



ŻYWNOŚĆ

Nauka Technologia Jakość

FOOD

Science Technology Quality

Nr 2 (99)

Kraków 2015

Rok 22

Redaktor naczelny: prof. dr hab. Tadeusz Sikora; tel./fax. 12 293-50-54; e-mail: sikorat@uek.krakow.pl
Zastępca redaktora naczelnego: dr hab. inż. Lesław Juszczyk, prof. UR: tel. 12 662 47 78; e-mail: rrjuszczyk@cyf-kr.edu.pl

Sekretarz redakcji (kontakt z autorami): dr Ewa Ślowska; 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 Barylko-Pikielna, prof. dr hab. Włodzimierz Bednarski, prof. dr hab. Józefa Chrzanoska, 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 Kiszka, prof. dr hab. Helena Oberman

WYDAWCA: POLSKIE TOWARZYSTWO TECHNOLOGÓW ŻYWNOCI, 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. 608 024 572

e-mail: wn@akapit.krakow.pl; www.akapit.krakow.pl

ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość

Organ naukowy PTTŻ – dwumiesięcznik

Nr 2 (99)

Kraków 2015

Rok 22

SPIS TREŚCI

Od Redakcji.....	3
ANNA BERTHOLD-PLUTA, ANTONI PLUTA, MICHAŁ OŁKOWSKI, ANNA OSTROWSKA: <i>Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis</i> – występowanie w mleku surowym i w produktach mlecznych	5
EWELINA SIEPKA, ŁUKASZ BOBAK, WITOLD GŁADKOWSKI: Charakterystyka aktywności biologicznej fosfolipidów żółtka	15
AGNIESZKA KALINIAK, MARIUSZ FLOREK, PIOTR SKAŁECKI: Profil kwasów tłuszczowych mięsa, ikry i wątroby ryb.....	29
PIOTR KARPINIŃSKI, MARTA ŁĄTKOWSKA, BARTOSZ KRUSZEWSKI, PAULA KUŻMA, MIECZYŚLAW W. OBIEDZIŃSKI: Profil związków lotnych europejskich szynek surowo dojrzewających jako wskaźnik ich jakości i autentyczności	47
MAŁGORZATA WRONIAK, AGNIESZKA RĘKAS, ILONA PIEKARNIAK: Wpływ rodzaju opakowania i warunków przechowywania na wybrane cechy jakości oleju rzepakowego tłoczonego na zimno	62
KAROL MIŃKOWSKI, ARTUR KALINOWSKI, ANNA KRUPSKA: Wpływ płatkowania nasion i niskotemperaturowej hydrotermicznej obróbki płatków na parametry procesu tłoczenia i cechy jakościowe oleju lnianego.....	79
MAGDALENA WIRKOWSKA-WOJDYŁA, JOANNA BRYŚ, AGATA GÓRSKA, EWA OSTROWSKA-LIGĘZA: Wpływ przeestryfikowania enzymatycznego na wartość żywieniową tłuszczu zastosowanego do wypieku ciastek dla dzieci	91
JUSTYNA CYBULSKA, JOANNA MIERCZYŃSKA, PIOTR PIECZYWEK, MATEUSZ STASIAK, ARTUR ZDUNEK: Wpływ jonów metali dwuwartościowych na właściwości reologiczne matrycy polisacharydowej z wyłoków jabłkowych	103
KRYSTIAN MARSZAŁEK, ŁUKASZ WOŹNIAK, SYLWIA SKĄPSKA: Wpływ ditlenku węgla w stanie nadkrytycznym na wybrane wyróżniki jakości utrwalanego soku truskawkowego	114
ARTUR WIKTOR, MATTHIAS SCHULZ, ERIK VOIGT, DIETRICH KNORR, DOROTA WITROWA-RAJCHERT: Wpływ pulsacyjnego pola elektrycznego na kinetykę zamrażania immersyjnego, rozmrażania oraz właściwości mechaniczne marchwi	124
ALEKSANDRA FIJAŁKOWSKA, MAŁGORZATA NOWACKA, DOROTA WITROWA-RAJCHERT: Wpływ fal ultradźwiękowych na przebieg suszenia i wybrane właściwości tkanki buraka ćwikłowego	138
KATARZYNA KOTARSKA, WOJCIECH DZIEMIANOWICZ: Wpływ różnych warunków fermentacji alkoholowej melasy na jej intensyfikację i jakość otrzymanego spirytusu.....	150
MAGDALENA MATYSIAK, KATARZYNA GAWĘŁ-BĘBEN, KAMILA RYBCZYŃSKA, JAN GMIŃSKI, STANISŁAW SURMA: Porównanie wybranych właściwości biologicznych czosnku (<i>Allium sativum</i> L.) pochodzącego z Polski i Chin	160
ANNA TRUSEK-HOŁOWNIA: Aktywność i stabilność katalazy immobilizowanej w kapsułkach alginianowych w aplikacjach przemysłowych	170
URSZULA BALON, JOANNA DZIADKOWIEC, TADEUSZ SIKORA: Rzetelność narzędzia FRL (Food Related Lifestyles) w polskim środowisku kulturowym.....	182
MAŁGORZATA WIŚNIEWSKA, ANNA ZAMOJSKA: Ocena kultury bezpieczeństwa żywności na przykładzie dwóch zakładów	197
JOANNA TRAFIAŁEK, EWA CZARNIECKA-SKUBINA, DANUTA KOŁOŻYŃ-KRAJEWSKA, BARTŁOMIEJ PAŁUBICKI, KAMILA MAKUSZEWSKA: Higiena w zakładach gastronomicznych wytwarzających żywność w obecności konsumenta.....	208
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA: Interakcje składników żywności	222
GRAŻYNA MORKIS: Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym	225
MAGDALENA NIEWCZAS: Nowe książki.....	228
Twórcy polskiej nauki o żywności.....	230
Technolog Żywności.....	235

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 2 (99)

Kraków 2015

Vol. 22

CONTENTS

From the Editor.....	3
ANNA BERTHOLD-PLUTA, ANTONI PLUTA, MICHAŁ OŁKOWSKI, ANNA OSTROWSKA: <i>Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis</i> – the occurrence in raw milk and in dairy products.....	5
EWELINA SIEPKA, ŁUKASZ BOBAK, WITOLD GŁADKOWSKI: Characteristics of biological activity of phospholipids in egg yolk.....	15
AGNIESZKA KALINIAK, MARIUSZ FLOREK, PIOTR SKAŁECKI: Profile of fatty acids in meat, roe, and liver of fish.....	29
PIOTR KARPIŃSKI, MARTA ŁĄTKOWSKA, BARTOSZ KRUSZEWSKI, PAULA KUŻMA, MIECZYŚLAW W. OBIEDZIŃSKI: Profile of volatile compounds in european dry-cured hams as indicator of their quality and authenticity.....	47
MAŁGORZATA WRONIAK, AGNIESZKA REKAS, ILONA PIEKARNIAK: Effect of packaging type and storage conditions on selected quality properties of cold-pressed rapeseed oil.....	62
KAROL MIŃKOWSKI, ARTUR KALINOWSKI, ANNA KRUPSKA: Effect of seeds flaking and low-temperature hydrothermal treatment of flakes on pressing process parameters and quality of linseed oil.....	79
MAGDALENA WIRKOWSKA-WOJDYŁA, JOANNA BRYŚ, AGATA GÓRSKA, EWA OSTROWSKA-LIGĘZA: wpływ przeestryfikowania enzymatycznego na wartość żywieniową tłuszczu zastosowanego do wypieku ciastek dla dzieci.....	91
JUSTYNA CYBULSKA, JOANNA MIERCZYŃSKA, PIOTR PIECZYWEK, MATEUSZ STASIAK, ARTUR ZDUNEK: Effect of divalent metal ions on rheological properties of polysaccharide matrix from apple pomace.....	103
KRYSTIAN MARSZAŁEK, ŁUKASZ WOŹNIAK, SYLWIA SKAPSKA: Effect of supercritical carbon dioxide on selected quality parameters of preserved strawberry juice.....	114
ARTUR WIKTOR, MATTHIAS SCHULZ, ERIK VOIGT, DIETRICH KNORR, DOROTA WITROWA-RAJCHERT: Impact of pulsed electric field on kinetics of immersion freezing, thawing, and on mechanical properties of carrot.....	124
ALEKSANDRA FIJAŁKOWSKA, MAŁGORZATA NOWACKA, DOROTA WITROWA-RAJCHERT: Effect of ultrasound waves on drying process and selected properties of beetroot tissue.....	138
KATARZYNA KOTARSKA, WOJCIECH DZIEMIANOWICZ: Effect of different conditions of alcoholic fermentation of molasses on its intensification and quality of produced spirit.....	150
MAGDALENA MATYSIAK, KATARZYNA GAWĘŁ-BĘBEN, KAMILA RYBCZYŃSKA, JAN GMIŃSKI, STANISŁAW SURMA: Comparing selected biological properties of garlic (<i>Allium sativum</i> L.) from Poland and China.....	160
ANNA TRUSEK-HOŁOWNIA: activity and stability of catalase immobilized in alginate capsules in industrial applications.....	170
URSZULA BALON, JOANNA DZIADKOWIEC, TADEUSZ SIKORA: Reliability of FRL (Food Related Lifestyles) instrument in polish cultural environment.....	182
MAŁGORZATA WIŚNIEWSKA, ANNA ZAMOJSKA: Food safety culture assessment exemplified by two companies.....	197
JOANNA TRAFIAŁEK, EWA CZARNIECKA-SKUBINA, DANUTA KOŁOŻYN-KRAJEWSKA, BARTŁOMIEJ PAŁUBICKI, KAMILA MAKUSZEWSKA: Hygiene in catering establishments where food is produced in front of consumer.....	208
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA: Interactions among food components.....	222
GRAŻYNA MORKIS: Food problems in Polish and EU legislation.....	225
MAGDALENA NIEWCZAS: Book reviews.....	228
Creators of the Polish food science.....	230
The Food Technologist.....	235

Only reviewed papers are published

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

OD REDAKCJI

Szanowni Czytelnicy,

przekazujemy Państwu nr **2 (99)** 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, kwiecień 2015 r.

Redaktor Naczelny



Tadeusz Sikora

ANNA BERTHOLD-PLUTA, ANTONI PLUTA, MICHAŁ OLKOWSKI,
ANNA OSTROWSKA

***MYCOBACTERIUM AVIUM SUBSP. PARATUBERCULOSIS* – WYSTĘPOWANIE W MLEKU SUROWYM I W PRODUKTACH MLECZNYCH**

Streszczenie

Bakterie *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* (*Map*) są etiologicznym czynnikiem choroby Johnego u przeżuwaczy, a także wpływają prawdopodobnie na występowanie choroby Crohna i cukrzycy typu I u ludzi. Drobnoustroje te przeżywają warunki krótkotrwałej pasteryzacji mleka (71,7 °C/15 s. Mleko od krów z paratuberkulozą zawiera komórki *Map*, natomiast do zanieczyszczenia mleka może dojść także przez jego styczność z kałem lub na kolejnych etapach przetwarzania. Odsetek próbek mleka zbiorczego zawierającego *Map* waha się od 2 do 70 %. Obecność *Map* stwierdzono w 6,5 ÷ 12,0 % próbek mleka pasteryzowanego, w około 20 % próbek śmietanki, w 12 ÷ 50 % serów oraz w 35 % próbek mleka w proszku. Nie ma doniesień o wyizolowaniu *Map* z rynkowych mlecznych napojów fermentowanych, ale stwierdzono, że mikroorganizmy te przeżywają w czasie chłodniczego przechowywania jogurtów. W mleku fermentowanym z dodatkiem szczepów probiotycznych liczba *Map* zmniejsza się o 1,2 do > 3,8 rzędów logarytmicznych, w zależności od szczepu *Map* oraz probiotyku.

Słowa kluczowe: *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* (*Map*), mleko surowe, mleko pasteryzowane, sery, mleko fermentowane

Wprowadzenie

Gatunek *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* (*Map*) należy do rodziny *Mycobacteriaceae* i rodzaju *Mycobacterium* tradycyjnie nazywanych prątkami. Są to Gram-dodatnie bakterie o tlenowym metabolizmie i komórkach w kształcie prostych lub lekko zakrzywionych pałeczek o średnicy 0,2 ÷ 0,4 μm i długości 2 ÷ 10 μm.

Dr inż. A. Berthold-Pluta, dr hab. A. Pluta, prof. SGGW, mgr inż. M. Olkowski, inż. A. Ostrowska,
Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna
Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa.
Kontakt: anna_berthold@sggw.pl

Charakterystyczną cechą prątków jest specyficzna ściana komórkowa, która zbudowana jest głównie z lipidów, dzięki czemu drobnoustroje te charakteryzują się znaczną opornością na czynniki, takie jak: wysuszenie, niskie i wysokie pH oraz wysoka i niska temperatura [2, 23]. *Map* są zdolne przeżyć długi czas poza organizmem zwierzęcym, np. 163 dni w wodzie rzecznej, 270 dni w wodzie stojącej, w glebie – 11 miesięcy, w płynnym nawozie naturalnym – 56 dni, a w nawozie stałym – 3 dni [21, 45].

Map są etiologicznym czynnikiem chronicznego zapalenia żołądka i jelit u przeżuwaczy (choroba Johnego), uważanego za jedną z najpoważniejszych chorób dotykających bydło mleczne [23]. Z badań Departamentu Rolnictwa USA przeprowadzonych w 1996 r. wynika, że w Stanach Zjednoczonych od 20 do 40 % stad krów mlecznych było zakażonych *Map*, co prowadziło każdego roku do strat ekonomicznych wynoszących co najmniej 1,5 miliarda dolarów [5].

Pierwsze doniesienia wiążące *Map* z chorobą Crohna pojawiły się już w 1913 r., jednak dopiero w latach 80. XX w. patogeny te wyizolowano od pacjentów z zapaleniem jelit [14]. Choroba Crohna jest przewlekłym stanem zapalnym przewodu pokarmowego, z powodu którego cierpią miliony ludzi na świecie, a częstotliwość jej występowania w krajach rozwiniętych rośnie [29, 32]. Istnieje również hipoteza, że *Map* przyczyniają się do powstania cukrzycy typu I u ludzi [11].

W ostatnich latach zainteresowanie badaczy bakteriami omawianego gatunku wzrosło, gdyż pojawiły się doniesienia o większej oporności cieplnej *Map* niż bakterii, które do tej pory uważano za standardowe przy określaniu skuteczności pasteryzacji krótkotrwałej HTST (71,7 °C/15 s), czyli *Coxiella burnetti* i *Mycobacterium bovis* [20, 26, 37, 39].

Występowanie *Map* w mleku surowym

Występowanie *Map* w mleku surowym zwierząt chorych na chorobę Johnego zostało udowodnione [15, 34], obecnie prowadzi się natomiast badania dotyczące stopnia zanieczyszczenia przez *Map* mleka od krów bez oznak chorobowych. Hodowla tych bakterii metodami klasycznej mikrobiologii jest żmudna i uciążliwa, dlatego też określenie faktycznej liczby *Map* w mleku surowym w warunkach laboratoryjnych jest bardzo trudne i czasochłonne [32]. Szybką i czułą metodą wykrywania *Map* w próbkach środowiskowych i produktach spożywczych, w tym mlecznych, jest PCR (z ang. *polymerase chain reaction*). Opracowano liczne warianty tej metody, ale prawie wszystkie polegają na wykrywaniu sekwencji insercyjnej IS900, którą ustalono jako standardowy marker *Map*. Inne markery stosowane alternatywnie to występujący pojedynczo w genomie – *f57* oraz geny *HspX* i *ISMav2*, oba obecne w trzech kopiach w genomie *Map*. Wadą metod PCR stosowanych do wykrywania *Map* w żywności jest brak możliwości odróżnienia komórek żywych od martwych w próbce [35].

Występowanie *Map* w mleku surowym nie zależy, jak się wydaje, od gatunku zwierzęcia. O'Reilly i wsp. [31] wykryli *Map* w 12,9 % (od 9,9 do 16,5 %) próbek mleka zbiorczego (metodą IMS-PCR, czyli PCR z separacją immunomagnetyczną), natomiast Corti i Stephan [7] stwierdzili te bakterie średnio w 19,7 % próbek mleka zbiorczego, przy czym próbki pochodziły z różnych części Szwajcarii i wyniki z poszczególnych regionów wahały się od 1,7 do 49,2 %. W szeroko zakrojonych badaniach w Wielkiej Brytanii przebadano metodą hodowlaną 244 próbki surowego mleka krowiego i w 2 % z nich stwierdzono obecność komórek *Map* [18]. W Egipcie 69,2 % próbek mleka surowego było pozytywnych w kierunku *Map* (oznaczanych metodą IS900 PCR) [13]. W badaniach przeprowadzonych w Polsce obecność *Map* wykazano w 2,47 % próbek mleka pochodzącego od pojedynczych krów ze stada, w którym wystąpiły odczyny serologiczne dodatnie w kierunku paratuberkulozy [43]. W przypadku innych gatunków zwierząt mlecznych, jak owce i kozy, dane są również rozbieżne. Grant i wsp. [19] stwierdzili, że ze 104 próbki surowego mleka zbiorczego koziego i owczego tylko jedna zawierała *Map*, co stanowiło < 1 % próbek. W Szwajcarii *Map* stwierdzono w 23 % próbek mleka koziego i 23,8 % próbek mleka owczego (metoda IS900 PCR) [30].

Czynnikiem wpływającym na obecność *Map* w mleku surowym jest na pewno praktyka higieniczna podczas dojenia. Zwierzęta zainfekowane *Map* wydają prątki z kałem i w ten sposób, jak potwierdzają badania wielu autorów, patogeny mogą przedostawać się do mleka, które następnie stanowi pośrednie źródło zakażenia dla ludzi. Kał krów z chorobą Johnego może zawierać w 1 g nawet 10^8 komórek *Map*. Przy takiej liczbie nawet drobiny kału mogą istotnie zanieczyszczać mleko [18, 22, 44]. Stopień zanieczyszczenia mleka zmienia się znacznie w różnych regionach czy krajach, gdyż zależy od rozpowszechnienia klinicznych przypadków choroby Johnego, które mają największy udział w zanieczyszczeniu surowego mleka [26]. Zakażenie węzłów chłonnych wymienia powoduje bezpośrednie przechodzenie *Map* do mleka, co wskazywać może, że *Map* przenoszone są przez krew lub limfę [42].

Mleko krów niewykazujących objawów chorobowych bywa także zanieczyszczone *Map*, jednak ich liczba w próbkach takiego mleka jest mała. Przypuszcza się, że *Map* występują również w siarce, którą karmione są cielęta i pomimo późniejszego ich karmienia preparatami mlekozastępczymi, siara może stanowić źródło infekcji tych zwierząt [42].

Djönne i wsp. [9] wykazali wpływ wieku krów na obecność *Map* w mleku – im starsze zwierzęta, tym częściej ich mleko jest zanieczyszczone *Map*. Autorzy zauważyli także wpływ sezonowości na liczbę *Map* w mleku. Procent zwierząt, w mleku których wykryto *Map* był najwyższy w maju (13,8 %), natomiast z okresu luty - marzec był znacznie mniejszy (2,9 %).

Występowanie *Map* w produktach mlecznych

Z danych literaturowych wynika, że produkty mleczne mogą być nośnikiem wprowadzającym *Map* do organizmu człowieka. W badaniach, których celem było określenie rozpowszechnienia *Map* w mleku spożywczym i śmietance w Irlandii wykazano obecność tych patogenów (metoda IMS-PCR) w 19,5 % próbek śmietanki, w 9,0 % próbek mleka pełnego i w 6,5 % próbek mleka częściowo odtłuszczonego, nie wykazano zaś ich obecności w żadnej próbce mleka odtłuszczonego. Posługując się metodami hodowlanymi nie stwierdzono natomiast *Map* w żadnej z 357 badanych próbek produktów. W mleku pasteryzowanym pełnym *Map* stwierdzano najczęściej od stycznia do marca oraz od września do listopada każdego roku badań, a odsetek próbek pozytywnych w tych okresach sięgał 25 % [31]. W innych badaniach przeprowadzonych w Anglii i Walii, stosując metodę IS900 PCR, stwierdzono obecność *M. paratuberculosis* w 7,05 % próbek [28]. W Wielkiej Brytanii obecność *Map*, określonych metodą IMS PCR, wykryto w 12 % próbek, a metodą płytkową – tylko w 1,8 % próbek (w liczbie 2 ÷ 8 jtk/50 ml) [18]. Podobne dane otrzymano w badaniach przeprowadzonych w Stanach Zjednoczonych [12]. W Czechach *Map* stwierdzono w 1,6 % próbek pasteryzowanego mleka rynkowego (metodą IS900 PCR) [1].

Procesy wstępnej obróbki mleka, jak: oczyszczanie i normalizacja, ewentualna mikrofiltracja oraz homogenizacja, mogą wpływać na liczbę *Map* w mleku pasteryzowanym. Łączne zastosowanie wirowania mleka i mikrofiltracji skutkowało usunięciem od 95,0 do 99,9 % komórek *Map* [17]. W niektórych pracach badawczych z tego zakresu wykazano, że homogenizacja mleka po jego pasteryzacji skutkuje mniejszym zniszczeniem *Map* niż przeprowadzenie tego procesu przed obróbką cieplną [16, 27]. Odmienne wyniki otrzymali Rademaker i wsp. [33], którzy nie stwierdzili żadnego wpływu homogenizacji mleka na skuteczność pasteryzacji w stosunku do *Map*.

W krajach rozwiniętych większość serów produkuje się z mleka pasteryzowanego, chociaż w krajach o długiej tradycji serowarskiej nadal znaczną część serów otrzymuje się w warunkach rzemieślniczych z mleka surowego krowiego, owczego lub koziego. Bezpieczeństwo mikrobiologiczne serów osiąga się przez ukwaszenie i solenie masy serowej i poprzez rozwój dodawanych specjalnie (sery z mleka pasteryzowanego) lub naturalnie występujących w mleku (sery z mleka surowego) bakterii kwasu mlekowego. Bakterie te, poprzez wytworzenie kwasu mlekowego i innych kwasów organicznych obniżających pH sera do poziomu około 4,6 - 5,0, uniemożliwiają rozwój bakterii patogennych w czasie dojrzewania i przechowywania serów.

Badania nad inaktywacją *Map* w czasie wyrobu serów są nieliczne (tab. 1). Wartości D (dziesięciokrotny czas redukcji liczby) różnych szczepów *Map* wahały się

od 28 dni (ser twardy) [36] do 107 dni (ser Cheddar) [10], przy czym największą wartością D charakteryzowały się sery o najniższym pH [10]. Wyniki oznaczeń serów półtwardych i twardych dowodzą, że w czasie ich dojrzewania liczba *Map* może obniżyć się o 2 ÷ 4 rzędy wielkości. Wykazano także, że przeżywalność *Map* w serach jest szczerpależna, wartość D wynosiła od 90 do 107 dni w zależności od szczepu [10].

Tabela 1. Dane dotyczące inaktywacji *Map* w czasie dojrzewania sztucznie zanieczyszczonych serów
Table 1. *Map* inactivation data during ripening of artificially contaminated cheeses

Typ sera Cheese type	Dojrzewanie Ripening		pH	Wartość D [dni] D-value [days]
	Czas [dni] Time [days]	Temperatura [°C] Temperature [°C]		
Miękki Soft	28	4	6,2	60
Twardy Hard	120	12 / 22 / 12 ^a	5,7	28
Półtwardy Semi-hard	120	15	5,7	46
Cheddar Cheddar	189	10	5,2	90 - 107 ^b

Objaśnienia: / Explanatory notes:

a – sery dojrzewały w warunkach kolejno: 12 °C/10 dni, 22 °C/60 dni, 12 °C/50 dni / ripening of cheeses was under following conditions: 12 °C/10 days, 22 °C/60 days, 12 °C/50 days;

b – wartości D dla 3 badanych szczepów *Map* / D-values for 3 analysed *Map* strains.

Opracowano na podstawie: [10, 36, 39] / Developed based on: [10. 36. 39]

Na podstawie wcześniej przedstawionych wyników badań, dotyczących występowania *Map* w mleku surowym, założyć można, że przeciętna liczba tych bakterii może wynosić około 100 jtk w litrze mleka. W czasie otrzymywania serów z takiego mleka około 90 % początkowej liczby *Map* zostanie „zamknięte” w skrzepie. Po osuszeniu skrzepu i oddzieleniu serwatki te 90 jtk *Map*/l koagulum skoncentruje się w 100 g sera (90 jtk/100 g sera). W ciągu kolejnych 4 miesięcy dojrzewania serów twardych i 3 miesięcy dojrzewania serów półtwardych liczba *Map* zmniejszy się odpowiednio o ponad 4 i 2 rzędy logarytmiczne, co obliczono na podstawie cytowanych wyżej wartości D. W serach gotowych do sprzedaży można zatem przewidzieć obecność nie więcej niż 0,009 jtk *Map*/100 g sera twardego i 0,9 jtk *Map*/100 g sera półtwardego. Sery twarde, przykładowo ser Ementalcki spożywa się zwykle po jeszcze dłuższym, niż założono powyżej, dojrzewaniu, np. 6-miesięcznym, co jeszcze bardziej zwiększa bezpieczeństwo zdrowotne tych serów.

Sung i Collins [39] określili wpływ niskiego pH i stężenia soli na przeżywalność *Map* w serach miękkich podczas 60-dniowego okresu ich przechowywania. Stopień niszczenia szczepów *Map* autorzy określili w temp. 20 °C przy różnych wartościach pH i stężeniu soli, ale powszechnie stosowanych w produkcji serów. Stwierdzili, że stężenie NaCl ma mały wpływ na hamowanie rozwoju *Map* lub w ogóle go nie ma, natomiast niższe pH łączy się z szybszym niszczeniem tych patogenów. Średnie wartości D dla badanych szczepów *Map* przy pH 4,0, 5,0 i 6,0 wyniosły odpowiednio: 10, 19 i 33,3 dni. Wzrost pH o jedną jednostkę skutkuje więc w przybliżeniu 2-krotnym wzrostem D.

