszczalne w wodzie α -(1→3)-glukany przeprowadzono w formy rozpuszczalne, tj. karboksymetyl- α -(1→3)-glukany (KM- α -(1→3)-glukany). Następnie analizowano ich wpływ na żywotność komórek prawidłowych CCD 841 CoTr (ludzkie komórki nabłonka jelita grubego) i CCD-18Co (miofibroblasty jelitowe) oraz komórek nowotworowych HeLa (ludzki rak szyjki macicy). Wykonano analizy aktywności metabolicznej i toksyczności (MTT i NR) oraz zdolności do redukcji wolnych rodników (DPPH). Wykazano, że żywotność komórek nowotworowych była najsilniej zredukowana przez KM- α -(1→3)-glukan otrzymany z owocników *P. citrinopileatus*. Z kolei metodą NR wykazano, że wszystkie badane KM- α -glukany w całym zakresie stężeń powodowały statystycznie istotny wzrost żywotności komórek prawidłowych (CCD 841 CoTr i CCD-18Co). Badane KM- α -glukany nie wykazywały aktywności zmierzającej do redukcji wolnych rodników tlenowych. Na podstawie analizy wyników różnicowego barwienia fluorescencyjnego stwierdzono, że KM- α -glukan z owocników *P. citrinopileatus* zaburza integralność błony komórek nowotworowych. Z kolei barwienie fluorescencyjne filamentów F-aktynowych (F-aktyny) wykazało, że nie wpływał on destrukcyjnie na cytoszkielet badanych komórek.

Dr hab. A. Wiater, mgr K. Próchniak, dr hab. M. Pleszczyńska, prof. dr hab. J. Szczodrak, Zakład Mikrobiologii Przemysłowej, dr hab. R. Paduch, Zakład Wirusologii i Immunologii, Wydz. Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin, prof. dr hab. M. Siwulski, Katedra Warzywnictwa, Wydz. Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Dąbrowskiego 159, 60-594 Poznań, dr W. Białas, Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Wydz. Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wojska Polskiego 48, 60-627 Poznań. Kontakt: adrianw2@wp.pl

Słowa kluczowe: *Pleurotus*, α -(1→3)-glukan, analiza spektralna w podczerwieni (FT-IR), wodorowy magnetyczny rezonans jądrowy (^1H NMR), karboksymetylacja, hodowle komórkowe, aktywność biologiczna

Wprowadzenie

Grzyby wielkoowocnikowe, poza znanymi właściwościami odżywczymi, stanowią istotne źródło substancji mających znaczenie prozdrowotne. Aktywność biologiczna grzybów została potwierdzona w licznych badaniach laboratoryjnych oraz klinicznych, które wykazały ich działanie antybakteryjne, antywirusowe, przeciwgrzybicze, przeciwnowotworowe, immunomodulacyjne, antyalergiczne, przeciwzapalne, przeciwmiażdżycowe, hepatoprotekcyjne, obniżające poziom cukru i cholesterolu we krwi oraz wpływające na ośrodkowy układ nerwowy [11]. Wartość prozdrowotna grzybów wynika głównie z obecności w ich ścianie komórkowej polisacharydów typu glukany, które obok glikoprotein są jej głównymi komponentami. Elementy te tworzą strukturę warstwową, w której na zewnątrz występują glikoproteiny, środkową warstwę stanowią β -(1→3)- i β -(1→6)-glukany kowalencyjnie związane z łańcuchami chityny, natomiast najgłębiej położone są nierozgałęzione łańcuchy α -(1→3)-glukanów, przy czym nie wiadomo, czy stanowią one integralną część sieci β -glukanowo-chitynowej [5]. Taka struktura ściany komórkowej warunkuje jej sztywność, a jednocześnie zapewnia elastyczność niezbędną podczas wzrostu komórek.

Owocniki bocznika (*Pleurotus*) są, obok pieczarki (*Agaricus* L.), najczęściej kupowanymi i spożywanymi grzybami w naszym kraju [9]. Poza walorami kulinarnymi charakteryzują się zawartością substancji biologicznie czynnych o udowodnionych właściwościach prozdrowotnych [12]. Przykładem może być *P. tuber-regium*, bogate źródło β -glukanu, który – jak wykazano – skutecznie hamuje rozwój komórek nowotworowych linii HL-60 i HepG2, a także proliferację komórek MCF-7 [24]. Z kolei owocniki *P. ostreatus* są źródłem pleuranu, który ma wiele właściwości prozdrowotnych, m.in. odbudowuje nabłonek, zwiększa migrację makrofagów i granulocytów bezpośrednio do ogniska zapalnego, powodując tym samym eliminację patogenów, przyspiesza katabolizm cholesterolu, przez co obniża jego poziom we krwi i akumulację w wątrobie [1, 3].

α -(1→3)-Glukany stanowią najmniej poznaną grupę polisacharydów ściany komórkowej grzybów, w której obok funkcji strukturalnej pełnią również funkcję podporową oraz stanowią materiał zapasowy [20]. Obecność α -(1→3)-glukanów stwierdzono w licznych grzybach należących zarówno do klasy *Ascomycetes*, jak i *Basidiomycetes*. Ich ilość w poszczególnych gatunkach waha się w granicach od 9 do 46 %, a w owocnikach *Laetiporus sulphureus* osiąga nawet 88 % suchej masy [5]. α -Glukany wykazują, potwierdzone doświadczalnie, działanie prozdrowotne. Na szczególną uwagę zasłu-

guje aktywność przeciwnowotworowa, immunostymulująca oraz antyoksydacyjna [17, 18]. Augustin i wsp. [2] podają, że rozpuszczalna w wodzie niskocząsteczkowa frakcja α -glukanów wyizolowana z owocników *Pleurotus ostreatus* wykazywała silne działanie antyproliferacyjne i proapoptotyczne w stosunku do linii komórek nowotworowych uzyskanych z ludzkiego raka jelita grubego. Często jednak natywna, nierozpuszczalna w wodzie forma α -(1 \rightarrow 3)-glukanów nie wykazuje potencjału terapeutycznego. Aktywność biologiczna α -(1 \rightarrow 3)-glukanów w dużej mierze zależy od ich rozpuszczalności, stężenia, struktury oraz pochodzenia, co często wiąże się z koniecznością ich chemicznej modyfikacji. Yoshida i wsp. [21] wykazali, że karboksymetylacja liniowych α -(1 \rightarrow 3)-glukanów otrzymanych z owocników *Agrocybe cylindracea* oraz *Ammanita muscaria* istotnie zwiększyła ich przeciwnowotworową aktywność w stosunku do formy niemodyfikowanej. Jak wykazano we wcześniejszych badaniach, karboksymetylowana pochodna α -(1 \rightarrow 3)-glukanu wyizolowanego z owocników *P. ostreatus* miała wysoką aktywność cytotoksyczną i antyproliferacyjną w stosunku do komórek nowotworowych linii HeLa [19]. Zwiększoną aktywność przeciwnowotworową i immunomodulacyjną wykazywały również α -(1 \rightarrow 3)-glukany izolowane z *Poria cocos* [10], *Lentinus edodes* [23], *Amanita muscaria* [21] oraz *Ramalina celastri* [16] poddane modyfikacjom typu: karboksymetylacja, sulfonowanie, aminopropylacja lub hydroksyetylowanie.

Celem pracy była ocena aktywności biologicznej karboksymetylowanych pochodnych α -(1 \rightarrow 3)-glukanów wyizolowanych z owocników uprawnych gatunków rodzaju *Pleurotus* (*P. citrinopileatus*, *P. djamor*, *P. eryngii* i *P. precoce*).

Material i metody badań

W badaniach używano owocników uprawnych gatunków bocznika: *Pleurotus citrinopileatus* rasy B120, *P. djamor* rasy B62, *P. eryngii* rasy B127 i *P. precoce* rasy K22, które pochodziły z kolekcji Katedry Warzywnictwa Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Owocniki otrzymano z uprawy doświadczalnej prowadzonej w warunkach kontrolowanych. Uprawę większości badanych gatunków bocznika prowadzono na podłożu ze słomy pszennej. Jedynie w przypadku *P. eryngii* używano podłoża z trocin bukowych. Szczegółowe warunki uprawy charakterystyczne dla gatunków bocznika podali Siwulski i wsp. [15] oraz Zawirska-Wojtasiak i wsp. [22]. Biologiczną efektywność (BE) poszczególnych gatunków bocznika wyrażoną świeżą masą owocników w przeliczeniu na 100 g suchej masy podłoża uprawowego przedstawiono w tab. 1.

Do izolacji α -(1 \rightarrow 3)-glukanów ze ściany komórkowej owocników zastosowano metodę opisaną przez Kiho i wsp. [7]. Wydajność izolacji podano w tab. 1.

Zliofilizowane próbki polisacharydów poddawano analizom strukturalnym, tj. analizie spektralnej w podczerwieni (FT-IR) oraz analizie przy użyciu wodorowego

magnetycznego rezonansu jądrowego (^1H NMR). FT-IR wykonywano przy użyciu spektrofotometru FT-IR (Model 1725X, Perkin-Elmer, Norwalk, CT, USA) w zakresie długości fali λ 4000 ÷ 400 cm^{-1} . Próba właściwa zawierała 3 mg liofilizowanego glukanu w 20-milimetrowym krążku KBr. Odczytu dokonywano wobec krążka KBr niezawierającego polisacharydu. Wodorowe (^1H) widma NMR glukanów badano z użyciem spektrometru NMR Avance (300 MHz) (Bruker BioSpin GmbH, Rheinstetten/Karlsruhe, Niemcy) w temp. 60 °C. Odpowiednie wartości przesunięć chemicznych otrzymywano, używając acetonu ($\delta_{\text{H}} - 2,225$ ppm) jako wzorca wewnętrznego. Glukany używane do analizy zawieszano w 30-procentowym NaOD (rozpuszczalnik deuterowany). Procentowy udział wiązań α -(1→3)-glikozydowych w poszczególnych biopolimerach obliczano na podstawie wielkości pola powierzchni charakterystycznych sygnałów widocznych na widmach NMR (tab. 1).

Nierozpuszczalne w wodzie α -(1→3)-glukany wyizolowane z owocników poszczególnych gatunków bocznika przeprowadzano w formę rozpuszczalną na drodze karboksymetylacji (KM), zgodnie z metodą Sasaki i wsp. [14]. Wydajność procesu podano w tab. 1.

W badaniach wykorzystano następujące hodowle komórkowe: komórki CCD 841 CoTr No. CRL-1807 (ATCC, American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA), będące linią ludzkich nabłonkowych komórek jelita grubego, przekształconych fenotypowo wrażliwym na temperaturę mutantem wirusa SV40, komórki CCD-18Co No. CRL-1459 (ATCC), będące linią ludzkich prawidłowych miofibroblastów jelita, komórki HeLa No. CCL-2 (ATCC), będące linią ludzkich komórek nabłonkowych, wywodzącą się z raka szyjki macicy, które powstały w wyniku transformacji nowotworowej na skutek zakażenia ludzkim wirusem brodawczaka HPV-18.

Badania aktywności biologicznej KM- α -glukanów wykonywano standardowymi metodami: MTT i Neutral Red (NR) – żywotność komórek, DPPH – redukcja wolnych rodników, wykonano barwienie fluorescencyjne włókien F-aktyny rodaminą-falloidyną – analiza cytoszkieletu komórkowego oraz ocenę żywotności komórek po barwieniu różnicowym bromkiem etydy (Sigma, St. Louis, MO, USA) z oranżem akrydyny (Sigma) oraz Hoechst 33342 (Sigma) z jodkiem propidyny (Sigma). Wszystkie badania wykonano zgodnie z metodyką opisaną we wcześniejszych pracach autorów [18 - 20].

Wyniki przedstawiono jako wartości średnie \pm odchylenia standardowe z trzech eksperymentów. Analizę wykonano przy użyciu testu ANOVA z następnym testem Dunnetta. Różnice na poziomie $p \leq 0,05$ oznaczano jako statystycznie istotne.

Wyniki i dyskusja

W tab. 1. przedstawiono wydajność procesu izolacji α -(1→3)-glukanów z owocników *P. citrinopileatus*, *P. djamor*, *P. erynii* i *P. precoce*. Wyizolowane polimery poddano analizie spektralnej w podczerwieni (FT-IR). Widma przedstawione na rys.

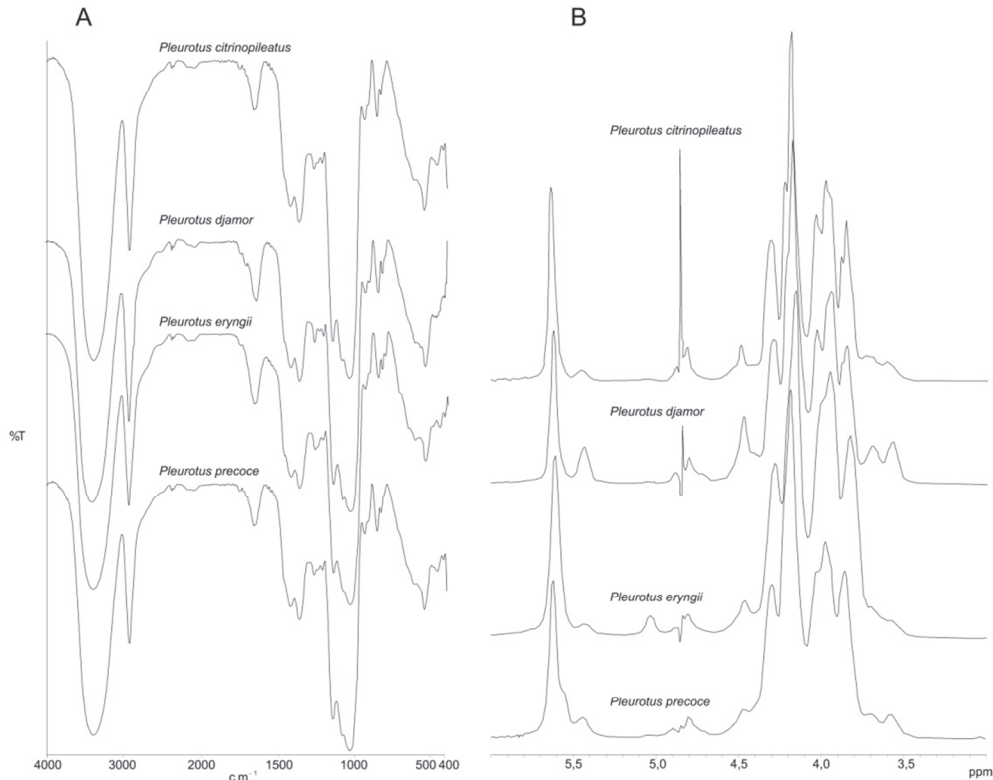
1A mają dwa charakterystyczne maksima przy długości fal $847,78 \div 849,09 \text{ cm}^{-1}$ i $822,65 \lambda \div 823,94 \text{ cm}^{-1}$. Pierwsze z nich jest charakterystyczne dla wiązań α -glikozydowych, drugie zaś sugeruje obecność wiązań glikozydowych typu α -(1→3) [6]. Analizując glukany przy użyciu wodorowego magnetycznego rezonansu jądrowego ($^1\text{H NMR}$), uzyskano we wszystkich przypadkach widma z pojedynczym singletem o wartości 5,6196-5,6271 ppm (rys. 1B). Świadczy to o obecności w badanych biopolimerach cząsteczek glukozy połączonych wiązaniem α -(1→3)-glikozydowym oraz o ich liniowym charakterze [20].

Tabela 1. Charakterystyka owocników wybranych gatunków rodzaju *Pleurotus*
Table 1. Profile of fruiting bodies of selected species of *Pleurotus* genus

Gatunek Species	Biologiczna efektywność Biological effectiveness [g/100 g]	Zawartość α -(1→3)-gukanów w suchej masie owocników Amount of α - (1→3)-glucans in dry matter of fruiting body [%]	Ilość wiązań α -(1→3)- glikozydowych w cząsteczce glukanu Number of α -(1→3)-glucosidic linkages in glucan [mol %]	Wydajność procesu karboksymetylacji [mg ze 100 mg α -(1→3)- glukanów] Yield of carbox- ymethylation [mg from 100 mg α -(1→3)-glucans]
<i>P. citrinopileatus</i>	43	4,0	91,2	123,9
<i>P. djamor</i>	32	3,1	73,8	122,7
<i>P. eryngii</i>	46	2,0	89,4	124,2
<i>P. precoce</i>	67	2,7	84,7	124,3

Ocenę aktywności biologicznej poszczególnych karboksymetylowanych α -(1→3)-glukanów wykonano metodami spektrofotometrycznej analizy żywołności komórek (metody MTT i NR) i poprzez ocenę zdolności do wygaszania wolnych rodników tlenowych (DPPH) oraz struktury cytoszkieletu komórek w stosunku do trzech linii komórkowych: HeLa, CCD 841 CoTr oraz CCD-18Co.

Działanie cytotoksyczne KM- α -glukanów przedstawiono w tab. 2. (metoda MTT). Stwierdzono, że wszystkie badane KM- α -(1→3)-glukany powodowały statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) zmniejszenie intensywności metabolizmu komórek linii nowotworowej HeLa. Największą aktywność we wszystkich przypadkach uzyskano przy stężeniu 25 $\mu\text{g/ml}$. Spośród badanych glukanów największą aktywnością charakteryzowały się polimery uzyskane z owocników *P. citrinopileatus* i *P. eryngii*.



Rys. 1. Widma FT-IR (A) i ^1H NMR (B) α -(1 \rightarrow 3)-glukanów wyizolowanych ze ściany komórkowej owocników wybranych gatunków *Pleurotus*

Fig. 1. Infrared (FT-IR) (A) and ^1H NMR spectra of α -(1 \rightarrow 3)-glucans isolated from fruiting body cell wall of selected *Pleurotus* species

Prawidłowe komórki nabłonka jelitowego (CCD 841 CoTr) nie wykazywały istotnej wrażliwości na obecność KM- α -(1 \rightarrow 3)-glukanów w ich mikrośrodoisku (tab. 2). Natomiast KM- α -glukany z badanych gatunków bocznika hamowały metabolizm komórek linii CCD-18Co (miofibroblasty). Najbardziej aktywny KM- α -glukan z owocników *P. eryngii* redukował ten proces o około 40 % ($p \leq 0,05$). Z kolei właściwościami pobudzającymi w stosunku do miofibroblastów charakteryzował się KM- α -(1 \rightarrow 3)-glukan z owocników *P. citrinopileatus*, który przy stężeniu 250 $\mu\text{g/ml}$ stymulował proliferację komórek o około 20 %.

Metodą NR sprawdzono czy KM- α -(1 \rightarrow 3)-glukany wpływają na integralność błon komórkowych trzech badanych linii (tab. 3). Analiza żywotności komórek wykazała, że KM- α -(1 \rightarrow 3)-glukan pochodzący z owocników *P. citrinopileatus* w sposób statystycznie istotny ($p \leq 0,05$) obniżał żywotność komórek linii HeLa w całym zakresie stosowanych stężeń o 20 do 30 %. Stwierdzono również, że KM- α -glukany wyizo-

lowane z owocników *P. eryngii* i *P. precoce* w całym zakresie zastosowanych stężeń stymulowały proliferację komórek linii HeLa. Z kolei wszystkie wyizolowane KM- α -glukany miały podobny wpływ na komórki linii CCD 841 CoTr i CCD-18Co. W całym zakresie stężeń powodowały statystycznie istotny ($p \leq 0,05$) wzrost żywotności komórek względem próby kontrolnej.