Ikonomopoulous i wsp. [25] odkryli *Map* w 50 % próbek handlowych serów Feta z Grecji i w 12 % próbek serów tego typu z Czech. Komórki *Map* stwierdzili w 3,6 % badanych próbek (stosując metodę hodowlaną), natomiast metodą IS900 PCR – w 30,9 % próbek. Najwyższy odsetek próbek zawierających *Map* stwierdzono w serach feta o stosunkowo małym stężeniu NaCl (< 2 %), które wyprodukowano w Grecji z mleka otrzymanego od zwierząt z odizolowanej populacji. Obecność materiału genetycznego *Map* w serach wyprodukowanych na Cyprze z mleka owiec, kóz i krów stwierdzono w 25 % próbek [3]. Znacznie mniejszy odsetek próbek dodatnich w kierunku markera IS900 *Map* (< 12 %) wykazano w serach z mleka krowiego i skrzepie serowym w Czechach, Stanach Zjednoczonych i Szwajcarii [6, 25, 38].

Muramyłodipeptydy, uwolnione z peptydoglikanów wchodzących w skład ściany komórkowej prątków, uważa się za potencjalne immunomodulatory i czynniki wywołujące stany zapalne [8], dlatego nawet martwe komórki *Map* obecne w proszku mlecznym lub w preparatach do żywienia niemowląt stanowią potencjalne ryzyko dla zdrowia dzieci. Niepokojące wydają się więc podawane w literaturze przedmiotu informacje na temat występowania *Map* w proszku mlecznym. W badaniach przeprowadzonych w Czechach obecność *Map* stwierdzono w 35 % próbek mleka w proszku dla niemowląt w liczbie od 48 do 32 500 komórek w gramie, przy czym ponad 10 000 komórek na gram obecne było w 4 próbkach (7,8 %). Oznacza to, że jedno opakowanie mleka w proszku, które niemowlęciu karmionemu sztucznie podano w ciągu kilku dni, zawierało 5 milionów komórek *Map* [24].

Opublikowano niewiele wyników badań dotyczących obecności i możliwości rozwoju *Map* w produktach mlecznych innych niż mleko pasteryzowane i sery. Ogólnie, mleko fermentowane jest zabezpieczone przed rozwojem patogenów przez zastosowanie wysokiej temperatury pasteryzacji mleka przeznaczonego do ich produkcji, niskie pH i przechowywanie w warunkach chłodniczych. Chociaż *Map* są bardziej odporne na niskie pH niż większość drobnoustrojów obecnych w mleku surowym [41], to kwasowość mlecznych napojów fermentowanych wpływa na istotne ograniczenie ich rozwoju [10, 36, 40]. Nie ma doniesień o wyizolowaniu *Map*

z rynkowych mlecznych napojów fermentowanych, ale van Brandt i wsp. [4] po przeprowadzeniu badań modelowych stwierdzili, że mikroorganizmy te przeżywały w jogurtach, a ich liczba nie zmieniała się w ciągu 6-tygodniowego przechowywania tych produktów w temp. 6 °C. Jednak w mleku fermentowanym z dodatkiem szczepów probiotycznych (*Bifidobacterium lactis* BB-12, *Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Lactobacillus casei* shirota, *Lactobacillus rhamnosus* HN001) liczba *Map* zmniejszała się o 1,2 do > 3,8 rzędów logarytmicznych, w zależności od szczepu *Map* oraz probiotyku. Wyniki tych badań są obiecujące, gdyż poza hamującym wpływem kultur probiotycznych na *Map*, wykazanych w warunkach *in situ*, mogą wskazywać na możliwość wykorzystania probiotyków do leczenia paratuberkulozy u zwierząt oraz choroby Crohna u ludzi.

Podsumowanie

Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis, to chorobotwórcze bakterie, których obecność stwierdzono w środowisku pozyskiwania mleka, w organizmach krów i innych zwierząt mlecznych, a także w surowcu mleczarskim. Wyniki publikowane od kilku lat wskazują na obecność *Map* również w produktach mlecznych: w mleku pasteryzowanym, serach i proszku mlecznym. Na obecność tych patogenów w produktach mlecznych podstawowy wpływ wydaje się mieć ich oporność na warunki pasteryzacji HTST, ale także – zwłaszcza w przypadku serów – pewna oporność na niskie pH i niewielkie stężenia soli (< 2 % NaCl) oraz oporność na wysuszenie (proszek mleczny).

Chociaż bywają wyrażane wątpliwości dotyczące etiologicznej roli *Map* w chorobie Crohna, obecność tych patogenów w mleku surowym, pasteryzowanym i w serach jest nadal potwierdzana. Poziomy *Map* oznaczane w mleku krowim, kozim i owczym, pochodzącym z różnych krajów, wskazują na rozpowszechnienie choroby Johnego na świecie. Postępowanie ograniczające rozprzestrzenianie się tej choroby, szczególnie wśród stad bydła mlecznego, jest zatem potrzebne. Jeśli zakażenie *Map* w populacji zwierząt zostanie zredukowane przez odpowiednie programy kontroli, to zmniejszy się też poziom występowania *Map* w żywności pochodzenia zwierzęcego, a tym samym ryzyko zakażenia ludzi. Osiągnięcie zmniejszenia liczby *Map* w żywności wymaga jednak czasu, a także wspólnego wysiłku organizacji rządowych, rolniczych, weterynaryjnych oraz przemysłu mleczarskiego.

Literatura

- [1] Ayele W.Y., Svastova P., Roubal P., Bartos M., Pavlik I.: *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* cultured from locally and commercially pasteurized cow's milk in the Czech Republic. Appl. Environ. Microbiol., 2005, 71, 1210-1214.

- [2] Boone D.R., Castenholz R.W.: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. The Archea and the Deeply Branching and Phototrophic Bacteria*. Ed. J.T. Staley. T. I. Springer, New York 2001, pp. 155-164.
- [3] Botsaris G., Slana I., Liapi M., Dodd C., Economides C., Rees C., Pavlik I. : Rapid detection methods for viable *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in milk and cheese. *Int. J. Food Microbiol.*, 2010, **141**, S87-S90.
- [4] Brandt van L., Coudijzer K., Herman L., Michiels C., Hendrickx M., Vlaemynek G.: Survival of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in yoghurt and in commercial fermented milk products containing probiotic cultures. *J. Appl. Microbiol.*, 2011, **110**, 1252-1261.
- [5] Chiodini R., Rossiter C.: Paratuberculosis: a potential zoonosis ? *Vet. Clin. North. Am.* 1996, **12**, 457-467.
- [6] Clark D., Anderson J., Koziczowski J., Ellingson J.: Detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* genetic components in retail cheese curds purchased in Wisconsin and Minnesota by PCR. *Mol. Cell. Probes*, 2006, **20**, 197-202.
- [7] Corti S., Stephan R.: Detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* specific IS900 insertion sequences in bulk-tank milk samples obtained from different regions throughout Switzerland. *BMC Microbiol.*, 2002, **2**, 15-21.
- [8] Coulombe F., Divangahi M., Veyrier F., de Leseleuc L., Gleason J.L., Yang Y., Kelliher M.A., Pandey A.K., Sasseti C.M., Reed M.B., Behr M.A.: Increased NOD2-mediated recognition of N-glycolyl muramyl dipeptide. *J. Experimental Med.*, 2009, **206**, 1709-1716.
- [9] Djönne B., Jensen M., Grant I., Holstad G.: Detection by immunomagnetic PCR of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in milk from dairy goats in Norway. *Vet. Microbiol.*, 2003, **92**, 135-143.
- [10] Donaghy J.A., Totton N.L., Rowe M.T.: Persistence of *Mycobacterium paratuberculosis* during manufacture and ripening of Cheddar cheese. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2004, **70**, 4899-4905.
- [11] Dow C.: Paratuberculosis and type I diabetes : is this the trigger ? *Med. Hypotheses*, 2006, **67**, 782-785.
- [12] Ellingson J.L., Anderson J.L., Koziczowski J.J., Radcliff R.P., Sloan S.J., Allen S.E., Sullivan N.M.: Detection of viable *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in retail pasteurized whole milk by two culture methods and PCR. *J. Food Prot.*, 2005, **68**, 966-972.
- [13] El-Malek S.A., Mohamed Kh.F.: The use of IS900 PCR and ELISA for the detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in raw cow milk in Egypt. *European J. Biol. Sci.*, 2010, **2 (2)**, 39-45.
- [14] Feller M., Huwiler K., Stephan R., Altpeter E., Shang A., Furrer H., Pfyffer G., Jemmi T., Baumgartner A., Egger M.: *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* and Crohn's disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect. Dis.*, 2007, **7**, 607-613.
- [15] Giese S.B., Ahrens P.: Detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in milk from clinically affected cows by PCR and culture. *Vet. Microbiol.*, 2000, **77**, 291-297.
- [16] Grant I.R., Williams A.G., Rowe M.T., Muir D.D.: Efficacy of various pasteurization time-temperature conditions in combination with homogenization on inactivation of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in milk. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2005, **71**, 2853-2861.
- [17] Grant I.R., Williams A.G., Rowe M.T., Muir D.D.: Investigation of the impact of simulated commercial centrifugation and microfiltration conditions on levels of *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* in milk. *Int. J. Dairy Technol.*, 2005, **58**, 138-142.
- [18] Grant I., Ball H.J., Rowe M.: Incidence of *Mycobacterium paratuberculosis* in bulk raw and commercially pasteurized cow's milk from approved dairy processing establishments in the United Kingdom. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2002, **68**, 2428-2435.
- [19] Grant I., O'Riordan L., Ball H., Rowe M.: Incidence of *Mycobacterium paratuberculosis* in raw sheep and goat's milk in England, Wales and Northern Ireland. *Vet. Microbiol.*, 2001, **79**, 123-131.

- [20] Grant I.R., Ball H.J., Neill S.D., Rowe M.T.: Inactivation of *Mycobacterium paratuberculosis* in cow's milk at pasteurization temperatures. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1996, **62**, 631-636.
- [21] Grewal S.K., Rajeev S., Sreevatsan S., Michel F.C.: Persistence of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* and other zoonotic pathogens during simulated composting, manure packing, and liquid storage of dairy manure. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2006, **72**, 565-574.
- [22] Griffiths M.: *Mycobacterium paratuberculosis*. In: *Foodborn pathogens. Hazards, risk analysis and control*. Ed. C.W. Blackburn i P.J. McClure, CRC Press, New York 2002, pp. 489-500.
- [23] Harris N., Barletta R.: *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in veterinary medicine. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2001, **14**, 489-512.
- [24] Hruska K., Slana I., Kralik P., Pavlik I.: *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in powdered infant milk: F57 competitive real time PCR. *Veterinarni Medicina*, 2011, **56**, 226-230.
- [25] Ikonomopoulos J., Pavlik I., Bartos M., Svastova P., Ayele W.Y., Roubal P., Lukas J., Cook N., Gazouli M.: Detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in Retail Cheeses from Greece and the Czech Republic. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2005, **71**, 8934-8936.
- [26] Klijn N., Herrewegh A.A.P.M., de Jong P.: Heat inactivation data for *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*: implications for interpretation. *J. Appl. Microbiol.*, 2001, **91**, 697-704.
- [27] McDonald W.L., O'Riley K.J., Schroen C.J., Condrón R.J.: Heat inactivation of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in milk. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2005, **71**, 1785-1789.
- [28] Millar D., Ford J., Sanderson J., Withey S., Tizard M., Doran T., Hermon-Taylor J.: IS900 PCR to detect *Mycobacterium paratuberculosis* in retail supplies of whole pasteurized cow's milk in England and Wales. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1996, **61**, 3466-3452.
- [29] Mishina D., Katsel P., Brown S., Gilberts E., Greenstein R.: On the etiology of Crohn disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 1996, **93**, 9816-9820.
- [30] Muehlherr J.E., Zweifel C., Corti S., Blanco J.E., Stephan R.: Microbiological quality of raw goat's and ewe's bulk-tank milk in Switzerland. *J. Dairy Sci.*, 2003, **86**, 3849-3856.
- [31] O'Reilly C.E., O'Connor L., Anderson W., Harwy P., Grant I.R., Donaghy J., Rowe M., O'Mahony P.: Surveillance of bulk raw and commercially pasteurized cow's milk from approved Irish liquid-milk pasteurization plants to determine the incidence of *Mycobacterium paratuberculosis*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2004, **70**, 5138-5144.
- [32] Patel A. Shah N.: *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* – Incidences in milk and milk products, their isolation, enumeration, characterization and role in human health. *J. Microbiol. Imm. Inf.*, 2011, **44**, 473-479.
- [33] Rademaker J.L., Vissers M.M., Te Giffel M.C.: Effective heat inactivation of *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* in raw milk contaminated with naturally infected faeces. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2007, **73**, 4185-4190.
- [34] Ramisz A., Cąkała S., Szańkowska Z., Hoffman H., Damm A., Zahaczewski J., Danileczuk K., Jaremski A.: Przypadek choroby Johnego u bydła na terenie województwa krakowskiego. *Med. Weter.*, 1970, **26**, 203-206.
- [35] Slana I., Paolicchi F., Janstova B., Navratilova P., Pavlik I.: Detection methods for *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* in milk and milk products: a review. *Veterinarni Medicina*, 2008, **6 (53)**, 283-306.
- [36] Spahr U., Schafroth K.: Fate of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in Swiss hard and semihard manufactured from raw milk. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2001, **67**, 4199-4205.
- [37] Stabel I.: Destruction by heat of *Mycobacterium paratuberculosis* in raw milk: are current pasteurization conditions effective? *Appl. Environ. Microbiol.*, 2001, **67**, 4975-4977.
- [38] Stephan R., Schumacher S., Tasara T., Grant I.: Prevalence of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in Swiss raw milk cheeses collected at the retail level. *J. Dairy Sci.*, 2007, **90**, 3590-3595.

- [39] Sung N., Collins M.T.: Effect of three factors in cheese production (pH, salt, and heat) on *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* viability. Appl. Environ. Microbiol., 2000, **66**, 1334-1339.
- [40] Sung N., Collins M.T.: Thermal tolerance of *Mycobacterium paratuberculosis*. Appl. Environ. Microbiol., 1998, **64**, 999-1005.
- [41] Sung N., Collins M.T.: Variation in resistance of *Mycobacterium paratuberculosis* to acid environments as a function of culture medium. Appl. Environ. Microbiol., 2003, **69**, 6833-6840.
- [42] Sweeney R., Whitlock R., Rosenberg A.: *Mycobacterium paratuberculosis* cultured from milk and supramammary lymph nodes of infected asymptomatic cows. J. Clin. Microbiol., 1992, **1**, 166-171.
- [43] Sztejn J., Wiszniewska-Łaszczyk A., Rusczyńska A.: Występowanie *Mycobacterium paratuberculosis* w mleku surowym. Med. Weter., 2006, **62**, 1186-1187.
- [44] Taylor T.K., Wilks C.R., McQueen D.S.: Isolation of *Mycobacterium paratuberculosis* from the milk of a cow with Johne's disease. Vet. Rec., 1981, **24**, 532-533.
- [45] Żórawski C.: Paratuberkuloza przeżuwaczy (choroba Johnego). Med. Weter., 1991, **47**, 103-107.

MYCOBACTERIUM AVIUM SUBSP. PARATUBERCULOSIS – THE OCCURRENCE IN RAW MILK AND IN DAIRY PRODUCTS

S u m m a r y

Mycobacterium avium subsp. *paratuberculosis* (*Map*) bacteria are an etiological agent of the Johne's disease in ruminants and they have, likely, their role in the occurrence of the Crohn's disease and type I diabetes in humans. Those microorganisms are able to survive under the conditions of milk pasteurization of short duration (71.7°C/15 s). Milk from cows infected with paratuberculosis contains *Map* cells, however, milk could also be contaminated by contacting faeces or in the successive phases of milk processing. The sample percentage of cumulative milk with *Map* ranges between 2 and 70 %. It was reported that the *Map* cells were present in 6.5 to 12.0 % of pasteurized milk samples, in ca. 20 % of cream samples, in more than 12 to 50 % of cheese samples, and in 35 % of milk powder samples. There are no reports regarding the *Map* cells isolated from fermented milk beverages in the market, but those microorganisms were found to survive in the cold stored yoghurts. In the fermented milk with added probiotic strains of bacteria, the count of *Map* decreased from 1.2 to more than 3.8 log depending on both the *Map* strain and the probiotic.

Key words: *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* (*Map*), raw milk, pasteurized milk, cheeses, fermented milks ☒

EWELINA SIEPKA, ŁUKASZ BOBAK, WITOLD GŁADKOWSKI

CHARAKTERYSTYKA AKTYWNOŚCI BIOLOGICZNEJ FOSFOLIPIDÓW ŻÓŁTKA

Streszczenie

Jaja są źródłem cennych składników pokarmowych, charakteryzujących się dużym stopniem przyswajalności. Lipidy stanowią ok. 60 % suchej masy żółtka jaja i składają się w 62 % z triacylogliceroli, w 33 % z fosfolipidów, a cholesterolu jest w nich mniej niż 5 %. Profil kwasów tłuszczowych frakcji fosfolipidów wykazuje wyższy stopień nienasycenia niż frakcji triacylogliceroli. Ponadto fosfolipidy, które są składnikami błon komórkowych, wykazują pozytywny wpływ na układ sercowo-naczyniowy, obniżają poziom cholesterolu, zmniejszają syntezę triacylogliceroli, hamują agregację płytek i obniżają ciśnienie krwi. Spożycie fosfatydylocholin wpływa na zwiększenie poziomu choliny w osoczu i w mózgu oraz na przyspieszenie neuronalnej syntezy acetylocholin, będącej neuroprzekaznikiem. Jednocześnie jaja projektowane, pozyskane od niosek żywionych mieszankami paszowymi wzbogaconymi m.in. w algi morskie i olej lniany, są również źródłem wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, w skład których wchodzi kwas z rodziny *n-3* (ALA, EPA, DHA) i *n-6* (LA, ARA).

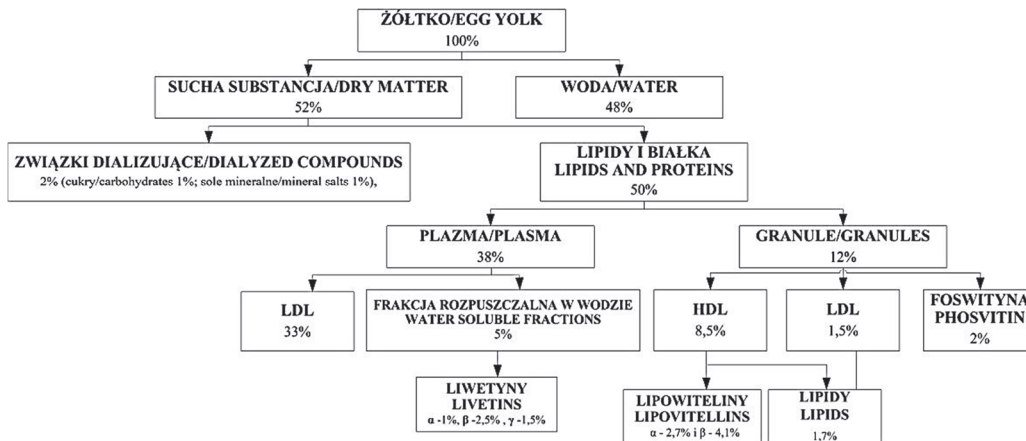
Słowa kluczowe: jaja, wielonienasycone kwasy tłuszczowe, fosfolipidy, lecytyna

Wprowadzenie

Żółtko jest pseudoplastyczną nienewtonowską cieczą składającą się ze skomplikowanego układu zemulgowanych kompleksów białkowo-lipidowych. Podczas procesu ultrawierowania z żółtka wyodrębniany jest mocno upakowany sedyment (tzw. warstwa granularna – granule, stanowiące 19 ÷ 23 % s.m. żółtka) oraz niemal przezroczysty supernatant o żółtawym zabarwieniu (plazma, stanowiąca 38 % s.m. żółtka). Frakcja granularna zawiera 56 % suchej masy, w tym 34 % lipidów, 60 % białek i 6 % związków mineralnych. Związki zawarte w granulach występują w postaci złożonych kompleksów, spośród których 70 % stanowią frakcje α i β -lipowitelinowe,

Dr inż. E. Siepka, dr inż. Ł. Bobak, Katedra Technologii Surowców Zwierzęcych i Zarządzania Jakością, dr inż. W. Gładkowski, Katedra Chemii, Wydz. Nauk o Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, ul. Chelmońskiego 37/41, 51-630 Wrocław. Kontakt: ewelina_sieпка@yahoo.com

tworzące frakcję o dużej gęstości – HDL, 12 % to frakcja LDL (o małej gęstości) i 16 % to beztłuszczowy fosfoproteid – foswityna (rys. 1) [2, 5, 11, 12, 32, 47, 51, 61, 62].



Rys. 1. Frakcjonowanie żółtka jaja

Fig. 1. Fractionation of egg yolk

Źródło: / Source: [62]

Plazma, stanowiąca 38 % masy żółtka, zawiera 50 % suchej masy, w tym około 80 % to lipidy, 18 % – białka i 2 % – związki mineralne. Głównym składnikiem plazmy są frakcje LDL (85 %) oraz liwetyny (15 %), globularne białka beztłuszczowe, które w swoim składzie zawierają frakcje α , β i γ [33, 43].

Żółtko jaja jako źródło owolipidów

Pod względem biologicznym żółtko stanowi źródło substancji odżywczych dla rozwijającego się zarodka. Natomiast w odniesieniu do wykorzystania jaj w żywieniu człowieka stanowi ono źródło jednych z najłatwiej przyswajalnych bioskładników w przyrodzie. Żółtko jest bogate w takie substancje odżywcze, jak: proteiny, lipidy, w tym fosfolipidy, witaminy itp. [62]. Sucha masa żółtka stanowi około 50 %, a w jej skład wchodzi proteiny i lipidy występujące odpowiednio w ilości: 16 i 32 %, natomiast związki mineralne i węglowodany stanowią po około 1 %. We frakcji proteinowej oznaczane są liwetyny, foswityna oraz lipoproteidy, które stanowią odpowiednio: 2,5, 3,5 i około 10 % [2].

Lipidy są wydajnym źródłem energii metabolicznej – dostarczają z każdego grama substancji około 9 kcal energii (37,7 kJ/g), ponadto są bogatym źródłem substancji o dużej wartości biologicznej i odżywczej, w zależności od ilości i rodzaju kwasów tłuszczowych, wchodzących w ich skład [4]. Połączone z białkami tworzą lipoproteiny, dzięki czemu są istotnym składnikiem komórek (mitochondria). Błony biologiczne

i osłonki mielinowe włókien nerwowych zbudowane są w dużej mierze z lipidów (fosfolipidów i cholesterolu). Cholesterol pełni funkcję regulacyjną, bierze udział w syntezie niektórych hormonów sterydowych, witamin A i D, glikozydów oraz kwasów żółciowych [36, 54].

Surowiec jajczarski jest źródłem lipidów, których skład znacząco różni się od występujących w roślinach. Jaja są bogatsze w wielonienasycone kwasy tłuszczowe, zwłaszcza z grupy *n-3*, o ważnym znaczeniu dla rozwoju i utrzymania dobrej kondycji całego organizmu [64].

Na przestrzeni dziejów lipidy pozostawały na uboczu zainteresowań naukowców zaabsorbowanych badaniami węglowodanów i białek. Jedną z przyczyn było przekonanie o ich biologicznej bierności. Obecnie naukowcy na całym świecie poświęcają się badaniom nad modyfikacjami i produkcją fosfolipidów strukturyzowanych. Obiecujące wydają się badania potwierdzające ich charakter aplikacyjny, m.in. w suplementacji diety czy farmakologii [65].

Fosfolipidy

Głównymi fosfolipidami izolowanymi z żółtka jaj kurzych są: fosfatydylocholina PC (nazwa zwyczajowa – lecytyna), fosfatydyloetanolamina PE (nazwa zwyczajowa – kefalina), lizylofosfatydylocholina LPC wraz ze sfingomieliną SM oraz fosfatydyloinozytol PI, fosfatydyloseryna PS i difosfatydyloglicerol (nazwa zwyczajowa – kardiolipina). Wymienione fosfolipidy stanowią odpowiednio [%]: 66 ÷ 76, 15 ÷ 24 oraz 3 i 6 ogólnej zawartości fosfolipidów żółtka. Wymienione fosfolipidy stanowią 31,8 % frakcji tłuszczowej żółtka jaja kurzego (tab. 1).

Tabela. 1. Skład frakcji lipidowej żółtka jaja kurzego
Table. 1. Composition of lipid fraction in chicken egg yolk

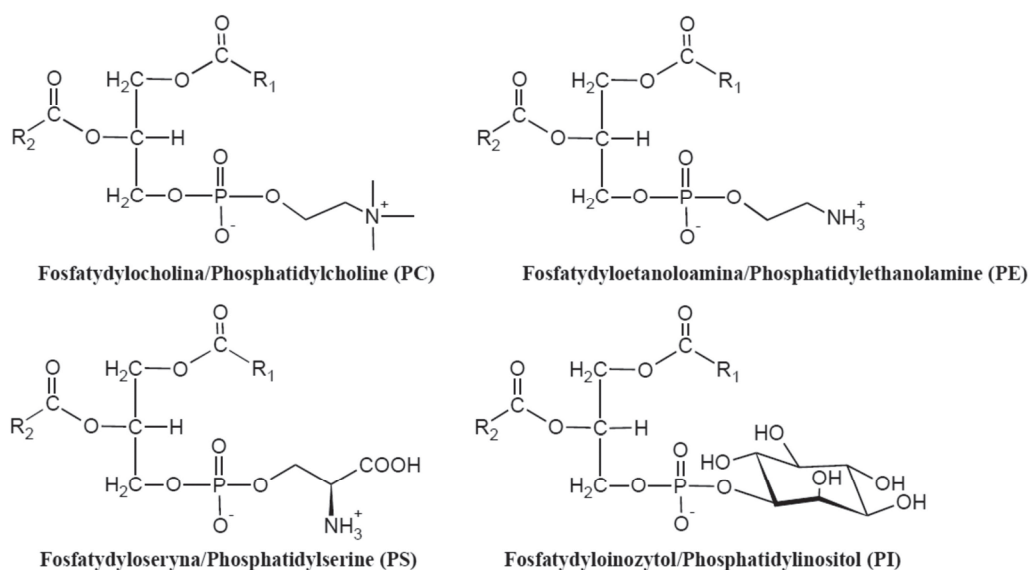
Wyszczególnienie / Specification	Udział procentowy / Percent content
Triacyloglicerole / Triglycerides	58,1
Mono- i diacyloglicerole / Mono- and diglycerides	5
Wolne kwasy tłuszczowe / Free fatty acids	0,7
Estry cholesterolu / Esters of cholesterol	0,4
Cholesterol / Cholesterol	4
Fosfolipidy / Phospholipids	31,8

Źródło: / Source: [62]

Obecność aktywnych biologicznie kwasów z grup *n-3* i *n-6*, w których wiązanie podwójne znajduje się odpowiednio przy 3. i 6. atomie węgla, licząc od terminalnej grupy metylowej, jest niezbędna do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Należy zauważyć, że lipidy jaja charakteryzują się stosunkowo małą zawartością nasyconych i dużą zawartością monoenowych i polienowych kwasów tłuszczowych. Do podstawowych nasyconych kwasów tłuszczowych jaja należą: kwas palmitynowy (C16:0) i stearynowy (C18:0) [17]. Kwas palmitynowy wykazuje działania hipercholesterolemiczne, drugi zaś jest uważany za biologicznie obojętny [48].

Do biologicznie najważniejszych kwasów tłuszczowych lipidów jaja zalicza się: linolowy (C18:2, *n-6*, LA), linolenowy (C18:3, *n-3*, ALA), eikozapentaenowy (C20:5, *n-3*, EPA), dokozaheksaenowy (C22:6, *n-3*, DHA). Kwas linolowy jest substratem w biosyntezie innych kwasów z grupy *n-6* o dłuższych łańcuchach i większej liczbie wiązań podwójnych, np. arachidonowego (C20:4, *n-6*, ARA) i innych [4].

Udowodniono, że skład lipidów żółtka determinowany jest czynnikami genetycznymi, wiekiem i utrzymaniem niosek oraz, co bardzo istotne, sposobem ich żywienia [15, 28]. Poprzez odpowiednią modyfikację składu paszy można kształtować skład chemiczny żółtka jaja, a w szczególności profil kwasów tłuszczowych, w tym zawartość wielonienasyconych kwasów tłuszczowych – WNKT z grupy *n-3* [31].



Rys. 2. Struktura wybranych fosfolipidów

Fig. 2. Chemical structure of some selected phospholipids

Opracowanie własne na podstawie: / The authors' own study based on: [29, 69]

Niezwykle cennym składnikiem żółtka jaja są fosfolipidy pełniące podstawowe funkcje w wielu procesach życiowych (rys. 2) [42]. Reszty kwasów tłuszczowych występujące w fosfolipidach to zazwyczaj jednostki C12 - C20. Preferencyjnie grupy acylowe połączone wiązaniem estrowym z atomem C1 w pozycji *sn*-1 są w większości nasycone, a w pozycji *sn*-2 – nienasycone. Grupa fosforanowa przy atomie węgla C3 jest połączona wiązaniem estrowym z aminoalkoholem – choliną (w przypadku lecytyny) lub etanoloaminą (w przypadku kefaliny) [23, 36, 52].

Powszechnie obecne w tkankach fosfolipidy są głównym składnikiem błon komórkowych (40 %). Mają długie niepolarne „ogony” związane z polarną jonową „głową” (grupą fosforanową). Błony komórkowe składają się głównie z fosfoglicerydów ułożonych w podwójną warstwę lipidową o grubości około 50 Å (5 nm). Hydrofobowe ogony agregują wewnątrz warstwy podwójnej w sposób podobny do tego, w jaki cząsteczki mydła tworzą micelle. Taka warstwa podwójna stanowi efektywną barierę dla przenikania wody, jonów i innych polarnych składników do wnętrza i na zewnątrz komórki [36].

Fosfatydylocholina (lecytyna – PC)

Fosfatydylocholina (rys. 2) należy do fosfolipidów, w których reszta fosforanowa połączona jest wiązaniem estrowym z choliną. Stanowi około 40 % ogólnej ilości lipidów błonowych występujących w komórkach wyższych roślin i zwierząt [68, 22].

Potwierdzono pozytywny wpływ fosfolipidów, w tym fosfatydylocholiny (PC), na choroby zwyrodnieniowe wątroby, serca, naczyń krwionośnych, układu nerwowego i pokarmowego [8, 14, 21, 26]. Wspomaga ona przemianę materii, jest istotnym elementem mózgu i tkanki nerwowej, uczestniczy w ochronie ścian żołądka. Ponadto bierze udział w opóźnianiu procesów starzenia, wspomaga wykorzystanie witamin rozpuszczalnych w tłuszczach oraz usprawnia krążenie krwi [57]. Jednym z najbardziej istotnych zagadnień jest udział lecytyny w prawidłowym funkcjonowaniu układu nerwowego. Będąc źródłem choliny, wchodzącej w skład osłonek mielinowych włókien nerwowych, lecytyna pobudza układ nerwowy, wzmacniając zdolność koncentracji i zapamiętywania. Niedobór choliny łączony jest również z chorobą Alzheimera. W literaturze przedmiotu wskazuje się na efektywne stosowanie lecytyny w zwiększeniu koncentracji i pamięci u dzieci schizofrenicznych i autystycznych [29, 42]. PC, oprócz choliny, zawiera również wielonienasycone kwasy tłuszczowe, które wiążąc się z cholesterolem, ułatwiają jego transport i usuwanie z organizmu. Wpływa także na rozpuszczalność cholesterolu w żółci, chroniąc ją przed tworzeniem się kamieni żółciowych. Działanie lecytyny wpływa korzystnie na zmniejszenie ryzyka wystąpienia miażdżycy i związanych z nią schorzeń sercowo-naczyniowych [35, 53]. Niedobór choliny w pożywieniu może powodować akumulację lipidów w wątrobie. Lecytyna skutecznie wpływa na zmniejszenie zaburzeń sprawności seksualnej mężczyzn poprzez

zmniejszenie przerostu gruczołu krokowego (prostaty). Ponadto PC i cholina są niezbędne w okresie prenatalnym, gdyż podtrzymują dynamikę wzrostu płodu [10].

Fracja fosfolipidowa żółtka w niemal 75 % składa się z lecytyny, co jest wartością ponad dwukrotnie wyższą niż zawartość PC w fosfolipidach roślinnych. W składzie lecytyny jaja w pozycji *sn-1* dominują kwasy: palmitynowy, stearynowy, oleinowy, linolowy i linolenowy, w pozycji *sn-2* kwasy: oleinowy, linolowy, linolenowy, arachidonowy i dokozaheksaenowy. W fosfolipidach pozyskiwanych z surowca roślinnego nieoznaczane są nienasycone kwasy tłuszczowe o łańcuchach dłuższych niż jednostki osiemnastowęglowe [23, 63, 64, 65,]. Ponadto, handlowe preparaty lecytyny sojowej nie mogą być stosowane przez grupę osób uczulonych na soję i sojowe preparaty lecytynowe. Fosfolipidy z jaj stanowią w tym względzie atrakcyjną alternatywę.

Fosfatydyloetanolamina (kefalina – PE)

Fosfatydyloetanolamina (rys. 2) to kolejny, bardzo istotny fosfolipid żółtka jaja, którego reszta fosforanowa zestryfikowana jest etanolaminą. Proporcja lecytyny do kefaliny w jajach wynosi w zależności od rodzaju jaja (czynniki genetyczne, wiek, utrzymanie i sposób żywienia niosek) 4 : 1 ÷ 2 : 1. Kefalina, podobnie jak lecytyna, uczestniczy w budowie błon komórkowych organizmów, występuje jednak w mniejszej ilości. Wyjątkiem są błony komórkowe bakterii, w których stanowi główny składnik. Kwasy tłuszczowe zestryfikowane w cząsteczce kefaliny wykazują wyższy stopień nienasylenia łańcuchów węglowych kwasów tłuszczowych w porównaniu z kwasami zawartymi w lecytynie. W pozycji *sn-2* najczęściej występują w nich kwasy: stearynowy, oleinowy, linolowy, arachidonowy i dokozaheksaenowy. W pozycji *sn-1* dominują natomiast kwasy krótkołańcuchowe i nasycone: palmitynowy, stearynowy, oleinowy, linolowy, linolenowy [69].

Fosfatydyloinozytol (PI)

Fosfolipidy inozytolowe (rys. 2) to glicerofosfolipidy błonowe, pełniące funkcję budulcową błon oraz spełniające funkcję substancji macierzystych cząstek biologicznie czynnych, o charakterze wtórnych przekaźników. W pozycji *sn-1* glicerolu zawarty jest kwas stearynowy, natomiast w *sn-2* – kwas arachidonowy. Fosfatydyloinozytol błonowy jest fosfolipidem, z którego powstają wtórne przekaźniki informacji hormonalnej [69].

Fosfatydyloseryna (PS)

Fosfatydyloseryna (rys. 2) to serynowa pochodna fosfolipidów, która pośrednio uczestniczy w syntezie nukleotydów (puryn i pirymidyn) i jest istotna w fizjologii

mózgu. Stanowi substrat do wytworzenia lecytyny, sfingozyny i acetylocholino. Jest niezbędnym składnikiem wewnętrznej warstwy błon plazmatycznych [29].

Difosfatydyloglicerol (kardiolipina)

Kardiolipina swoją nazwę zawdzięcza temu, że po raz pierwszy, została wyizolowana z mięśnia sercowego. Jest jednym z podstawowych składników błony mitochondrialnej (stanowi 20 % udziału lipidów), niezbędnym do optymalnego funkcjonowania wielu enzymów, które są zaangażowane w metabolizm energetyczny mitochondriów [69].

Kwasy tłuszczowe *n-3* (ALA, EPA, DHA)

Sposób odżywiania i aktywność fizyczna determinują utrzymanie organizmu w dobrej kondycji. Odpowiednio dobrana dieta wpływa na rozwój fizyczny i intelektualny człowieka. Tryb życia i dieta obfita w żywność wysoko przetworzoną oraz bogata w tłuszcze nasycone spowodowały, że w XXI wieku coraz więcej ludzi cierpi na skutki tzw. chorób cywilizacyjnych. Aby zmienić tę sytuację, należy pamiętać o ograniczeniu tłuszczów nasyconych i wzbogaceniu diety dzieci i osób dorosłych w niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe (NNKT) [53].

Do najbardziej pożądaných kwasów tłuszczowych należą kwasy z grupy *n-3* [9, 45]. Są one niezbędne do prawidłowego funkcjonowania organizmu człowieka, który nie potrafi ich sam syntetyzować, dlatego powinny być dostarczane w pożywieniu. [38]. Ich źródło w diecie stanowią: oleje roślinne, tłuste ryby morskie, kryl, algi oraz jaja, szczególnie te „wzbogacone” [7, 9, 16, 34, 37, 40, 55]. Kwasy EPA i DHA (eikozapentaenowy i dokozaheksaenowy) znajdują się w tłuszczu ryb morskich, jak: łosoś, śledź, makrela, sardynki, halibut, tuńczyk. Źródłem ALA (kwas α -linolenowy) są: siemię lniane i olej lniany, portulaka warzywna, olej z nasion pachnotki, orzechy włoskie i olej z nich pozyskany. Najlepsze efekty zdrowotne powodują: EPA i DHA. ALA z siemienia lnianego i innych surowców roślinnych musi być przekształcony w organizmie do EPA i DHA. Niestety nie każdy organizm jest zdolny do efektywnej konwersji ALA (przykładem są wcześniaki, ludzie chorzy na cukrzycę i padaczkę) [27, 38].

Dieta większości społeczeństwa nie jest urozmaicona i udział takich produktów, jak olej lniany i ryby, jest w niej znikomy [33]. W przypadku kobiet w ciąży i karmiących oraz małych dzieci istnieje niebezpieczeństwo związane z możliwością zatrucia metalami ciężkimi (rtęć, ołów, kadm), pestycydami, dioksynami, polichlorowanymi bifenyłami (PCBs) po konsumpcji niektórych gatunków ryb [44, 49, 58, 60, 19]. Inaczej kształtuje się sytuacja w przypadku jaj. Zwykle dobrze tolerowane przez organizmy dzieci i dorosłych, są jednym z najbardziej powszechnych produktów spożywczych na świecie [45].

Dowodzono pozytywnego wpływu kwasów z rodziny *n-3* na stany zapalne. Zapobiegają one chorobom przewlekłym, między innymi chorobom serca i artretyzmowi [34]. Kwasy te skumulowane są w tkance mózgowej, stąd ich udział w diecie determinuje prawidłowe funkcjonowanie mózgu [1, 68]. DHA w dużych ilościach występuje w siatkówce oka i w naczyniach krwionośnych. Polskie Towarzystwo Pediatryczne oraz Polskie Towarzystwo Badań nad Miażdżycą zalecają w codziennym żywieniu łączne spożycie kwasów EPA i DHA od 1,0 ÷ 1,5 g. Rozwój centralnego układu nerwowego w największym stopniu następuje do 3. roku życia [66]. Istnieje ryzyko wad wzroku i nerwów u dzieci, które nie otrzymują wystarczającej ilości kwasów *n-3* w okresie płodowym. Objawami niedoboru kwasów *n-3* u dorosłych mogą być m.in. chroniczne zmęczenie, słaba pamięć, przesuszona cera, problemy z sercem, zaburzenia nastroju, zaburzenia krążenia, depresja [24, 30, 41, 46].

Kwasy tłuszczowe *n-6* (AA, LA, GLA)

Kolejną grupą wielonienasyconych niezbędnych kwasów tłuszczowych (WNKT) są kwasy z rodziny *n-6*. Prekursorem pozostałych związków z tej grupy dostarczanym z pożywieniem jest kwas linolowy. Razem z kwasami tłuszczowymi z grupy *n-3* mają one wpływ na prawidłowe funkcjonowanie mózgu, wzrost i rozwój ustroju, pomagają w stymulacji regeneracji skóry i włosów, utrzymaniu zdrowych kości, prawidłowej przemiany materii i odpowiedniego stanu układu rozrodczego [3, 6, 25, 59].

W prawidłowo zbilansowanej diecie zachowana jest odpowiednia proporcja kwasów *n-6* do *n-3*. W czasach naszych przodków proporcja ta wynosiła około 1, obecnie w krajach wysoko uprzemysłowionych waha się w granicach 14 ÷ 25, co zostało powiązane przez naukowców z otyłością i zwiększonym ryzykiem zawału i innych dolegliwości.

Opisane kwasy z rodziny *n-3* zmniejszają stan zapalny w organizmie, natomiast z literatury wynika, że niektóre kwasy z rodziny *n-6* (linolowy, arachidonowy) działają prozapalnie oraz przyczyniają się do zespołu odruchowej dystrofii współczulnej. Dzieje się tak wówczas, gdy w organizmie znajduje się zbyt duża ilość kwasu AA. Zachowanie odpowiednich proporcji pomiędzy kwasami z grupy *n-3* i *n-6* w codziennej diecie jest niezbędne do utrzymania prawidłowego funkcjonowania organizmu [29].

Kwas linolowy jest prekursorem kwasu gamma-linolenowego (GLA) w organizmie, który z kolei może być przekształcany do kwasu arachidonowego (AA). GLA znajduje się w kilku mniej popularnych olejach roślinnych, w tym w oleju: z wiesiołka (EPO – *ang. Evening Primrose Oil*), z ogórecznika i z nasion czarnej porzeczki [67].

Kwasy *n-6* pomagają w leczeniu neuropatii cukrzycowej, uśmierając ból nerwów, mogą być pomocne w uśmierzaniu dokuczliwych objawów reumatoidalnego zapalenia stawów, zmniejszając ból, obrzęk i sztywność poranną [10]. Niektóre źródła wskazują na pozytywny wpływ na alergię, jednak informacje nie są jednoznaczne.

Wyniki badań dotyczące wpływu kwasów *n-6* na raka piersi są bardzo różne: od takich, w których stwierdzono pozytywny wpływ GLA przy podaniu choremu leku (tamoksifen), po takie, z których wynika, że kwasy *n-6* są stymulatorami rozwoju raka [37, 56]. Istnieją dowody na to, że GLA w połączeniu z DHA i EPA może zmniejszać wysokie ciśnienie krwi, dokuczliwe objawy menopauzy oraz stwardnienia rozsianego. Inne sugerują pozytywny wpływ GLA na PMS – zespół napięcia przedmiesiączkowego [13, 18, 39, 50].

Dla utrzymania dobrego stanu zdrowia należy zachować umiar i równowagę spożywanych bioskładników, w tym pomiędzy kwasami tłuszczowymi z rodziny *n-6* i *n-3*. Wskaźnik ten powinien mieścić się w zakresie od 2 : 1 ÷ 4 : 1, niektórzy sugerują nawet niższe współczynniki. Przeciętna dieta dostarcza dużo kwasów tłuszczowych *n-6*, dlatego przyjmowanie dodatkowych suplementów nie jest konieczne. Osoby chore na padaczkę nie powinny przyjmować kwasów *n-6*, gdyż może to spowodować drgawki. Nie zaleca się ich spożywania również kobietom w ciąży, gdyż mogą uszkodzić płód i wywołać poród [20].

Istnieje wiele doniesień o zależności między ilością spożytego cholesterolu (który znajduje się w jajach) a chorobami serca. Nie ulega wątpliwości, że dieta bogata w nasycone tłuszcze często prowadzi do podniesienia poziomu cholesterolu w osoczu krwi, przynajmniej w przypadku ludzi z nadwagą, prowadzących siedzący tryb życia. I przeciwnie, dieta uboga w tłuszcze nasycone i bogata w tłuszcze nienasycone (WNKT) prowadzi do obniżenia poziomu cholesterolu w osoczu krwi. Wykazano, że poziom cholesterolu powyżej 300 mg/ml (prawidłowa wartość 150 ÷ 200 mg/ml) ma związek z częstszym występowaniem arteriosklerozy, jednej z chorób serca, w której złogi cholesterolu odkładają się na wewnętrznej powierzchni ścian tętnic wieńcowych, blokując dopływ krwi do mięśnia sercowego [36]. Jedno przeciętne żółtko zawiera około 210 mg cholesterolu (12 mg/g żółtka). Dowiedziono, że schorzenia naczyń krwionośnych prowadzące m.in. do zawałów serca nie mają bezpośredniego związku z ilością cholesterolu dostarczanego w pokarmach, w tym w jajach i spożycie nawet dwóch jaj dziennie nie zaburza poprawnego funkcjonowania organizmu. Wynika to z obecności odpowiedniej ilości (proporcji) polienowych kwasów tłuszczowych wpływających regulująco na poziom cholesterolu [35].

Podsumowanie

Obserwuje się intensywne poszukiwania naturalnych produktów do pozyskiwania bioaktywnych substancji z wykorzystaniem ich do produkcji suplementów diety, biofarmaceutyków, kosmetyków itd. Najlepszym biosurowcem wydają się być jaja, zarówno kurcze, jak i przepiórcze. Ze względu na dużą zawartość fosfatydylocholiny, jako źródła choliny będącej prekursorem acetylocholinie oraz niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych, fosfolipidy izolowane z żółtka jaj mogą stanowić dobrą alterna-

tywę dla fosfolipidów roślinnych. Biorąc pod uwagę zawartość składników odżywczych w jajach, w tym wzbogaconych, można uważać ten surowiec za żywność prozdrowotną - nutraceutyk nowej generacji.



HUMAN CAPITAL
NATIONAL COHESION STRATEGY



DOLNY
ŚLĄSK

EUROPEAN UNION
EUROPEAN
SOCIAL FUND



Artykuł współfinansowany jest przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego

Literatura

- [1] Aben A., Danckaerts M.: Omega-3 and omega-6 fatty acids in the treatment of children and adolescents with ADHD. *Tijdschr. Psychiatr.*, 2010, **52** (2), 89-97.
- [2] Ahn D., Ko K.: Economical separation of value-added components from chicken egg yolk. In: *The Amazing Egg*. Ed. Sim J. S., Sunwoo H. H. University of Alberta, Edmonton, Canada, 2006.
- [3] Anandan C., Nurmatov U., Sheikh A.: Omega 3 and 6 oils for primary prevention of allergic disease: systematic review and meta-analysis. *Allergy*, 2009, **64** (6), 840-848.
- [4] Ansari R., Azarbajejani A., Ansari S., Asgari S., Gheisari A.: Production of egg enriched with omega-3 fatty acids in laying hens. *ARYA J.*, 2006, **1** (4), 242-246.
- [5] Bobak Ł., Trziszka T., Rój E.; Grzęda K., Kaźmierska M., Kostrzewa D.: Sposób otrzymywania preparatu lecytyny z żółtek jaj, zwłaszcza kurzych. Zgłoszenie patentowe P - 389655 z dn. 24 listopada 2009.
- [6] Boelsma E., Hendriks H.F. Roza L.: Nutritional skin care: health effects of micronutrients and fatty acids. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2001, **73** (5), 853-864.
- [7] Bourre J.M., Galea F.: An important source of omega-3 fatty acids, vitamins D and E, carotenoids, iodine and selenium: a new natural multi-enriched egg. *J. Nutr. Health Aging*, 2006, **10** (5), 371-376.
- [8] Cabezas D.M., Diehl B.W.K., Tomas M.C.: Sunflower lecithin: application of fractionation process with absolute ethanol. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2009, **86**, 189-196.
- [9] Cachaldora P., Garcia-Rebollar P., Alvarez C., Mendez J., De Blas J.C.: Double enrichment of chicken eggs with conjugated acid and n-3 fatty acids through dietary supplementation. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2008, **144**, 315-326.
- [10] Carillo S., Lopez E., Casa M., Avila E., Castillo R.M., Carranco M.E., Calvo C., Perez-Gil F.: Potential use of seaweeds in the laying hen ration to improve the quality of n-3 fatty acid enriched eggs. *J. Appl. Phycol.*, 2008, **20**, 721-728.
- [11] Castellani O., Belhomme C., David-Briand E., Guérin-Dubiard C., Anton M.: Oil-in-water emulsion properties and interfacial characteristics of hen egg yolk phosvitin. *Food Hydrocoll.*, 2006, **20**, 35-43.
- [12] Castellani O., Guérin-Dubiard C., David-Briand E., Anton M.: Influence of physicochemical conditions and technological treatments on the iron binding capacity of egg yolk phosvitin. *Food Chem.*, 2004, **85**, 569-577.
- [13] Wu C.C., Huang M.Y., Kapoor R., Chen C.H., Huang Y.S.: Metabolism of omega-6 polyunsaturated fatty acids in women with dysmenorrhea. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.*, 2008, **17** (S1), 216-219.

- [14] Chattipakorn N., Settakorn J., Petsophonsakul P.: Cardiac mortality is associated with low levels of omega-3 and omega-6 fatty acids in the heart of cadavers with a history of coronary heart disease. *Nutr. Res.*, 2009, **29** (10), 696-704.
- [15] Cherian G.: Egg quality and yolk polyunsaturated fatty acid status in relation to broiler breeder hen age and dietary n-3 oils. *Poultry Science*, 2008, **87**, 1131-1137.
- [16] Cho E., Hung S., Willet W.C., Spiegelman D., Rimm E.B., Seddon J.M.: Prospective study of dietary fat and the risk of age-related macular degeneration. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2001, **73** (2), 209-218.
- [17] Chojnacka A., Gładkowski W., Kielbowicz G., Wawrzęńczyk C.: Enzymatic enrichment of egg-yolk phosphatidylcholine with α -linoleic acid. *Biotechnol. Lett.*, 2009, **31**, 705-709.
- [18] De la Rosa M.: Can purified omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids supplementation act blood pressure levels in untreated normal-high blood pressure subjects with hypertriglyceridemia. *Pharmacol. Pharmacy*, 2012, **3**, 234-239.
- [19] Dopheide J.A., Pliszka S.R.: Attention-deficit-hyperactivity disorder: an update. *Pharmacotherapy*, 2009, **29** (6), 656-79.
- [20] Ehrlich S.D.: Omega-3 fatty acids. [online] University of Maryland, Medical Center, 2011, Dostęp w Internecie [29.01.2014]: <http://www.umm.edu/altmed/articles/omega-3-000316.htm>
- [21] Geerling B.J., Badart-Smook A., van Deursen C.: Nutritional supplementation with N-3 fatty acids and antioxidants in patients with Crohn's disease in remission: effects on antioxidant status and fatty acid profile. *Inflamm. Bowel Dis.*, 2000, **6** (2), 77-84.
- [22] Gładkowski W., Chojnacka A., Kielbowicz G., Pisarski B., Trziszka T., Wawrzęńczyk C.: Charakterystyka frakcji fosfolipidowych izolowanych z żółtek jaj pochodzących od kur Lohmann Brown i zielononóżki kuropatwanej. *Przem. Chem.*, 2009, **88** (5), 432-435.
- [23] Gładkowski W., Kielbowicz G., Chojnacka A., Gil M., Trziszka T., Dobrzański Z., Wawrzęńczyk C.: Fatty acid composition of egg yolk phospholipid fractions following feed supplementation of Lohmann Brown hens with humic-fatty preparations. *Food Chem.*, 2011, **126**, 1013-1018.
- [24] Green K.N., Steffan J.S., Martinez-Coria H., Schreiber S.S., Thompson L.M., LaFerla F.M.: Nicotinamide, an inhibitor of the sirtuins, reduces tau pathology and restores cognition in Alzheimer's disease transgenic mice. *J. Neurosci.*, 2008, **28**, 11500-10.
- [25] Harris W.: Omega-6 and omega-3 fatty acids: partners in prevention. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, 2010, **13** (2), 125-9.
- [26] Harris W.S., Mozaffarian D., Rimm E., Kris-Etherton P., Rudel L.L., Appel L.J., Engler M.M., Engler M.B., Sacks F.: Omega-6 fatty acids and risk for cardiovascular disease a science advisory from the American Heart Association Nutrition Subcommittee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism; Council on Cardiovascular Nursing, and Council on Epidemiology and Prevention, *Circulation*, 2009, **119**, 902-907.
- [27] Hartweg J., Farmer A.J., Holman R.R., Neil A.: Potential impact of omega-3 treatment on cardiovascular disease in type 2 diabetes. *Curr. Opin. Lipidol.*, 2009, **20** (1), 30-38.
- [28] Jia W., Słomiński B.A., Guenter W., Humphreys A., Jones O.: The effect of enzyme supplementation on egg production parameters and omega-3 fatty acid deposition in laying hens flaxseed and canola seed. *Poultry Science*, 2008, **87**, 2005-2014.
- [29] Kidd P.M.: Omega-3 DHA end EPA for cognition, behavior, and mood: Clinical findings and structural-functional synergies with cell membrane phospholipids. *Alternative Medicine Review*, 2007, **12** (3), 207-227.
- [30] Kokoszka A.: Szansa na poprawę skuteczności leczenia schizofrenii i depresji? Przegląd wyników badań suplementacji omega 3 wielonienasyconymi kwasami tłuszczowymi. *Przewodnik Lekarza*, 2007, **9**, 20-26.