Tabela 2. Ocena działania cytotoksycznego KM-(1 \rightarrow 3)- α -glukanów z poszczególnych gatunków boczniaka na komórki linii nowotworowej HeLa oraz komórki linii prawidłowych CCD 841 CoTr i CCD-18Co, wykonana metodą MTT

Table 2. MTT test-based assessment of cytotoxic activity of CM-(1 \rightarrow 3)- α -glucans from individual *Pleurotus* species on human cervical tumour cell line (HeLa), normal colonic epithelial cells (CCD 841 CoTr), and normal myofibroblasts (CCD-18Co)

HeLa								
KM-(1 \rightarrow 3)- α -glukan CM-(1 \rightarrow 3)- α -glucan [μ g/ml]	<i>P. citrinopileatus</i>		<i>P. djamor</i>		<i>P. eryngii</i>		<i>P. precoce</i>	
	[% kontroli] [% of control sample]	s / SD	[% kontroli] [% of control sample]	s / SD	[% kontroli] [% of control sample]	s / SD	[% kontroli] [% of control sample]	s / SD
0 (kontrola/control sample)	100,00	0,8	100,00	0,4	100,00	1,6	100,00	0,7
25	74,43*	0,7	87,83*	0,3	67,77*	0,3	84,71*	0,3
50	78,28*	1,5	92,59	2,3	71,33*	0,8	86,47*	2,2
100	78,96*	1,5	89,68*	1,7	73,93*	0,9	89,22*	1,8
150	87,10*	2,3	92,86*	0,5	77,25*	2,5	88,22*	1,3
200	95,02*	0,8	97,09	2,3	79,86*	2,2	91,48*	2,4
250	102,71	2,1	97,09	2,6	85,31*	1,4	99,00	2,6
CCD 841 CoTr								
KM-(1 \rightarrow 3)- α -glukan CM-(1 \rightarrow 3)- α - glucan [μ g/ml]	<i>P. citrinopileatus</i>		<i>P. djamor</i>		<i>P. eryngii</i>		<i>P. precoce</i>	
	[% kontroli] [% of control sample]	s / SD	[% kontroli] [% of control sample]	s / SD	[% kontroli] [% of control sample]	s / SD	[% kontroli] [% of control sample]	s / SD
0 (kontrola/control sample)	100,00	1,3	100,00	0,7	100,00	1,0	100,00	0,5
25	98,17	1,1	98,32	1,0	103,98*	0,1	102,93	1,0
50	94,26*	1,0	93,00*	0,3	102,14	0,9	101,60	0,3
100	96,34	1,3	96,08*	0,6	98,47	0,9	100,27	0,3
150	97,13	0,5	99,44	1,2	93,88*	0,4	106,91*	1,3
200	99,48	1,4	100,84	0,5	104,28	0,6	108,24*	1,5
250	89,82*	1,9	109,8*	0,7	107,03*	1,0	107,45*	1,3

c.d. Tab. 2

CCD-18Co								
KM-(1→3)- α -glukan CM-(1→3)- α -glukan [μ g/ml]	<i>P. citrinopileatus</i>		<i>P. djamor</i>		<i>P. eryngii</i>		<i>P. precoce</i>	
	[% kontroli] [% of control sample]	s / SD	[% kontroli] [% of control sample]	s / SD	[% kontroli] [% of control sample]	s / SD	[% kontroli] [% of control sample]	s / SD
0 (kontrola/control sample)	100,00	0,6	100,00	0,3	100,00	0,2	100,00	0,3
25	107,33	1,5	97,77	0,3	79,53*	0,2	97,55	0,4
50	110,78*	0,2	98,66	0,2	71,16*	0,4	96,57*	0,1
100	109,05*	0,3	94,2*	0,6	68,84*	0,4	87,75*	0,5
150	102,16	0,5	92,86*	0,6	64,19*	0,2	83,33*	0,1
200	111,21*	0,8	91,07*	1,0	66,98*	0,1	80,88*	0,1
250	118,97*	0,8	84,38*	0,4	67,44*	0,9	80,39*	0,2

Objaśnienia: / Explanatory notes:

s / SD – odchylenie standardowe / standard deviation; * – wyniki statystycznie istotnie różne w odniesieniu do wyników próby kontrolnej ($p \leq 0,05$) / statistically significantly different results compared to the control sample at $p \leq 0.05$.

Tabela 3. Ocena integralności błon komórkowych komórek linii nowotworowej HeLa oraz linii prawidłowych CCD 841 CoTr i CCD-18Co po inkubacji z KM-(1→3)- α -glukanami z poszczególnych gatunków boczników, wykonana metodą NR

Table 3. NR test-based assessment of membrane integrity of HeLa line tumour cells and of normal CCD 841 CoTr as well as CCD-18Co after incubation with KM-(1→3)- α -glucans from individual *Pleurotus* species

HeLa								
KM-(1→3)- α -glukan CM-(1→3)- α -glukan [μ g/ml]	<i>P. citrinopileatus</i>		<i>P. djamor</i>		<i>P. eryngii</i>		<i>P. precoce</i>	
	[% kontroli] [% of control sample]	s / SD	[% kontroli] [% of control sample]	s / SD	[% kontroli] [% of control sample]	s / SD	[% kontroli] [% of control sample]	s / SD
0 (kontrola/control sample)	100,00	5,3	100,00	2,1	100,00	1,3	100,00	1,1
25	71,08*	0,8	84,83*	1,3	100,91	0,7	104,39	1,3
50	73,90*	1,0	91,47	2,2	105,94	1,3	114,47*	1,0
100	77,11*	0,9	96,68	3,3	112,33*	0,9	118,86*	1,1
150	74,70*	1,4	108,53	1,8	116,89*	1,8	120,18*	1,8
200	75,10*	1,8	98,58	0,7	115,07*	1,0	117,98*	1,2
250	81,93	0,8	118,96	4,5	106,85*	0,5	114,91*	1,6

c.d. Tab. 3.

CCD 841 CoTr								
KM-(1→3)-α-glukan CM-(1→3)-α-glukan [μg/ml]	<i>P. citrinopileatus</i>		<i>P. djamor</i>		<i>P. eryngii</i>		<i>P. precoce</i>	
	[% kontroli] [% of control sample]	s / SD	[% kontroli] [% of control sample]	s / SD	[% kontroli] [% of control sample]	s / SD	[% kontroli] [% of control sample]	s / SD
0 (kontrola/control sample)	100,00	0,4	100,00	0,6	100,00	0,7	100,00	0,6
25	119,28*	0,9	116,67*	1,6	116,52*	0,8	123,31*	1,4
50	117,49*	1,5	106,22*	1,6	112,17*	2,6	115,04*	1,6
100	114,57*	2,2	119,11*	0,9	118,70*	1,6	113,77*	1,2
150	118,61*	1,0	116,67*	1,2	119,13*	2,8	111,44*	1,2
200	123,77*	0,8	111,78*	1,9	114,13*	1,2	111,02*	0,9
250	121,97*	0,6	117,56*	2,0	113,91*	1,7	122,46*	4,2
CCD-18Co								
KM-(1→3)-α-glukan CM-(1→3)-α-glukan [μg/ml]	<i>P. citrinopileatus</i>		<i>P. djamor</i>		<i>P. eryngii</i>		<i>P. precoce</i>	
	[% kontroli] [% of control sample]	s / SD	[% kontroli] [% of control sample]	s / SD	[% kontroli] [% of control sample]	s / SD	[% kontroli] [% of control sample]	s / SD
0 (kontrola/control sample)	100,00	1,1	100,00	0,9	100,00	0,2	100,00	0,7
25	119,35*	1,2	118,12*	0,7	117,07*	0,7	120,68*	0,7
50	119,71*	1,0	122,65*	1,3	124,39*	0,5	121,05*	1,2
100	125,45*	1,3	119,16*	1,3	125,78*	1,1	121,43*	0,8
150	131,90*	1,9	119,86*	1,1	125,78*	1,2	121,05*	0,3
200	119,00*	1,0	121,95*	1,6	121,95*	1,2	123,31*	0,6
250	120,07*	0,6	110,45*	2,0	122,65*	0,8	124,81*	1,7

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

Dowiedziano, że KM-α-(1→3)-glukan wyizolowany z owocników *P. citrinopileatus*, działał cytotoksycznie na komórki nowotworowe linii HeLa. Jest to pożądaný efekt, ponieważ linia raka szyjki macicy jest linią szybko rosnącą i dość oporną na działanie różnego rodzaju czynników. W tym kontekście pozytywnie zaskakującym wynikiem był brak istotnej cytotoksycznej aktywności badanego KM-α-glukanu w stosunku do komórek prawidłowych, co dobrze rokuje na tym etapie badań. Wymaga to jednak dalszych testów w celu bardziej precyzyjnego określenia zaobserwowanych różnic, jak również stwierdzenia ewentualnych aktywności skierowanych na inne nowotwory. Podobne wyniki uzyskali również Gonzaga i wsp. [4], wykonując badania toksykologiczne bazujące na kompleksie białkowo-polisacharydowym (α-(1→4)-glukan-β-(1→6)-glukan-białko) izolowanym z owocników grzyba *Agaricus blazei*.

Polisacharydy izolowane z owocników grzybów rodzaju *Pleurotus* działają hamująco również na inne rodzaje komórek nowotworowych. Badania *in vitro* wykazały zahamowanie wzrostu komórek MCF-7 (ludzki rak piersi), sarkoma 180 (mysi mięsak), A549 (ludzki rak płuc) oraz SiHa i HeLa (ludzki rak szyjki macicy) [13, 25].

Stres oksydacyjny i wolne rodniki tlenowe biorą czynny udział w patogenezie chorób nowotworowych. Z tego względu przeanalizowano również właściwości antyoksydacyjne KM- α -(1 \rightarrow 3)-glukanów (tab. 4). Wykazano, że karboksymetylowane α -(1 \rightarrow 3)-glukany wyizolowane z owocników *P. citrinopileatus* i *P. djamor* nie miały zdolności wygaszania wolnych rodników tlenowych. W przypadku KM- α -(1 \rightarrow 3)-glukanów z owocników *P. eryngii* i *P. precoce* niewielką, statystycznie nieistotną redukcję rodnika DPPH zaobserwowano jedynie przy stężeniach odpowiednio: 50 i 100 μ g/ml. Obserwacja ta nie pozwala jednak jednoznacznie stwierdzić, że glukany te neutralizowały wolne rodniki. Słabą zdolność do usuwania wolnych rodników można tłumaczyć brakiem podwójnych wiązań w cząsteczkach α -(1 \rightarrow 3)-glukanów, których obecność, jak wskazują dane literaturowe, ma istotny wpływ na właściwości antyoksydacyjne [8].

Tabela 4. Ocena zdolności wygaszania wolnych rodników tlenowych przez KM-(1 \rightarrow 3)- α -glukany z poszczególnych gatunków boczników, wykonana metodą DPPH

Table 4. DPPH method-based assessment of free radical scavenging ability of CM-(1 \rightarrow 3)- α -glucans from individual *Pleurotus* species

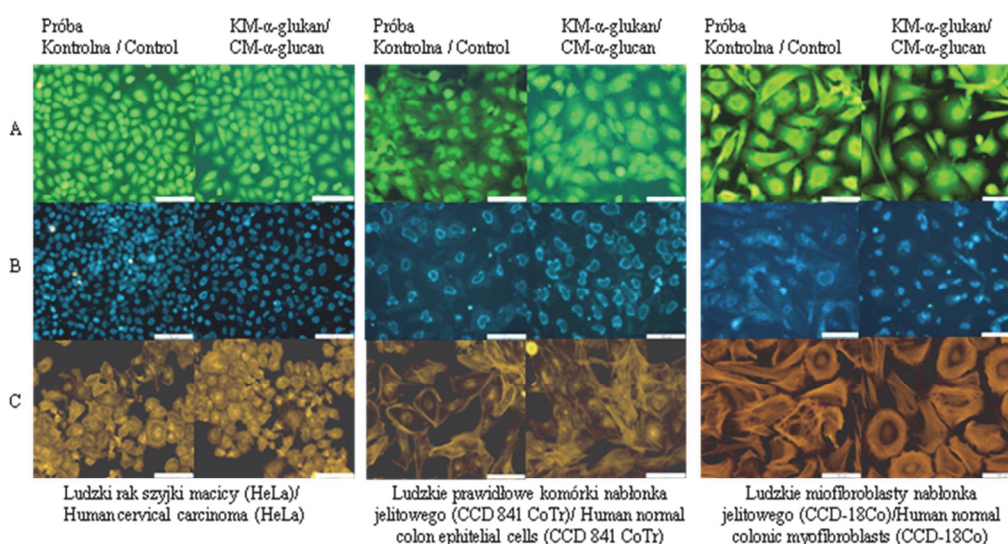
KM-(1 \rightarrow 3)- α -glukan CM-(1 \rightarrow 3)- α -glucan [μ g/ml]	<i>P. citrinopileatus</i>		<i>P. djamor</i>		<i>P. eryngii</i>		<i>P. precoce</i>	
	[% kontroli] [% of control sample]	s / SD	[% kontroli] [% of control sample]	s / SD	[% kontroli] [% of control sample]	s / SD	[% kontroli] [% of control sample]	s / SD
0 (kontrola/control sample)	100,00	3,4	100,00	0,8	100,00	1,7	100,00	0,8
25	118,17*	1,2	104,73*	1,5	103,09*	0,6	100,13	2,3
50	122,11*	1,2	106,27*	1,1	98,39	4,9	99,94	2,3
100	125,29*	0,8	108,40*	3,7	103,09*	4,3	99,87	3,3
150	126,88*	3,9	109,33*	2,2	108,38*	2,3	105,32*	2,4
200	126,05*	3,7	106,47*	2,4	105,48*	3,1	107,78*	5,0
250	123,12*	4,4	101,33	3,1	103,93*	3,1	103,54*	2,3

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

Zastosowanie barwienia fluorescencyjnego pozwala na śledzenie zmian morfologii i żywotności komórek poddanych działaniu różnych substancji. Ocena integralności błony komórek, a przez to rozróżnienie komórek żywych od apoptotycznych wykonano, stosując jedynie najaktywniejszy KM- α -(1 \rightarrow 3)-glukan z *P. citrinopileatus* (rys. 2).

Na podstawie analizy wyników różnicowego barwienia fluorescencyjnego stwierdzono, że KM- α -glukan z owocników *P. citrinopileatus* zaburzał integralność błony komórek nowotworowych (rys. 2A i B). Świadczyła o tym mniejsza gęstość hodowli komórek po ich inkubacji z glukanem, wynikająca głównie z ograniczonej proliferacji oraz odklejania się komórek apoptotycznych od powierzchni nośnika. Natomiast KM- α -(1 \rightarrow 3)-glukan z *P. citrinopileatus* nie wpływał istotnie na żywotność komórek prawidłowych.

Barwienie fluorescencyjne filamentów aktynowych (F-aktyny) wykazało, że KM- α -(1 \rightarrow 3)-glukan z owocników *P. citrinopileatus* nie wpływał destrukcyjnie na cytoszkielet komórek badanych linii. Wskazuje na to ich prawidłowa struktura oraz ułożenie mikrofilamentów (rys. 2C).



A - Barwienie OA/BE (oranz akrydyny/bromek etydyny) / OA/BE (orange acridine/ethidium bromide) staining; B - Barwienie HJP (Hoechst 33342/jodek propidyny) / HJP (Hoechst 33342/propidium iodide) staining; C - Barwienie mikrofilamentów aktynowych z rodaniną/falloidyną / Microfilaments staining with rhodamine-phalloidin; Bar = 100 μ m

Rys. 2. Fluorescencyjne barwienia oceniające żywotność komórek (A i B) oraz organizację cytoszkieletu komórek (C) poddanych działaniu KM- α -glukanu wyizolowanego z *P. citrinopileatus*

Fig. 2. Fluorescent staining to assess cellular apoptosis (A and B) and cell cytoskeleton organisation (C) impacted by CM- α -glucan isolated from *P. citrinopileatus*

Przedstawione wyżej badania są uzupełnieniem dotychczasowej wiedzy o właściwościach odżywczych i prozdrowotnych grzybów z rodzaju *Pleurotus*. Kontynuowanie badań na tych organizmach jest więc celowe.

Wnioski

1. Owocniki uprawnych gatunków bocznika (*P. citrinopileatus*, *P. djamor*, *P. eryngii* i *P. precoce*) stanowiły wydajne źródło α -(1 \rightarrow 3)-glukanów.
2. Badania strukturalne (FT-IR i ^1H NMR) potwierdziły poprawność metody izolacji α -(1 \rightarrow 3)-glukanów.
3. KM- α -(1 \rightarrow 3)-glukan uzyskany z owocników *P. citrinopileatus* zaburzał integralność błony komórek linii nowotworowej HeLa, a tym samym obniżał ich żywotność.
4. KM- α -glukan uzyskany z owocników *P. citrinopileatus* w analizowanym zakresie stężeń nie wpływał istotnie na żywotność komórek prawidłowych.
5. Żadne z przebadanych KM- α -(1 \rightarrow 3)-glukanów nie wykazywały właściwości wygaszania wolnych rodników tlenowych.

Literatura

- [1] Augustin J.: Glucans as modulating polysaccharides: their characteristics and isolation from micro-biological sources. *Biologia*, 1998, **53**, 277-282.
- [2] Augustin J., Jaworska G., Dandár A., Cejpek K.: Bocznik ostrygowaty (*Pleurotus ostreatus*) jako źródło β -D-glukanów. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **6** (55), 170-176.
- [3] Bobek P., Ozdin L., Kuniak L.: Effect of oyster mushroom and isolated β -glucan on lipid peroxidation and on the activities of antioxidative enzymes in rats fed the cholesterol diet. *Nutr. Bioch.*, 1995, **8**, 469-471.
- [4] Gonzaga M.L.C., Bezerra D.P., Alves A.P.N.N., de Alencar N.M.N., de Oliveira Mesquita R., Lima M.W., de Aguiar Soares S., Pessoa C., de Moraes M.O., Costa-Lotuf L.V.: *In vivo* growth-inhibition of Sarcoma 180 by an α -(1 \rightarrow 4)-glucan- β -(1 \rightarrow 6)-glucan-protein complex polysaccharide obtained from *Agaricus blazei* Murill. *J. Nat. Med.*, 2009, **63**, 32-40.
- [5] Grün C.H.: Structure and biosynthesis of fungal α -glucans. Ed. Utrecht University, the Netherlands, 2003.
- [6] Jelsma J., Kreger D.R.: Polymorphism in crystalline (1 \rightarrow 3)- α -D-glucan from fungal cell walls. *Carbohydr. Res.*, 1979, **71**, 51-64.
- [7] Kiho T., Yoshida I., Katsuragawa M., Sakushima M., Usui S., Ukai S.: Polysaccharides in Fungi XXXIV: a polysaccharide from fruiting bodies of *Amanita muscaria* and the antitumor activities of its carboxymethylated product. *Biol. Pharm. Bull.*, 1994, **17**, 1460-1462.
- [8] Kozarski M., Klaus A., Nikšić M., Vrvic M.M., Todorović N., Jakovljević D., van Griensven L.J.L.D.: Antioxidative activities and chemical characterization of polysaccharide extracts from the widely used mushrooms *Ganoderma applanatum*, *Ganoderma lucidum*, *Lentinus edodes* and *Trametes versicolor*. *J. Food Compos. Anal.*, 2012, **26**, 144-153.
- [9] Kubiak K.: Rynek świeżych i przetworzonych grzybów uprawnych w Polsce. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2001, **48** (8), 50-52.
- [10] Lin Y., Zhang L., Chen L., Jin Y., Zeng F., Jin J., Wan B., Cheung P.C.K.: Molecular mass and antitumor activities of sulfated derivatives of α -glucan from *Poria cocos* mycelia. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2004, **34**, 231-236.
- [11] Lindequist U., Niedermeyer T.H.J., Jülich W-D.: The Pharmacological Potential of Mushrooms. *eCAM*, 2005, **2**, 285-299.