- [31] Kouba M., Mourot J.: A review of nutritional effects on fat composition of animal products with special emphasis on n-3 polyunsaturated fatty acids. *Biochimie*, 2011, **93**, 13-17.
- [32] Kovacs-Nolan J., Mine Y.: Microencapsulation for the gastric passage and controlled intestinal release of immunoglobulin Y. *J. Immun. Methods*, 2005, **296**, 199-209.
- [33] Laca A., Paredes B., Diaz M.: A method of egg yolk fractionation. Characterisation of fractions. *Food Hydrocoll.*, 2010, **24**, 434-443.
- [34] Lawlor J.B., Gaudette N., Dickson T., House J.D.: Fatty acid profile and sensory characteristics of table eggs from laying hens fed diets containing microencapsulated fish oil. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2010, **156**, 97-103.
- [35] Marchioli R., Silletta M.G., Levantesi G., Pioggiarella R.: Omega-3 fatty acids and heart failure. *Curr. Atheroscler. Rep.*, 2009, **11** (6), 440-447.
- [36] McMurry J.: *Chemia organiczna. T. IV i V.* Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2003.
- [37] Mitra K., Lee J., Lee K., Kim S.: Production tactic and physiochemical properties of low ω -6/ ω -3 ratio structured lipid synthesized from perilla and soybean oil. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2010, **45**, 1321-1329.
- [38] Montori V., Farmer A., Wollan P.C., Dinneen S.F.: Fish oil supplementation in type 2 diabetes: a quantitative systematic review. *Diabetes Care*, 2000, **23**, 1407-1415.
- [39] Mori T.A.: Omega-3 fatty acids and blood pressure. *Cell. Mol. Biol. (Nosiy-le-grand)*, 2010, **56** (1), 83-92.
- [40] Nagakura T., Matsuda S., Shichijyo K., Sugimoto H., Hata K.: Dietary supplementation with fish oil rich in omega-3 polyunsaturated fatty acids in children with bronchial asthma. *Eur. Resp. J.*, 2000, **16** (5), 861-865.
- [41] Ohman M., Akerfeld T., Nillson I., Rosen C., Hansson L., Carlsson M., Larsson A.: Biochemical effects of consumption of eggs containing omega-3 polyunsaturated fatty acids. *Ups. J. Med. Sci.*, 2008, **113** (3), 315-324.
- [42] Palacios L.E., Wang T.: Egg-yolk lipid fractionation and lecithin characterization. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2005, **82**, 571-578.
- [43] Pillet E., Duchamp G., Batellier F., Beaumal V., Anton M., Desherces S., Schmitt E., Magistrini M.: Egg yolk plasma replace egg yolk in stallion freezing extenders. *Theriogenology*, 2011, **78**, 105-114.
- [44] Protasowicki J., Protasowicki M., Ciereszko W., Perkowska A., Ciemiak A., Bochenek I., Brucka-Jastrzębska E., Błachuta J.: Metale ciężkie i chlorowane węglowodory w niektórych gatunkach ryb z rzeki Odry. *Rocznik Ochrony Środowiska*, 2007, **9**, 95-105.
- [45] Rizzi L., Bochicchio D., Bergellini A., Parazza P., Simoli M.: Effects of dietary microalgae. Rother lipid sources, in organicelenium and iodine on yolk n-3 fatty acid composition,elenium content and quality of eggs in laying hens. *J. Sci. Food Agric.*, 2009, **89**, 1775-1785.
- [46] Rocha Aranjó D.M., Vilarim M.M., Nardi A.E.: What is the effectiveness of the use of polyunsaturated fatty acid omega-3 in the treatment of depression. *Expert Rev. Neurother.*, 2010, **10** (7), 1117-1129.
- [47] Ryszka F., Dolińska B., Leszczyńska L., Trziszka T.: Rozdział białek żółtka jaja kurzego. *Farm. Przegł. Nauk.*, 2009, **3**, 25-28.
- [48] Samman S., Kung F.P., Carter M.L., Foster M.J., Ahmad Z.I., Phuyal J.L., Petocz P.: Fatty acid composition of certified organic, conventional and omega-3 eggs. *Food Chem.*, 2009, **116**, 911-914.
- [49] Saniewska D., Beldowska M., Beldowski J., Saniewski M., Kwaśniak J., Falkowska L.: Distribution of mercury in different environmental compartments in the aquatic ecosystem of the coastal zone of the Southern Baltic Sea. *J. Envir. Sci. - China*, 2010, **22**, 1144-1150.

- [50] Siddiqui R., Zerouga R., Wu M., Castillo A., Harvey K., Zaloga G.P., Stillwell W.: Anticancer properties of propofol docosahexaenoate and propofol-eicosapentaenoate on breast cancer cells. *Breast Cancer Research*, 2005, **7**, 645-654.
- [51] Siepka E., Bobak Ł., Trziszka T.: Frakcjonowanie żółtka w celu pozyskania preparatów wzbogaconych w substancje biologicznie aktywne. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **6 (73)**, 158-167.
- [52] Sinanoglou V.J., Strati I.F., Miniadis-Meimaroglou S.: Lipid, fatty acid and carotenoid of edible egg yolks from avian species: a comparative study. *Food Chem.*, 2011, **124**, 971-977.
- [53] Skoczyńska A.: Rola lipidów w powstawaniu miażdżycy [online]. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2005, **59**, 346-357. Dostęp w Internecie [29.01.2014]: http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_59/7720.pdf
- [54] Śmiechowska M., Przybyłowski P. *Chemia żywności z elementami biochemii*. Wyd. Akademii Morskiej w Gdyni, Gdynia 2004.
- [55] Souza J.G., Costa F.G.P., Quieroga R.C.R.E., Silva J.H.V., Schuler A.R.P., Goulart C.C.: Fatty acid profile of eggs of semi-heavy layers fed feeds containing linseed oil. *Brazilian J. Poultry Sci.*, 2008, **10 (1)**, 37-44.
- [56] Srivastava A., Mansel R.E., Arvind N., Prasad K., Dhar A., Chabra A.: Evidence-based management of Mastalgia: a meta-analysis of randomised trials. *Breast*, 2007, **16 (5)**, 503-512.
- [57] Stryer L.: *Biochemia*. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2003.
- [58] Szumiło E., Fila G., Szubska M., Meissner W., Bełdowska M., Falkowska L.: Rtęć w mewach srebrzystych (*Larus argentatus*) zimujących nad Zatoką Gdańską. *Mat. II Konf. Naukowej: „Identyfikacja zagrożeń dla zdrowia człowieka”*, Gdynia, 2010, ss. 109-114.
- [59] Tartibian B., Hajizadeh Malek., Kanaley J., Sadeghi K.: Long-term aerobic exercise and omega-3 supplementation modulate osteoporosis through inflammatory mechanisms in post-menopausal women: a randomized, repeated measures study. *Nutrition Metabolism*, 2011, **8 (71)**, 1-13.
- [60] Tomza-Marciniak A., Witczak A.: Distribution of endocrine-disrupting pesticides in water and fish from the Oder river, *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 2010, **40 (1)**, 1-9.
- [61] Trziszka T., Bobak Ł., Siepka E., Dobrzański Z., Tronina S., Tronina W.: Sposób otrzymywania preparatu fosfolipidowego z żółtka jaja, zwłaszcza kurzego oraz preparat fosfolipidowy”, *Zgłoszenie patentowe nr P.399338 [WIPO ST 10/C PL399338]* z dnia 2012-05-28.
- [62] Trziszka T.: Budowa i skład chemiczny jaja. W: *Jajczarstwo, nauka, technologia, praktyka*. Red. T. Trziszka. Wyd. AR we Wrocławiu, Wrocław 2000, ss. 147-188.
- [63] Trziszka T.: Dobrzański Z., Wykorzystanie surowca jajczarskiego do produkcji nutraceutyków i preparatów biomedycznych. Cz. I., *Polskie Drobiarstwo 2004*, **04**, 2-4.
- [64] Trziszka T.: Dobrzański Z., Wykorzystanie surowca jajczarskiego do produkcji nutraceutyków i preparatów biomedycznych. Cz. II., *Polskie Drobiarstwo 2004*, **05**, 10-11.
- [65] Trziszka T.: Nowej generacji surowiec jajczarski jako materiał do produkcji suplementów diety i preparatów biomedycznych. *Ferma Świń i Drobiu*, 2010.
- [66] Vaisman N., Kaysar N., Zaruk-Adasha Y., Pelled D., Brichon G., Zwingelstein G., Bodenec J.: Correlation between changes in blood fatty acid composition and visual sustained attention performance in children with inattention: effect of dietary n-3 fatty acids containing phospholipids. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2008, **87**, 1170-80.
- [67] Walczewska A.: Tomasz Stępień, Dorota Bewicz-Binkowska, Emilia Zgórzyńska: Rola kwasu dokozaheksaenowego w czynności komórek nerwowych. *Postępy Hig. Med. Dośw. (online)*, 2011, **65**, 314-327.
- [68] Wiącek A.E.: Electrokinetic properties of n-tetradecane/lecithin solution emulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 2007, **293**, 20-27.

[69] Żak I.: Chemia medyczna. Wyd. Śląskiej Akademii Medycznej, Katowice 2001.

CHARACTERISTICS OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF PHOSPHOLIPIDS IN EGG YOLK

S u m m a r y

Eggs are a source of valuable nutrients that are characterized by a high degree of bioavailability. Lipids constitute ca. 60 % of the dry matter content in egg yolk and consist of 62 % of triglycerides, 33 % of phospholipids; the amount of cholesterol therein is less than 5 %. The profile of fatty acids in the phospholipid fraction shows a higher degree of unsaturation compared to the triacylglycerol fraction. In addition, phospholipids, which are components of cell membranes, have a positive effect on the cardiovascular system; they decrease the cholesterol level, reduce the synthesis of triacylglycerols, inhibit the platelet aggregation, and lower the blood pressure. The intake of phosphatidylcholine helps increase the level of choline in the plasma and brain as well as accelerate neuronal synthesis of acetylcholine, which is a neurotransmitter. Also, the designed eggs laid by hens fed fodder mixtures enriched with marine algae oil and linseed oil are a source of polyunsaturated fatty acids including *n*-3 fatty acids (ALA, EPA, DHA) and *n*-6 fatty acids (LA, ARA).

Key words: eggs, polyunsaturated fatty acids, phospholipids, lecithin 

AGNIESZKA KALINIAK, MARIUSZ FLOREK, PIOTR SKAŁECKI

PROFIL KWASÓW TŁUSZCZOWYCH MIĘSA, IKRY I WĄTROBY RYB

Streszczenie

Wartość żywieniowa ryb jest zróżnicowana i wynika z ich składu chemicznego, w tym z zawartości kwasów tłuszczowych. Różnice wynikają przede wszystkim z gatunku ryb, ale są także uwarunkowane innymi czynnikami osobniczymi (wielkość i dojrzałość płciowa, cykl reprodukcyjny) i środowiskowymi (system żywienia, sezon, temperatura wody i jej zasolenie, położenie geograficzne akwenu). Skład lipidów zależy od rodzaju tkanki ryb, z której pochodzą (mięśnie, ikra, narządy). Oleje rybne pozyskane z różnych źródeł dostarczają znaczących, lecz zmiennych ilości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA) o właściwościach prozdrowotnych. Efekt konsumpcji ryb i olejów rybnych, wynikający z obecności zarówno kwasów PUFA, jak i jednonienasyconych (MUFA), dotyczy przede wszystkim obniżenia ryzyka choroby wieńcowej. Dodatkowy, prozdrowotny wpływ związany ze spożyciem kwasów PUFA *n-3* wynika z ich istotnej roli w zapobieganiu chorobom sercowo-naczyniowym, stanów zapalnych, agresji, depresji, nadciśnienia, chorób autoimmunologicznych, cukrzycy, zaburzeń czynności nerek, reumatoidalnego zapalenia stawów, niedorozwoju mózgu i oczu u niemowląt, alergii i nowotworów.

Mięśnie i wątroba to główne narządy magazynujące lipidy w organizmie ryb. Nieprzetworzona ikra i kawior są produktami luksusowymi, ale charakteryzującymi się dużą wartością odżywczą z uwagi na zawartość MUFA i PUFA. Wysoki poziom DHA i EPA oraz korzystna proporcja *n-3/n-6* w rybach to główne czynniki zrównoważonej syntezy eikozanoidów w organizmie człowieka. Wspomniane wyżej produkty wciąż postrzegane są w różnych regionach i krajach jako żywność tradycyjna o znaczeniu lokalnym.

Słowa kluczowe: ryby, kwasy tłuszczowe, mięso, ikra, wątroba

Wprowadzenie

Z uwagi na dużą zawartość tłuszczu bogatego w kwasy *n-3* ryby są produktem szczególnie zalecanym do spożycia [18]. W porównaniu z innymi krajami europejski-

Mgr A. Kaliniak, dr hab. inż. M. Florek, dr inż. P. Skalecki, Katedra Towaroznawstwa i Przetwórstwa Surowców Zwierzęcych, Wydz. Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin. Kontakt: mariusz.florek@up.lublin.pl

mi, w Polsce spożycie ryb i przetworów rybnych jest małe [57, 58]. Przeciętnie wynosi około 15 - 16 g/dzień i jest dwa razy mniejsze od zalecanego [54]. Roczne spożycie ryb (po obróbce) i ich przetworów wynosi około 5,8 kg/osobę. Wśród gatunków słodkowodnych krajowej akwakultury najczęściej spożywa się karpia i pstrągów (po ok. 0,50 kg/osobę) [37].

Całkowita zawartość tłuszczu, w tym profil kwasów tłuszczowych, zależy od gatunku ryb, a różnice występują także między osobnikami tego samego gatunku. Różnice te wynikają z oddziaływania czynników osobniczych, jak i środowiskowych. Do uwarunkowań osobniczych, poza gatunkiem, należą: wielkość i dojrzałość płciowa, cykl reprodukcyjny, faza rozwoju, topograficzne pochodzenie tkanek (część brzuszna lub grzbietowa) i jej rodzaj. Czynniki środowiskowe to: metoda hodowli, system żywienia, sezon, oddziaływania troficzne i środowisko życia [56]. Ze względu na środowisko ryby różnicuje się na gatunki morskie i słodkowodne. Ryby słodkowodne stanowią bogate źródło żywności dla człowieka, przy czym znaczna ich część to gatunki hodowlane [28]. Jak nadmieniono, zawartość tłuszczu różni się m.in. w zależności od rodzaju tkanki czy narządu [43]. Lipidy magazynowe są przede wszystkim w mięśniach i wątrobie [28]. Wątroba pełni istotną rolę w wielu procesach metabolicznych lipidów, m.in. we wchłanianiu, oksydacji i przekształcaniu kwasów tłuszczowych oraz w dostarczaniu długołańcuchowych wysoko wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (HUFA – *highly unsaturated fatty acids*) do innych tkanek [41]. Oprócz mięśni i wątroby źródłem cennych lipidów jest także ikra ryb [5].

W tkance tłuszczowej ryb zawarte są wielonienasycone kwasy tłuszczowe (PUFA) *n-3*, w tym kwas eikozapentaenowy (EPA) i dokozaheksaenowy (DHA) oraz kwasy *n-6* – oddziałujące pozytywnie na ludzkie zdrowie [2].

W pracy porównano profil kwasów tłuszczowych mięsa, ikry i wątroby ryb morskich i słodkowodnych, jak również przeanalizowano zalecenia żywieniowe związane ze spożyciem ryb i długołańcuchowych kwasów wielonienasyconych *n-3* (EPA i DHA) w diecie ludzi.

Tkanka mięśniowa

Zawartość tłuszczu w mięśniach ryb jest zmienna i zależy m.in. od gatunku, wieku, płci, systemu żywienia i warunków środowiska [11, 21, 28, 49, 53, 60]. Ryby morskie zawierają zwykle więcej tłuszczu w porównaniu z rybami słodkowodnymi [32]. Zawartość lipidów w tkance ryb słodkowodnych, gatunków drapieżnych (okoń, szczupak, sandacz), wynosi 0,1 ÷ 0,3 %, a w tkance ryb karpiowatych (karp, amur, tołpyga, karaś) – 5 ÷ 6 %. W zależności od sezonu, udział lipidów w tkance mięśniowej węgorza europejskiego waha się od 5 (wiosna) do blisko 11 % (zima) (tab. 1). W przypadku ryb morskich najczęściej tłuszczu oznaczono w tkance mięśniowej łososia atlantyckiego (12,3 %) i bałtyckiego (13,1 %), a mniej – w tkance dorady (11,2 %) i ostroboka po-

spolitego (11,0 %). Spośród wszystkich przedstawionych gatunków ryb morskich i słodkowodnych najmniej tłuszczu stwierdzono w tkance dorsza (0,08 %) – tab. 1., który, podobnie jak inne ryby chude, gromadzi lipidy w narządach wewnętrznych, np. w wątrobie [22, 34].

Profil kwasów tłuszczowych ryb odzwierciedla skład kwasów tłuszczowych w ich pożywieniu [26]. W mięsie wielu gatunków ryb morskich i słodkowodnych dominują kwasy tłuszczowe wielonienasycone (PUFA) (tab. 1). Ich udział w tłuszczu ryb słodkowodnych waha się od 17,7 % (karp) do 50,6 % (sandacz). Zawartość tej grupy kwasów w tłuszczu węgorza europejskiego zmienia się w zależności od sezonu pozyskania od 12,16 % na wiosnę do 22,08 % w zimie. Duża zawartość PUFA występuje w tłuszczu tołpygi białej (48,9 %) i pstrąga tęczowego (46,3 %). Udział PUFA w tłuszczu tkanki mięśniowej ryb morskich jest większy i wynosi od 23,5 % (gładzica) do 67,4 % (dorsz). W tłuszczu tkanki mięśniowej karpia, drugiego obok pstrąga tęczowego głównego gatunku akwakultury krajowej, dominują kwasy tłuszczowe jednonienasycone (MUFA) (51,1 ÷ 55,3 %) [31]. Największy udział tych kwasów (58,64 %) stwierdzono w tłuszczu tkanki mięśniowej węgorza europejskiego w sezonie zimowym. Ryby słodkowodne zawierają zwykle większe ilości 18-węglowych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych aniżeli gatunki morskie [53]. Różnice te wynikają prawdopodobnie z odmiennego pokarmu, tzn. u ryb morskich przeważa zooplankton (bogaty w wielonienasycone kwasy tłuszczowe), a u ryb słodkowodnych wodorosty i inny materiał roślinny [34].

Tłuszcz ryb morskich zawiera dużo kwasów tłuszczowych z rodziny *n-3* [32, 56], których bezpośrednim źródłem jest fitoplankton i wodorosty. W tłuszczu tkanki mięśniowej gatunków morskich udział tych kwasów wynosi od 19,3 % (gładzica) do 62,6 % (dorsz) – tab. 1. Mniej kwasów *n-3* stwierdzono w tkance ryb słodkowodnych – od 6,4 % (karp) do 37,5 % (pstrąg tęczowy). Według Kołakowskiej i wsp. [31] porcja 100 g fileta pstrąga tęczowego (o zawartości 8 g tłuszczu) dostarcza człowiekowi ok. 2 g kwasów *n-3*. Kwasy EPA i DHA obecne w rybach są efektywniej wbudowywane w plazmę lipidów niż podawane w postaci suplementów [61].

Kwasy z rodziny *n-6* występują w tłuszczu ryb morskich na poziomie nie wyższym niż 9 % (łosoś atlantycki), a w tkance ryb słodkowodnych – od 10 do 20 % (tab. 1). W tłuszczu tkanki mięśniowej tołpygi białej, tołpygi pstrej i amura białego udział kwasów *n-3* waha się od 20 do 30 % [52]. W tłuszczu sielawy, płoci, karasia i miętusa kwasy tej grupy stanowią odpowiednio [%]: 19,3, 16,8, 26,9 i 30,2 [31].

Tabela 1. Udział kwasów tłuszczowych w tłuszczu tkanki mięśniowej gatunków ryb morskich i słodkowodnych
 Table 1. Percent content of fatty acids in fat from muscle tissue of marine and freshwater fish species

Gatunek Species	Pochodzenie Origin	Tłuszcz Fat [%]	SFA [%]	MUFA [%]	PUFA [%]	n-6 [%]	n-3 [%]	n-3/n-6	EPA [%]	DHA [%]	Źródło Reference
Ryby słodkowodne Freshwater fish											
Pstrąg tęczowy (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) Rainbow trout	Polska; H Turcja; H	3,1-5,4 2,2-6,3	22,1 30,5	31,6 29,3	46,3 39,2	8,8 14,1	37,5 25,1	4,3 1,83	8,0 3,52	17,5 22,7	[50, 57] [23, 28]
Karp (<i>Cyprinus carpio</i>) Carp	Polska; H Chiny; H	5,1 5,35	27,0 35,6	51,1 42,0	21,9 17,7	10,3 11,3	11,6 6,4	1,1 0,6	2,3 0,8	2,1 1,8	[57] [32]
Okoń (<i>Perca fluviatilis</i>) Perch	Polska, D	0,1-0,3	25,5-34,6	38,9-39,6	18,1-29,6	7,5-10,4	10,7-19,2	1,5-1,9	3,25-5,26	4,21-8,51	[49]
Leszcz (<i>Abramis brama</i>) Common bream	Polska, D	1,3	38,40	38,76	22,84	10,61	12,23	1,18	5,85	3,24	[21]
Szczupak (<i>Esox lucius</i>) Pike	Polska, D	0,2	36,28	27,46	36,26	11,41	24,85	2,18	5,71	15,73	[21]
Sandań (<i>Sander lucioperca</i>) Zander	Polska, D Turcja, D	0,3 bd	37,26 25,71	28,11 23,65	34,63 50,64	11,17 14,45	23,46 36,19	2,11 2,50	5,47 6,13	13,64 22,48	[21] [9]
Lin (<i>Tinca tinca</i>) Tench	Turcja, D	bd	24,41	38,0	37,59	14,26	23,33	1,64	6,09	7,56	[9]
Karaś srebrzysty (<i>Cyprinus gibelio</i>) Prussian carp	Turcja, D	bd	24,56	31,45	43,99	14,57	29,42	2,02	7,63	11,03	[9]
Węgorz europejski (<i>Anguilla anguilla</i>) European eel	Tunezja, D	5,24-10,75	27,67-36,93	40,85-58,64	12,16-22,08	3,51-10,79	8,65-11,29	1,04-2,53	3,16-4,86	2,87-3,36	[15]
Karaś pospolity (<i>Carassius carassius</i>) Crustian carp	Chiny, H/D	3,6-6,0	23,3-25,1	35,4-39,6	31,5-37,7	19,7-26,1	11,6-11,8	0,4-0,6	1,5-1,8	5,0-6,7	[32]
Amur biały (<i>Ctenopharyngodon idella</i>) Grass carp	Chiny, H	5,0	23,1	37,0	34,7	20,8	13,9	0,7	1,2	3,3	[32]
Tolpyga biała	Chiny, H	5,4	27,3	18,9	48,9	12,7	36,2	2,9	13,8	15,5	[32]

<i>(Hypophthalmichthys molitrix)</i> Silver carp	Czechy, H	10,2-10,4	20,1-21,3	39,1-39,8	16,4-17,1	3,6-3,7	12,8-13,4	3,5-3,7	3,0	3,9-4,2	[8]
Rohu (<i>Labeo rohita</i>)	Indie, H/D	1,6-4,3	43,23-56,72	15,33-18,22	24,99-41,48	12,36-22,50	12,63-18,98	0,84-1,02	2,55-3,15	5,13-9,90	[46]
Ryby morskie Marine fish											
Łosoś atlantycki (<i>Salmo salar</i>) Atlantic salmon	Norwegia, H/D	6,3-12,3	19,7-23,2	45,6-47,9	26,2-30,4	1,7-9,1	21,2-24,4	2,33-14,35	5,5-6,5	8,4-12,5	[26]
Łosoś bałtycki (<i>Salmo salar</i>) Baltic salmon	Polska, D	13,1	24,3	26,1	49,6	5,9	43,7	7,4	3,8	26,6	[57]
Dorsz (<i>Gadus morhua</i>) Cod	Polska, D	0,08	24,1	8,5	67,4	4,8	62,6	13,0	7,6	50,8	[57]
Sledź (<i>Clupea harengus membras</i>) Herring	Polska, D	3,7	28,6	30,7	40,7	6,3	34,4	5,5	6,2	20,4	[57]
Gładzica (<i>Pleuronectes platessa</i>) European plaice	Polska, D	3,5	28,2	46,8	23,5	4,1	19,3	4,6	7,1	7,0	[27]
Ostrobok pospolity (<i>Trachurus trachurus</i>) Horse mackerel	Turcja, D	11,0	38,22	37,74	24,13	bd	bd	8,6	4,08	14,7	[12]
Labraks (<i>Dicentrarchus labrax</i>) European seabass	Turcja, D	4,1	21,19	35,89	43,25	bd	bd	1,2	4,05	13,9	[12]
Dorada (<i>Sparus aurata</i>) Gilt-head bream	Turcja, D	11,2	27,41	43,42	29,22	bd	bd	0,8	1,80	6,83	[12]
Belona (<i>Belone belone</i>) Garfish	Turcja, D	0,2	40,08	15,97	44,02	bd	bd	10,4	1,97	35,9	[12]

Objaśnienia: / Explanatory notes:

D – dziko żyjące /wild fish; H – hodowlane / farmed fish; SFA – suma kwasów tłuszczowych nasyconych / total of saturated fatty acids; MUFA – suma jednonienasyconych kwasów tłuszczowych / total of monounsaturated fatty acids; PUFA – suma wielonienasyconych kwasów tłuszczowych / total of polyunsaturated fatty acids; suma kwasów tłuszczowych *n-6* – / total of *n-6* fatty acids; suma kwasów tłuszczowych *n-3* / total of *n-3* fatty acids; EPA – kwas eikozapentaenowy C20:5 *n-3*/ eicosapentaenoic acid C20:5 *n-3*; DHA – kwas dokozaheksaenowy C22:6 *n-3* / docosahexaenoic acid C22:6 *n-3*; bd – brak danych / no data available.

Właściwa proporcja kwasów $n-3$ do $n-6$ w diecie jest istotna dla homeostazy i prawidłowego rozwoju organizmu człowieka. Nadmiar kwasów $n-6$ oraz niska wartość proporcji $n-3/n-6$ pobudzają patogenezę wielu chorób (stanów zapalnych, autoimmunologicznych, nowotworowych i układu krążenia), podczas gdy duża zawartość kwasów $n-3$ w diecie wstrzymuje ich rozwój [48]. Według Russo [42] proporcja kwasów $n-3/n-6$ bliska 1 jest wystarczająca do zahamowania rozwoju chorób. W przypadku gatunków słodkowodnych najkorzystniejsza proporcja $n-3/n-6$ (4,3) występuje w tłuszczu pstrągów tęczowych, a w krajowych rybach karpowatych (karp, leszcz, lin, karaś) wspomniana proporcja nie przekracza 2 (tab. 1). Również w tłuszczu tołpygi białej, tołpygi pstrej i amura białego proporcja $n-3/n-6$ wynosi od 2 do 3 [52].

Wartość proporcji $n-3/n-6$ w mięsie ryb morskich waha się od 5 (śledź) do 10 (belona), a nawet 13 ÷ 14 (dorsz, łosoś atlantycki) [14, 51, 53]. Wyjątek w tej grupie stanowią tzw. gatunki lagunowe z wód słonawych (labraks, dorada), w tłuszczu których proporcja kwasów $n-3/n-6$ jest zbliżona do ryb słodkowodnych (ok. 1) – tab. 1.

W tłuszczu ryb morskich i słodkowodnych w znaczących ilościach występują kwasy tłuszczowe z grupy $n-3$: eikozapentaenowy (EPA) i dokozaheksaenowy (DHA) [12, 36, 60]. Związki te pełnią istotną funkcję w organizmie człowieka. Kwas DHA jest niezbędny do prawidłowego funkcjonowania mózgu (stanowi ok. 60 % kory mózgowej) oraz do budowy tzw. neurotransmiterów; stanowi budulec do produkcji serotoniny i dopaminy. Kwas EPA warunkuje z kolei prawidłową syntezę eikozanoidów (prostaglandyn, prostacyklin, leukotrienów i tromboksanów) [62]. Udział kwasu DHA w tłuszczu tkanki mięśniowej ryb morskich wynosi od 8,4 % (łosoś atlantycki) do 50,8 % (dorsz), natomiast ryb słodkowodnych – od 1,8 % (karp) do 22,7 % (pstrąg tęczowy). Udział kwasu EPA w tłuszczu ryb morskich i słodkowodnych kształtuje się od 2,0 % (belona) do 7,6 % (dorsz) oraz od 0,8 % (karp) do 13,8 % (tołpyga biała). Kołakowska i wsp. [31] wykazali w mięsie flądry i szprota zawartość EPA powyżej 9 %, natomiast w rybach słodkowodnych – 4 ÷ 6 %. Różna zawartość EPA i DHA w tkance ryb jest determinowana składem pożywienia. Pokarm ryb morskich bogaty jest w kwasy EPA i DHA, których pierwotnym źródłem w łańcuchu troficznym są wiciowce i okrzemki, a kolejnym ogniwiem zooplankton. Pokarm ryb słodkowodnych (rośliny lub bezkręgowce) obfituje natomiast w kwasy linolowy i linolenowy [55]. Stwierdzono ponadto, że wraz z wiekiem ryb dochodzi do zmniejszania zawartości kwasu DHA oraz wartości proporcji $n-3/n-6$ [47].

Ikra

Produkty otrzymane z ikry ryb (głównie jesiotrowatych) uważane są za cenne źródło kwasów tłuszczowych PUFA [45]. Skład chemiczny ikry, w tym zawartość tłuszczu, zależy od czynników osobniczych i środowiskowych [10, 19, 20, 35, 40, 64]. Ulega on zmianie na różnych etapach rozwoju ikry, co związane jest z przemianami

fizjologicznymi zachodzącymi w niej i potrzebami energetycznymi [5, 7, 39]. W trakcie gametogenezy kwasy tłuszczowe z tłuszczu tkanki tłuszczowej lub mięśniowej ryb uwalniają się do ikry. Głównym źródłem energii metabolicznej do biosyntezy lipoprotein są kwasy nasycone i jednonienasycone, stąd w ikrze dominują wielonienasycone kwasy tłuszczowe [64], będące źródłem energii i PUFA (do rozwoju zarodka) [4].

Profil kwasów tłuszczowych tłuszczu z ikry ryb jest zbliżony do profilu tłuszczu zawartego w ich tkance mięśniowej [45], natomiast nie zależy od wieku [7]. W tłuszczu ikry ryb słodkowodnych dominują kwasy nasycone (SFA) ($24,8 \div 52,8$ %) i jednonienasycone ($24,3 \div 49,2$ %), w przeciwieństwie do tłuszczu ikry ryb morskich, w której przeważają kwasy wielonienasycone (> 40 %) – tab. 2. W tłuszczu z ikry dorsza atlantyckiego stwierdzono najmniejszy udział SFA (13 %) i PUFA (36 %), a największy – MUFA (ok. 50 %) [40], chociaż inni badacze podają ok. 50-procentowy udział PUFA w tłuszczu ikry tego gatunku [17] – podobną jak w tłuszczu tkanki mięśniowej ryb żyjących w wodach zimnych [59]. Ponadto tłuszcz mięśniowy różnych gatunków ryb z takich akwenów (np. makrele, łososie, sardynki, śledzie i dorsze) zawiera więcej kwasów tłuszczowych *n-3* [34].

Tłuszcz ikry ryb morskich zawiera od 22,2 % (dorsz atlantycki) do 45,1 % (morszczuk) kwasów *n-3* (tab. 2). Dane odbiegające od powyższych to 46,9 % tych kwasów w tłuszczu z ikry dorsza [17] i 4,1 % – w ikrze cefala pospolitego [45]. Tłuszcz z ikry ryb słodkowodnych zawiera od 9,6 % (kutum) do 25,5 % (jesiotr biały) kwasów *n-3* (tab. 2). Wartość proporcji *n-3/n-6* w tłuszczu z ikry jest na ogół zbliżona do wartości stwierdzanej w tłuszczu tkanki mięśniowej ryb [64]. Jedynie w przypadku morszczuka i kutuma proporcja ta była większa od 20 (tab. 2).

Tłuszcz z ikry ryb słodkowodnych zawiera mniej kwasów EPA ($0,5 \div 5,9$ %) i DHA ($4,4 \div 16,7$ %) w porównaniu z tłuszczem ikry ryb morskich (odpowiednio: $4,7 \div 11,9$ % i $10,3 \div 33,2$ %). Şengör i wsp. [45] w tłuszczu z ikry cefala (z Morza Egejskiego) oznaczyli 0,7 % EPA i 3,4 % DHA, przy udziale PUFA na poziomie 39,3 %. Bekhit i wsp. [7] potwierdzili wysoki udział EPA i DHA w tłuszczu z ikry łososia. Kwasy EPA i DHA (o dużym stopniu czystości) do produkcji suplementów diety mogą być otrzymywane z tłuszczu ikry niektórych gatunków ryb, które do tej pory nie były uważane za typowe i bogate źródło tych kwasów. Należą do nich: dorada (*Sparus aurata*), dorsz (*Gadus morhua*), makrela atlantycka (*Scomber scombrus*) i morszczuk (*Merluccius merluccius*) (tab. 2), a także tasza (*Cyclopterus lumpus*) (odpowiednio: 14,4 i 21,0 %) i molwa (*Molva molva*) (odpowiednio: 9,3 i 14,9 %) [40].

Tabela 2. Udział kwasów tłuszczowych w tłuszczu z ikry wybranych gatunków ryb morskich i słodkowodnych
Table 2. Percent content of fatty acids in fat from roe obtained from marine and freshwater fish species

Gatunek Species	Pochodzenie Origin	Tłuszcz Fat [%]	SFA [%]	MUFA [%]	PUFA [%]	n-6 [%]	n-3 [%]	n-3/n-6	EPA [%]	DHA [%]	Źródło Reference
Ryby słodkowodne / Freshwater fish											
Jesiotr biały (<i>Acipenser transmontanus</i>) White sturgeon	Włochy, H	10,2-11,5	25,72-26,33	39,42-42,21	31,46-34,86	6,92-9,37	24,54-25,53	2,74-3,58	5,61-5,89	16,11-16,72	[10]
Karp (<i>Cyprinus carpio</i>) / Carp	Indie, bd	24,4*	52,00	27,4	20,6	7,1	13,5	1,9	2,0	6,9	[38]
Karp mrigal (<i>Cirrhinus mrigala</i>) Mrigal carp	Indie, bd	21,9*	52,8	24,3	22,9	6,7	15,4	2,3	0,5	8,9	[38]
Kutum (<i>Rutilus rutilus</i>) Caspian kutum	Iran, D	bd	35,55-42,87	39,43-49,15	11,09-14,79	0,61-0,89	9,59-13,85	10,77-22,70	2,66-5,31	4,43-8,96	[20]
Węgorz japoński (<i>Anguilla japonica</i>) Japanese eel	Japonia, D	bd	24,79	42,99	20,63	6,24	14,40	2,31	3,07	6,72	[35]
	Japonia, H	bd	25,06-25,19	45,64-47,29	20,01-20,19	1,56-4,80	15,40-18,52	3,21-11,72	3,59-4,47	9,16-11,00	[35]
Ryby morskie / Marine fish											
Czawycza (<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>) Chinook salmon	Nowa Zelandia, D	10,6	18,33	33,96	42,5	2,95	36,29	12,41	6,86	24,32	[7]
Dorada (<i>Sparus aurata</i>) Gilt-head bream	Hiszpania, D	bd	27,4	24,1	42,5	7,7	31,5	4,09	8,3	19,3	[40]
Dorsz atlantycki (<i>Gadus morhua</i>) Atlantic cod	Hiszpania, D	bd	13,0	49,8	36,1	12,4	22,2	1,79	4,7	10,3	[40]
Makrela atlantycka (<i>Scomber scombrus</i>) Atlantic mackerel	Hiszpania, D	bd	22,4	29,7	41,9	2,6	31,6	12,15	7,5	18,0	[40]
Morszczuk (<i>Merluccius merluccius</i>) European hake	Hiszpania, D	bd	25,2	21,2	48,9	2,2	45,1	20,5	11,2	33,2	[40]
Tunczyk błękitnopłetwy (<i>Thunnus thynnus</i>) Atlantic bluefin tuna	Włochy, H	5,6	33,79	20,30	40,87	3,89	33,02	8,48	11,91	20,35	[19]

Objaśnienia jak pod tab. 1. / Explanatory notes as in Tab. 1. * – zawartość w suchej masie /content in dry matter.

Wątroba

Większość ryb gromadzi kwasy tłuszczowe w lipidach tkanki mięśniowej. Występują również gatunki (szczególnie chude – dorsz, rekin), które kumulują te związki w jamie ciała i narządach wewnętrznych, np. w wątrobie. Zawartość tłuszczu w wątrobie ryb przekracza niejednokrotnie 50 % ś.m. W przypadku ryb morskich około 2/3 tej ilości stanowią kwasy tłuszczowe. Wykazano, że osobniki, których dieta jest uboga w egzogenne kwasy tłuszczowe, magazynują znaczne ilości lipidów w wątrobie [13, 22, 28]. Dominującą grupę kwasów tłuszczowych w tłuszczu z wątroby ryb stanowią kwasy wielonienasycone (tab. 3). Jedynie w lipidach z wątroby dorsza atlantyckiego, sardyneli [22], tunka wschodniego [30] i rohu [46] przeważały kwasy nasycone i jednonienasycone. Stwierdzono bowiem, że te grupy z reguły występują w większej ilości w tłuszczu z organów ryb żyjących w akwenach położonych w ciepłym lub umiarkowanym klimacie. Z kolei tłuszcz z wątroby ryb zasiedlających wody zimne zawiera przede wszystkim długołańcuchowe wielonienasycone kwasy tłuszczowe i stanowi bogate źródło kwasów $n-3$ [6]. Więcej kwasów $n-3$ niż $n-6$ zawiera tłuszcz z wątroby gatunków ryb morskich oraz okonia i pstrąga, wymienionych w tab. 3. Jedynie tłuszcz z wątroby ryb słodkowodnych pochodzących z regionów ciepłych, tzn. z sum afrykańskiego i sum azjatyckiego zawiera więcej kwasów $n-6$.

Proporcja kwasów $n-3/n-6$ w tłuszczu wątroby ryb morskich waha się od 1,7 (labraks) do 9,4 (morszczuk europejski), a wśród gatunków słodkowodnych – od 0,1 (sum afrykański) do 3,4 (okoń) [3]. W zależności od płci pstrąga śródziemnomorskiego proporcja $n-3/n-6$ w tłuszczu wątroby wynosiła 1,97 (samice) i 2,89 (samce) [3].

Tłuszcz z wątroby gatunków ryb morskich i słodkowodnych (tab. 3) zawiera więcej kwasu DHA niż EPA, przy czym w wątrobie tych pierwszych stanowi od 10,7 % (dorsz atlantycki) do 20,7 % (sardela europejska), a nawet 25 % (sargus – *Diplodus sargus*) [11]. W tłuszczu wątroby ryb słodkowodnych udział DHA był bardziej zróżnicowany i wynosił od 1,2 % (sum afrykański) do 24,9 % (pstrąg tęczowy) (tab. 3). Zawartość kwasu EPA w tłuszczu z wątroby ryb morskich wahała się od 1,7 % (tunek wschodni) do 10,0 % (sardela europejska) oraz od 0,3 % (sum afrykański) do 3,9 % (okoń) – w przypadku gatunków słodkowodnych.

Zalecenia dotyczące spożycia ryb i kwasów $n-3$ LC-PUFA

Spożywanie tłustych ryb morskich lub suplementów diety zawierających długołańcuchowe kwasy wielonienasycone (LC-PUFA) $n-3$ wpływa na obniżenie ryzyka chorób serca (poprzez obniżenie w plazmie stężenia triacylogliceroli, agregacji płytek i ciśnienia krwi) [16], jak również innych chorób degeneracyjnych u osób starszych [18]. Takie efekty obserwowano przy spożyciu co najmniej 1 g kwasów LC-PUFA na dobę. W związku z tym w ramach podstawowej profilaktyki wiele instytucji na świecie

opracowało zalecenia dotyczące spożycia ryb i LC-PUFA *n-3*, a w tab. 4. podano spożycie rekomendowane przez EFSA i FAO/WHO.

Rekomendowany zakres pobrania sumy kwasów EPA i DHA powinien zawierać się między 250 a 500 mg na dobę, co odpowiada spożyciu co najmniej dwóch porcji tłustych ryb w tygodniu [63]. Aby zapewnić 500 mg EPA + DPA /dobę, należy spożyć w tygodniu dwie porcje ryb (140 g każda), w tym jedną z tłustych ryb. Dostarczają one ok. 450 mg kwasów *n-3* LC-PUFA na dobę [63]. Aby spełnić ww. zalecenia w tygodniu należy konsumować co najmniej dwie porcje (90 g każda) tłustych ryb, takich jak łosoś lub śledź. Dwie porcje (90 g każda) chudej ryby dziennie dostarczają ok. 284 mg EPA + DHA na dobę [18]. Zatem w przypadku porcji wynoszącej 90 g ryby, najlepiej spożywać je co najmniej trzy razy w tygodniu (ryby tłuste powinny stanowić połowę porcji) [63].

Według Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) [16] spożycie 250 mg EPA + DHA na dobę jest wystarczające do uzyskania efektu zdrowotnego w profilaktyce układu sercowo-naczyniowego. Takie pobranie z diety przez kobiety w ciąży i w okresie laktacji należy uzupełnić o 100 - 200 mg DHA, aby zrekompensować straty związane z oksydacją kwasu DHA w organizmie matki i odkładanie w tkance tłuszczowej płodu lub dziecka. W okresie żywienia uzupełniającego starszych niemowląt spożycie DHA od 50 do 100 mg na dobę determinuje prawidłowe funkcjonowanie wzroku. Dla dzieci w wieku od 7 do 24 miesięcy wystarczające spożycie na dobę wynosi 100 mg DHA. Zalecenia żywieniowe dla dzieci i młodzieży w wieku od 2 do 18 lat powinny być takie, jak dla osób dorosłych, tzn. 1 - 2 porcje tłustych ryb w tygodniu lub ok. 250 mg EPA i DHA na dobę [16].

Wnioski ekspertów FAO/WHO dotyczących roli tłuszczu i kwasów tłuszczowych w żywieniu ludzi są zbieżne z zaleceniami EFSA. Rekomendowane dzienne spożycie dla dorosłych powinno wynosić 250 mg EPA + DHA, natomiast kobiety ciężarne i karmiące wymagają 300 mg na dobę, w tym 200 mg powinno stanowić DHA [18]. Górny poziom spożycia EPA i DHA wg ekspertów FAO/WHO nie powinien przekraczać 2 g na dobę z uwagi na to, że większa suplementacja kwasów *n-3* LC-PUFA może zwiększyć peroksydację lipidów i zredukować produkcję cytokin. Dalsze badania mogą przyczynić się do podwyższenia tego poziomu, jak również włączyć do zaleceń kwas *n-6* dokozapentaenowy (DPA) [18].

Zwraca się również uwagę na istniejący możliwy lub prawdopodobny związek pomiędzy spożyciem ryb i kwasów EPA + DHA a ograniczeniem ryzyka niektórych chorób nowotworowych (tab. 5), jakkolwiek wyniki przeprowadzonych badań i metaanaliz nie są jednoznaczne [18].

Tabela 3. Udział kwasów tłuszczowych w tłuszczu z wątroby wybranych gatunków ryb morskich i słodkowodnych
 Table 3. Percent content of fatty acids in fat from liver of selected marine and freshwater fish species

Gatunek Species	Pochodzenie Origin	Tłuszcz Fat [%]	SFA [%]	MUFA [%]	PUFA [%]	n-6 [%]	n-3 [%]	n-3/n-6	EPA [%]	DHA [%]	Źródło Reference
Gatunki słodkowodne											
Freshwater species											
Okoiń (<i>Perca fluviatilis</i>) Perch	Polska, D/H	bd	30,63-31,37	27,89-38,12	31,25-40,74	6,69-11,85	22,64-28,49	2,40-3,38	3,50-3,95	16,40-21,28	[25]
Sum afrykański (<i>Clarias gariepinus</i>) / African catfish	Malezja, H	6,9-9,8	32,92-34,03	46,04-47,31	bd	16,24-18,55	2,41-2,48	0,13-0,15	0,25-0,27	1,17-1,18	[1]
Azjatycki sum czerwonogoniasty (<i>Hemibagrus nemurus</i>) / Asian redtail catfish	Malezja, H	4,1-12,4	39,01-41,33	39,52-40,72	bd	12,62-14,24	6,02-6,52	0,42-0,52	0,76-0,97	3,72-4,17	[1]
Pstrąg tęczowy (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) Rainbow trout	Turecja, H	11,2-22,3	24,5-27,1	15,2-31,3	43,0-54,2	10,6-14,9	28,1-40,9	1,94-3,86	2,45-3,63	24,9-34,67	[13, 23, 28]
Rohu (<i>Labeo rohita</i>)	Indie, D/H	bd	54,41-64,42	15,77-23,33	12,2-29,8	6,17-16,06	6,03-13,74	0,86-0,98	0,53-1,56	2,96-10,16	[46]
Gatunki morskie											
Marine species											
Labraks <i>Dicentrarchus labrax</i> European seabass	Tunezja, D/H	3,2-3,7	26,75-32,03	26,00-29,18	38,77-47,24	11,17-17,2	27,6-30,04	1,75-2,47	5,52-8,54	18,91-19,72	[33]
Sardynela (<i>Sardinella lemuru</i>) Bali sardinella	Malezja, D	5,8	50,57	26,86	22,67	6,94	15,73	2,27	2,76	12,97	[29]
Tunek wschodni (<i>Euthynnus affinis</i>) Mackerel tuna	Malezja, D	3,7	55,2	20,82	23,98	8,10	15,88	1,96	1,70	14,18	[30]
Morszczuk europejski (<i>Merluccius merluccius</i>) European hake	Hiszpania, D	36,6	23,9	32,2	37,6	3,6	33,7	9,4	9,8	19,1	[22]
Sardéla europejska (<i>Engraulis encrasicolus</i>) European anchovy	Hiszpania, D	10,8	24,1	14,2	47,9	9,3	38,5	4,2	10,0	20,7	[22]
Dorsz atlantycki (<i>Gadus morhua</i>) / Atlantic cod	Hiszpania, D	65,9	17,2	43,3	28,8	3,6	25,1	7,0	8,9	10,7	[22]

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

Tabela 4. Zalecane spożycie kwasów EPA i DHA lub ryb
 Table 4. Recommended level of EPA and DHA, or fish intake

Instytucja rekomendująca Recommending institution	Składnik Component	Dorośli (mężczyźni/kobiety) Adults (men/women)	Kobiety w ciąży i karmiące Pregnant and breastfeeding women	Dzieci Children	Źródło Reference
EFSA	EPA i/lub DHA	AI = 250 mg EPA + DHA /dobę	RI = 250 mg DHA + EPA /dobę / per 24 h dodatkowo 100-200 mg DHA/dobę / additionally per 24 h	do 6 m-cy AI = 50-100 mg DHA/dobę 7-24 m-cy AI = 100 mg DHA/dobę 2-18 lat AI = 250 mg EPA + DHA /dobę	[16]
	Ryby / Fish	1-2 porcje tłustych ryb w tygodniu			
FAO/WHO	EPA i/lub DHA	AMDR = 250 mg EPA + DHA/dobę	L-AMDR = 300 mg EPA + DHA/dobę / per 24 h w tym /including 200 mg DHA	6-24 m-cy AI = 10-12 mg DHA/kg 2-4 lata AI = 100-150 mg EPA + DHA/dobę 4-6 lat AI = 150-200 mg EPA + DHA/dobę 6-10 lat AI = 200-250(300) mg EPA + DHA / dobę	[18]
	Ryby/fish	1-2 porcje tłustych ryb w tygodniu			

Objaśnienia / Explanatory notes:

AI – wystarczające spożycie / sufficient intake; RI – zalecane spożycie / recommended intake; AMDR – dopuszczalny zakres zawartości makroskładników / acceptable content range of macronutrients; L-AMDR – dolny dopuszczalny zakres zawartości makroskładników / lower acceptable content range of macronutrients.

Tabela 5. Spożycie ryb i kwasów EPA + DHA a obniżenie ryzyka występowania nowotworów

Table 5. Intake of fish and EPA + DHA against decreased risk of neoplasms to occur

Wyszczególnienie Specification	Nowotwór / Neoplasm of			Ilość związana z obniżeniem ryzyka nowotworów Quantity linked with reduced risk of neoplasm
	okrężnicy colorectal	prostaty prostate	piersi breast	
Ryby / Fish	P ↓	N	N	2 - 3 porcje w tygodniu 2-3 portions per week
EPA + DHA	P ↓	N	M ↓	500 mg/dobę per 24 h

Objaśnienia / Explanatory:

Siła dowodów / Strength of evidence: P – prawdopodobne / probable; M – możliwe / possible; N – niewystarczające / insufficient; ↓ -obniżenie ryzyka / decreasing risk.