- [12] Reguła J., Gramza-Michałowska A.: Wartość odżywcza oraz indeks glikemiczny produktów zbożowych z dodatkiem suszu boczniaka ostrygowatego (*Pleurotus ostreatus*). Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2013, **5** (90), 119-128.
- [13] Roupas P., Keogh J., Noakes M., Margetts C., Taylor P.: The role of edible mushrooms in health: Evaluation of the evidence. J. Funct. Foods, 2012, **4**, 687-709.
- [14] Sasaki T., Abiko N., Nitta K.: Antitumor activity of carboxymethyl-glucans obtained by carboxymethylation of (1→3)-β-D-glucan from *Alcaligenes faecalis* var *myxogenes* IFO13140. Eur. J. Cancer Clin. Oncol., 1979, **15**, 211-215.
- [15] Siwulski M., Jasińska A., Sobieralski K., Sas-Golak I.: Comparison of chemical composition of fruiting bodies of some edible mushrooms cultivated on sawdust. Ecol. Chem. Eng. A, 2011, **18** (1), 89-96.
- [16] Stuelp-Campelo P.Ma., Oliveira M.B., Leão A.M.A.C., Carbonero E.R., Gorin A.J., Iacomini M.: Effect of a soluble α-D-glucan from the lichenized fungus *Ramalina celastri* on macrophage activity. Int. Immunopharm., 2002, **2**, 691-698.
- [17] Volman J.J., Mensink R.P., van Griensven L.J.L.D., Plat J.: Effects of α-glucans from *Agaricus bisporus* on ex vivo cytokine production by LPS and PHA-stimulated PBMCs; a placebo-control sampled study in slightly hypercholesterolemic subjects. Eur. J. Clin. Nutr., 2010, **64**, 720-726.
- [18] Wiater A., Paduch R., Choma A., Pleszczyńska M., Siwulski M., Dominik J., Janusz G., Tomczyk M., Szczodrak J.: Biological study on carboxymethylated (1→3)-α-D-glucans from fruiting bodies of *Ganoderma lucidum*. Int. J. Biol. Macromol., 2012, **51**, 1014-1023.
- [19] Wiater A., Paduch R., Pleszczyńska M., Próchniak K., Choma A., Kandefer-Szerszeń M., Szczodrak J.: α-(1→3)-D-Glucans from fruiting bodies of selected macromycetes fungi and the biological activity of their carboxymethylated products. Biotechnol. Lett., 2011, **33**, 787-795.
- [20] Wiater A., Pleszczyńska M., Szczodrak J., Próchniak K.: α-(1→3)-Glukany ściany komórkowej żółciaka siarkowego – *Laetiporus sulphureus* (Bull.:Fr.) Murrill – izolacja, charakterystyka i zastosowanie do indukcji syntezy mutanazy. Biotechnologia, 2008, **2**, 174-189.
- [21] Yoshida I., Kiho T., Usui S., Sakushima M., Ukai S.: Polysaccharides in Fungi. XXXVII. Immunomodulating activities of carboxymethylated derivatives of linear (1→3)-α-D-glucans extracted from the fruiting bodies of *Agrocybe cylindracea* and *Amanita muscaria*. Biol. Pharm. Bull., 1996, **19**, 114-121.
- [22] Zawirska-Wojtasiak R., Siwulski M., Mildner-Szkudlarz S., Wąsowicz E.: Studies on the aroma of different species and strains of *Pleurotus* measured by GC/MS, sensory analysis and electronic nose. Acta Sci. Pol. Technol. Aliment., 2009, **8** (1), 47-61.
- [23] Zhang P., Cheung P.C.K.: Evaluation of sulfated *Lentinus Edodes* α-(1→3)-D-glucan as a potential antitumor agent. Biosci. Biotechnol. Biochem., 2002, **66**, 1052-1056.
- [24] Zhang M., Cheung P.C.K., Zhang L.: Evaluation of mushroom dietary fiber (nonstarch polysaccharides) from sclerotia of *Pleurotus tuber-regium* (Fries) singer as a potential antitumor agent. J. Agric. Food Chem., 2001, **49**, 5059-5062.
- [25] Zong A., Cao H., Wang F.: Anticancer polysaccharides from natural resources: A review of recent research. Carbohydr. Polym., 2012, **90**, 1395-1410.

ASSESSING BIOLOGICAL ACTIVITY OF CARBOXYMETHYLATED DERIVATIVES
OF α -(1 \rightarrow 3)-GLUCANS ISOLATED FROM FRUITING BODIES OF CULTIVATED
PLEUROTUS SPECIES

S u m m a r y

α -(1 \rightarrow 3)-Glucans constitute the least known group of polysaccharides that make up the fungal cell wall. The objective of the study was to assess the biological activity of carboxymethylated derivatives of α -(1 \rightarrow 3)-glucans extracted from fruiting bodies of the cultivated species of *Pleurotus* (*P. citrinopileatus*, *P. djamor*, *P. erynii*, and *P. precoce*) genus. The polysaccharides extracted from the fruiting bodies were structurally analyzed (using FT-IR and ^1H NMR) and, based on the analysis results, it was proved that they were linear α -(1 \rightarrow 3)-glucans. With the use of a carboxymethylation method, the water-insoluble α -(1 \rightarrow 3)-glucans were converted into soluble forms, i.e. carboxymethyl- α -(1 \rightarrow 3)-glucans (KM- α -(1 \rightarrow 3)-glucans). Next, their effect was investigated on the viability of normal CCD 841 CoTr cells (normal human colonic epithelial cells), CCD-18Co (intestinal myofibroblasts), and HeLa tumour cells (human cervical cancer). The metabolic activity, toxicity (MTT and NR), and free radical scavenging ability (DPPH) were analyzed. It was shown that the effect of KM- α -(1 \rightarrow 3)-glucan derived from the *P. citrinopileatus* fruiting bodies was the strongest as regards the reduction of the cancer cell viability. Then, the NR method used showed that all the tested KM- α -(1 \rightarrow 3)-glucans within the entire concentration range caused the viability of normal cells (CCD 841 CoTr and CCD-18Co) to increase statistically significantly. The KM- α -glucans analyzed did not exhibit any free oxygen radical reduction activity. Based on the results of the differential fluorescent staining analysis, it was confirmed that the KM- α -glucan from fruiting bodies of *P. citrinopileatus* disturbed the membrane integrity of tumour cells. On the other hand, the fluorescent staining of the F-actin filaments proved that this KM- α -glucan did not have any destructive effect on the cytoskeleton of the cells studied.

Key words: *Pleurotus*, α -(1 \rightarrow 3)-glucan, Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR), Hydrogen Nuclear Magnetic Resonance (^1H NMR), carboxymethylation, cell cultures, biological activity ☒

MARIOŁA FRIEDRICH, GRAŻYNA PODLASZEWSKA

OCENA WPŁYWU UZUPEŁNIANIA PASZY WYBRANYMI SKŁADNIKAMI MINERALNYMI NA ICH METABOLIZM I DYSTRYBUCJĘ W ORGANIZMIE – BADANIA MODELOWE

Streszczenie

Badania przeprowadzono na 3 grupach szczurów doświadczalnych ($n = 13$) żywionych: grupa I – paszą standard (Labofeed B), zawierającą m.in. pełne ziarna pszenicy i kukurydzy; grupa II – paszą zmodyfikowaną, w której około 84 % pełnych ziaren pszenicy zastąpiono mąką pszenną typu 500, a 50 % obecnej w niej kukurydzy – sacharozą w stosunku do paszy standard; grupa III – paszą zmodyfikowaną, uzupełnianą Ca, Mg, Zn i Cr w ilościach wyrównujących powstałe po zamianie składników różnice. Udział pozostałych makroskładników w obu paszach był identyczny.

Stwierdzono, że uzupełnianie paszy powodowało mniejsze jej spożycie, a tym samym mniejsze spożycie składników mineralnych. Pomimo tego przyrosty masy ciała zwierząt tej grupy były większe, większe było też gromadzenie wisceralnej tkanki tłuszczowej. W grupie tej istotnie ($p \leq 0,01$) wzrosła zawartość tłuszczu i istotnie ($p \leq 0,01$) zmniejszyła się zawartość białka w tkance mięśniowej. Nie stwierdzono istotnego wpływu zastosowanego uzupełniania paszy na stężenie badanych składników mineralnych w surowicy krwi i ich zawartość w tkance mięśniowej.

Słowa kluczowe: szczury szczepu Wistar, uzupełnianie diety, składniki mineralne, dystrybucja składników w organizmie

Wprowadzenie

Pomimo wzrostu świadomości żywieniowej społeczeństwa stwierdza się w całodziennych racjach pokarmowych niedobory takich składników, jak: witaminy z grupy B oraz E i K [3], a ze składników mineralnych przede wszystkim: wapń, magnez, żelazo, miedź, cynk i potas [1]. Sposobem na zbilansowanie diety jest stosowanie przez producentów żywności wzbogacania wybranych produktów w witaminy i/lub składniki

Prof. dr hab. M. Friedrich, Zakład Fizjologii Żywienia Człowieka, Wydz. Nauk o Żywności i Rybactwa, Zachodnio-Pomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, ul. Papieża Pawła VI/3, 71-459 Szczecin, dr inż. G. Podlaszewska, Wyższa Szkoła Teologiczno-Humanistyczna w Podkowie Leśnej, ul. Jana Pawła II 39, 05-807 Podkowa Leśna, Oddział w Szczecinie. Kontakt: Mariola.Friedrich@zut.edu.pl

mineralne, dopuszczone w rozporządzeniu Ministra Zdrowia z 16 września 2010 r., w sprawie substancji wzbogacających, dodawanych do żywności i warunków ich stosowania [14], rozszerzone przez rozporządzenie (WE) nr 1925/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady z 20 grudnia 2006 r. [13] o witaminę K oraz składniki mineralne: Mg, Zn, Mn, Na, K, Se, Mo, F, Cl, P.

Na podstawie badań przeprowadzonych w Polsce stwierdzono sukcesywne zwiększanie na rynku liczby produktów wzbogaconych oraz suplementów diety, a także wzrastający odsetek osób spożywających produkty wzbogacone i/lub stosujących suplementację diety [6, 16]. Wskazuje to na celowość uwzględniania tego zjawiska w badaniach żywieniowych.

Celem pracy było określenie, na modelu zwierzęcym, wpływu uzupełniania diety, w której pełne ziarna pszenicy i kukurydzy zastąpiono mąką pszenną i sacharozą, wybranymi składnikami mineralnymi, w ilościach wyrównujących ich zawartość po zamianie składników paszy, na ich metabolizm i dystrybucję w organizmie.

Material i metody badań

Po uzyskaniu zgody Lokalnej Komisji Etycznej (nr zezwolenia 7/2008) przeprowadzono doświadczenie na 39 samcach szczura laboratoryjnego szczepu Wistar, w wieku 5 - 6 miesięcy, umieszczonych w indywidualnych metalowych klatkach, w klimatyzowanym wiwarium, w temp. $21 \pm 1^\circ\text{C}$, w cyklu jasność/ciemność – 12 h/12 h.

Zwierzęta podzielono na 3 grupy żywieniowe ($n = 13$) o zbliżonej masie ciała. Grupę I żywiono paszą standard – Labofeed B, zawierającą m.in. pełne ziarna pszenicy i kukurydzy. Grupę II żywiono paszą zmodyfikowaną, w której około 84 % pełnych ziaren pszenicy zastąpiono mąką pszenną typu 500, a 50 % obecnej w niej kukurydzy – sacharozą. Grupie III podawano paszę zmodyfikowaną, uzupełnioną Ca, Mg, Zn i Cr. Udział pozostałych makroskładników w obu paszach był identyczny. Zastąpienie obecnych w diecie pełnych ziaren zbóż mąką pszenną i sacharozą mogła, do pewnego stopnia, imitować współczesny sposób odżywiania, a uzupełnianie diety składnikami mineralnymi, stosowane w technologii żywności – jej wzbogacanie. Natomiast dobór składników mineralnych wynikał z istotnej ich funkcji fizjologicznej, stwierdzanych niedoborów w diecie i w organizmie oraz z przynależności do grupy dopuszczonych do fortyfikacji bądź do produkcji suplementów diety [6].

W celu ustalenia rzeczywistego składu chemicznego pasz, przeprowadzono podstawowe analizy chemiczne. Z przygotowanych próbek, zgodnie z zaleceniami, pobierano naważki (po 4 z każdej), w których oznaczano zawartość: białka ogólnego, tłuszczu surowego, suchej masy i związków mineralnych w postaci popiołu ogólnego [5]. Obliczano zawartość energii brutto, stosując równoważniki fizyczne, wynoszące w przypadku węglowodanów – 4,15 kcal/g (17,4 kJ/g), białka – 5,65 kcal/g (23,6 kJ/g),

tłuszczu – 9,45 kcal/g (39,6 kJ/g) oraz obliczano zawartość energii metabolicznej przy użyciu równoważników Atwatera, które wynoszą dla węglowodanów – 4,0 kcal/g (16,7 kJ/g), dla białka – 4,0 kcal/g (16,7 kJ/g), dla tłuszczu – 9,0 kcal/g (37,6 kJ/g). Oznaczano również zawartość nierozpuszczalnych frakcji błonnika pokarmowego w aparacie ANKOM 220. Zawartość wapnia, magnezu, cynku i chromu w paszach oznaczano metodą emisyjnej spektroskopii atomowej, w aparacie ICP-AES Jobin Yvan JY-24. Wyniki przedstawiono w tab. 1.

Tabela 1. Skład chemiczny zastosowanych pasz
Table 1. Chemical composition of fodders applied

Składnik Component	Pasza standard Standard fodder	Pasza zmodyfikowana Modified fodder
Białko ogólne / Total protein [%]	19,16	18,48
Tłuszcz surowy / Crude fat [%]	2,81	2,33
Węglowodany / Carbohydrates [%]	63,76	65,46
Sucha masa / Dry matter [%]	91,84	92,26
Popiół ogólny / Total ash [%]	6,09	5,98
Energia brutto Gross energy		
[kcal/g]	3,99	3,98
[kJ/g]	16,73	16,67
Energia metaboliczna Metabolic energy		
[kcal/g]	3,57	3,56
[kJ/g]	14,95	14,94
Celuloza [% s.m] Cellulose [% d.m.]	6,02	5,67
Hemiceluloza Hemicellulose	10,31	5,69
NDF [% s.m] / [% d.m.]	17,82	12,67
ADF [% s.m] / [% d.m.]	7,51	6,98
ADL [% s.m] / [% d.m.]	1,42	1,31
Wapń / Calcium [mg/kg].	12293	11406
Magnez / Magnesium [mg/kg]	1790	796
Cynk / Zinc [mg/kg].	120,0	105,7
Chrom / Chromium [mg/kg]	0,451	0,209

Objaśnienia: / Explanatory notes:

NDF – frakcja włókna obojętno-detergentowego / neutral-detergent fibre fraction; ADF – frakcja włókna kwaśno-detergentowego / acid-detergent fibre fraction; ADL – lignina / lignin.

Zwierzęta grupy I i II otrzymywały do picia czystą odstaną wodę wodociągową. Grupa III otrzymywała w porze wzmożonej aktywności 50 ml wodnego roztworu składników mineralnych, zawierającego: wapń – w postaci glukonianu, firmy Farmapol Sp. z o.o., magnez – w postaci zasadowego węgla, firmy Polfa Sp z o.o., cynk – w postaci glukonianu, firmy Walmark, chrom – chelatu aminokwasowego, firmy Naturrell AB. Ilość podawanych składników mineralnych, wyliczana w stosunku do ilości spożywanej codziennie przez zwierzęta paszy, uzupełniała różnicę w ilości tych składników pomiędzy paszą standardową a paszą zmodyfikowaną. Po wypiciu roztworu składników mineralnych zwierzęta dopajano czystą, odstaną wodą wodociągową.

W szóstym tygodniu doświadczenia zwierzęta umieszczano w klatkach metabolicznych, firmy Techniplast i po 48-godzinnym kondycjonowaniu, przez 24 h zbierano mocz, który przeznaczano do dalszych analiz.

W trakcie 7-tygodniowego doświadczenia (po jednodobowym kondycjonowaniu) codziennie obliczano ilość pobranego roztworu składników mineralnych i ilość spożytej paszy, a raz w tygodniu, zawsze o tej samej porze, kontrolowano masę ciała zwierząt. Na 12 h przed zakończeniem doświadczenia zwierzętom odstawiano paszę, a następnie usypiano je anestetykiem Ketanest podanym domięśniowo i pobierano krew z serca.

W surowicy krwi oznaczano: stężenie wapnia całkowitego – metodą kolorymetryczną, z o-krezolofaleiną, magnezu – metodą kolorymetryczną, z chlorofosfonazo III, fosforu nieorganicznego – metodą z fosforomolibdenianem i aktywność fosfatazy alkalicznej (ALP) – metodą kinetyczną, z p-nitrofenylofosforanem. Oznaczenia te wykonywano w tzw. systemie zamkniętym, przy użyciu odczynników firmy Roche Diagnostics w aparacie COBAS INTEGRA 400/700/800. Oznaczano również stężenie kalcytoniny metodą testu immunoenzymatycznego dwupunktowego, z zastosowaniem chemiluminescencji.

Do oznaczania stężeń wapnia i magnezu w moczu stosowano te same metody.

Do badań pobierano również tkankę mięśniową (*m. quadriceps femoris*, *m. semimembranosus*, *m. adduktor femoris*, *m. superficialis gluteus*), w której oznaczano zawartość: białka ogólnego metodą Kiejdahla, tłuszczu – metodą Soxhleta, suchej masy – metodą suszenia do stałej masy, związki mineralne w postaci popiołu – metodą prażenia w piecu muflowym do stałej masy oraz zawartość wapnia, magnezu, cynku i chromu – metodą spektrometrii emisyjnej, ze wzbudzeniem w indukcyjnie sprzężonej plazmie argonowej (ICP OES). Oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach.

Po uśpieniu zwierząt preparowano również tłuszcz okołonarządowy, który ważono z dokładnością do 0,001 g.

Uzyskane wyniki, po sprawdzeniu normalności rozkładu, poddano wieloczynnikowej analizie wariancji, przy użyciu komputerowego programu Statistica®, z zastosowaniem testu NIR, na poziomie istotności $p \leq 0,05$ i $0,01$.

Wyniki i dyskusja

Wykazano istotny wpływ zmiany składu diety i jej uzupełniania składnikami mineralnymi na wielkość spożycia, zarówno w wartościach bezwzględnych, jak i w przeliczeniu na jednostkę masy ciała. Istotnie mniej, zarówno w stosunku do grupy żywionej paszą standard, jak i do grupy żywionej paszą zmodyfikowaną, spożywały zwierzęta, których dieta była uzupełniana (tab. 2), co miało również odzwierciedlenie w sumarycznym spożyciu analizowanych składników mineralnych (tab. 3).

Pomimo różnic pod względem wielkości spożycia, nie stwierdzono zmian w przyrostach masy ciała badanych zwierząt. Należy jednak zauważyć, że przyrosty masy ciała zwierząt w grupie otrzymującej dodatkowo składniki mineralne były większe. U zwierząt tych wzrastała również ilość tłuszczu wisceralnego – w wartościach bezwzględnych, jak i w przeliczeniu na jednostkę spożytej paszy i jednostkę masy ciała (tab. 2) oraz zawartość tłuszczu w tkance mięśniowej (tab. 4).

Mechanizm tego zjawiska można tłumaczyć wzrostem stężenia kalcytriolu, w odpowiedzi na zmniejszoną zawartość wapnia w diecie. Działając na specyficzne receptory zlokalizowane w adipocytach, nasila on dokomórkowy napływ jonów wapnia stymulujących lipogenezę, a hamujących lipolizę [17, 18]. Dodatkowo kalcytriol, poprzez supresję ekspresji białka rozprzęgającego UCP2 (Uncoupling Protein 2), zmniejsza transport kwasów tłuszczowych do mitochondriów oraz tempo ich utleniania [18]. Uzyskane wyniki nie do końca potwierdzają tę teorię, ponieważ zawartość wapnia w tkance mięśniowej zwierząt na diecie uzupełnianej była mniejsza, chociaż różnice były nieistotne, od obserwowanej w tkance mięśniowej zwierząt pozostałych grup – tab. 5 i 6. Być może obserwowane zjawisko syntezy i gromadzenia tłuszczu związane było ze stymulacją tkanki tłuszczowej przy suplementacji jonami wapnia i wzrostu autokrynej produkcji przez adipocyty kortyzolu, którego wpływ w tym zakresie został już poznany [3]. Taki mechanizm zjawiska wydają się potwierdzać również Morris i wsp. [9] oraz Podlaszewska i wsp. [12].

Stwierdzony wzrost ilości tłuszczu wisceralnego i przyrost zawartości tłuszczu w tkance mięśniowej mógł również hamować zwrotnie aktywność ośrodka głodu i zmniejszać wielkość pobrania paszy, poprzez zwiększenie uwalniania leptyny z adipocytów. Wskazują na to również Zimmet i wsp. [20], którzy wykazali, że wydzielana leptyna zwiększa sekrecję lipotropycznej insuliny, a ta stymuluje ekspresję leptyny hamującej ośrodek głodu. Zwiększone gromadzenie tkanki tłuszczowej u samców, których dieta była wzbogacana, mogło być również pośrednio związane ze zmniejszonym spożyciem paszy i wynikającym z tego zmniejszonym spożyciem naturalnie występujących w pełnych ziarnach pszenicy i kukurydzy antyoksydantów, w tym m.in. seleno wchodzącego w skład selenoproteiny wykazującej m.in. właściwości redukcjonowania nadtlenków [15] oraz polifenoli obecnych w pełnych ziarnach zbóż [19]. Zmniejszone

Tabela 2. Spożycie paszy, przyrosty masy ciała oraz gromadzenie okołonarządowej tkanki tłuszczowej przez szczury doświadczalne, warunkowane składem paszy i jej uzupełnianiem
 Table 2. Fodder consumption, increases in body weight, and accumulation of perivisceral fat tissue in laboratory rats depending on the composition of fodders and supplementation thereof

Badany parametr Analyzed parameter	Pasza standard Standard fodder (a)	Pasza zmodyfikowana Modified fodder (b)	Pasza zmodyfikowana + uzupełnianie Modified fodder + supplementation (c)	Istotność różnic Significance of differences
Spożycie paszy [g] Fodder consumption [g]	832 ± 34,2	810 ± 48,7	776 ± 46,2	a - c**
Spożycie paszy [g/100 g masy ciała] Fodder consumption [g/100 of body weight]	159 ± 3,7	156 ± 6,4	151 ± 5,9	a - c**
Przyrost masy ciała [g] Body weight gain [g]	26,8 ± 9,8	25,5 ± 9,5	32,0 ± 11,0	-
Przyrost masy ciała [g/100 g spożytej paszy] Body weight gain [g/ 100 g of consumed fodder]	3,23 ± 1,21	3,12 ± 1,39	4,11 ± 1,39	-
Ilość tłuszczu okołosercowego [g] Peri-cardial fat [g]	0,120 ± 0,05	0,083 ± 0,03	0,094 ± 0,03	a - b*
Ilość tłuszczu okołosercowego [g/100 g spożytej paszy] Peri-cardial fat [g/100 g of consumed fodder]	0,015 ± 0,006	0,010 ± 0,004	0,012 ± 0,003	a - b*
Ilość tłuszczu okołosercowego [g/100 g masy ciała] Peri-cardial fat [g/100 g of body weight]	0,023 ± 0,009	0,016 ± 0,006	0,018 ± 0,005	a - b*
Ilość tłuszczu wisceralnego [g] Perivisceral fat [g]	3,41 ± 1,56	4,15 ± 0,91	4,60 ± 0,86	a - c**
Ilość tłuszczu wisceralnego [g/100 g spożytej paszy] Perivisceral fat [g/100 g of consumed fodder]	0,412 ± 0,190	0,512 ± 0,113	0,592 ± 0,099	a - c**
Ilość tłuszczu wisceralnego [g/100 g masy ciała] Perivisceral fat [g/100 g of body weight]	0,654 ± 0,301	0,803 ± 0,188	0,897 ± 0,151	a - c**

Objaśnienia: / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviations; n = 13 w grupie / n = 13 in group;

*, ** – różnice statystycznie istotne: *p ≤ 0,05, **p ≤ 0,01 / statistically significant differences: *p ≤ 0.05, **p ≤ 0.01.

Tabela 3. Przybliżone spożycie wybranych składników mineralnych przez szczury doświadczalne, wynikające z różnicy w składzie paszy, jej uzupełniania oraz z wielkości spożycia paszy, w przeliczeniu na 100 g masy ciała

Table 3. Approximate consumption of selected minerals, resulting from differences in feed composition, feed fortification, and food dose, as converted to 100 g body weight

Badany parametr Analyzed parameter	Pasza standard Standard fodder (a)	Pasza zmodyfikowana Modified fodder (b)	Pasza zmodyfikowana + uzupełnianie Modified fodder + supplementation (c)
Wapń / Calcium [mg]	1955 ± 45	1779 ± 73	1856 ± 73
Magnez / Magnesium [mg]	284,6 ± 6,6	124,2 ± 5,1	270,3 ± 10,7
Cynk / Zinc [mg]	19,08 ± 0,46	16,49 ± 0,69	18,12 ± 0,72
Chrom / Chromium [mg]	0,0717 ± 0,0018	0,0326 ± 0,0013	0,0681 ± 0,0027

Objaśnienia: / Explanatory notes: W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviations; n = 13 w grupie / n = 13 in group.

Tabela 4. Skład tkanki mięśniowej szczurów doświadczalnych, warunkowany składem paszy i jej uzupełnianiem

Table 4. Composition of muscle tissue in laboratory rats depending on fodder composition and supplementation

Badany parametr Analyzed parameter [%]	Pasza standard Standard fodder (a)	Pasza zmodyfikowana Modified fodder (b)	Pasza zmodyfikowana + uzupełnianie Modified fodder + supplementation (c)	Istotność różnic Significance of differences
Białko / Protein	22,6 ± 0,36	23,1 ± 0,62	22,6 ± 0,38	a - b*, b - c*,
Tłuszcz / Fat	2,73 ± 0,34	2,56 ± 0,19	3,23 ± 0,15	a - c**, b - c**
Sucha masa / Dry matter	28,2 ± 0,39	28,5 ± 0,49	29,2 ± 0,53	a - c**, b - c**
Popiół / Ash	1,42 ± 0,11	1,47 ± 0,07	1,47 ± 0,28	-

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

spożycie antyoksydantów sprzyja wzrostowi oksydacji kwasów tłuszczowych i obniża wrażliwość receptorów błonowych komórek wątroby na insulinę, stymuluje glukoneogenezę i biosyntezę triacylogliceroli [11]. Wpływ niedoboru selenu w diecie zmodyfikowanej na zawartość wisceralnej i śródmięśniowej tkanki tłuszczowej samców szczura obserwowali również Friedrich i wsp. [4]. Po analizie obserwowanego gromadzenia się wisceralnej i śródmięśniowej tkanki tłuszczowej w organizmach szczurów, które

były suplementowane chromem, trudno zgodzić się również z poglądem, że pierwiastek ten podawany w suplemencie zmniejsza zawartość tkanki tłuszczowej w organizmie. Na podstawie uzyskanych wyników można sądzić że korzystniejszy był brak uzupełniania diety wybranymi składnikami mineralnymi niż jej wzbogacanie. Tym bardziej, że w grupie żywionej paszą zmodyfikowaną nieuzupełnianą ilości tłuszczu nasierdziowego odpowiedzialnego, jak wykazują najnowsze wyniki badań [2], za powstawanie niedokrwiennej choroby serca była mniejsza.

Na podstawie analizy uzyskanych wyników wykazano również wpływ zastosowanego uzupełniania diety na skład tkanki mięśniowej badanych zwierząt (tab. 4). Stwierdzono, że uzupełnianie diety wybranymi składnikami mineralnymi spowodowało istotny wzrost zawartości suchej masy w mięśniach tej grupy badanych samców, co wynikało z istotnego, wcześniej już wspomnianego, wzrostu zawartości tłuszczu w mięśniach i to wzrostu na tyle istotnego, że nie tylko równoważył, ale przewyższał istotne zmniejszenie zawartości białka w analizowanej tkance. Zmniejszenie to można wiązać ze zmniejszonym spożyciem przez zwierzęta paszy i tym samym zawartego w niej białka. Natomiast wzrost zawartości tłuszczu zwraca uwagę na wyniki badań podających w wątpliwość pozytywną rolę wapnia i chromu w postaci suplementów w procesach lipogenezy i lipolizy [7], w nurt których wpisuje się również niniejsza praca. Oznaczona większa zawartość suchej masy w tkance mięśniowej mogła wynikać też ze zmniejszonej ilości wody w badanej tkance. Jedną z przyczyn tego zjawiska mogła być zmiana funkcjonowania układu renina-angiotensyna-aldosteron, zachodząca pod wpływem zmian składu i ilości kwasów tłuszczowych wisceralnej tkanki tłuszczowej, obserwowanych przy uzupełnianiu diety wybranymi składnikami mineralnymi. Münchow [10] stwierdziła, że pod wpływem dodawania do diety wapnia, magnezu, cynku i chromu istotnie wzrasta zawartość wisceralnej tkanki tłuszczowej badanych zwierząt, a w niej istotnie zawartość kwasów oleinowego i arachidonowego, specyficznych inhibitorów receptora angiotensynowego AT1, co powoduje wzrost filtracji kłębuszkowej, obniżenie zwrotnego wchłaniania sodu i spadek retencji wody. Na uwagę zasługuje również brak zmian ilości popiołu uzyskanego ze spopielenia mięśni zwierząt, których dieta była uzupełniana składnikami mineralnymi (tab. 4). Wskazuje to na brak ich inkorporacji w tkankę mięśniową, co potwierdza analiza zawartości wapnia, magnezu i cynku w tkance mięśniowej, w wartościach bezwzględnych (tab. 5), jak i w przeliczeniu na jednostkę suchej masy tkanki (tab. 6).

Stężenie wapnia, a w mniejszym stopniu fosforu i magnezu, w surowicy krwi są bardzo precyzyjnie regulowane przez trzy narządy: nerki, kości i jelito cienkie oraz trzy hormony: parathormon, kalcytoninę i $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, które wpływają na te narządy. Brak zmian stężeń analizowanych pierwiastków w surowicy krwi wskazuje, że ani zmieniony skład diety ani jej uzupełnianie nie miały wpływu na homeostazę ich stężeń, a obserwowane zmiany aktywności ALP i stężenia kalcytoniny, odpowiadających za

utrzymanie tej równowagi, nie były statystycznie istotne (tab. 7), co mogło wynikać z bardzo indywidualnej reakcji zwierząt na zastosowane czynniki, przekładającej się na wielkość odchylenia standardowego.

Tabela 5. Stężenie wybranych składników mineralnych w surowicy krwi i w moczu oraz ich zawartość w tkance mięśniowej szczurów doświadczalnych, warunkowane składem paszy i jej uzupełnieniem

Table 5. Concentration of selected mineral components in blood serum and urine as well as their content in muscle tissue in laboratory rats depending on fodder composition and supplementation

Badany parametr Examined parameter	Pasza standard Basic fodder (a)	Pasza zmodyfikowana Modified fodder (b)	Pasza zmodyfikowana + uzupełnianie Modified fodder + fortification (c)	Istotność różnic Significance of differences
Surowica krwi / Blood serum				
Wapń [mmol/l] Calcium [mmol/l]	3,01 ± 0,13	3,07 ± 0,12	3,02 ± 0,06	-
Magnez [mmol/l] Magnesium [mmol/l]	1,08 ± 1,36	1,10 ± 0,10	1,06 ± 0,07	-
Fosfor [mg/dl] Phosphorum mmol/l]	5,80 ± 0,87	5,66 ± 1,35	5,04 ± 1,20	-
Mocz / Urine				
Wapń [mmol/24 h] Calcium [mmol/24 h]	0,037 ± 0,018	0,045 ± 0,022	0,061 ± 0,020	a - c*
Magnez [mmol/24 h] Magnesium [mmol/24 h]	0,072 ± 0,036	0,098 ± 0,048	0,117 ± 0,087	-
Tkanka mięśniowa / Muscular tissue				
Wapń [µg/g] Calcium [µg/g]	48,0 ± 10,2	50,4 ± 20,5	47,3 ± 7,6	-
Magnez [µg/g] Magnesium [µg/g]	250,2 ± 8,1	243,7 ± 7,9	247,3 ± 7,7	-
Cynk [µg/g] Zinc [µg/g]	13,0 ± 2,6	13,9 ± 2,4	13,7 ± 2,3	-
Chrom [µg/g] Chromium [µg/g]	0,032 ± 0,006	0,031 ± 0,006	0,037 ± 0,012	-

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

Obniżenie aktywności fosfatazy alkalicznej i wzrost stężenia kalcytoniny w organizmach suplementowanych samców mogłyby dowodzić, że zastosowane uzupełnianie diety do pewnego stopnia sprzyjało mineralizacji tkanki kostnej. Równocześnie stwierdzono brak zmian stężenia jonów wapnia w surowicy krwi badanych samców. Jony te

są podstawowym aktywatorem uwalniania kalcytoniny. Obserwowany efekt może wskazywać na pewne rozregulowanie tego precyzyjnego mechanizmu pod wpływem zastosowanego uzupełniania diety. Taką sugestią potwierdzałyby również wielkości wydalania składników mineralnych z moczem. Ilość wydalanego z moczem wapnia w tej grupie żywieniowej była największa i statystycznie istotnie większa ($p \leq 0,05$) w porównaniu z wydalaniem przez zwierzęta żywione paszą standard (tab. 5).

Tabela 6. Zawartość wybranych składników mineralnych w tkance mięśniowej szczurów doświadczalnych, warunkowana składem paszy i jej uzupełnieniem [$\mu\text{g}/100 \text{ g s.m.}$]

Table 6. Content of selected mineral components in muscle tissue in laboratory rats depending on fodder composition and supplementation [$\mu\text{g}/100 \text{ g d.m.}$]

Badany parametr Analyzed parameter	Pasza standard Standard fodder (a)	Pasza zmodyfikowana Modified fodder (b)	Pasza zmodyfikowana + uzupełnianie Modified fodder + supplementation (c)	Istotność różnic Significance of differences
Wapń / Calcium	172,3 ± 34,8	176,8 ± 72,3	161,9 ± 25,4	-
Magnez / Magnesium	896,7 ± 27,6	855,1 ± 25,9	846,9 ± 32,1	a-b,c*
Cynk / Zinc	46,6 ± 9,4	48,77 ± 8,7	46,9 ± 8,9	-
Chrom / Chromium	0,1146 ± 0,0028	0,1088 ± 0,0022	0,1167 ± 0,0038	-

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

Tabela 7. Aktywność ALP i stężenie kalcytoniny w surowicy krwi szczurów doświadczalnych, warunkowane składem paszy i jej uzupełnieniem

Table 7. ALP activity and concentration of calcitonin in blood serum in laboratory rats depending on fodder composition and supplementation

Badany parametr Analyzed parameter	Pasza standard Standard fodder (a)	Pasza zmodyfikowana Modified fodder (b)	Pasza zmodyfikowana + uzupełnianie Modified fodder + supplementation (c)	Istotność różnic Significance of differences
ALP [U/l]	75,0 ± 14,1	80,7 ± 15,1	71,7 ± 9,8	-
Kalcytonina [IU/ml] Calcitonin [IU/ml]	17,6 ± 11,1	10,9 ± 6,2	17,7 ± 7,8	-

ALP - fosfataza alkaliczna / alkaline phosphatase

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

Z uwagi na spożycie wapnia przez suplementowane samce, zbliżone do spożycia zwierząt żywionych paszą standard, zawartość tego pierwiastka w ich tkance mięśniowej, aktywność fosfatazy alkalicznej i stężenie kalcytoniny w surowicy krwi można stwierdzić, że ten rodzaj uzupełniania diety badanych zwierząt miał się z celem. Przy zmniejszającym się spożyciu paszy zwiększały się przyrosty masy ciała na jej jednostkę, ilość wisceralnej tkanki tłuszczowej i zawartość tłuszczu w mięśniach oraz dodatkowo zwiększało się wydalanie wapnia z moczem. Ten ostatni efekt nie mógł być związany z równoczesnym dodawaniem do diety magnezu, który mając te same obszary resorpcji co wapń, działa konkurencyjnie w stosunku do niego [8]. Stwierdzenie to wynika z obserwacji, że przy porównywalnym w obu grupach spożyciu magnezu, jego zawartość w tkance mięśniowej była mniejsza, a wydalanie z moczem również było większe (o ponad 60 %). Jedynym wytłumaczeniem tego zjawiska, czyli wzrostu wydalania wapnia z moczem, może być zwiększenie jego uwalniania z kości.

W przeprowadzonym doświadczeniu nie stwierdzono wpływu samej zmiany składu diety ani na stężenie wapnia we krwi, ani na jego zawartość w mięśniach lub wielkość wydalania z moczem, co potwierdza wcześniejsze sugestie, że przy odpowiedniej wielkości spożycia takiej paszy, organizm w zakresie składników mineralnych utrzymuje homeostazę.