Źródło: / Source: [18]

Potwierdzono dodatnią korelację pomiędzy spożyciem ryb a poziomem *n-3* LC-PUFA we krwi [24]. Konsumpcja ryb nie odzwierciedla jednak spożytej ilości tych kwasów. Ryby zawierają także inne składniki chroniące organizm człowieka przed nowotworami, jak np. witaminę D i selen. Jeżeli więc obserwuje się obniżenie ryzyka niektórych chorób związanego ze spożyciem ryb, należy wykluczyć działanie innych składników odżywczych obecnych w rybach. Z raportu ekspertów FAO/WHO wynika, że ryzyko nowotworu okrężnicy maleje wraz ze wzrostem konsumpcji ryb (efekt prawdopodobny), jak również spożyciem kwasów *n-3* LC-PUFA (efekt możliwy). W krajach azjatyckich i śródziemnomorskich obniżone ryzyko rozwoju raka piersi wiąże się z dużym spożyciem ryb lub kwasów *n-3* LC-PUFA w typowej diecie. W krajach Europy Północnej (Dania, Szwecja) nie potwierdza się takiej zależności, a nawet obserwuje się wzrost zachorowań na ten nowotwór, co może być jednak związane z innymi czynnikami żywieniowymi lub zanieczyszczeniem akwenów morskich [18].

Podsumowanie

Ryby powinny stanowić integralną część zbilansowanej diety człowieka. Korzystny, prozdrowotny efekt konsumpcji ryb i ich olejów wynika z obecności kwasów tłuszczowych wielonienasyconych (głównie *n-3*) i jednonienasyconych (MUFA). Ponadto są one dobrym źródłem białek, składników mineralnych (selen, potas) i witamin (D i B), niezbędnych do zachowania dobrego zdrowia. Znaczące różnice w składzie chemicznym (w tym zawartości kwasów tłuszczowych) różnych gatunków ryb warunkowane są czynnikami osobniczymi i środowiskowymi. Obok mięśni takie organy

ryb, jak ikra i wątroba są dobrym i pewnym źródłem długołańcuchowych kwasów tłuszczowych $n-3$, a w mniejszym stopniu kwasów tłuszczowych $n-6$. Wysoki poziom DHA i EPA oraz korzystna proporcja kwasów $n-3/n-6$, to główne czynniki zrównoważonej syntezy eikozanoidów w organizmie człowieka. Niestety, ikra (kawior) oraz wątroba czy inne organy wciąż stanowią w różnych regionach i krajach przykłady żywności tradycyjnej o lokalnym znaczeniu.

Literatura

- [1] Abdi H., Christianus A., Ramezani-Fard E., Saad C.R., Hosseini S.A.: Proximate and fatty acid composition of the liver of cultured Asian Redtail Catfish (*Hemibagrus nemurus*) and African Catfish (*Clarias gariepinus*). J. Fish. Aquat. Sci., 2011, **6** (7), 840-845.
- [2] Ackman R.G.: Fatty acids in fish and shellfish. In: Fatty Acids in Foods and Their Health Implications. Ed. Chow C.K. CRC Press, London 2008 pp. 155-185.
- [3] Akpinar M.A., Görgüna S., Akpinar A.E.: A comparative analysis of the fatty acid profiles in the liver and muscles of male and female *Salmo trutta macrostigma*. Food Chem., 2009, **112**, 6-8.
- [4] Almansa E., Martín M.V., Cejas J.R., Badia P., Jerez S., Lorenzo A.: Lipid and fatty acid composition of female gilthead seabream during their reproductive cycle: effects of a diet lacking n-3 HUFA. J. Fish Biol., 2001, **59**, 267-286.
- [5] Al-Sayed Mahmoud K., Linder M., Fanni J., Parmentier M.: Characterisation of the lipid fractions obtained by proteolytic and chemical extractions from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) roe. Process Biochem., 2008, **43**, 376-83.
- [6] Bechtel P.J., Oliveira A.C.M.: Chemical characterization of liver lipid and protein from cold-water fish species. J. Food Sci., 2006, **71** (6), S480-S485.
- [7] Bekhit A., Morton J.D., Dawson C.O., Zhao J.H., Lee H.: Impact of maturity on the physicochemical and biochemical properties of chinook salmon roe. Food Chem., 2009, **117**, 318-25.
- [8] Buchtová H., Ježek F.: A new look at the assessment of the silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix* Val.) as a food fish. Czech J. Food Sci., 2011, **29** (5), 487-497.
- [9] Cakmak Y.S., Zengin G., Guler G.O., Aktumsek A., Ozparlak H.: Fatty acid composition and $\omega 3/\omega 6$ ratios of the muscle lipids of six fish species in Sugla Lake, Turkey. Arch. Biol. Sci., 2012, **64** (2), 471-477.
- [10] Caprino F., Moretti V.M., Bellagamba F., Turchini G. M., Busetto M. L., Giani I., Paleari M. A., Pazzaglia M.: Fatty acid composition and volatile compound of caviar from farmed white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). Anal. Chim. Acta, 2008, **617**, 139-147.
- [11] Cejas J.R., Almansa E., Jerez S., Bolanos A., Samper M., Lorenzo A.: Lipid and fatty acid composition of muscle and liver from wild and captive mature female broodstocks of white seabream, *Diplodus sargus*. Comp. Biochem. Physiol., Part B, 2004, **138**, 91-102.
- [12] Chuang L.T., Bülbül U., Wen P. C., Glew R.H., Ayaz F.A.: Fatty acid composition of 12 fish species from the Black Sea. J. Food Sci., 2012, **77** (5), C512-C518.
- [13] Dernekbaşı S.: Digestibility and liver fatty acid composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed by graded levels of canola oil. Turkish J. Fish. Aquat. Sci., 2012, **12**, 105-113.
- [14] Diraman H, Dibeklioglu H.: Chemometric characterization and classification of selected freshwater and marine fishes from Turkey based on their fatty acid profiles. J. Am. Oil Chem. Soc., 2009, **86**, 235-246.
- [15] El Oudiani S., Missaoui H.: Seasonal variation on fatty acids composition in European fel muscles from the North East of Tunisia: Bizerte Lagoon. Adv. Biores., 2013, **4**, 14-21.

- [16] EFSA: Scientific opinion on dietary reference values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. *EFSA J.*, 2010, **8** (3), 1461, 1-107.
- [17] Falch E., Størseth T.R., Aursand M.: Multi-component analysis of marine lipids in fish gonads with emphasis on phospholipids using high resolution NMR spectroscopy. *Chem. Phys. Lipids*, 2006, **144**, 4-16.
- [18] FAO/WHO: Fats and fatty acids in human nutrition. Report of an expert consultation. FAO Food and Nutrition Paper. FAO, Rome 2010 91.
- [19] Garaffo M.A., Vassallo-Agius R., Nengas Y., Lembo E., Rando R., Maisano R., Dugo G., Giuffrida D.: Fatty acids profile, atherogenic (IA) and thrombogenic (IT) health lipid indices, of raw roe of blue fin tuna (*Thunnus thynnus* L.) and their salted product "Bottarga". *Food Nutr. Sci.*, 2011, **2**, 736-743.
- [20] Ghomi M.R., Nikoo M.: Fatty acid composition of *Kutum rutilus* frisii kutum Roe: The effect of fish size. *World Appl. Sci. J.*, 2010, **11** (4), 470-472.
- [21] Grela E.R., Pisarski R.K., Kowalczyk-Vasilev E., Rudnicka A.: Zawartość składników odżywczych, mineralnych i profil kwasów tłuszczowych w mięsie wybranych gatunków ryb w zależności od terminu odłowu. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **4** (71), 63-72.
- [22] Guil-Guerrero J.L., Venegas-Venegas E., Rinco n-Cervera M.Á., Suárez M.D.: Fatty acid profiles of livers from selected marine fish species. *J. Food Comp. Anal.*, 2011, **24**, 217-222.
- [23] Haliloğlu H.I., Bayır A., Sirkecioğlu A.N., Aras N.M., Atamanalp M.: Comparison of fatty acid composition in some tissues of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) living in seawater and freshwater. *Food Chem.*, 2004, **86**, 55-59.
- [24] Hall M.N., Chavarro J.E., Lee I.M., Willett W.C., Ma J.: A 22-year prospective study of fish, *n-3* fatty acid intake, and colorectal cancer risk in men. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2008, **17** (5), 1136-1143.
- [25] Jankowska B., Zakęś Z., Żmijewski T., Szczepkowski M.: Fatty acid profile of muscles, liver and mesenteric fat in wild and reared perch (*Perca fluviatilis* L.). *Food Chem.*, 2010, **118**, 764-768.
- [26] Jensen I.J., Mæhre H.K., Tømmerås S., Eilertsen K.E., Olsen R.L., Elvevoll E.O.: Farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) is a good source of long chain omega-3 fatty acids. *Nutr. Bull.*, 2012, **37**, 25-29.
- [27] Kaliniak A., Florek M., Skątecki P., Staszowska A.: Skład chemiczny i profil kwasów tłuszczowych mięsa dorsza (*Gadus morhua callarias*) i gładzicy (*Pleuronectes platessa*). *Episteme Czasopismo Naukowo-Kulturalne*, 2013, **18** (2), 73-80.
- [28] Kandemir T., Polat N.: Seasonal variation of total lipid and total fatty acid in muscle and liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W., 1792) reared in Derbent Dam Lake. *Turk. J. Fish. Aquat. Sci.*, 2007, **7**, 27-31.
- [29] Khoddami A., Ariffin A.A., Bakar J., Ghazali H.M.: Fatty acid profile of the oil extracted from fish waste (head, intestine and liver) (*Sardinella lemuru*). *World Appl. Sci. J.*, 2009, **7** (1), 127-131.
- [30] Khoddami A., Ariffin A.A., Bakar J., Ghazali H.M.: Quality and fatty acid profile of the oil extracted from fish waste (head, intestine and liver) (*Euthynnus affinis*). *Afr. J. Biotechnol.*, 2012, **11** (7), 1683-1689.
- [31] Kołakowska A., Szczygielski M., Bienkiewicz G., Zienkiewicz L.: Some of fish species as a source of *n-3* polyunsaturated fatty acids. *Acta Ichthyol. Piscat.*, 2000, **30** (2), 59-70.
- [32] Li G., Sinclair A.J., Li D.: Comparison of lipid content and fatty acid composition in the edible meat of wild and cultured freshwater and marine fish and shrimps from China. *J. Agric. Food Chem.*, 2011, **59**, 1871-1881.

- [33] Mnari Bhouri A., Bouhleb I., Chouba L., Hammami M., El Cafsi M., Chaouch A.: Total lipid content, fatty acid and mineral compositions of muscles and liver in wild and farmed sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Afr. J. Food Sci., 2010, **4** (8), 522-530.
- [34] Muhamad N.A., Mohamad J.: Fatty acids composition of selected Malaysian fishes. Sains Malaysiana, 2012, **41** (1), 81-94.
- [35] Ozaki Y., Koga H., Takahashi T., Adachi S., Yamauchi K.: Lipid content and fatty acid composition of muscle, liver, ovary and eggs of captive-reared and wild silver Japanese eel *Anguilla japonica* during artificial maturation. Fish. Sci., 2008, **74**, 362-371.
- [36] Özogul Y., Özogul F.: Fatty acid profiles of commercially important fish species from the Mediterranean, Aegean and Black Seas. Food Chem., 2007, **100**, 1634-1638.
- [37] Pieńkowska B., Hryszko K.: Rynek ryb. Stan i perspektywy. W: Analizy rynkowe. Red. Seremak-Bulge J. Wyd. IERiGŻ-PIB, Warszawa 2013, **20**, 26-30.
- [38] Prabhakara Rao P.G., Balaswamy K., Narsing Rao G., Jyothirmayi T., Karuna M.S.L., Prasad R.B.N.: Lipid classes, fatty acid and phospholipid composition of roe lipids from *Catla catla* and *Cirrhinus mrigala*. Int. Food Res. J., 2013, **20** (1), 275-279.
- [39] Rainuzzo J.R., Reitan, K.I., Olsen Y.: The significance of lipids at early stages of marine fish: a review. Aquaculture, 1997, **155** (1-4), 103-115.
- [40] Rincón-Cervera M.Á., Suárez-Medina M.D., Guil-Guerrero J.L.: Fatty acid composition of selected roes from some marine species. Eur. J. Lipid Sci. Technol., 2009, **111**, 920-925.
- [41] Rodríguez C., Acosta C., Badía P., Cejas J.R., Santamaría F.J., Lorenzo A.: Assessment of lipid and essential fatty acids requirements of black seabream (*Spondyliosoma cantharus*) by comparison of lipid composition in muscle and liver of wild and captive adult fish. Comp. Biochem. Physiol., Part B, 2004, **139**, 619-629.
- [42] Russo G.L.: Dietary *n-6* and *n-3* polyunsaturated fatty acids: From biochemistry to clinical implications in cardiovascular prevention. Biochem. Pharmacol., 2009, **77**, 937-946.
- [43] Saify Z.S., Akhtar S., Khan K.M., Perveen S., Ayattollahi S.A.M., Hassan S., Arif M., Haider S.M., Ahmad F., Siddiqui S., Khan M.Z.: A study on fatty acid composition of fish liver oil from two marine fish, *Eusphyra blochii* and *Carcharhinus bleekeri*. Turk. J. Chem., 2003, **27**, 251-258.
- [44] Se-Kwon K., Mendis E.: Bioactive compounds from marine processing byproducts – A review. Food Res. Int., 2006, **39**, 383-393.
- [45] Şengör G.F., Özden Ö., Erkan N., Tüter M., Aksoy H.A.: Fatty acid compositions of flathead grey mullet (*Mugil cephalus* L., 1758) fillet, raw and beeswaxed caviar oils. Turkish J. Fish. Aquat. Sci., 2003, **3**, 93-96.
- [46] Sharma P., Kumar V., Sinha A.K., Ranjan J., Kithsiri H.M., Venkateshwarlu G.: Comparative fatty acid profiles of wild and farmed tropical freshwater fish rohu (*Labeo rohita*). Fish Physiol. Biochem., 2010, **36**, 411-417.
- [47] Shin J.H., Oliveira A.C.M., Rasco B.A.: Quality attributes and microbial storage stability of caviar from cultivated white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). J. Food Sci., 2010, **75** (1), C43-C48.
- [48] Simopoulos A.P.: The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. Biomed. Pharmacother., 2002, **56**, 365-379.
- [49] Skalecki P., Florek M., Staszowska A.: Effect of fishing season on value in use, intrinsic properties, proximate composition and fatty acid profile of perch (*Perca fluviatilis*) muscle tissue. Arch. Pol. Fish., 2013, **21** (4), 249-257.
- [50] Skalecki P., Staszowska A., Kaliniak A., Florek M.: Wartość użytkowa i jakość mięsa pstrągów tęczowych (*Oncorhynchus mykiss*) z chowu ekstensywnego i intensywnego. Roczn. Nauk. PTZ, 2013, **9** (3), 59-67.
- [51] Stancheva M., Galunska B., Dobрева A.D., Merdzhanova A.: Retinol, alpha-tocopherol and fatty acid content in Bulgarian Black Sea fish species. Grasas y aceites, 2012, **63** (2), 152-157.

- [52] Steffens W., Wirth M.: Freshwater fish – an important source of *n*-3 polyunsaturated fatty acids: A review. *Arch. Pol. Fish.*, 2005, **13**, 5-16.
- [53] Steffens W.: Effects of variation in essential fatty acids in fish feeds on nutritive value of freshwater fish for humans. *Aquaculture*, 1997, **151**, 97-119.
- [54] Sygnowska E., Waśkiewicz A.: Spożycie produktów spożywczych przez dorosłą populację Polski. Wyniki programu WOBASZ. *Kardiologia Polska*, 2005, **63**, 6 (supl. 4), 1-7.
- [55] Tocher D.R.: Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Rev. Fish. Sci.*, 2003, **11** (2), 107-184.
- [56] Ugoala C., Ndukwe G.I., Audu T.O.: Comparison of fatty acids profile of some freshwater and marine fishes. *Int. J. Food Safety*, 2008, **10**, 9-17.
- [57] Usydus 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.
- [58] Usydus Z., Szlinder-Richert J., Polak-Juszczak L., Komar K., Adamczyk M., Malesa-Cieciewicz M., Ruczynska W.: Fish products available in Polish market – Assessment of the nutritive value and human exposure to dioxins and other contaminants. *Chemosphere*, 2009, **74**, 1420-1428.
- [59] Uysal K., Taykurt N., Bulut S., Emiroglu O.: Comparison of fatty acid amounts and ratios of ω 3 and ω 6 fatty acids in muscle of some freshwater fish under natural extreme cold conditions. *Chem. Nat. Comp.*, 2011, **47**, 431-433.
- [60] Visentainer J.V., Noffs M.D., Carvalho P.O., Almeida V.V., Oliveira C.C., Souza N.E.: Lipid content and fatty acid composition of 15 marine fish species from the southeast coast of Brazil. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 2007, **84**, 543-547.
- [61] Visioli F., Risé P., Barassi M.C., Marangoni F., Galli C.: Dietary intake of fish vs. formulations leads to higher plasma concentrations of *n*-3 fatty acids. *Lipids*, 2003, **38**, 415-418.
- [62] Weisło T., Rogowski W.: Rola wielonienasyconych kwasów tłuszczowych omega-3 w organizmie człowieka. *Cardiovascular Forum*, 2006, **11**, 39-43.
- [63] Weichselbaum E., Coe S., Buttriss J., Stanner S.: Fish in the diet: A review. *Nutr. Bull.*, 2013, **38**, 128-177.
- [64] Wirth M., Kirschbaum F., Gessner J., Williot P., Patriche N., Billard R.: Fatty acid composition in sturgeon caviar from different species: Comparing wild and farmed origins. *Int. Rev. Hydrobiol.*, 2002, **87** (5-6), 629-636.

PROFILE OF FATTY ACIDS IN MEAT, ROE, AND LIVER OF FISH

S u m m a r y

The nutritional value of fish varies and it is associated with their chemical composition including the content of fatty acids. Differences are attributed, first of all, to the species of fish, but they depend on other individual features (size and sexual maturity, reproduction cycle) and environmental factors (fish nutrition system, season, water temperature and its salinity, geographical location of water body). The composition of lipids depends on the type of fish tissue the lipids origin from (muscles, roe, and organs). Fish oils obtained from different sources provide significant quantities of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) with pro-health properties, although those quantities vary. First thing, the consumption of fish and fish oils helps reduce the risk of coronary heart disease and this effect is linked with the content of monounsaturated (MUFA) and polyunsaturated fatty acids in them. Another pro-health aspect of consuming *n*-3 PUFA acids results from their vital role in preventing and treating cardiovascular diseases, inflammations, aggression, depression, hypertension, autoimmune disorders, diabetes, renal impairments, rheumatoid arthritis, underdevelopment of brain and eyes in infants, allergy, and neoplasms.

Muscles and liver are those main organs where the lipids are stored in the body of fish. Raw roe and caviar are luxury products; however, they are characterized by a high nutritional value as they contain MUFA and PUFA. A high level of DHA and EPA along with an advantageous n-3/n-6 ratio in fish are major factors in the balanced eicosanoids synthesis in human body. In different regions and countries, the above named products are still perceived as a traditional food of local importance.

Key words: fish, fatty acids, meat, roe, liver ✕

PIOTR KARPIŃSKI, MARTA ŁĄTKOWSKA, BARTOSZ KRUSZEWSKI,
PAULA KUŻMA, MIECZYŚLAW W. OBIEDZIŃSKI

PROFIL ZWIĄZKÓW LOTNYCH EUROPEJSKICH SZYNEK SUROWO DOJRZEWAJĄCYCH JAKO WSKAŹNIK ICH JAKOŚCI I AUTENTYCZNOŚCI

Streszczenie

W pracy przedstawiono analizę profili związków lotnych szynek surowo dojrzewających przy zastosowaniu techniki SPME (mikroekstrakcja do fazy stałej) w połączeniu z GC-MS (chromatografia gazowa sprzężona ze spektrometrią mas) oraz technikami chemometrycznymi PCA (analiza składowych głównych) i CA (analiza skupień). Przebadano szynki pochodzące: z Hiszpanii – Serrano, z Włoch – Parma, Crudo, Mantovelle, z Polski – kumpiak podlaski i z Niemiec – Schinkenspeck.

W przebadanych szynkach zidentyfikowano 61 związków lotnych, które zakwalifikowano do następujących grup: aldehydy (14), ketony (3), alkohole (7), estry (9), alkany (6), węglowodory aromatyczne (2), kwasy (4), związki heterocykliczne (1), terpeny (11), fenole (1), inne (3). Dominującymi grupami były aldehydy i alkohole. Stwierdzono obecność alifatycznych aldehydów nasyconych (2-metylobutanalu i 3-metylobutanalu), które stanowią dobry wskaźnik procesu oksydacji, zachodzącego w szynkach surowo dojrzewających oraz produktów utleniania kwasów tłuszczowych (heksanal, oktanal).

Obróbka chemometryczna umożliwiła zróżnicowanie badanego materiału oraz rozróżnienie szynek między innymi ze względu na technologię produkcji. Po zastosowaniu analizy składowych głównych oraz analizy skupień wyodrębniono 4 grupy szynek: włoskie i hiszpańskie, szynkę polską i szynkę niemiecką. Połączenie analizy instrumentalnej z metodami chemometrycznymi może być użyteczne do określania pochodzenia produktu i jego autentyczności.

Słowa kluczowe: szynki surowo dojrzewające, SPME-GC-MS, związki lotne, chemometria

Wprowadzenie

Aromat to ważny parametr warunkujący jakość produktów mięsnych oraz ich akceptację przez konsumentów [5, 15]. Na kształtowanie się aromatu wpływa wiele

*Lek. wet. P. Karpiński, mgr inż. M. Łątkowska, mgr inż. B. Kruszewski, mgr inż. P. Kuźma, prof. dr hab. M. Obiedziński, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa.
Kontakt: piotr_karpiński@sggw.pl*

czynników, m.in. surowiec, technika procesu, czas i parametry dojrzewania [15]. Okres dojrzewania, w tym czas niezbędny do rozwoju oczekiwanego aromatu, jest różny w przypadku różnych typów szynek [18]. Podczas dojrzewania temperatura i wilgotność są kontrolowane, aby zredukować ryzyko zepsucia bakteryjnego wyrobów mięsnych [14].

Świeże, surowe mięso charakteryzuje się mało intensywnym aromatem, który wzrasta po zastosowaniu obróbki termicznej, fermentacji i/lub dojrzewania. Szynki surowo dojrzewające mogą być produkowane z zastosowaniem długiego czasu dojrzewania i suszenia (powyżej 7 miesięcy) lub jako tzw. szynki mokre solankowane bądź marynowane, których proces produkcji trwa poniżej 3 miesięcy [4, 5]. Podczas procesu dojrzewania w mięsie dochodzi do wielu chemicznych i enzymatycznych przemian, które wpływają na rozwój charakterystycznego aromatu gotowych wyrobów. Są to głównie autooksydacja lipidów, proteoliza i lipoliza, a więc białka i lipidy są prekursorami znacznej części związków lotnych w szynkach surowo dojrzewających [11, 13, 15, 16]. Proteoliza powoduje wzrost ilości wolnych aminokwasów [13], a lipoliza – wzrost zawartości wolnych kwasów tłuszczowych i produktów utleniania [15]. Związki lotne pochodzące z przemian aminokwasów odgrywają znaczącą rolę w kształtowaniu zapachu szynek dojrzewających [21]. Składniki te tworzą się z aminokwasów w reakcjach Streckera i Maillarda, a w ich wyniku powstają składniki heterocykliczne zawierające azot, siarkę i tlen oraz alifatyczne, zawierające metylowe rozgałęzienia w alkoholach i aldehydach [8].

Oznaczanie profili zapachowych w szynkach surowo dojrzewających przebiega zazwyczaj dwuetapowo. Pierwszy etap stanowi ekstrakcja związków lotnych. Metoda SPME jest uniwersalną techniką stosowaną w tym zakresie. Analiza za pomocą chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas to drugi etap oznaczania składników lotnych [14].

Celem pracy było porównanie profili związków lotnych europejskich szynek surowo dojrzewających oraz wyznaczenie związków będących swoistymi markerami autentyczności i jakości szynek surowo dojrzewających.

Material i metody badań

Szynki surowo dojrzewające zakupiono w sklepach na terenie Polski w postaci całych produktów z oryginalnymi pieczęciami, specyficznymi dla danego kraju lub zapakowane próżniowo po 100 g. Były to szynki długo dojrzewające. Szynki Serrano z dodatkiem azotanów (SSN) pochodziły z Hiszpanii, Parma (PON), Prosciutto Mantovelle (PMN), Crudo (CSN) i Parma z dodatkiem azotanów (SPN) – z Włoch oraz wędzona, z dodatkiem azotanów Schinkenspeck (SN) – z Niemiec. Polską, tradycyjną szynkę długo dojrzewającą – kumpiak podlaski (KN) pozyskano bezpośrednio od producenta z okolic Sokółki (woj. podlaskie). Pobrane próbki szynek pakowano próżnio-

wo, a następnie zamrażano i przechowywano w temp. $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ do czasu analiz. Przed przystąpieniem do kolejnych analiz materiał badawczy rozmrażano. Wszystkie produkty przebadano w trzech powtórzeniach.

Pobierano 5 ± 1 g próbek do rozdrobnienia w młynku laboratoryjnym IKA A11 basic (Niemcy). Po rozdrobnieniu odważano po $1 \pm 0,01$ g szynki do fiolek o pojemności 10 cm^3 i zamykano aluminiowymi kapslami z przegrodą z PTFE.