Wnioski

1. Uzupełnianie paszy (składnikami mineralnymi) wpływało na zmniejszenie ilości jej pobierania przez szczury doświadczalne i równocześnie na zmniejszenie spożycia analizowanych składników mineralnych, przez co nie było realizowane zakładane ich spożycie.
2. Na podstawie analizy składu badanych tkanek, stężenia kalcytoniny i aktywności fosfatazy alkalicznej w surowicy krwi nie stwierdzono wpływu zastosowanego uzupełniania na zawartość wybranych składników mineralnych w ustroju.
3. Zwiększone wydalanie wapnia i magnezu z moczem, gromadzenie wisceralnej, nasierdziowej i śródmięśniowej tkanki tłuszczowej oraz zwiększone przyrosty masy ciała na jednostkę spożytej paszy mogły być związane ze zmianami wzajemnych proporcji dodawanych składników mineralnych, ich synergizmem i antagonizmem, i w związku z tym możliwością zaburzenia homeostazy ustroju.
4. Przy zmniejszonej zawartości naturalnych składników mineralnych w paszy, ale z zachowaniem odpowiedniej wielkości jej spożycia, organizm badanych zwierząt utrzymywał homeostazę ich stężeń.

Literatura

- [1] Bolesławska I., Maruszewska M., Przysławski J.: Ocena poziomu spożycia wybranych mikropierwiastków występujących w całodziennych racjach pokarmowych mieszkańców Wielkopolski. *Now. Lek.*, 2005, **4 (74)**, 366-368.
- [2] Ding J., Hsu F.C., Harris T.B., Liu Y., Kritchevsky S.B.: The association of pericardial fat with incident coronary heart disease: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Am. J. Clin. Nutr.*, 2009, **3 (90)**, 499-504.
- [3] Friedrich M.: Effects of health-promoting nutritional education and change in dietary habits on visceral fatty tissue contents and on concentrations of insulin and cortisol in menopausal women, *Pol. J. Food. Nutr. Sci.*, 2005, **1 (55)**, 91-96.
- [4] Friedrich M., Goluch-Koniuszy Z., Dolot A., Pilarczyk B.: Ocena zmian stężenia selenu w krwi i tkankach samców szczura pod wpływem zmiany składu diety i jej suplementacji wybranymi witaminami z grupy B. *Roczn. PZH*, 2011, **62**, 41-46.
- [5] Gawęcki J. Jeszka J. *Żywienie człowieka. Ćwiczenia*. PWN, Warszawa 1995.
- [6] Kunachowicz H., Troszczyńska A.: Żywność wzbogacana i suplementy witaminowo-mineralne a ich rola w prawidłowej diecie człowieka. *Now. Lek.*, 2005, **4 (74)**, 533-538.
- [7] Lorenzen J., Mølgaard C., Michelsen K.F., Astrup A.: Calcium supplementation for 1 y does not reduce weight or fat mass in young girls. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2006, **1 (83)**, 18-23.
- [8] Massry S.G., Seelig M.S.: Hypomagnesemia and hypermagnesemia. *Clin Nephrol.*, 1997, **4 (7)**, 147-153.
- [9] Morris K.L., Miller S.L., Zemel M.B.: Calcitriol regulation of 11- β -hydroxysteroid dehydrogenase 1 (11- β -HSD1) and angiotensin II receptor 1 (AT1) expression in human adipocytes (abstract). *FASEB J.*, 2005, **18 (585)**, 11.
- [10] Münchow J.: Wpływ składu diety i rodzaju jej suplementacji składnikami mineralnymi na przemiany węglowodanowo-lipidowe u szczura. Rozprawa doktorska. Akademia Rolnicza, Szczecin 2003.
- [11] Olusi S.: Obesity is an independent risk factor plasma lipid peroxidation and depletion of erythrocyte cytoprotective enzymes in humans. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, 2002, **9 (26)**, 1159-1164.
- [12] Podlaszewska G., Friedrich M., Sadowska J.: Ocena wpływu składu diety i jej uzupełniania wybranymi składnikami mineralnymi na stężenie kortykosteronu i bilans wodny u samców szczura. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, **4 (65)**, 345-351.
- [13] Rozporządzenie (WE) nr 1925/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 20 grudnia 2006 r. w sprawie dodawania do żywności witamin i składników mineralnych oraz niektórych innych substancji.
- [14] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z 16 września 2010 r. w sprawie substancji wzbogacających, dodawanych do żywności i warunków ich stosowania. *Dz. U.* 2010. Nr 136, poz. 914.
- [15] Steinbrenner H., Bilgic E., Alili L., Sies H.: Selenoprotein P protects endothelial cells from oxidative damage by stimulation of glutathione peroxidase expression and activity. *Free Radical Research*, 2006, **9 (90)**, 936-943.
- [16] Szponar L., Stoś K., Ołtarzewski M.: Suplementy diety – możliwości ich wykorzystania w prewencji wybranych niedoborów żywieniowych. *Żyw. Człow. Metab.*, 2004, **31 (supl. 1)**, 441-446.
- [17] Zemel M.B.: Role of dietary calcium and dairy products in modulating adiposity. *Lipids*, 2003, **2 (38)**, 139-146.
- [18] Zemel M.B.: Role of calcium and dairy products in energy partitioning and weight management. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2004, **5 (79)**, 907S-912S.
- [19] Zieliński H., Achremowicz B., Przygodzka M.: Przeciwtleniacze ziarniaków zbóż. *Żywność. Nauka, Technologia, Jakość*, 2012, **1 (80)**, 5-26.

- [20] Zimmet P., Hodge A., Nicolson M., Staten M., de Courten M., Moore J., Morawiecki A., Lubina J., Collier G., Alberti G., Dowse G.: Serum leptin concentration obesity and insulin resistance in Western Samoans: cross sectional study. *B.M.J.*, 1996, **313 (7063)**, 965-969.

ASSESSING EFFECTS OF SUPPLEMENTING FODDER WITH SELECTED MINERAL COMPONENTS ON THEIR METABOLISM AND DISTRIBUTION IN BODY - MODEL RESEARCH

S u m m a r y

The research study comprised 3 groups of laboratory rats ($n = 13$) fed as follows: group I: standard fodder (Labofeed B) containing i.a. whole grains of wheat and corn; group II: modified fodder where, compared to the standard fodder, about 84 % of whole wheat grains were replaced with wheat flour type 500, and 50 % of corn grains present therein with sucrose; group III: modified fodder supplemented with Ca, Mg, Zn, and Cr the quantities of which made up differences after the components were interchanged. Percent content of other macro-components in both fodder types were identical.

It was found that supplementing the fodders caused the consumption thereof to decrease and ipso facto the intake of mineral components to decrease, too. However, the increases in body weights of animals in that group were higher as was the accumulation level of visceral fat tissue. In that group, the content of fat increased significantly ($p \leq 0.01$) and the content of protein in muscle tissue decreased significantly ($p \leq 0.01$). No significant effects of the fodder supplementation applied was reported on the concentration of analyzed mineral components in blood serum and on their content in muscle tissue.

Key words: Wistar tribe rats, supplementation of diet, mineral components, distribution of components in body ☒

BARTOSZ FOTSCHKI, ADAM JURGOŃSKI, JERZY JUŚKIEWICZ,
ZENON ZDUŃCZYK

METABOLIC EFFECTS OF DIETARY APPLE SEED OIL IN RATS

Summary

The aim of this study was to determine the fatty acid profile of apple seed oil and its effects on the caecal functions, blood lipids, and markers of antioxidant status and inflammation in rats. A nutritional experiment was performed on Wistar rats allocated to 3 groups of 8 animals each. The animals were fed with a diet containing different sources of fat: pork lard (group LA), rapeseed oil (group RO) and apple seed oil (group AO). Apple seed oil was rich in linoleic acid and oleic acids (57 % and 32.3 % of total fatty acids, respectively). The short chain fatty acid concentration in the caecal digesta was comparable among all groups, whereas the ammonia concentration was lower in groups AO and RO than in group LA (0.32 and 0.3, respectively vs 0.42 mg/g). The plasma alanine (ALT) and aspartate transaminase (AST) activities also decreased in the AO and RO groups (ALT, 19.34 and 19.81, respectively vs 30.7 U/L and AST, 115.1 and 107, respectively vs 138.3 U/L). The plasma triacylglycerols (TG) concentration and the atherogenic index (ATI) of plasma were significantly decreased in the AO group compared to the LA group (TG, 1.79 vs 2.62 mmol/L and ATI, 0.095 vs 0.313). Apple seed oil is a valuable source of unsaturated fatty acids and its dietary addition has slightly better metabolic effects on rat organism than does rapeseed oil.

Key words: apple seeds, linoleic acid, caecal microbiota, fermentation, triacylglycerols, transaminases

Introduction

Epidemiological studies have shown many health benefits associated with a diet rich in fruits and vegetables. Due to their nutritional value and caecal phytochemical content, apples have been the subject of extensive health-related studies. Their consumption has been associated with beneficial effects in counteracting obesity, cancer, cardiovascular disease, diabetes and also in improving gastrointestinal functions [13]. For the most part, previous studies have focused on the health effects of the dietary

MSc B. Fotschki, dr A. Jurgoński, prof. J. Juśkiewicz, prof. Z. Zduńczyk, Department of Biological Function of Food, Institute of Animal Reproduction and Food Research, Polish Academy of Sciences, Tuwima 10, 10-748 Olsztyn, Poland. Corresponding Author: a.jurgonski@pan.olsztyn.pl

fibre and polyphenols derived from fresh apples, apple peels, juice and pomace [6, 13]. However, recent *in vitro* studies have shown potential antioxidant, antimicrobial and antiproliferative activities of the oil extracted from apple seeds [28, 30]. Apple pomace as a by-product of juice production includes 2 - 3 % seeds [6]. Apple seeds have been shown to be rich in proteins, carbohydrate and minerals, making them useful as feed or fertiliser [31]. Moreover, owing to their relatively high lipid content (up to 29 %), apple seeds can also be utilised as a source of oil that is rich in linoleic acid and has comparable physicochemical properties to quality edible oils [4, 30, 32]. Apple seed oil is also a source of many bioactive compounds, such as sterols, tocopherols and hydrocarbons, especially squalene [4]. The fatty acid profile and the presence of bioactive compounds in apple seed oil indicates potential applications in the food industry. However, there is a lack of *in vivo* studies assessing the quality and health benefits of apple seed oil.

Due to its high energy density, fat has been recognised as the most important macronutrient affecting the development of many diet-related diseases, especially cardiovascular disease (CVD). It is well known that an overabundance of saturated fatty acids in the diet affects the blood lipid profile and therefore constitutes an important CVD risk factor [5]. On the other hand, dietary polyunsaturated fatty acids can ameliorate CVD development by improving the blood lipid profile, blood pressure, adipocyte hormones, and inflammatory response and endothelial function, along with many other beneficial effects that are both known and as yet undefined [1, 17, 20].

The aim of this study was to determine the fatty acid profile of apple seed oil and its effects on the caecal functions, blood lipids, and selected markers of inflammation and antioxidant status in rats. The animals were fed a diet in which the sole source of fat was apple seed oil, and this diet was compared to diets that contained lard and rapeseed oil as examples of common edible fats with well-established nutritional effects. The caecal microbial metabolism was scrutinised due to the potential antimicrobial activity of apple seed oil reported by Tian et al. [28].

Materials and methods

Dietary fats and their chemical analysis

Refined rapeseed oil (ZT Kruszwica SA, Kruszwica, Poland) and pork lard (S.K.A. Morliny, Ostróda, Poland) were purchased in a local supermarket. Their fatty acid profiles were as follows [%]: rapeseed oil – C16:0 – 4.6; C18:0 – 0.5; C18:1 n-9 – 63.5; C18:2 n-6 – 20.1; C18:3 n-3 – 9.0 and C20:0 – 2.2, lard – C14:0 – 1.6; C16:0 – 29.3; C18:0 – 0.5; C18:1 n-9 – 58.1; C18:2 n-6 – 8.9; C18:3 n-3 – 0.6 and C20:0 – 0.9. Unrefined cold-pressed apple seed oil was purchased from Greenaction (Kielce, Poland), and its detailed fatty acid profile is given in Table 1.

Table 1. Fatty acid profile of apple seed oil [%]

Tabela 1. Profil kwasów tłuszczowych oleju z nasion jabłka [%]

Fatty acid / Kwasy tłuszczowe	\bar{x}	SD / s
C16:0	5.49	0.38
C16:1	1.43	0.07
C18:0	1.11	0.08
C18:1 n-9	32.26	0.12
C18:2 n-6	57.03	0.44
C18:3 n-3	0.71	0.07
C20:0	1.54	0.01
Others / Pozostałe	0.43	0.07

Fatty acid profiles were analysed after conversion of the fatty acids into methyl esters. An oil sample, together with pentadecanoic acid as an internal standard (0.1 µg/µL of oil), was dissolved in a solution of methanol:chloroform:sulphuric acid (100 : 100 : 1 v/v/v) and heated at 100 °C for 2 h. Afterwards, an analysis was performed using a gas chromatograph (Clarus 600, Perkin Elmer, Massachusetts, USA) with a flame ionisation detector and a Supelcowax 10 column (30 m × 0.32 mm × 0.25 µm). The column, injector and flame ionisation detector temperatures were 190 °C, 250 °C and 250 °C, respectively, and the flow rate of helium, used as a carrier gas, was 1.6 mL/min. Fatty acid methyl esters were identified using TotalChrom software.

Animal study

The animal protocol used in the present study was approved by the Local Institutional Animal Care and Use Committee (Olsztyn, Poland). The nutritional experiment was performed on six-week-old, male Wistar rats allocated to 3 groups of 8 animals each and housed individually in cages. The initial body weight was comparable among groups and equalled 128 ± 6 g on average. For 8 weeks, each group was fed a modified version of the semi-purified rodent diet recommended by Reeves [23]. The experimental diets differed according to the fat type (70 g/kg in each diet) and included lard (group LA), rapeseed oil (group RO) or apple seed oil (group AO, Table 2). Both group LA and RO were treated as controls. The diets were freshly prepared at weekly intervals, stored in hermetic containers at -20 °C and administered *ad libitum*. The animals were maintained under standard conditions at a temperature of 21-22 °C and a relative air humidity of 50-70 % with intensive room ventilation (15×/h) and a 12 h lighting regimen. The individual body weights and food intakes were recorded on a daily basis.

Table 2. Compositions of the diets fed to rats

Tabela 2. Skład diet eksperymentalnych

Component / Składnik [g/kg]	Group / Grupa		
	LA	RO	AO
Casein / Kazeina	200	200	200
DL-methionine / DL-metionina	3	3	3
Lard / Smalec	70	-	-
Rapeseed oil / Olej rzepakowy	-	70	-
Apple seed oil / Olej z nasion jabłka	-	-	70
Cellulose / Celuloza	50	50	50
Sucrose / Sacharoza	100	100	100
Maize starch / Skrobia kukurydziana	530	530	530
Mineral mix / Mieszanka mineralna ¹	35	35	35
Vitamin mix / Mieszanka witaminowa ¹	10	10	10
Choline chloride / Chlorek choliny	2	2	2

Explanatory notes: / objaśnienia:

LA – lard / smalec; RO – rapeseed oil / olej rzepakowy; AO – apple seed oil / olej z nasion jabłka.

¹ Recommended for AIN-93G diet/ Zalecane dla diety AIN-93G [23].

Sample collection and analysis

Upon termination of the experiment, the rats were weighed and anaesthetised with sodium pentobarbital (50 mg/kg body weight). Their body composition was then analysed by time-domain nuclear magnetic resonance (Minispec LF 90II, Bruker, Karlsruhe, Germany). After laparotomy, blood samples were collected from the caudal vein and stored in tubes containing ethylenediaminetetraacetic acid, and the cecum and liver were removed and weighed.

The pH of the caecal digesta was measured using a microelectrode and a pH/ION meter (model 301; Hanna Instruments, Vila do Conde, Portugal). Fresh caecal digesta was used for the determination of the ammonia content, which was extracted and trapped in a solution of boric acid, then quantified by direct titration with sulphuric acid [14]. The concentration of short-chain fatty acids (SCFA) was measured using gas chromatography. A known amount of fresh caecal digesta was mixed with 0.2 mL of formic acid and stored at -80°C . Afterwards, the sample was diluted with deionised water, centrifuged at 10.000 g for 5 min, and filtered through a 0.45 μm membrane. The supernatant was then decanted for injection into a gas chromatograph (Shimadzu GC-14A, Shimadzu Co., Kyoto, Japan, equipped with a glass column, 2.5 m \times 2.6 mm, containing 10% SP-1200/1% H_3PO_4 on 80/100 Chromosorb W AW; column tempera-

ture 110 °C; flame ionisation detector temperature 180 °C; injector temperature 195 °C).

The liver fat and lean mass were analysed shortly after dissection by time-domain nuclear magnetic resonance (Minispec LF 90II, Bruker, Karlsruhe, Germany). After storage of the liver at -20 °C, the glutathione and glutathione disulphide contents were determined using the enzymatic recycling method described by Rahman et al. [22].

The blood was centrifuged for 15 min at 380 g, and the obtained plasma was then stored at -20 °C until analysis. The plasma concentration of triglycerides, the total cholesterol content and its HDL fraction (HDL-cholesterol), and the plasma activity of aspartate transaminase (AST) and alanine transaminase (ALT) were estimated using reagents from Alpha Diagnostics Ltd. (Warsaw, Poland). Based on the plasma lipid profile, the atherogenic index was calculated as previously described using the following formula: $\log(\text{triglycerides (mmol/L)}/\text{HDL-cholesterol (mmol/L)})$ [14]. Non-HDL-cholesterol was calculated using the following formula: total cholesterol – HDL-cholesterol. The plasma C-reactive protein (CRP) concentration was determined using a validated rat enzyme immunoassay kit (hs-CRP; Cusabio, Wuhan, China). In addition, the rat tumour necrosis factor alpha (TNF α) was determined using a validated rat enzyme immunoassay kit (TNF alpha; Thermo Scientific, Rockford, IL USA). The plasma antioxidant capacity of water-soluble substances (ACW) and the antioxidant capacity of lipid-soluble substances (ACL) (kit; Analytik Jena AG, Jena, Germany) were determined by a photochemiluminescence detection method using a Photochem (Analytik Jena AG). In the photochemiluminescence assay, the generation of free radicals was partially eliminated through reactions with antioxidants present in the plasma samples, and the remaining radicals were quantified by luminescence generation. Ascorbate and Trolox calibration curves were used to evaluate ACW and ACL, respectively, and the results were expressed as mmol ascorbate or Trolox equivalents in mL of plasma.

Statistical analysis

The statistical analysis was performed using a one-way analysis of variance and the Duncan's multiple range post hoc test, providing that the data were normally distributed and the variances were homogenous. Alternatively, the Kruskal-Wallis test and a post hoc analysis using the least significant difference between the mean ranks were applied. All data are expressed as the mean and the standard error of the mean, and the differences among the groups are denoted as significant at $p \leq 0,05$.

Results and discussion

The dietary apple seed oil was especially rich in linoleic and oleic acids (57 % and 32.3 %, respectively, Table 1). The fatty acid profile of the apple seed oil differed

from the profiles described in the literature [8, 28, 29, 30]. Similar results were obtained in studies by Tian et al. [28] and Yu et al. [30], in which the contents of oleic and linoleic acids in apple seed oil were higher by 5.2 - 7.5 % points and lower by 5.6 - 8 % points, respectively. Another study reported that seed oils from dessert and cider apples had oleic and linoleic acid contents that were 17 and 25 % higher, respectively [8]. The observed differences could be the consequence of the species used for oil production, the procedure of extraction and the growth conditions of the apples as it is observed in oily plants [2]. It is noteworthy that the fatty acid profile of rapeseed oil used in this study in group RO was considered typical (USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 25).

After 8 weeks of feeding, there were no significant differences in the diet intake, body weight gain, body fat content and adiposity among the experimental groups. Additionally, in all experimental groups, the liver weight and fat content were also similar (Table 3). Notably, all diets in this study had the same caloric value; therefore, it can be concluded that dietary apple seed oil was metabolised to the same extent as were the other dietary fats.

Table 3. Animal growth, body and liver fat and lean contents of rats fed diets differing according to the type of fat

Tabela 3. Spożycie diety, masa zwierząt oraz zawartość tłuszczu i tkanki beztłuszczowej w ciele i wątrobie szczurów żywionych dietami eksperymentalnymi

Parameters Parametry	LA		RO		AO	
	\bar{x}	SEM	\bar{x}	SEM	\bar{x}	SEM
Body weight gain Przyrost masa ciała [g]	231.7	9.65	216.0	9.53	217.9	7.02
Diet intake Spożycie diety [g]	965.8	17.8	934.5	24.3	927.4	18.6
Body fat content Zawartość tłuszczu w ciele [g/kg]	370	7.40	367	6.80	381	8.70
Body lean content / Zawartość tkanki beztłuszczowej w ciele [g/kg]	329	11.7	344	11.1	334	13.7
Liver mass Masa wątroby [g/100 masy ciała]	3.32	0.10	3.60	0.11	3.30	0.08
Liver fat content Zawartość tłuszczu w wątrobie [g/kg]	300	17.5	261	19.3	262	9.30
Liver lean content / Zawartość tkanki beztłuszczowej w wątrobie [g/kg]	544	12.1	589	22.0	574	15.2

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

The markers of the cecum function and the caecal SCFA contents are shown in Table 4. The digesta contents were similar among all groups, whereas the tissue weight was the highest in group RO, was slightly lower in group AO and was significantly lower in group LA ($p < 0.05$). Furthermore, a previous study performed in our laboratory showed that the type of dietary fat can affect caecal microbial metabolism [14]. In addition, an *in vitro* study with apple seed oil showed its potent inhibitory effect on the growth of bacteria [28]. In our experiment, no signs of antibacterial activity in the cecum were observed, as evidenced by the lack of significant changes in the bacterial production of SCFA and the pH value of the caecal digesta among all experimental groups. However, when compared to group LA, the dietary apple seed oil significantly decreased the ammonia concentration in the caecal digesta ($p < 0.05$). However, a similar effect was obtained for dietary rapeseed oil, which indicates that it is rather not associated with the antibacterial activity of apple seed oil reported in the literature.

Table 4. Markers of cecal function in rats fed diets differing according to the type of fat

Tabela 4. Wskaźniki funkcjonowania jelita ślepego u szczurów żywionych dietami eksperymentalnymi

Parameters	LA		RO		AO	
	\bar{x}	SEM	\bar{x}	SEM	\bar{x}	SEM
Tissue / Tkanka [g/100 body mass]	0.139 ^b	0.007	0.164 ^a	0.006	0.153 ^{ab}	0.006
Digesta mass / Masa treści [g/g cecal tissue]	3.45	0.25	3.55	0.36	3.91	0.37
pH of cecal digesta / pH treści jelita ślepego	7.41	0.13	7.19	0.10	7.26	0.10
NH ₃ [mg/g]	0.46 ^a	0.06	0.30 ^b	0.03	0.32 ^b	0.02
SCFA [μ mol/g digesta]:						
acetic / octowy	122.5	7.56	119.9	6.51	128.9	15.0
propionic / propionowy	20.4	1.24	20.4	0.79	19.4	2.13
isobutyric / izomasłowy	1.97	0.51	2.21	0.13	2.64	0.54
butyric / masłowy	23.7	2.40	26.9	2.89	24.3	1.44
isovaleric / izowalerianowy	2.38	0.37	2.73	0.58	3.26	0.87
valeric / walerianowy	3.10	0.17	3.29	0.36	3.55	0.43
Total SCFA / Suma SCFA	174.1	10.5	175.6	9.10	182.0	17.1

Explanatory notes: / objaśnienia:

The mean values within a row with different superscript letters (a, b) were significantly different at $p < 0.05$ / Wartości średniez odmiennymi literami przypisanymi w indeksie górnym (a, b) różniły się statystycznie istotnie na poziomie $p < 0,05$.

The plasma lipid profiles of the rats differed according to the type of fat in the diet, as shown in Table 5. Numerous studies have confirmed that substituting saturated fat with a variety of polyunsaturated or monounsaturated fatty acids (PUFA and MUFA, respectively) can lower blood triglyceride concentrations [3, 27, 26]. Further-

more, it is known that PUFA are more effective at decreasing triglyceride concentrations than are MUFA [9]. The effect of PUFA on the triglyceride concentration appeared to be mediated by the inhibition of hepatic lipase activity and liver VLDL synthesis as well as by the enhancement of lipoprotein lipase activity in the liver, which results in reduced postprandial triglyceride levels [33]. In our study, the plasma triglyceride concentration and the atherogenic index were significantly decreased in group AO compared to those in group LA ($p < 0.05$), whereas the plasma levels of total cholesterol and its HDL and non-HDL fractions were similar among all the groups. These beneficial effects of dietary apple seed oil may be in part associated with other bioactive compounds that have been found in apple seed oil, such as squalene and sterols [4], as the triglyceride lowering activity of these compounds has been reported in the literature [15, 16].

In the present study, the plasma ALT activity was decreased in the RO and AO groups compared to that in the LA group ($p < 0.05$, Table 5). The plasma AST activity was the highest in group LA, was slightly lower in group AO and was significantly lower in group RO ($p < 0.05$). The elevated levels of ALT and AST activity in group LA were most likely a consequence of essential fatty acid deficiency, which has been also noted in patients during parenteral nutrition [26]. The 8-week feeding with dietary rapeseed and apple seed oils prevented unfavourable elevations in plasma ALT and AST activity and thus reduced the risk of hepatocellular injury. However, the AST activity was significantly decreased only in the rapeseed oil-containing dietary group, which may be the result of the relatively high α -linolenic acid content compared to both the apple seed oil- and lard-containing dietary groups.

Low-grade inflammation is considered as a key element of many chronic diseases, like obesity, diabetes type 2, atherosclerotic vascular disease and fatty liver disease, which can be affected by dietary factors [29]. Moreover, recent studies have indicated that a dietary overabundance of linoleic acid can be harmful for the body and promote inflammation [7]. This effect was not observed in the presented experiment, in which the plasma markers of inflammation were not affected by the linoleic acid-rich apple seed oil (TNF- α and CRP, Table 5). In addition, in the study by Magdalon et al. [18], the TNF- α levels in rat macrophages were similar between animals treated orally with water and those treated with linoleic acid. However, in the study by Poudel-Tandukar et al. [21], the serum CRP level in men was significantly higher when their diet was rich in linoleic acid.

Over the past three decades, it has become clear that abnormalities in oxidative stress can lead to many diseases, especially CVD [12]. In this respect, it is noteworthy that PUFA can act as anti- rather than pro-oxidants in vascular endothelial cells, hence diminishing inflammation, giving them beneficial effects against CVD [19, 24].

Table 5. Plasma lipid profile, antioxidant status, markers of liver function and inflammation in rats fed diets differing according to the type of fat
 Tabela 5. Profil lipidowy osocza, status antyoksydacyjny oraz markery funkcjonowania wątroby i stanu zapalnego szczurów żywionych dietami eksperymentalnymi

Parameters Parametry	LA		RO		AO	
	\bar{x}	SEM	\bar{x}	SEM	\bar{x}	SEM
Plasma lipid profile / Profil lipidowy osocza [mmol/L]						
total cholesterol / cholesterol całkowity	2.0	0.08	1.86	0.16	2.04	0.09
HDL-cholesterol / cholesterol HDL	1.26	0.09	1.31	0.15	1.41	0.07
non-HDL-cholesterol / cholesterol nie-HDL ¹	0.74	0.05	0.55	0.06	0.63	0.07
triacylglycerols / triacyloglicerole	2.62 ^a	0.23	2.19 ^{ab}	0.19	1.79 ^b	0.16
Atherogenic index / Wskaźnik aterogenności ²	0.313 ^a	0.050	0.227 ^{ab}	0.065	0.095 ^b	0.048
Antioxidant status / Status antyoksydacyjny						
ACW ([mol/ml plasma])	2.8	0.30	8.05	5.47	2.79	0.24
ACL [mmol/ml plasma]	19.2	1.03	23.1	2.32	19.3	0.68
GSH / GSSG [μ mol/g liver]	6.20	0.41	7.74	1.38	5.15	0.69
Liver function tests / Wskaźniki funkcjonowania wątroby						
ALT [U/L plasma]	30.7 ^a	1.81	19.81 ^b	1.41	19.34 ^b	1.41
AST [U/L plasma]	138.3 ^a	7.36	107 ^b	1.53	115.1 ^{ab}	4.19
Inflammation markers Wskaźniki stanu zapalnego						
CRP [ng/ml plasma]	0.158	0.044	0.194	0.034	0.097	0.050
TNF α [pg/ml plasma]	95.6	22.7	139.7	27.7	88.5	24.9

Explanatory notes: / objaśnienia:

The mean values within a row with different superscript letters (a, b) were significantly different at $p < 0.05$ / Wartości średnie z odmiennymi literami przypisanymi w indeksie górnym (a, b) różniły się statystycznie istotnie na poziomie $p < 0,05$.

ACW – antioxidant capacity of water-soluble substances / pojemność przeciwutleniająca substancji rozpuszczalnych w wodzie; ACL – antioxidant capacity of lipid-soluble substances / pojemność przeciwutleniająca substancji rozpuszczalnych w lipidach; ALT – alanine transaminase / transaminaza alaninowa; AST – asparagine transaminase / transaminaza asparaginowa; GSH/GSSG – glutatione/glutathione disulphide / glutation/dwusiarczek glutationu; CRP – C-reactive protein / białko C-reaktywne; TNF α – tumour necrosis factor Ralpha / czynnik martwicy nowotworu alfa; ¹Total cholesterol-HDL cholesterol / ¹cholesterol całkowity – cholesterol HDL; ²log[triacylglycerols [mmol/L] / HDL-cholesterol [mmol/L] / ²log[triacyloglicerole [mmol/L] / cholesterol HDL [mmol/L]].

However, high doses of PUFA, especially n-3 PUFA, may even trigger oxidative stress, which might be easily explained by their high degree of unsaturation that makes them potential substrates in lipoperoxide formation [10]. On the other hand, in a study

by Guo et al. [11], a purified linoleic acid from *Pinus armandi franch* seed oil effectively improved the antioxidant status of hyperlipidemic rats. In the present study, the type of dietary fat had no effect on the antioxidant statuses of rats (plasma ACW and ACL levels and GSH/GSSG ratio in the liver, Table 5).

Conclusion

1. Apple seed oil is a valuable source of linoleic acid and oleic acid, and its dietary addition has slightly better beneficial metabolic effects on rat organism than does rapeseed oil.
2. When compared with dietary lard, dietary apple seed oil favourably reduces caecal ammonia formation, plasma triglyceride concentrations and the atherogenic index, decreases the risk of hepatocellular injury and has no effects on the antioxidant status of the organism.

Acknowledgements

This research was financially supported by the National Science Centre, Poland (decision No. DEC-2011/01/D/NZ9/00060).

Literatura

- [1] Achremowicz K., Szary-Sworst K. Wielonienasycone kwasy tłuszczowe czynnikiem poprawy stanu zdrowia człowieka. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **3 (44)**, 23-35.
- [2] Ahmad A. Abdin M.Z.: Interactive effect of sulphur and nitrogen on the oil and protein contents and on the fatty acid profiles of oil in the seeds of rapeseed (*Brassica campestris* L.) and mustard (*Brassica juncea* L. Czern. and Coss.). *J. Agron. Crop. Sci.*, 2000, **185 (1)**, 49-54.
- [3] Allman-Farinelli M.A., Gomes K., Favaloro E.J., Petocz P.: A diet rich in high-oleic-acid sunflower oil favorably alters low-density lipoprotein cholesterol, triglycerides, and factor VII coagulant activity. *J. Am. Diet Assoc.*, 2005, **105 (7)**, 1071-1079.
- [4] Arain S., Sherazi S.T.H., Bhanger M.I., Memon N., Mahesar S.A., Rajput M.T.: Prospects of fatty acid profile and bioactive composition from lipid seeds for the discrimination of apple varieties with the application of chemometrics. *Grasas Aceites*, 2012, **63 (2)**, 175-183.
- [5] Astrup A., Dyerberg J., Elwood P., Hermansen K., Hu F.B., Jakobsen M.U., Kok F.J., Krauss R.M., Lecerf J.M., LeGrand P., Nestel P., Risérus U., Sanders T., Sinclair A., Stender S., Tholstrup T., Willett W.C.: The role of reducing intakes of saturated fat in the prevention of cardiovascular disease: where does the evidence stand in 2010? *Am. J. Clin. Nutr.*, 2011, **93 (4)**, 684-688.
- [6] Carson K.J., Collins J.L., Penfield M.P.: Unrefined, dried apple pomace as a potential food ingredient. *J. Food Sci.*, 1994, **59 (6)**, 1213-1215.
- [7] Choque B., Catheline D., Rioux V., Legrand P.: Linoleic acid: Between doubts and certainties. *Biochimie*, 2014, **96**, 14-21.
- [8] Fromm M., Bayha S., Carle R., Kammerer D.R.: Comparison of fatty acid profiles and contents of seed oils recovered from dessert and cider apples and further Rosaceous plants. *Eur. Food Res. Technol.*, 2012, **234 (6)**, 1033-1041.
- [9] Gardner C.D., Kraemer H.C.: Monounsaturated versus polyunsaturated dietary fat and serum lipids. A meta-analysis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1995, **15 (11)**, 1917-1927.

- [10] Giordano E., Visioli F.: Long-chain omega 3 fatty acids: molecular bases of potential antioxidant actions. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, 2014, **90** (1), 1-4.
- [11] Guo J.X., Wang C.L., Wu Z.J.: Study on antioxidant activities of *Pinus armandi* franch seed oil. *Adv. Mater. Res.*, 2013, **634**, 1294-1301.
- [12] Hansson G.K.: Inflammation, atherosclerosis, coronary artery disease. *N. Engl. J.*, 2005, **352** (16), 1685-1695.
- [13] Hyson D.A.: A comprehensive review of apples and apple components and their relationship to human health. *Adv. Nutr.*, 2011, **2**, 408-420.
- [14] Jurgoński A., Juśkiewicz J., Zduńczyk Z.: A high-fat diet differentially affects the gut metabolism and blood lipids of rats depending on the type of dietary fat and carbohydrate. *Nutrients*, 2014, **6** (2), 616-626.
- [15] Kelly G.S.: Squalene and its potential clinical uses. *Altern. Med. Rev.*, 1999, **4** (1), 29-36.
- [16] Kohno Y., Egawa Y., Itoh S., Nagaoka S., Takahashi M., Mukai K.: Kinetic study of quenching reaction of singlet oxygen and scavenging reaction of free radical by squalene in n-butanol. *Biochim. Biophys. Acta*, 1995, **1256** (1), 52-56.
- [17] Lunn J., Theobald H.E.: The health effects of dietary unsaturated fatty acids. *Nutr. Bull.*, 2006, **31** (3), 178-224.
- [18] Magdalon J., Vinolo M.A., Rodrigues H.G., Paschoal V.A., Torres R.P., Mancini-Filho J., Calder P.C., Hatanaka E., Curi R.: Oral administration of oleic or linoleic acids modulates the production of inflammatory mediators by rat macrophages. *Lipids*, 2012, **47** (8), 803-812.
- [19] Mińkowski K., Grześkiewicz S., Jerzewska M.: Ocena wartości odżywczej olejów roślinnych o dużej zawartości kwasów linolenowych na podstawie składu kwasów tłuszczowych, tokoferoli i steroli. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, **2** (75), 124-135.
- [20] Obiedzińska A., Waszkiewicz-Robak B.: Oleje tłoczone na zimno jako żywność funkcjonalna. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **1** (80), 27-44.
- [21] Poudel-Tandukar K., Nanri A., Matsushita Y., Sasaki S., Ohta M., Sato M., Mizoue T.: Dietary intakes of alpha-linolenic and linoleic acids are inversely associated with serum C-reactive protein levels among Japanese men. *Nutr. Res.*, 2009, **29** (6), 363-370.
- [22] Rahman I., Kode A., Biswas S.K.: Assay for quantitative determination of glutathione and glutathione disulfide levels using enzymatic recycling method. *Nat. Protoc.*, 2006, **1** (6), 3159-3165.
- [23] Reeves P.G.: Components of the AIN-93 diets as improvements in the AIN-76A diet. *J. Nutr.*, 1997, **127** (5), 838S-841S.
- [24] Richard D., Kefi K., Barbe U., Bausero P., Visioli F.: Polyunsaturated fatty acids as antioxidants. *Pharmacol. Res.*, 2008, **57** (6), 451-455.
- [25] Richardson T.J., Sgoutas D.: Essential fatty acid deficiency in four adult patients during total parenteral nutrition. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1975, **28** (3), 258-263.
- [26] Ros E., Mataix J.: Fatty acid composition of nuts--implications for cardiovascular health. *Br. J. Nutr.*, 2006, **96** (2), 29-35.
- [27] Sanderson P., Finnegan Y.E., Williams C.M., Calder P.C., Burdge G.C., Wootton S.A., Griffin B.A., Joe Millward D., Pegge N.C., Bemelmans W.J.: UK Food Standards Agency alpha-linolenic acid workshop report. *Br. J. Nutr.*, 2002, **88** (5), 573-579.
- [28] Tian H., Zhan P., Li K.: Analysis of components and study on antioxidant and antimicrobial activities of oil in apple seeds. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 2010, **61** (4), 395-403.
- [29] Uusitupa M., Schwab U.: Diet, inflammation and prediabetes - impact of quality of diet. *Can. J. Diabetes*, 2013, **37** (5), 327-331.
- [30] Walia M., Rawat K., Bhushan S., Padwad Y.S., Singh B.: Fatty acid composition, physicochemical properties, antioxidant and cytotoxic activity of apple seed oil obtained from apple pomace. *J. Sci. Food Agric.*, 2014, **94** (5), 929-934.

- [31] Yu X., Voort F.R., Li Z., Yue T.: Proximate composition of the apple seed and characterization of its oil. *Int. J. Food Eng.*, 2007, **3** (5), 1556-3758.
- [32] Yukui R., Wenya W., Rashid F., Qing L.: Fatty acids composition of apple and pear seed oils. *Int. J. Food Prop.*, 2009, **12** (4), 774-779.
- [33] Zuliani G., Galvani M., Leitersdorf E., Volpato S., Cavalieri M., Fellin R.: The role of polyunsaturated fatty acids (PUFA) in the treatment of dyslipidemias. *Curr. Pharm.*, 2009, **15** (36), 4087-4093.