Do ekstrakcji związków lotnych z szynek surowo dojrzewających zastosowano trójfazowe włókno SPME DVB/CAR/PDMS (Divinylbenzene /Carboxen/ Polydimethylsiloxan). Kondycjonowanie włókna prowadzono przez 45 min w temp. $220\text{ }^{\circ}\text{C}$ w porcie iniektora. Włókno wprowadzano przez przegrodę do fiołki z próbką, która przez 20 min wcześniej była utrzymywana w temp. $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ w celu ustalenia równowagi faz nad próbką. Adsorpcję związków lotnych na włóknie prowadzono przez 20 min w temp. $40\text{ }^{\circ}\text{C}$. Desorpcja związków lotnych z włókna odbywała się w porcie iniektora w temp. $230\text{ }^{\circ}\text{C}$ przez 2 min [17].

Analizy chromatograficzne prowadzono przy użyciu chromatografu gazowego sprzężonego ze spektrometrem mas GC-MS 2010QP (Schimadzu). Zastosowano kolumnę niepolarną typu ZB-5ms (5 % – fenyl, 95 % – dimetylopolisiloksan arylenowy) o wymiarach $30\text{ m} \times 0,25\text{ mm} \times 0,25\text{ }\mu\text{m}$. Dzielnik strumienia wynosił 4. Program temperatury pieca chromatograficznego był następujący: izoterma $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ przez 10 min, następnie wzrost temperatury – $4\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ do $220\text{ }^{\circ}\text{C}$ i izoterma przez 5 min. Prędkość przepływu gazu nośnego (helu) wynosiła $1,1\text{ cm}^3/\text{min}$. Widma masowe uzyskiwano przy napięciu 70 eV. Zbieranie danych odbywało się w trybie przemiatania w zakresie $m/z\ 40 \div 300$ [17].

W celu wyliczenia indeksów retencji związków lotnych zastosowano mieszaninę n-alkanów C7 ÷ C30 (Sigma-Aldrich). Identyfikację związków lotnych prowadzono na podstawie bibliotek widm masowych NIST 2008, WILEY oraz indeksów retencji Kovatsa dostępnych w internetowym zbiorze The Pherobase [9].

Analizę statystyczną wykonano przy użyciu programu Statistica 10.0. Zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA przy poziomie istotności $p \leq 0,05$. Do oceny różnic pomiędzy wartościami średnimi zastosowano test Tukeya HSD. W celu zilustrowania różnic w profilach zapachowych badanych szynek, a także ze względu na ilość zidentyfikowanych związków, otrzymane dane poddano analizie statystycznej metodą składowych głównych (PCA – *Principal Components Analysis*). Opis wyników uzupełniono o analizę skupień (CA – *Cluster Analysis*).

Wyniki i dyskusja

W badanych szynkach surowo dojrzewających zidentyfikowano 61 związków lotnych. Większość zidentyfikowanych składników była wykryta również przez innych badaczy [11, 17, 20]. Zidentyfikowane związki lotne zakwalifikowano do kilku grup

chemicznych: aldehydów (14), ketonów (3), alkoholi (7), estrów (9), alkanów (6), węglowodorów aromatycznych (2), kwasów (4), związków heterocyklicznych (1), terpenów (11), fenoli (1), innych (3) – tab. 1.

Dominującą grupę związków stanowiły aldehydy (23,3 ÷ 54,7 %), które przeważały głównie w szynce niemieckiej i w szynce włoskiej (Parma). Podobne wyniki uzyskano w badaniach szynki chińskiej [7] oraz hiszpańskiej [18, 20]. Najmniej aldehydów oznaczono w polskim kumpiaku podlaskim. Aldehydy mogą powstawać w reakcji degradacji aminokwasów Streckera pod warunkiem, że wilgotność, temperatura i pH są właściwe podczas procesu dojrzewania [6, 16]. Duża zawartość n-aldehydów może być związana z poszczególnymi fazami dojrzewania szynki [6]. Pod względem biochemicznym pochodzenie liniowych, nasyconych aldehydów (heksanal, heptanal, oktanal) wynika z autooksydacji nienasyconych kwasów tłuszczowych (oleinowego, linolowego, linolenowego i arachidonowego), podczas gdy rozgałęzione, nasycone aldehydy mogą powstawać podczas proteolizy aminokwasów [15, 16]. Alifatyczne aldehydy nasycone są dobrymi wskaźnikami oksydacji zachodzącej w szynkach surowo dojrzewających. 2-metylobutanal i 3-metylobutanal są związane z orzechowym, serowym i słonym smakiem występującym w szynce parmeńskiej. Związki te znacząco przyczyniają się do wytworzenia walorów smakowych zarówno tej szynki, jak i szynki hiszpańskich [2]. Odpowiedzialne są również za nadanie charakterystycznego zapachu (słodki, kwiatowy, ostry) i wykazują niski próg percepcji [16].

Heksanal był głównym aldehydem alifatycznym oznaczonym w szynkach. Stanowił 22,2 % w szynce SN oraz 32,8% – w PON. Uważany jest za dobry wskaźnik stopnia oksydacji [18] i kojarzony z posmakiem pochodzącym z peroksydacji kwasów z grupy *n-6*. Oksydacja lipidów i kolejne przemiany mogą być w tym przypadku zahamowane przez nitrozozwiązki. Jest prawdopodobne, że zakaz stosowania konserwantów, oprócz chlorku sodu, prowadzi do wzrostu wytwarzania heksanal [6]. W świeżym produkcie występują 3-metylobutanal i heptanal, a ich zawartość zwiększa się w produkcie końcowym. Związki: 2-metylopropanal i 3-metylobutanal powstają z przemian aminokwasów (waliny i leucyny) w reakcjach degradacji Streckera lub w wyniku metabolizmu mikroorganizmów w mięsie [1, 15].

Drugą dominującą grupę stanowiły alkohole (4,9 ÷ 30,8 %). Gaspardo i wsp. [6] stwierdzili, że alkohole stanowią najliczniejszą grupę związków lotnych w szynce włoskiej San Daniele. Autorzy Ci sugerują, że duża zawartość alkoholi może wynikać z długości okresu dojrzewania. Alkohole, jako ważne składniki lotne mięsa, są związane z charakterystycznym zapachem tłuszczowym i uważane za produkt autooksydacji kwasu linolenowego lub innych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych [6, 16]. Wśród alkoholi dominujących w badanych szynkach były: 1-pentanol, 1-heksanol, 1-octen-3-ol, 2-metylobutanol, które również były oznaczane przez innych badaczy [1, 6, 22]; 1-octen-3-ol jest związany z zapachem grzybowym [16].

Tabela 1. Zawartość związków lotnych w europejskich szynkach surowo dojrzewających
Table 1. Content of volatile compounds in European dry-cured hams

Lp.	Nazwa grupy / nazwa związku Name of group / name of compound	RI	PON	PMN	CSN	SSN	SPN	KN	SN
	Aldehydy / Aldehydes	-	54,68	43,22	35,55	37,80	39,49	23,33	45,54
1	2-metylopropanal / 2-methylpropanal	662	nw	2,15 ^a ± 0,12	nw	nw	nw	nw	nw
2	3-metylopropanal / 3-methylpropanal	647	1,97 ^b ± 0,12	2,02 ^b ± 0,14	0,91 ^c ± 0,08	3,14 ^a ± 0,30	2,29 ^b ± 0,11	1,18 ^c ± 0,07	nw
3	2-metylobutanal / 2-methylbutanal	652	nw	1,15 ^b ± 0,35	0,48 ^c ± 0,02	1,80 ^a ± 0,10	1,35 ^b ± 0,09	nw	nw
4	heksanal / hexanal	799	32,81 ^a ± 1,25	14,64 ^d ± 1,27	17,55 ^c ± 1,03	3,74 ^c ± 0,19	3,60 ^c ± 0,42	15,08 ^d ± 0,18	22,22 ^b ± 0,27
5	heptanal / heptaldehyde	901	2,34 ^b ± 0,16	2,15 ^b ± 0,55	4,18 ^a ± 0,11	2,14 ^b ± 0,16	2,20 ^b ± 0,92	1,61 ^b ± 0,09	2,22 ^b ± 0,12
6	2-heptenal / 2-heptaldehyde	958	nw	nw	0,44 ^a ± 0,15	nw	nw	0,51 ^a ± 0,14	0,47 ^a ± 0,06
7	aldehyd benzoesowy / benzaldehyde	969	0,41 ^b ± 0,18	nw	0,33 ^b ± 0,11	nw	nw	nw	1,51 ^a ± 0,15
8	oktanal / octanal	1003	9,86 ^b ± 0,96	6,09 ^{c,d} ± 1,28	4,35 ^d ± 0,64	13,59 ^a ± 0,90	12,66 ^a ± 0,19	1,20 ^b ± 0,44	8,09 ^{b,c} ± 0,17
9	fenyloctanal / phenylacetaldehyde	1041	0,59 ^b ± 0,13	nw	nw	0,70 ^b ± 0,27	0,74 ^b ± 0,21	nw	2,94 ^a ± 0,85
10	nonanal / nonanal	1104	4,56 ^d ± 0,20	9,35 ^{a,b} ± 2,58	5,42 ^{b,c,d} ± 0,49	9,10 ^{a,b,c} ± 1,74	10,96 ^a ± 2,07	3,75 ^d ± 0,16	5,11 ^{c,d} ± 0,29
11	n-decena / n-decena	1205	0,44 ^b ± 0,29	0,87 ^b ± 0,02	0,30 ^c ± 0,15	0,88 ^b ± 0,01	2,40 ^a ± 0,39	nw	0,32 ^c ± 0,02
12	decana / decana	1210	nw	nw	0,26 ^a ± 0,02	nw	nw	nw	nw
13	2-decena / 2-decena	1261	1,20 ^b ± 0,60	3,22 ^a ± 0,30	0,63 ^b ± 0,06	0,98 ^b ± 0,11	1,34 ^b ± 0,18	nw	2,66 ^a ± 0,10
14	oktadecanal / octadecanal	1816	0,51 ^b ± 0,24	1,58 ^a ± 0,23	0,71 ^b ± 0,47	1,72 ^a ± 0,14	1,94 ^a ± 0,05	nw	nw
	Ketony / Ketones	-	6,16	3,64	3,06	2,38	1,23	10,59	3,16
15	acetoina / acetone	711	nw	3,64 ^b ± 0,09	0,84 ^d ± 0,05	2,38 ^c ± 0,45	1,23 ^d ± 0,10	5,53 ^a ± 0,21	nw
16	oktano-2,3-diol / octane-2,3-diol	985	6,16 ^a ± 1,04	nw	nw	nw	nw	4,32 ^b ± 0,15	3,16 ^c ± 0,14
17	2-nonanon / 2-nonanon	1090	nw	nw	2,22 ^a ± 0,10	nw	nw	0,74 ^b ± 0,09	nw

Alkohole / Alcohols	-	6,23	30,78	20,47	8,63	4,89	12,25	11,44
18 2-methylbutan-1-ol / 2-methylbutan-1-ol	744	nw	14,14 ^a ± 1,45	2,59 ^b ± 1,02	0,76 ^b ± 0,11	nw	2,41 ^b ± 0,10	nw
19 1-pentanol / 1-pentanol	773	1,11 ^c ± 0,11	1,98 ^{a,b} ± 0,08	1,83 ^{a,b} ± 0,07	2,09 ^a ± 0,18	nw	1,77 ^b ± 0,10	0,81 ^d ± 0,10
20 1-heksanol / 1-hexanol	866	0,94 ^c ± 0,02	6,63 ^a ± 0,77	7,11 ^a ± 0,45	0,96 ^c ± 0,06	0,93 ^c ± 0,16	3,65 ^b ± 0,16	0,46 ^c ± 0,05
21 1-okten-3-ol / 1-okten-3-ol	979	3,32 ^b ± 0,20	5,55 ^a ± 0,12	6,70 ^a ± 1,45	3,49 ^b ± 0,35	2,23 ^b ± 0,10	3,29 ^b ± 0,04	2,15 ^b ± 0,16
22 2-okten-1-ol / 2-okten-1-ol	1065	nw	0,84 ^a ± 0,16	0,88 ^a ± 0,45	nw	nw	nw	nw
23 1-oktanol / 1-oktanol	1071	0,41 ^c ± 0,07	1,65 ^a ± 0,15	0,90 ^{c,d} ± 0,04	1,34 ^{a,b} ± 0,11	1,73 ^a ± 0,24	1,13 ^{b,c} ± 0,03	0,54 ^{d,e} ± 0,22
24 fenyletanol / phenyletanol	1108	0,45 ^b ± 0,12	nw	0,46 ^b ± 0,03	nw	nw	nw	7,48 ^a ± 0,49
Estry / Esters	-	22,39	5,32	16,99	13,75	11,74	8,46	4,84
25 butanian metylu / methylbutanoate	722	nw	nw	0,62 ^c ± 0,16	1,19 ^b ± 0,02	1,20 ^b ± 0,12	3,09 ^a ± 0,09	nw
26 2-metylopropanian metylu / methylpropanoate	780	1,34 ^c ± 0,09	nw	1,43 ^c ± 0,11	2,59 ^a ± 0,13	2,17 ^b ± 0,06	1,02 ^d ± 0,08	nw
27 pentanian metylu / methylpentanoate	821	1,06 ^a ± 0,05	nw	0,35 ^c ± 0,12	0,62 ^b ± 0,18	nw	nw	nw
28 butanian izopropylu / isopropylbutanoate	845	nw	nw	nw	nw	nw	2,37 ^a ± 0,07	1,33 ^b ± 0,10
29 heksanian metylu / methylhexanoate	923	17,79 ^a ± 2,45	4,35 ^{d,e} ± 0,01	11,11 ^b ± 1,02	8,15 ^{b,c} ± 0,97	7,19 ^{c,d} ± 1,67	1,98 ^e ± 0,08	3,51 ^e ± 0,17
30 heksanian etylu / ethylhexanoate	999	1,33 ^a ± 0,14	nw	nw	nw	nw	nw	nw
31 heptanian metylu / methylheptanoate	1023	0,51 ^a ± 0,04	nw	0,54 ^a ± 0,35	nw	nw	nw	nw
32 oktanian metylu / methyloctanoate	1123	0,37 ^c ± 0,02	nw	2,94 ^a ± 0,22	1,20 ^b ± 0,11	1,18 ^b ± 0,17	nw	nw
33 palmitynian metylu / methylpalmitate	1928	nw	0,97 ^a ± 0,03	nw	nw	nw	nw	nw
Alkany / Alkanes	-	6,44	4,04	4,54	19,04	18,83	6,57	5,35
34 heptan / heptane	700	nw	2,45 ^b ± 0,16	1,54 ^c ± 0,15	0,53 ^d ± 0,15	0,58 ^d ± 0,07	3,01 ^a ± 0,11	nw
35 2,2-dimetilodekan / 2,2-dimetildecane	988	5,05 ^c ± 0,13	1,60 ^e ± 0,06	3,00 ^{d,e} ± 0,11	14,58 ^b ± 0,69	18,25 ^a ± 1,46	nw	4,33 ^{c,d} ± 0,11

36	dekan / decane	1000	0,77 ^a ± 0,19	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw
37	oktan tetrametylu / tetramethyloctane	1025	0,62 ^b ± 0,07	nw	nw	2,31 ^b ± 0,10	nw	nw	nw	nw	nw	nw
38	3,6-dimetyloundekane 3,6-dimethylundecane	1035	nw	nw	nw	1,62 ^a ± 0,33	nw	nw	nw	nw	nw	nw
39	heneikoza / heneicosane	2100	nw	nw	nw	nw	nw	3,56 ^a ± 0,30	nw	nw	1,02 ^b ± 0,02	nw
	Kwasy / Acids	-	2,93	8,98	4,25	3,35	7,46	nw	nw	7,36	nw	nw
40	kwas 2-metylopropanowy methylpropaneacid	833	nw	1,90 ^b ± 0,02	1,11 ^c ± 0,13	1,00 ^c ± 0,11	nw	nw	nw	nw	3,11 ^a ± 0,22	nw
41	kwas heptanowy / heptanoic acid	1073	0,31 ^a ± 0,06	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw
42	kwas oktanowy / octanoic acid	1170	1,48 ^{b,c,d} ± 0,18	3,46 ^{a,b} ± 0,75	0,86 ^{c,d} ± 0,10	1,12 ^{c,d} ± 0,12	4,17 ^a ± 1,76	nw	nw	nw	2,16 ^{a,b,c} ± 0,24	nw
43	kwas nonanowy / nonanoic acid	1265	1,15 ^c ± 0,05	3,61 ^a ± 0,42	2,29 ^{b,c} ± 0,18	1,23 ^c ± 0,19	3,28 ^{a,b} ± 1,00	nw	nw	nw	2,10 ^c ± 0,09	nw
	Węglowodory aromatyczne Aromatic hydrocarbons	-	nw	0,97	2,94	14,36	13,47	8,35	1,02	nw	nw	nw
44	styren / styrene	888	nw	0,97 ^d ± 0,14	2,28 ^c ± 0,16	14,36 ^a ± 0,85	13,47 ^a ± 0,50	7,56 ^b ± 0,09	nw	nw	nw	nw
45	p-cymen / p-cymene	1020	nw	nw	0,65 ^b ± 0,08	nw	nw	0,79 ^b ± 0,10	1,02 ^a ± 0,07	nw	nw	nw
	Terpeny / Terpenes	-	1,18	nw	2,45	0,69	2,05	24,52	19,99	nw	nw	nw
46	alfa-pinen / alpha-pinene	935	nw	nw	nw	nw	nw	2,69 ^b ± 0,11	1,84 ^a ± 0,10	nw	nw	nw
47	beta-pinen / beta-pinene	978	nw	nw	nw	nw	0,31 ^c ± 0,10	1,45 ^b ± 0,03	3,37 ^a ± 0,64	nw	nw	nw
48	felandren / phellandrene	1006	0,46 ^b ± 0,22	nw	nw	nw	nw	0,40 ^b ± 0,12	6,97 ^a ± 0,07	nw	nw	nw
49	limonen / limonene	1027	0,72 ^{c,d} ± 0,16	nw	0,52 ^d ± 0,29	nw	1,75 ^c ± 0,25	4,66 ^b ± 0,11	6,49 ^a ± 0,91	nw	nw	nw
50	linalol / linalool	1098	nw	nw	1,93 ^a ± 0,24	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw
51	alfa-terpineol / alpha-terpineol	1199	nw	nw	nw	nw	nw	nw	0,48 ^a ± 0,08	nw	nw	nw
52	gamma-kariofilen gamma-cariophyllene	1404	nw	nw	nw	0,69 ^a ± 0,03	nw	nw	0,24 ^b ± 0,01	nw	nw	nw
53	beta-kariofilen beta-cariophyllene	1418	nw	nw	nw	nw	nw	nw	0,61 ^a ± 0,02	nw	nw	nw

54	beta-elemen / beta-elemen	1393	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw
55	bergamoten / bergamotene	1430	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw
56	farnezen / farnesene	1458	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw
	Inne / Other	-	nw	nw	nw	nw	0,54	nw	nw	nw	nw	nw	nw	1,21
57	gwajakol / guaiacol	1085	nw	nw	nw	nw	0,54 ^b ± 0,10	nw	nw	nw	nw	nw	nw	0,96 ^a ± 0,05
58	2-acetylofuran / 2-acetylifuran	910	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	0,25 ^a ± 0,06
	Nieznane / Unknown	-	nw	nw	nw	nw	4,92	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw
59	nieznany / unknown	980	nw	nw	nw	nw	3,09 ^a ± 0,12	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw
60	nieznany / unknown	982	nw	nw	nw	nw	4,92 ^a ± 0,05	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw
61	nieznany / unknown	1015	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw	nw

Objaśnienia: / Explanatory notes:

RI – indeks retencji / retention index; nw- nie wykryto / not detected; PON – Parma; PMN – Prosciutto Mantovelle; CSN – Crudo; SSN – Serrano + azotany / nitrates; SPN – Parma + azotany / nitrates; KN – kumpiak podlaski; SN – Schinkenspeck. W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviation; n = 3

a - d – wartości średnie oznaczone w wierszach różnymi literami różnią się statystycznie istotnie (p < 0,05) / mean values in lines and denoted by different letters differ statistically significantly (p < 0.05).

W tworzeniu cech sensorycznych szynek surowo dojrzewających udział mają również estry. W badanych próbkach ich poziom wynosił $4,8 \div 22,4$ % związków lotnych, a największy był w szynce Parma. Podobne zawartości estrów w szynce parmeńskiej uzyskali inni badacze [15]. Estry w szynkach tworzą się w trakcie dojrzewania, w wyniku estryfikacji różnych kwasów i alkoholi. Silnie wpływają one, szczególnie krótkołańcuchowe rozgałęzione estry, na zapach szynek, typowy dla dojrzewających produktów mięsnych [16].

Zawartość ketonów w badanych szynkach kształtowała się na poziomie $1,2 \div 10,6$ %. Są one typowymi składnikami występującymi w serach typu „blue”. Ketony nienasycone mają niski próg wyczuwalności i prawdopodobnie nadają produktom zapach tłuszczy, olejowy i metaliczny [16].

Węglowodory alifatyczne stanowiły $4,0 \div 19,0$ % analizowanych związków lotnych. Według Martina i wsp. [11], ich poziom osiąga maksimum pod koniec procesu dojrzewania. Duża zawartość węglodorów w próbce świadczy o postępującej oksydacji lipidów, która odgrywa istotną rolę przy tworzeniu liniowych i rozgałęzionych węglodorów [11, 15]. Obecność heptanu, dekanu i undekanu była opisana już wcześniej w szynce iberyjskiej i połędwicy surowo dojrzewającej. Rozgałęzione węglowodory mogą być syntetyzowane przez pleśnie jako wtórne produkty rozpadu triacylogliceroili [11, 15].

Zawartość kwasów należących do związków lotnych wynosiła w szynkach $2,9 \div 8,9$ %. Kwas 2-metylopropanowy był identyfikowany jako produkt metabolizmu walinu przez mikroorganizmy [15]. Część kwasów może pochodzić z hydrolizy triacylogliceroili i fosfolipidów, ale większość powstaje w reakcjach oksydacji lipidów. Kwasy organiczne były również identyfikowane w połędwicach i szynkach iberyjskich oraz w szynce włoskiej Toscano. Krótkołańcuchowe kwasy mogą odgrywać istotną rolę w rozwoju aromatu ze względu na ich niski próg wyczuwalności, podczas gdy długołańcuchowe kwasy, takie jak oktanowy i dekanowy, mogą stanowić prekursorów innych lotnych składników [16].

Terpeny są generalnie związane z dodatkiem przypraw, szczególnie pieprzu lub z obecnością tłuszczów roślinnych w żywieniu świń [6]. Zawartość terpenów była duża w szynce polskiej i niemieckiej (odpowiednio: 24,5 i 20 %) w stosunku do pozostałych szynek ($0,7 \div 2,5$ %).

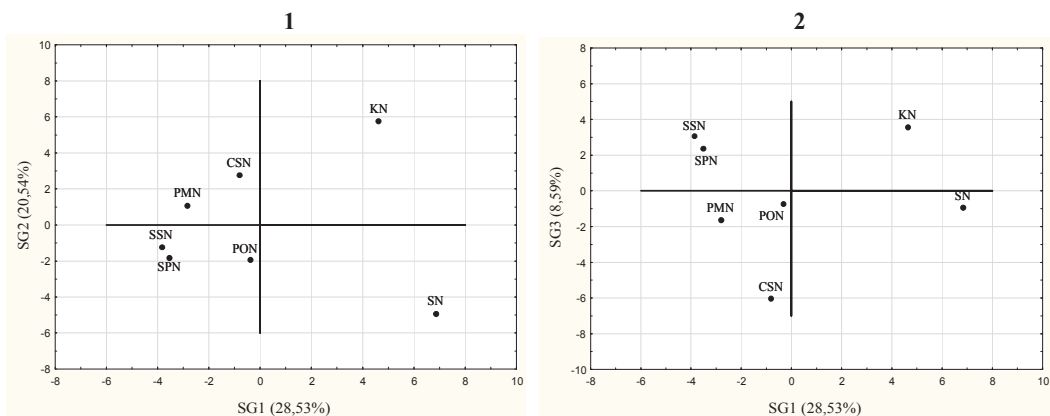
W analizie PCA do opisu doświadczenia wybrano 4 pierwsze składowe główne wyjaśniające ogółem 83,49 % całkowitej zmienności (tab. 2). Do wyliczenia składowych głównych wybrano względne powierzchnie pików wszystkich zidentyfikowanych związków lotnych. Wartości wybranych składowych głównych przedstawiono na rys. 1 - 4.