WPLYW DODATKU OLEJU Z NASION JABŁKA DO DIETY NA METABOLIZM SZCZURÓW

Streszczenie

Celem pracy było określenie zawartości kwasów tłuszczowych w oleju z nasion jabłka oraz ocena jego wpływu na funkcjonowanie jelita ślepego, profil lipidowy krwi, markery stresu oksydacyjnego oraz stanu zapalnego szczurów. Eksperyment żywieniowy przeprowadzono na szczurach Wistar przydzielonych do 3 grup po 8 osobników w każdej. Zwierzęta żywiono przez 8 tygodni dietami zawierającymi następujące rodzaje tłuszczu: smalec wieprzowy (grupa LA), olej rzepakowy (grupa RO) oraz olej z nasion jabłka (grupa AO), który charakteryzował się znaczną zawartością kwasu oleinowego oraz linolowego (odpowiednio 32,3 % oraz 57 % całkowitej zawartości kwasów tłuszczowych). Po 8 tygodniach doświadczalnego żywienia stężenie krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych w treści jelita ślepego szczurów było porównywalne we wszystkich grupach doświadczalnych, natomiast stężenie amoniaku było niższe w grupach AO oraz RO w porównaniu z grupą LA (0,32 i 0,3, w porównaniu z 0,42 mg/g). W grupach RO i AO odnotowano również spadek aktywności aminotransferazy asparaginowej oraz alaninowej oznaczonej w osoczu badanych zwierząt. Stężenie triacylgliceroli w (TG) w osoczu krwi oraz aterogenność osocza (ATI) w grupie AO były istotnie niższe w porównaniu z grupą LA (TG, 1,79 w porównaniu z 2,62 mmol/L oraz ATI, 0,095 w porównaniu z 0,313). Dodatek do diety oleju z nasion jabłka, będącego cennym źródłem nienasyconych kwasów tłuszczowych, wpływa w sposób nieznacznie bardziej korzystny na organizm szczura niż powszechnie stosowany w żywieniu olej rzepakowy.

Słowa kluczowe: nasiona jabłka, kwas linolowy, jelito ślepe, fermentacja, triacyloglicerole, transaminazy



HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA

INTERAKCJE SKŁADNIKÓW ŻYWNOSCI

Prezentujemy 25. część cyklu nt.: „Interakcje składników żywności”. Druk materiałów z tego cyklu rozpoczęliśmy w *Żywności* nr 1 (74), 2011.

Kontynuując problematykę interakcji składników żywności omówimy kompleksy makro- i mikroelementów z biomolekułami. To zagadnienie rozpoczynamy od uporządkowania wiedzy o naturze chemicznej makro- i mikroelementów, w szczególności pamiętając, że ich aktywna biologicznie postać dotyczy wyłącznie jonów. Jest to o tyle ważne, że w nauce o żywności i żywieniu człowieka te pojęcia traktuje się zamiennie, co utrudnia właściwe zrozumienie ich udziału w kompleksach biomolekularnych. Należy również pamiętać, że makro- i mikroelementy występują w surowcach i produktach spożywczych w różnych postaciach związków chemicznych. Związki te ulegają różnym przemianom zarówno w procesach technologicznych, jak i podczas trawienia pokarmu w organizmie człowieka. Rozkład związków zależy od parametrów fizykochemicznych stosowanych w technologii żywności, natomiast podczas ich trawienia zależy od środowiska przewodu pokarmowego. W przewodzie pokarmowym człowieka rozkład ten następuje już w żołądku, gdzie występuje dość silne środowisko kwaśne. Inne związki rozkładają się w jelitach, w środowisku zasadowym. Po ich transporcie do krwiobiegu, najczęściej za pomocą białek transportowych, biorą one udział w różnych procesach biochemicznych. W kolejnych odcinkach będziemy zwracać uwagę na takie właściwości fizykochemiczne makro- i mikroelementów, jak: wielkość atomów i jonów, hydratację i dehydratację, wpływ jonów na konformację białek enzymatycznych i strukturalnych, ich zdolność do stabilizacji form koloidalnych, podobieństwo strukturalne będące przyczyną zastępowania aktywnych biologicznie jonów ich nieaktywnymi homologami. W tym odcinku zajmiemy się wielkością atomów i ich jonów.

Jak wiadomo, najmniejszy jest atom wodoru. Logicznie wydawałoby się, że w miarę wzrostu masy atomu wzrasta jego rozmiar. Tak niestety nie jest. Powstaje

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

więc pytanie dlaczego? Utworzenie nowej powłoki elektronowej powoduje znaczny wzrost rozmiarów atomu, lecz dodanie dalszych elektronów do tej samej powłoki powoduje powstanie mniejszych atomów, gdyż podwyższony ładunek jądra przyciąga bliżej siebie wszystkie elektrony. W ten sposób w każdym okresie układu okresowego pierwiastków istnieje ogólne zmniejszanie się średnicy atomu z lewa na prawo wraz ze znacznym wzrostem na początku każdego okresu. By łatwiej uwidocznić tę zasadę przeanalizujemy dane zawarte w tab. 1.

Tabela 1. Promienie atomowe wybranych pierwiastków

Symbol pierwiastka	Promień atomowy [nm]	Symbol pierwiastka	Promień atomowy [nm]
Na	0,190	Li	0,155
Mg	0,160	Na	0,190
Al	0,143	K	0,235
Si	0,132	Rb	0,248
P	0,128	Cs	0,267
S	0,127	Sc	0,162
Cl	0,099	Ti	0,147
V	0,134	Cr	0,130
Mn	0,135	Fe	0,126
Co	0,125	Ni	0,124
Cu	0,128	n	0,138

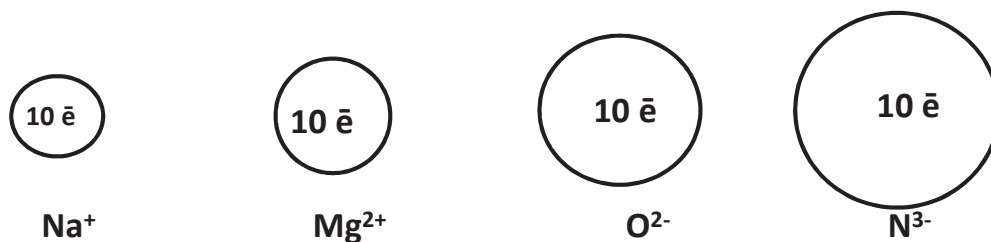
Z tab. 1. wynika, że:

- promień atomowy pierwiastków trzeciego okresu maleje od 0,190 nm w przypadku atomu sodu do 0,099 nm w przypadku atomu chloru,
- promień atomowy metali alkalicznych rośnie ze wzrostem liczby atomowej pierwiastka,
- w pierwszym szeregu przejściowym pierwiastków, z wyjątkiem cynku, promień atomowy zasadniczo maleje od Sc do Cu.

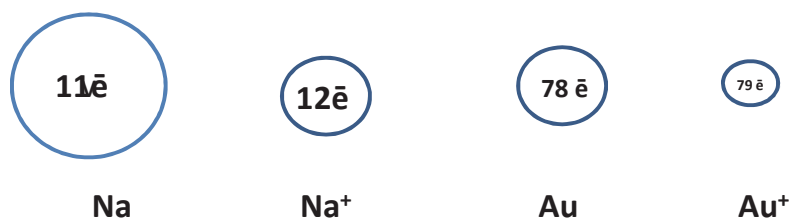
Podobną zależność stwierdzono w przypadku jonów, w których siły przyciągania między jądrem a zewnętrznymi elektronami zależą głównie od polarności i wielkości ładunków jonów. Na rys. 1. przedstawiono względne wielkości jonów izoelektrycznych, tj. jonów o jednakowej liczbie elektronów. Z danych tych wynika, że:

- kationy, ze względu na swój dodatni ładunek, mają orbitale zewnętrzne przyciągnięte bliżej do jądra atomowego, promienie kationów są więc zawsze mniejsze od promieni odpowiadających im atomów elektroobojętnych,
- aniony wskutek działania swego ładunku ujemnego mają orbitale zewnętrzne bardziej rozmyte, są więc większe od atomów elektroobojętnych,

- z izoelektronowych kationów najmniejszy jest ten, który ma największy ładunek dodatni,
- z izoelektronowych anionów największy jest ten, który ma największy ładunek ujemny.



Rys. 1. Względne wielkości niektórych jonów izoelektrycznych (10 elektronowych)



Rys. 2. Względne wielkości atomów sodu i złota i ich jonów

Ogólnie można stwierdzić, że promień kationu jest mniejszy, natomiast promień anionu większy od promienia odpowiadającego im atomu (rys. 2). ☒

GRAŻYNA MORKIS

PROBLEMATYKA ŻYWNOŚCIOWA W USTAWODAWSTWIE POLSKIM I UNIJNYM

Publikujemy kolejny przegląd aktów prawnych, które ukazały się w Dzienniku Ustaw RP oraz w Dzienniku Urzędowym UE. Poniższe zestawienie zawiera akty prawne dotyczące szeroko omawianej problematyki żywnościowej wg stanu na dzień 31 grudnia 2014 r.

Polskie akty prawne

1. Ustawa z dn. 7 listopada 2014 r. o zmianie ustawy o jakości handlowej artykułów rolno-spożywczych oraz ustawy o bezpieczeństwie żywności i żywienia (Dz. U. 2014 r., poz. 1722).

Wprowadzone zmiany stanowią m.in., że:

- artykuły rolno-spożywcze wprowadzane do obrotu są oznakowane co najmniej w języku polskim,
- technika automatycznej klasyfikacji tusz wołowych, o której mowa w art. 9 ust. 1 rozporządzenia Komisji (WE) nr 1249/2008 z dnia 10 grudnia 2008 r. ustanawiającego szczegółowe zasady wdrożenia wspólnotowych skal klasyfikacji tusz wołowych, wieprzowych i baranich oraz raportowania ich cen (Dz. Urz. UE L 337 z 16.12.2008, str. 3, z późn. zm.), zwanego dalej "rozporządzeniem nr 1249/2008", wymaga zatwierdzenia przez ministra właściwego do spraw rynków rolnych dokonywanego na wniosek podmiotu zainteresowanego,
- Inspekcja Jakości Handlowej Artykułów Rolno-Spożywczych sprawuje nadzór w zakresie jakości handlowej określonej przepisami Unii Europejskiej odnoszącymi się do: mięsa drobiowego, jaj, tusz wieprzowych, tusz wołowych, tusz innych zwierząt, mięsa pochodzącego z bydła w wieku poniżej 12. miesiąca życia,

- rolnicy prowadzący działalność w zakresie znakowania i pakowania jaj przed dniem wejścia w życie niniejszej ustawy dokonują zgłoszenia prowadzenia tej działalności wojewódzkiemu inspektorowi jakości handlowej artykułów rolno-spożywczych, w terminie 3 miesięcy od dnia wejścia w życie niniejszej ustawy.

Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 10 grudnia 2014 r. w sprawie krajowych laboratoriów referencyjnych w zakresie jakości handlowej artykułów rolno-spożywczych (Dz. U. 2014 r., poz. 1796).

Zostały wyznaczone cztery krajowe laboratoria referencyjne właściwe dla poszczególnych przedmiotów i rodzajów badań w zakresie jakości handlowej artykułów rolno-spożywczych. Wykaz przedmiotów i rodzajów badań dla tych laboratoriów zawarty jest w załączniku do rozporządzenia.

Wyznaczone laboratoria to: Centralne Laboratorium w Poznaniu Głównego Inspektoratu Jakości Handlowej Artykułów Rolno-Spożywczych, Laboratorium Specjalistyczne w Gdyni Głównego Inspektoratu Jakości Handlowej Artykułów Rolno-Spożywczych, Laboratorium Specjalistyczne w Lublinie Głównego Inspektoratu Jakości Handlowej Artykułów Rolno-Spożywczych, Laboratorium Specjalistyczne w Kielcach Głównego Inspektoratu Jakości Handlowej Artykułów Rolno-Spożywczych.

2. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 5 grudnia 2014 r. uchylające rozporządzenie w sprawie szczegółowych wymagań w zakresie jakości handlowej olejów, tłuszczów i ich mieszanin przeznaczonych do spożycia oraz środków spożywczych, w których składzie znajdują się te oleje, tłuszcze lub ich mieszaniny (Dz. U. 2014 r., poz. 1809).

Traci moc rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 26 kwietnia 2004 r. w sprawie szczegółowych wymagań w zakresie jakości handlowej olejów, tłuszczów i ich mieszanin przeznaczonych do spożycia oraz środków spożywczych, w których składzie znajdują się te oleje, tłuszcze lub ich mieszaniny (Dz. U. Nr 97, poz. 974).

Unijne akty prawne

1. Decyzja Wykonawcza Komisji z dn. 8 grudnia 2014 r. zezwalająca na wprowadzenie do obrotu oleju z szalwii hiszpańskiej (*Salvia hispanica*) jako nowego składnika żywności zgodnie z rozporządzeniem (WE) nr 258/97 Parlamentu Europejskiego i Rady (notyfikowana jako dokument nr C(2014) 9209) (Dz. Urz. UE L, 2014 r., Nr 353, s. 15).

Zezwala się na wprowadzenie do obrotu w Unii Europejskiej oleju z szałwii hiszpańskiej (*Salvia hispanica*) (zgodnego ze specyfikacją w załączniku I) jako nowego składnika żywności.

Olej z szałwii hiszpańskiej dopuszczony do obrotu niniejszą decyzją ma być oznaczany na etykiecie zawierających go środków spożywczych jako "olej z szałwii hiszpańskiej (*Salvia hispanica*)".

Niniejsza decyzja skierowana jest do przedsiębiorstwa Functional Products Trading S.A., Av. Luis Pasteur 5842 Of. 302 - Vitacura, Santiago, Chile.

2. Rozporządzenie Wykonawcze Komisji (UE) NR 1358/2014 z dn. 18 grudnia 2014 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 889/2008 ustanawiające szczegółowe zasady wdrażania rozporządzenia Rady (WE) nr 834/2007 w odniesieniu do pochodzenia zwierząt akwakultury ekologicznej, praktyk gospodarskich w sektorze akwakultury, paszy dla zwierząt i produktów akwakultury ekologicznej oraz substancji dopuszczonych do stosowania w akwakulturze ekologicznej (Tekst mający znaczenie dla EOG) (Dz. Urz. UE L, 2014 r., Nr 353, s. 15).

Wprowadzone zmiany dotyczą m.in. ograniczenia pozyskiwania młodych dziko żyjących osobników zwierząt akwakultury na potrzeby odchowu, szczegółowych przepisów dotyczących pasz ekologicznych młodych osobników, produktów do czyszczenia i dezynfekowania w produkcji zwierząt akwakultury i wodorostów morskich. ☒

NOWE KSIĄŻKI

Dietary Supplements. Safety, Efficacy and Quality

[Suplementy diety. Bezpieczeństwo, skuteczność i jakość]

Berginc K., Kreft S. (red.)

Wydawnictwo: Woodhead Publishing 2015, ISBN 9781782420767, stron 260, cena 182,75 €

Zamówienia: <http://store.elsevier.com>

W książce podjęto zagadnienie wymagań dotyczących produkcji suplementów diety, ich bezpieczeństwa, jakości oraz skuteczności. Książka składa się z 3 części. W pierwszej części omówiono zagadnienia ogólne, dotyczące: znakowania suplementów, oświadczeń zdrowotnych, wymagań w produkcji suplementów (GMP – Dobra Praktyka Produkcyjna) oraz dokonano analizy składu żywności wzbogaconej (fortyfikowanej) i suplementów diety pod względem zawartości witamin. Wśród autorów jest – prof. dr hab. Tadeusz Sikora (Uniwersytet Ekonomiczny w Krakowie, Wydział Towaroznawstwa) – autor podrozdziału o wymaganiach dobrej praktyki produkcyjnej. W drugiej części opisano zagadnienia interakcji pomiędzy lekami a suplementami diety. W trzeciej części scharakteryzowano witaminy, związki mineralne oraz prebiotyki jako suplementy diety. Książka polecana jest dla studentów, naukowców i pracowników zajmujących się zagadnieniami jakości i bezpieczeństwa suplementów diety oraz żywności.

Nauka o żywności. Leksykon wybranych terminów

Kostyra H., Kostyra E., Złotkowska D. (red.)

Wydawnictwo: Wydawnictwo Naukowe PTTZ, Kraków 2015, ISBN 978-83-935421-5-4, stron 130, cena 26,25 zł

Zamówienia: wnpttz@wp.pl

Leksykon stanowi kompilację cyklu opracowań z nauki o żywności, który ukazywał się w czasopiśmie naukowym „Żywność. Nauka. Technologia. Jakość” w latach 2001 - 2011. Zamieszczono w nim wybrane terminy z: chemii, biochemii, mikrobiologii, immunologii, technologii i biotechnologii żywności oraz żywienia człowieka. Leksykon zawiera zbiór alfabetycznie uporządkowanych haseł w formie encyklopedycznej, co

powinno umożliwić czytelnikom szybkie ich odszukiwanie. Został on wzbogacony w słownik angielsko-polski i polsko-angielski w celu ułatwienia korzystania z piśmiennictwa w języku angielskim. Publikacja skierowana jest do chemików, biochemików i technologów żywności, specjalistów ds. żywności i żywienia oraz studentów kształcących się na kierunkach związanych z naukami o żywności i żywieniu człowieka.

Minimally Processed Food

[Żywność minimalnie przetworzona]

Siddiqui M. W., Rahman, M. S. (red.)

Wydawnictwo: Springer, 2015, ISBN 978-3-319-10677-9, stron 306, cena 106,99 €

Zamówienia: www.springer.com

W publikacji przedstawiono trzy zagadnienia: charakterystykę żywności minimalnie przetworzonej, nowe i konwencjonalne metody jej przetwarzania oraz wyzwania dotyczące zapewnienia jakości żywności minimalnie przetworzonej. Bezpieczeństwo żywności oraz skuteczność jej minimalnego przetwarzania zależy od stosowania nowoczesnych technologii utrwalania żywności. Autorzy scharakteryzowali pojęcie żywności minimalnie przetworzonej oraz technologii i metod stosowanych w jej przetwórstwie (w tym metod pakowania), w przechowywaniu i w dystrybucji.

Fundamentals of Food Biotechnology, 2nd Edition

[Podstawy biotechnologii żywności, wydanie 2]

Byong H. L.

Wydawnictwo: Wiley-Blackwell, 2015, ISBN: 978-1-118-38495-4, stron 544, cena 175 €

Zamówienia: eu.wiley.com

Książka została opracowana na podstawie 25-letniego doświadczenia autora w pracy w dziedzinie biotechnologii. W monografii scharakteryzowano nowoczesne techniki stosowane w biotechnologii, które mają zastosowanie w przetwórstwie żywności, np. podczas procesów fermentacji, produkcji dodatków do żywności. Podjęto takie zagadnienia jak: żywność genetycznie zmodyfikowana, bioenergia, żywność funkcjonalna, nutraceutyki, nanobiotechnologia, techniki klonowania bakterii i drożdży. Na końcu każdego rozdziału znajduje się sekcja „pytania i odpowiedzi”. Książka polecana jest dla profesjonalistów zajmujących się biotechnologią, naukowców oraz absolwentów studiów z tego zakresu.

Opracowała: Magdalena Niewczas

POLSCY UCZENI PO II WOJNIE ŚWIATOWEJ PROF. DR HAB. PIOTR P. LEWICKI (1937 - 2011)



Prof. dr hab. Piotr P. Lewicki był absolwentem Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. Jego zainteresowania naukowo-badawcze, zarówno w czasie studiów, jak i w okresie 49 lat pracy w SGGW (od 1962 r.) koncentrowały się głównie wokół zagadnień inżynierii i aparatury przemysłu spożywczego. Już praca magisterska, wykonana pod kierunkiem prof. S. Mrożewskiego, dotyczyła zagadnień aparaturowych. Zatem już podczas studiów czerpał z doświadczenia jednego z największych mistrzów tworzących podstawy współczesnej technologii żywności. Praca podjęta przez Prof. Lewickiego w przemyśle (1961 - 1962) ukierunkowała Jego zainteresowania na zagadnienia chemii organicznej. Pracując przez rok nad syntezą związków zapachowych i plastyfikatorów, miał

okazję pogłębić swoją wiedzę z chemii organicznej i zająć się procesami technologii chemicznej. Z tego względu pierwsze lata pracy w SGGW, na Wydziale Technologii Rolno-Spożywczej, były ukierunkowane wpływem zainteresowań, które wyniósł z przemysłu.

W latach 1962 - 1966 zainteresowania Profesora dotyczyły głównie izolowania i identyfikacji związków polifenolowych zawartych w owocach, barwy owoców miękkich oraz oddziaływania związków polifenolowych z innymi składnikami owoców, głównie kwasem askorbinowym. Z tego zakresu opublikował 11 prac badawczych oraz dwa artykuły przeglądowe. W tym okresie zajmował się również zagadnieniami inżynierii i aparatury w przemyśle spożywczym, czego wyrazem było opublikowanie 4 artykułów przeglądowych. Elementy kinetyki reakcji chemicznych były uwzględnione w 3 pracach dotyczących polifenoli.

Wyjazd do USA na studia doktoranckie spowodował zmianę Jego zainteresowań naukowych. Temat podjętej pracy doktorskiej w Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, Mass., USA, dotyczył badania mechanizmów odpowiedzialnych za przeżywalność drobnoustrojów w procesie liofilizacji. Z tego okresu pochodzą trzy publikacje oraz praca doktorska pt. "Characterization of Injury to *Salmonella typhimurium* Subjected to Freeze-Drying". Zagadnienia metodyczne oraz część wyników pracy doktorskiej zostały opublikowane w dwóch opracowaniach. W okresie studiów w USA, w ramach tzw. programu "minor", uczęszczał na zajęcia na Wydziale Inżynierii Chemicznej (Department of Chemical Engineering), pogłębiając swoją wiedzę inżynierską.

Po powrocie do Polski, w 1969 roku, rozpoczął pracę naukowo-badawczą na Wydziale Technologii Żywności. Od tego momentu datuje się jego szeroko pojęta specjalizacja w zakresie inżynierii i aparatury przemysłu spożywczego.

W 1982 r. Piotr P. Lewicki uzyskał tytuł profesora nadzwyczajnego nauk technicznych, a w 1988 roku – tytuł profesora zwyczajnego nauk rolniczych.

Inwestycje w przemyśle spożywczym w latach 70. XX w., unowocześnianie parku maszynowego, mechanizowanie i częściowe automatyzowanie produkcji wywołały duże zapotrzebowanie na wiedzę inżynierską w tym zakresie. Powstała konieczność poznania właściwości fizycznych surowców, półproduktów i produktów przemysłu spożywczego. Znajomość tych właściwości była i jest niezbędna przy projektowaniu maszyn i aparatów oraz przy modelowaniu właściwości nowych produktów oraz przebiegu procesów. Uwzględniając potrzeby przemysłu, zainteresowania naukowo-badawcze Prof. Piotra P. Lewickiego skupiły się głównie na poznaniu procesu suszenia. Znajomość problematyki równoczesnej wymiany ciepła i masy, decydujących o kinetyce procesu suszenia, umożliwia prawidłowe zaprojektowanie aparatu, a następnie jego właściwą eksploatację. Ponadto korelowanie wymogów technologicznych z wymaganiami inżynierskimi umożliwia optymalizację procesu. Zainteresowanie procesem suszenia wynikało również z Jego studiów doktoranckich w MIT. Liofilizacja była w pewnym sensie przedmiotem Jego badań, a wykłady profesorów M. Karela i T. P. Labuzy wskazywały na relacje wodne w żywności jako na ważne i interesujące zagadnienie.

Suszenie i wiązanie wody w żywności stanowiło główny kierunek prac badawczych Prof. Lewickiego. Z tego zakresu opublikował ponad 100 prac i artykułów w czasopiśmie zagranicznych, a cytowane były w takich opracowaniach, jak: „Sorption Isotherms and Water Activity of Food Materials” (eds. W.Wolf, W.E.L. Spiess, G. Jung) “Science and Technology” Publ. Hornchurch, Essex 1985 i “Engineering Properties of Foods” (eds. M.A.Rao, S.S.H. Rizvi) Marcel Dekker, New York 1986.

Zagadnienia ruchu ciepła i dyfuzji wody w materiale suszonym zostały poszerzone o zmiany właściwości fizycznych i struktury. Pod Jego kierunkiem prowadzone były badania dotyczące zmian struktury komórkowej tkanki roślinnej w procesie suszenia, a także efektów makroskopowych, takich jak skurcz i deformacja materiału. Rozwinięciem zagadnień związanych ze stanem wody w materiale suszonym było badanie jego rekonstytucji. Kinetyka procesu rehydracji i zmiany struktury pęczniejącego materiału były przedmiotem kilkunastu publikacji. Prace z zakresu suszenia i rehydracji zostały opublikowane w czasopiśmie polskich i zagranicznych, takich jak *Journal of Food Engineering*, *Drying Technology*, *International Journal of Food Properties*, a także były prezentowane na światowych, niezwykle cenionych wśród fachowców, kongresach IDS (International Drying Symposium), ISOPOW (International Symposium on Properties of Water) i ICEF (International Congress on Engineering and Food). Jego doświadczenie i znajomość procesu suszenia oraz jego wpływu na materiał roślinny zostały podsumowane w artykule przeglądowym opublikowanym w 1998 roku w *International Journal of Food Properties*.

Zainteresowanie Profesora procesem suszenia było impulsem do organizacji konferencji krajowych i zagranicznych. Zorganizował VIII Sympozjum Suszarnictwa (1994) – ogólnopolskie forum, na którym prezentowane były osiągnięcia nauki polskiej, a także, wspólnie z prof. A. Lenartem – International Seminar „Osmotic Dehydration of Fruits and Vegetables” (1994). W latach 1994 – 1997 kierował częścią programu badawczego Unii Europejskiej pt. „Studies to Improve Quality of European Spices and Vegetable Produce”, dotyczącego suszenia cebuli. Od 1997 do 2000 roku uczestniczył jako „Associate expert” w realizacji programu Unii Europejskiej pt. Improvement of Food Quality by Application of Osmotic Treatments to Conventional and New Processes. W okresie 1995 - 1998 uczestniczył w realizacji programu Unii Europejskiej COPERNICUS pt. „Shelf Life Prediction for Improved Safety and Quality of Foods”, w którym realizowane były tematy dotyczące suszenia i adsorpcji wody przez produkty spożywcze. W ramach tego programu zorganizował w 1995 roku międzynarodową konferencję nt. „Shelf Life Prediction”.

Wieloletnie zainteresowanie zagadnieniami ruchu wody w materiale suszonym, aktywnością wody, izotermami sorpcji i opisem matematycznym tych procesów spowodowało, że od roku 1989 organizował coroczne seminaria nt. „Właściwości wody w żywności”. Materiały z pierwszego i drugiego seminarium zostały wydane w języku polskim, a od trzeciego wydawane były w języku angielskim pt. „Properties of Water in Foods”. Materiały rozsyłane były do ośrodków zagranicznych, które zajmowały się badaniem stanu wody w żywności i spotykały się z dużym uznaniem. Woda, jako główny temat seminariów, skupiała różne środowiska naukowe: fizyków, biologów, technologów żywności i dlatego seminaria te stanowiły zawsze znakomitą platformę do wymiany poglądów, poszerzania horyzontów poznawania, wielogodzinnych dysku-

sji i nawiązywania współpracy. Mimo odejścia Profesora dzieło to jest wciąż żywe, temat wody w żywności stanowi oddzielną sekcję Sympozjum Inżynierii Żywności, które jest organizowane przez prof. dr hab. Dorotę Witrową-Rajchert i grupę wychowanków Pana Profesora. A wielokrotni uczestnicy tego seminarium tworzą nieformalną, zawsze wspierającą się grupę naukowców.

Zagadnienia zużycia energii i gospodarki energetycznej w przemyśle spożywczym zajmowały również poważną pozycję w sferze zainteresowań Prof. Lewickiego. Opublikował blisko 40 prac i artykułów przeglądowych z tego zakresu. Prace te dotyczą bilansowania energii w procesach technologicznych, wymiany ciepła i jej intensyfikacji, a także optymalizacji zużycia energii. Część tych prac została opublikowana w czasopiśmie zagranicznych. W 1982 roku Profesor został zaproszony przez United Kingdom Institute of Food Science and Technology do wygłoszenia referatu na temat zużycia energii w polskim przemyśle spożywczym. Opublikował cykl artykułów w czasopiśmie *Przemysł Spożywczy* na temat zużycia energii w produkcji żywności, a także cykl prac w *Journal of Food Engineering* nt. wymiany ciepła w pasteryzatorach tunelowych. W latach 1981 - 1985 był koordynatorem Projektu Międzyresortowego MR-II/20 pt. "Efektywność zużycia surowców i energii w produkcji żywności", w którym zostało zrealizowanych 60 zadań. Kierował podprogramem "Energooszczędne procesy i operacje jednostkowe w przemyśle spożywczym" w ramach CPBR 10-16, koordynowanego przez prof. dr hab. J. Kiszę z ART w Olsztynie. W roku 1986, wspólnie z prof. A. Rutkowskim zorganizował, pod auspicjami IUFoST, międzynarodowe sympozjum nt. "Optimal Utilization of Raw Materials in Food Production under Limited Energy Supply", które znalazło swój oddźwięk również w fachowej prasie zagranicznej. Wygłosił również kilkanaście referatów na temat gospodarki energią, także dla kadry kierowniczej w zakładach przemysłu spożywczego.

Interpretacja procesów podstawowych inżynierii żywności zależy w znacznym stopniu od znajomości właściwości fizycznych przerabianych materiałów. Z zakresu tych zagadnień Profesor opublikował 20 prac, z których część dotyczy reologii produktów ciekłych.

Inne zagadnienia, dotyczące inżynierskich aspektów żywności i aparatury przemysłu spożywczego, również znalazły się w sferze Jego naukowych zainteresowań, ale już o mniejszym znaczeniu. Interesowały Go problemy aglomeracji i właściwości ośrodków ziarnistych, zastosowania komputerowej analizy obrazu i wykorzystania enzymów do śledzenia zmian wywołanych procesem suszenia w materiale roślinnym. Stanowiły one przedmiot 24 opracowań przeglądowych. Zagadnienia te są obecnie rozwijane przez współpracowników i wychowanków Pana Profesora.

Jego osiągnięcia naukowe przyczyniły się do tego, że zapraszano Go jako „visiting professor” do University of Minnesota, Minnesota, USA (1976/77), Bundesforschungsanstalt für Ernährung w Karlsruhe 01.09.1991 - 30.11.1991. Był członkiem

wieku kolegów redakcyjnych i rad naukowych czasopism polskich i zagranicznych, takich jak: Polish Journal of Food and Nutrition Sciences (PAN), Acta Agrophysica (PAN), Przemysł Spożywczy (Sigma NOT), Journal of Food Engineering (Elsevier), International Journal of Food Properties (Marcel Dekker). Był członkiem International Advisory Board kilku międzynarodowych kongresów, a od 1991 roku członkiem Food Working Party of the European Federation of Chemical Engineering. Był również członkiem Towarzystwa Naukowego Warszawskiego, Komitetu Nauk o Żywności (wcześniej Komitet Technologii i Chemii Żywności) PAN, Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności. Był także członkiem rad naukowych kilku instytutów i ośrodków badawczych.

Działalność dydaktyczna Prof. Lewickiego była nierozzerwalnie związana z jego zainteresowaniami naukowo-badawczymi. Od 1969 roku prowadził wykłady z inżynierii i aparatury przemysłu spożywczego dla studentów Wydziału Technologii Żywności. W okresie 1969 - 1981 prowadził wykłady z maszynoznawstwa przemysłu spożywczego. W 1978 roku utworzył specjalizację „Inżynieria żywności i organizacja produkcji”. Prowadził wykłady specjalizacyjne z zakresu eksploatacji i postępów w zakresie budowy aparatury przemysłu spożywczego, a także fizykochemii żywności, procesów mechanicznych oraz procesów przenoszenia ciepła i masy. Program nowej specjalności i jej koncepcja dydaktyczna zostały w głównej mierze opracowane przez Profesora. W ramach Międzywydziałowego Studium Biotechnologii wykładał przedmiot pt. „Inżynieria procesów biotechnologicznych”. Prowadził również seminaria i konwersatoria dyplomowe. Jego wykładów rocznie słuchało około 460 studentów.

Pod redakcją Profesora i Jego współautorstwa (ponad 50 %) wydano trzykrotnie jedyny w Polsce podręcznik akademicki, pt. "Inżynieria procesowa i aparatura przemysłu spożywczego". Tym sposobem pozostał na długie lata głównym nauczycielem inżynierii procesowej przemysłu spożywczego kandydatów na technologów żywności.

Wykonał m.in. 175 recenzji publikacji i innych opracowań dla zleceniodawców zagranicznych, 18 ocen całokształtu dorobku i recenzji pracy habilitacyjnej. Był promotorem 18 prac doktorskich, przy czym z tego grona aż 14 osób po doktoracie podjęło pracę naukową na uczelni. Wśród znakomitych wychowanków – doktorantów Profesora Lewickiego można wymienić: prof. dr hab. Andrzeja Lenarta, sekretarza naukowego, wiceprzewodniczącego, a od 2011 r. przewodniczącego Komitetu Nauk o Żywności PAN, w latach 2002 - 2005 i 2005 - 2008 Dziekana Wydziału Technologii Żywności SGGW, obecnie pełnomocnika Rektora SGGW ds. Współpracy z Gospodarką oraz prof. dr hab. Dorotę Witrową-Rajchert, dziekana Wydziału Nauk o Żywności SGGW przez dwie kadencje (2008 - 2016), inicjatora i współtwórcę unikatowego kierunku „Bezpieczeństwo żywności”, obecnie sekretarza Komitetu Nauk o Żywności PAN i wice-przewodniczącą Komitetu Agrofizyki PAN, w latach 2003 - 2009 prezesa Oddziału Warszawskiego PTTŻ. Wychowankami Profesora są: dr hab. Roman Kowal-

czyk i dr hab. Zbigniew Pałacha – profesorowie SGGW, dr hab. Arkadiusz Szterk – profesor Instytutu Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego, dr hab. Ewa Jakubczyk, prodekan ds. Nauki WNoŻ, dr hab. Agata Marzec, dr Krzysztof Skierkowski – dyrektor ds. Naukowych Mondelez na Europę, Bliski Wschód i Afrykę (dawniej Kraft), dr inż. Dorota Nowak, od 2009 roku prezes Oddziału Warszawskiego PTTŻ.

Dziś miarą oceny naukowca są: liczba cytowań czy indeks Hirscha. Również te wskaźniki w przypadku Pana Profesora są imponujące: liczba cytowań – 1226, h-index – 19. To najlepszy dowód na wielkość Jego wkładu w rozwój nauki o żywności, a w szczególności inżynierii żywności w wymiarze światowym.

*dr inż. Dorota Nowak
Prezes Oddziału Warszawskiego PTTŻ*

TECHNOLOG ŻYWNOSCI

INFORMATOR POLSKIEGO TOWARZYSTWA TECHNOLOGÓW ŻYWNOSCI

Rok 25 Nr 1

lutym 2015

DZIAŁALNOŚĆ TOWARZYSTWA

Zarząd Główny

W dniu 15 stycznia 2015 r. w Instytucie Ekonomiki Rolnictwa i Gospodarki Żywnościowej odbyło się seminarium poświęcone rocznemu sprawozdaniu z badań wykonanych w 2014 r. w ramach projektu „Model ograniczenia strat i marnowania żywności z korzyścią dla społeczeństwa” (MOST). W seminarium udział wzięło 10 osób – przedstawiciele wszystkich konsorcjantów. Przedstawiono stan realizacji zadań w roku 2014 i plany na najbliższy okres. Następne spotkanie planowane jest w czerwcu 2015 r.

Sekcja Młodej Kadry Naukowej

Trwają przygotowania do XX Sesji Młodej Kadry Naukowej i IV Międzynarodowej, która w tym roku odbędzie się w dniach 14 - 15 maja w Rzeszowie.

WAŻNIEJSZE MIĘDZYKRAJOWE I KRAJOWE KONFERENCJE NAUKOWE W 2015 r.

Maj

14 - 15 RZESZÓW = XX Conference of Young Researchers – IVth International Session „FOOD – QUALITY AND PERSPECTIVES”

Organizatorzy: Sekcja Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Oddział Podkarpacki PTTŻ, Sekcja Chemii Żywności Polskiego Towarzystwa Chemicznego I Wydział Biologii I Rolnictwa Uniwersytetu Rzeszowskiego.

Informacje: <http://sites.google.com/site/conferencepttz>

Kontakt: smkn2015@gmail.com; tel. 17 785 54 38

Czerwiec**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 współudziale 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

Lipiec**6 - 10 POZNAŃ = IX Polska Konferencja Chemii Analitycznej nt. „Chemia analityczna to ciągle wyzwania”**

Organizatorzy: Wydział Chemii Uniwersytetu im. A. Mickiewicza w Poznaniu

Kontakt: pkca@amu.edu.pl

Wrzesień**8 - 12 RIO DE JANEIRO - BRAZIL = 9th International Conference on Predictive Modelling in Food.**

Organizatorzy: The 9th International Conference on Predictive Modelling in Foods is organised by Elsevier in association with International Committee of Predictive Modelling in Food.

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

24 - 25 RZESZÓW = Konferencja Naukowa „Jakość i marketing produktów spożywczych w kształtowaniu konkurencyjności firm i regionów”.

Organizatorzy: Centrum Marketingu Produktów Spożywczych Uniwersytetu Rzeszowskiego i Katedra Opakowalnictwa Towarów Uniwersytetu Ekonomicznego w Krakowie.

Informacje: e-mail: marketingjakosc@interia.pl

Kontakt: Tel.: +48 12 293 51 67; +48 12 293

CZŁONKOWIE WSPIERAJĄCY POLSKIEGO TOWARZYSTWA
TECHNOLOGÓW ŻYWNOSCI

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 1 (98)/2015 Biuletynu podano według stanu informacji do 15 lutego 2015 r. Materiały do Nr 2 (99)/2015 prosimy nadsyłać do 1 kwietnia 2015 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, prof. UR 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. URzesz 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