Tabela 2. Procent zmienności całkowitej wyjaśnionej przez składowe główne uzyskane w analizie PCA
 Table 2. Percent rate of total variability explained by principal components obtained in PCA analysis

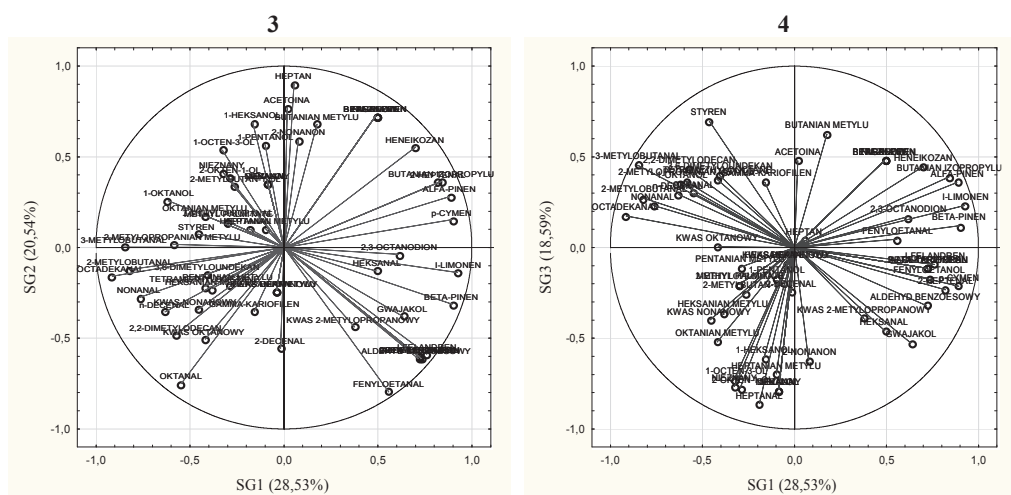
Składowa główna Principal component	% zmienności całkowitej % of total variation	Skumulowany % zmienności cumulative % of variability
1	28,52	28,52
2	20,54	49,07
3	18,59	67,66
4	15,83	83,49
5	10,65	94,14
6	5,86	100,00

Pierwsza składowa główna (SG1) wyjaśniła 28,52 % zmienności całkowitej (tab. 2). Podzieliła materiał badawczy na dwie grupy (rys. 1 i 2). Pierwsza grupa obejmowała szynki: kumpiak podlaski i Schinkenspeck, których profil zapachowy składał się odpowiednio: z 31 i 30 związków. Tylko w próbkach z pierwszej grupy zidentyfikowano niektóre substancje takie, jak: alfa-pinen, butanian izopropylu i heneikozan. Jako jedyne charakteryzowały się dużym stężeniem terpenów, jak: limonen, alfa-pinen, beta-pinen, felandren czy p-cymen. Mimo zaliczenia kumpiaka i szynki niemieckiej do jednej grupy, produkty te znacząco różniły się profilami zapachowymi pod względem jakościowym. Tylko w próbkach kumpiaka podlaskiego wykryto beta-elemen, berganoten, farnezen oraz stwierdzono dużą zawartość heptanu, acetoiny, butanianu metylu i 1-heskanolu. W przeciwieństwie do szynki polskiej, na profil zapachowy szynki Schinkenspeck składały się m.in. 2-acetylofuran, alfa-terpineol, gamma- i beta-kariofilen. Spośród wszystkich badanych szynek, to w szynce Schinkenspeck występowały w największych ilościach: fenyloetanal, fenyloetanol i gwajakol. Natomiast druga grupa składała się z pozostałych szynek pochodzenia włoskiego i hiszpańskiego (rys. 1 i 2). Ich cechą wspólną było występowanie w profilu zapachowym: 2-metylbutanal, pentanianu metylu, oktanianu metylu oraz oktadekanalu. Profile szynek z drugiej grupy składały się z 26, a nawet 39 związków.

Współczynniki korelacji pierwszej składowej głównej ze wszystkimi terpenami przyjmowały wysokie dodatnie wartości w zakresie $0,88 \div 0,99$. Równie wysokie współczynniki korelacji z SG1, lecz o ujemnych wartościach, wykazywały oktadekanal ($-0,92$) oraz 2- i 3-metylobutanal ($-0,82$ i $-0,86$). Powyższe związki najbardziej wpłynęły na klasyfikację szynek według SG1. Umiarkowane, wyłącznie dodatnie korelacje ($0,61 \div 0,73$) SG1 wystąpiły z 2-acetylofuranem, aldehydem benzoesowym, 2,3-oktanodionem, gwajakolem, fenyloetanołem i heneikozanem (rys. 4 i 5). Są to związki występujące w profilach zapachowych niektórych szynek, zazwyczaj o małym udziale. Wyjątek stanowi 2,3-oktanodion o średnim udziale 4,55 %.



Rys. 1 i 2. Wyniki analizy PCA – rzut przypadków: SG1/SG2 (1), SG1/SG3 (2)
 Fig. 1 and 2. PCA analysis results – projection of cases: SG1/SG2 (1), SG1/SG3 (2)

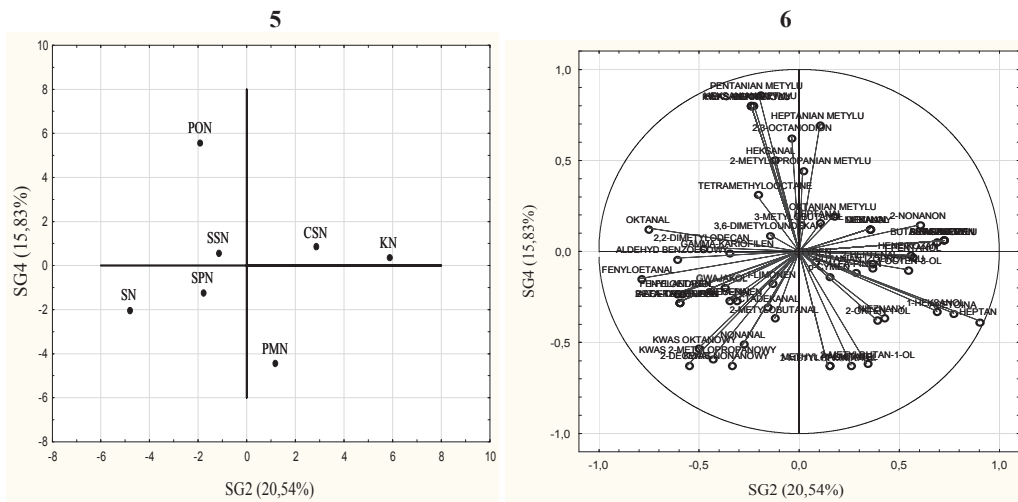


Rys. 3 i 4. Wyniki analizy PCA profili zapachowych szynki – projekcja zmiennych: SG1/SG2 (3), SG1/SG3 (4)
 Fig. 3 and 4. Results of PCA analysis of volatile profiles of ham – projection of variables: SG1/SG2 (3), SG1/SG3 (4)

Druga składowa główna (SG2) wyjaśniła 20,54 % zmienności całkowitej (tab. 2). Podzieliła materiał badawczy na szynki: Prosciutto, Crudo, kumpiak oraz Serrano, Parma, Parma z azotanami i Schinkenspeck (rys. 1 i 5). Wysoko oraz umiarkowanie ujemnie skorelowane z drugą składową związku z grupy aldehydów (aldehyd benzoesowy, fenyloetanal, oktanal; przedział -0,61 do -0,80) i fenyloetanol (-0,61) wpłynęły na zaliczenie do jednej grupy szynki różnego pochodzenia geograficznego z dodatkiem azotanów z szynką typu Parma. Natomiast wysoka dodatnia korelacja acetoiny

(0,77) i heptanu (0,90) oraz umiarkowana – alkoholi, głównie 1-pentanolu i 1-heksanolu (odpowiednio: 0,57 i 0,69), wpłynęły na zakwalifikowanie kumpiaka do wspólnej grupy z szynką Prosciutto i Crudo (rys. 3 i 6). Wobec powyższego można stwierdzić, że druga składowa główna spowodowała rozdzielenie próbek na szynki z dodatkiem azotanów i bez nich.

Trzecia składowa główna (SG3) wyjaśniła 18,59 % zmienności całkowitej (tab. 2) i pozwoliła na bardziej przejrzyste rozdzielenie materiału badawczego pod względem profilu zapachowego (rys. 2). Szynki typu Serrano, Parma z azotanami i kumpiak podlaski charakteryzowały dodatnie wartości omawianej składowej. Cechą wspólną tej grupy szynek był wysoki udział we frakcji lotnej styrenu i butanianu metylu – odpowiednio: 11,8 i 1,83 % (wartości średnie). Szynki Parma, Crudo, Prosciutto oraz Schinkenspeck utworzyły jedną grupę pod względem wartości trzeciej składowej głównej. Dla tych próbek SG3 przyjmowała wartości ujemne. W grupie tej występowały substancje charakterystyczne tylko dla niektórych szynek, np. 2-okten-1-ol, 2-nonanon, linalol i dekanal (rys. 4). Wymienione związki wykazywały ujemne wysokie korelacje z SG3 (-0,79).

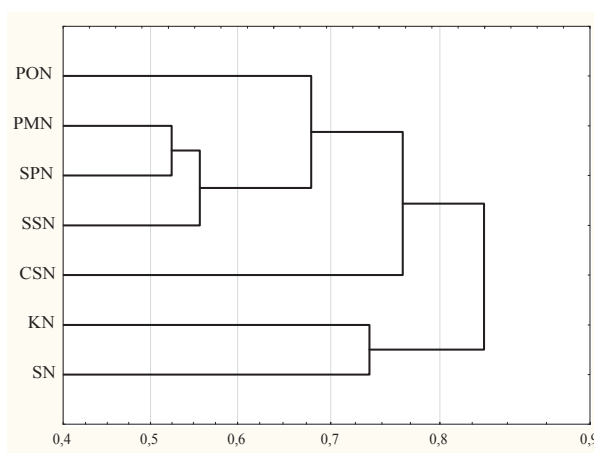


Rys. 5 i 6. Wyniki analizy PCA profili zapachowych szynek – rzut przypadków SG2/SG4 (5), projekcja zmiennych SG2/SG4 (6)

Fig. 5 and 6. Results of PCA analysis of volatile profiles of hams – projection of cases: SG2/SG4 (5), projection of variables SG2/SG4 (6)

Czwarta składowa główna wyjaśniła 15,83 % zmienności całkowitej (tab. 2). Kwasy karboksylowe: oktanowy i nonanowy, aldehydy: oktanal i nonanal wpłynęły na zaliczenie do jednej grupy szynki Prosciutto, Parma z azotanami oraz Schinkenspeck.

Ze względu na obecność estrów takich, jak: pentanian, heksanian, heptanian metylu i etylu (dodatknie wysokie korelacje $\geq 0,80$) drugą grupę utworzyły polska szynka kumpiak podlaski, włoska Parma, hiszpańskie Crudo oraz Serrano (rys. 5 i 6).



Rys. 7. Wyniki analizy skupień profili zapachowych szynek – metoda Warda (wielkość błędu – [%])

Fig. 7. Results of cluster analysis of volatile profiles of hams – Ward's method (percentage incompatibility)

Analiza skupień umożliwiła wyodrębnienie 4 grup badanych szynek, spośród siedmiu (rys. 7). Podobieństwa między grupami mają swoje odzwierciedlenie w testach PCA przedstawionych wcześniej. Na dendrogramie wyraźne jest wspólne sklasyfikowanie szynek włoskich i hiszpańskich oraz oddzielne zgrupowanie – polskiej i niemieckiej. Do pierwszej jednoelementowej grupy należała włoska szynka Parma. Drugą grupę stanowiły szynki Prosciutto i Parma z azotanami oraz Serrano. Pod względem składu związków lotnych wykazywały między sobą największe podobieństwo spośród całego materiału badawczego. Profil zapachowy szynki Crudo wpłynął na jej wyodrębnienie spośród całego materiału badawczego i na zaliczenie do trzeciej jednoelementowej grupy. Do ostatniej czwartej grupy zaliczono kumpiak podlaski i Schinkenspeck, które wykazały najmniejsze podobieństwo do szynek włoskich i hiszpańskich, co świadczy o odmiennych warunkach ich produkcji i różnym składzie chemicznym mięsa.

Wnioski

1. W szynkach surowo dojrzewających, wśród związków lotnych dominowały dwie grupy: aldehydy (wiązane z poszczególnymi fazami dojrzewania) oraz alkohole (będące swoistym wyróżnikiem długości procesu).

2. Analiza składowych głównych umożliwiła zróżnicowanie badanego materiału na 4 grupy: oryginalne szynki włoskie, szynki z dodatkiem azotanów, szynkę polską oraz szynkę niemiecką (peklowaną i wędzoną) i może stanowić narzędzie do określenia pochodzenia produktu oraz jego jakości i autentyczności.
3. Analiza profili związków lotnych w połączeniu z metodami chemometrycznymi umożliwia rozróżnienie europejskich szynek długo dojrzewających.

Literatura

- [1] Andrade M.J., Cordoba J.J., Sanchez B., Casado E.M., Rodriguez M.: Evaluation and selection of yeasts isolated from dry-cured Iberian ham by their volatile compound production. *Food Chem.*, 2009, **2 (113)**, 457-463.
- [2] Andres A.I., Cava R., Ruiz J.: Monitoring volatile compounds during dry-cured ham ripening by solid-phase microextraction coupled to a new direct-extraction device. *J. Chromat. A.*, 2002, **1-2 (963)**, 83-88.
- [3] Carrapiso A.I., Martin L., Jurado A., Garcia C.: Characterisation of most odour-active compounds of bone stained dry-cured Iberian ham. *Meat Sci.*, 2010, **1 (85)**, 54-58.
- [4] Dirinck P., van Obstaele F., Vandendriessche F.: Flavour differences between northern and southern European cured hams. *Food Chem.*, 1997, **4 (59)**, 511-521.
- [5] Garcia-Esteban M., Ansorena D., Astiaran I., Ruiz J.: Study of effect of different fiber coatings and extraction conditions on dry cured ham volatile compounds extracted by solid-phase microextraction (SPME). *Talanta*, 2004, **2 (64)**, 458-466.
- [6] Gasparido B., Procida G., Toso B., Stefanon B.: Determination of volatile compounds in San Daniele ham using headspace GC-MS. *Meat Sci.*, 2008, **2 (80)**, 204-209.
- [7] Huan Y., Zhou G., Zhao G., Xu X., Peng Z.: Changes in flavor compounds of dry-cured Chinese Jinhua ham during processing. *Meat Sci.*, 2005, **2 (71)**, 291-299.
- [8] Jurado A., Garcia C., Timon M.L., Carrapiso A.I.: Effect of ripening time and rearing system on amino acid related flavour compounds of Iberian ham. *Meat Sci.*, 2007, **3 (76)**, 585-594.
- [9] Kovats Retention Index. [online]. Dostęp w Internecie [05.11.2013]: <http://www.pherobase.com/database/kovats/kovats-index.php>.
- [10] Lammers M., Dietze K., Ternes W.: Headspace Volatiles of Dry-Cured Ham: A comparison of different manufacturing styles by SPME and GC/MS analysis. *J. Proc. Preservation*, 2011, **6 (35)**, 850-860.
- [11] Martin A., Cordoba J.J., Aranda E., Cordoba M.A.: Contribution of selected fungal population to the volatile compounds on dry-cured ham. *Int. J. Food Microbiol.*, 2006, **1 (110)**, 8-18.
- [12] Marusic N., Petrovic M., Vidacek S., Petrak T., Medic H.: Characterization of traditional Istrian dry-cured ham by means of physical and chemical analyses and volatile compounds. *Meat Sci.*, 2011, **4 (88)**, 786-90.
- [13] Okoń A., Dolatowski Z.J.: Proteoliza białek w wędlinach surowo dojrzewających z udziałem szczepu probiotycznego *Lactobacillus casei* Łock 0900. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **6 (85)**, 138-151.
- [14] Otero L., Horrillo M.C., Garcia M., Sayago I., Aleixandre M., Fernandez M.J., Ares L., Gutierrez J.: Detection of Iberian ham aroma by a semiconductor multisensory system. *Meat Sci.*, 2003, **3 (65)**, 1175-1185.

- [15] Purrinos L., Bermudes R., Franco D., Carballo J., Lorenzo J.M.: Development of volatile compounds during the manufacture of dry-cured "Lacon" a Spanish traditional meat product. *J. Food Sci.*, 2011, **1** (76), C89-C97.
- [16] Pugliese C., Sirtori F., Calamai L., Franci O.: The evolution of volatile compounds profile of "Toscano" dry-cured ham during ripening as revealed by SPME-GC-MS approach. *J. Mass Spectr.*, 2010, **9** (45), 1056-1064.
- [17] Ruiz J., Cava R., Ventanas J., Jensen M.T.: Headspace solid phase microextraction for analysis of volatiles in a meat product: dry-cured Iberian ham. *J. Agric. Food Chem.*, 1998, **11** (46), 4688-4694.
- [18] Ruiz J., Ventanas J., Cava R., Andres A., Garcia C.: Volatile compounds of dry-cured Iberian ham as affected by the length of curing process. *Meat Sci.*, 1999, **1** (52), 19-27.
- [19] Ruiz J., Ventanas J., Cava M., Timon L., Garcia C.: Sensory characteristics of Iberian ham: influence of processing time and slice location. *Food Res. Int.*, 1998, **1** (31), 53-58.
- [20] Sanchez-Pena C.M., Luna G., Garcia-Gonzalez D.L., Aparicio R.: Characterisation of French and Spanish dry-cured hams: influence of volatiles from the muscled and subcutaneous fat quantified by SPME-GC. *Meat Sci.*, 2005, **4** (69), 635-645.
- [21] Skwarek M., Dolatowski Z.J.: Wpływ bakterii probiotycznych na właściwości reologiczne szynki surowo dojrzewających. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, **3** (88), 73-82.
- [22] Węsierska E., Szoltyś M., Bączkiewicz M., Parys A., Wróblewska A.: Porównanie właściwości wybranych surowych wędlin dojrzewających. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **6** (85), 152-166.

PROFILE OF VOLATILE COMPOUNDS IN EUROPEAN DRY-CURED HAMS AS INDICATOR OF THEIR QUALITY AND AUTHENTICITY

S u m m a r y

In the research study, the analysis is presented of profiles of volatile compounds in dry-cured hams using SPME (solid phase microextraction) together with GC-MS and chemometric techniques of PCA (principal component analysis) and CA (cluster analysis). Seven dry-cured hams from different European countries were analyzed: Serrano ham from Spain, Parma, Crudo, and Mantovelle hams from Italy, kumpiak podlaski ham from Poland, and Schinkenspeck ham from Germany.

In the hams analyzed, 61 volatile compounds were identified and classified in the following groups: aldehydes (14), ketones (3), alcohols (7), esters (9), alkanes (6), aromatic hydrocarbons (2), acids (4), heterocyclic compounds (1), terpenes (11), phenols (1) and others (3). The prevailing groups were aldehydes and alcohols. It was found that the saturated aliphatic aldehydes (2-metylobutanal and 3-metylobutanal) were present in the hams; they are a good indicator of the oxidation process ongoing in the dry-cured hams; moreover, there were found products of fatty acid oxidation (hexanal, octanal).

The chemometric treatment made it possible to diversify the material under analysis and to identify hams based, among other things, on the production technology. On the basis of the analysis of principal components and cluster analysis, 4 groups of hams were defined: Italian and Spanish, Polish ham, and German ham. The combination of instrumental analysis and chemometric methods can be useful for determining the origin of product and its authenticity.

Key words: dry-cured hams, SPME-GC-MS, volatile compounds, chemometrics 

MAŁGORZATA WRONIAK, AGNIESZKA RĘKAS, ILONA PIEKARNIAK

WPLYW RODZAJU OPAKOWANIA I WARUNKÓW PRZECHOWYWANIA NA WYBRANE CECHY JAKOŚCI OLEJU RZEPAKOWEGO TŁOCZONEGO NA ZIMNO

Streszczenie

W pracy określono wpływ rodzaju opakowania i warunków przechowywania na wybrane cechy jakościowe oleju rzepakowego tłoczonego na zimno. Zakres pracy obejmował tłoczenie olejów w prasie ślimakowej Farnet z nasion rzepaku odmiany 'Monolit', oczyszczanie olejów przez naturalną sedimentację i dekantację oraz analizę jakości wytłoczonych świeżych i przechowywanych olejów w różnych warunkach i opakowaniach (w szklanych brązowych i PET), przez 12 miesięcy. W olejach oznaczono: stopień hydrolizy, pierwotny i wtórny stopień utlenienia lipidów i stabilność oksydacyjną w teście Rancimat w temp. 120 °C oraz stopień akceptacji konsumenckiej i ocenę sensoryczną metodą profilowania.

Potwierdzono, że warunki przechowywania w istotny sposób wpływają na tempo zmian oksydacyjnych w olejach tłoczonych na zimno. Dostęp tlenu i przechowywanie oleju rzepakowego przez 12 miesięcy w temp. około 20 °C powoduje intensywny wzrost poziomu nadtlenków (LOO) z 2,9 do 28 - 30 meq O₂/kg, aldehydów (LAn) – z 0,6 do 1,2 ÷ 1,4, skrócenie czasu indukcji z 3,6 do 2,5 h, pojawienie się atrybutu zjełczałego już pomiędzy 2. a 3. miesiącem użytkowania oleju (przy LOO 9 ÷ 11 meq O₂/kg, a LAn 0,8 ÷ 0,9). Olej przechowywany w butelkach nieotwieranych, w temp. 20 °C utleniał się wolniej niż olej w butelkach z okresowym dostępem tlenu, natomiast najwolniej zmiany zachodziły w warunkach chłodniczych. Stwierdzono, że opakowania nieotwierane o barwie brązowej, zarówno szklane, jak i PET, gwarantują porównywalne zachowanie dobrych właściwości chemicznych (LOO 5 ÷ 8 meq O₂/kg, LAn 0,7 ÷ 0,8), czasu indukcji i cech sensorycznych oleju do końca rocznego okresu przechowywania. Nie wykazano różnicy jakości oleju przechowywanego z dostępem i bez dostępu światła w zastosowanych brązowych opakowaniach.

Słowa kluczowe: tłoczenie na zimno, olej rzepakowy, opakowanie, przechowywanie, jakość

Wprowadzenie

Niepożądane zmiany cech jakościowych olejów w trakcie przechowywania wynikają z zachodzących procesów hydrolitycznych, przede wszystkim oksydacyjnych. W olejach rafinowanych największe znaczenie ma utlenianie chemiczne, natomiast w przypadku olejów tłoczonych na zimno oraz przy przechowywaniu surowców oleistych również hydroliza i utlenianie o charakterze biochemicznym [6, 20]. Utlenianie obniża jakość i wartość żywieniową tłuszczów, doprowadza do nieprzyjemnego zapachu i smaku. Z wodoronadtlenków – pierwotnych produktów utleniania powstaje szereg wtórnych: substancje lotne, jak i nielotne, nasycone i nienasycone, aldehydy, ketony, węglowodory, estry, alkohole. Produkty utleniania mogą reagować między sobą i z innymi składnikami nielipidowymi żywności, tworząc liczne związki toksyczne. Podatność olejów na utlenianie zależy od składu ich kwasów tłuszczowych, w przypadku olejów tłoczonych na zimno, również od obecności naturalnych związków o właściwościach przeciwutleniających (związki fenolowe, tokoferole, sterole, fosfolipidy, karotenoidy) i proutleniających (jony metali, pochodne chlorofili, mono- i diacyloglicerole czy produkty hydrolizy i utleniania) [6, 7]. Z czynników zewnętrznych na szybkość utleniania wpływ mają: dostęp tlenu, promieniowanie rozproszone, temperatura i czas przechowywania, przy czym światło jest czynnikiem występującym głównie w warunkach handlowych [6, 18, 25, 28]. Stabilność oksydacyjna olejów to odporność na utlenianie w trakcie procesów wydobywania, oczyszczania, pakowania i przechowywania. Jest bardzo istotnym wskaźnikiem jakości i trwałości przechowalniczej olejów jadalnych, szczególnie tych tłoczonych na zimno [6, 7, 16, 17, 31, 33].

Zaobserwowano, że w oleju rzepakowym tłoczonym na zimno utlenianie zachodzi wolniej niż w oleju rafinowanym, ponieważ wodoronadtlenki tworzą się wolniej [20, 32]. Porównując stabilność oksydacyjną różnych olejów, stwierdzono tendencję do szybszego wzrostu pierwotnych (LOO) i wtórnych (LAn) produktów utleniania w olejach rafinowanych w porównaniu z olejami tłoczonymi na zimno. Jednak to oleje rafinowane z nasion wykazują wyższą stabilność oksydacyjną [16, 17, 32, 33]. Jest to spowodowane niższym wyjściowym stopniem utlenienia, usunięciem w procesie rafinacji potencjalnych proutleniaczy. Teoretycznie oleje tłoczone na zimno z nasion mogą mieć wyższą stabilność, gdy otrzymane są z wysokiej jakości surowca. Nieodpowiednie zabezpieczenie oleju po produkcji, napowietrzenie w czasie rozlewu, niezastosowanie barierowego opakowania czy zamknięcia, a szczególnie zaniedbanie zalecanych warunków przechowywania, dystrybucji i sprzedaży może zaprzepaścić wszystkie wcześniejsze zabiegi [10, 11, 16, 17, 27].

Ochrona przed światłem jest bardzo istotna, gdyż zapoczątkowane pod wpływem promieni świetlnych fotoutlenianie może zachodzić dalej w ciemności w wyniku autooksydacji [6]. Dlatego bardzo ważny jest rodzaj użytego opakowania. Najlepiej, by nie przepuszczało ono światła i tlenu, jak np. puszki metalowe, kartony z laminatów [18].

Odpowiednie są również butelki z ciemnego szkła [99]. Przechowując olej w butelce PET, należy obniżyć temperaturę przechowywania w stosunku do stosowanej w przypadku szkła, jako materiału opakowaniowego [14, 15, 29]. Opakowania PET są tanie i powszechnie używane, ale charakteryzują się brakiem pełnej barierowości dla tlenu, który przenikając przez ścianki może przyczyniać się do szybszego utleniania produktu [30].

Wykazano, że zawartość tlenu rozpuszczonego w oleju przed butelkowaniem jest głównym czynnikiem obniżającym jego końcową jakość [10, 27]. Nasycanie oleju tlenem ma miejsce w trakcie procesu wydobywania, filtrowania i nalewania do butelek, a także przepompowywania, transportu luzem w kontenerach, cysternach. Tlen rozpuszczony w oleju może spowodować jego utlenienie w ciemności do $LOO = 10 \text{ meq O}_2/\text{kg}$ [10]). Np. 0,5-litrowa butelka oliwy w temp. $20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ może zawierać nawet 18 mg rozpuszczonego tlenu. Przy takim poziomie zawartości tlenu w oleju jego ilość przechodząca przez ścianki z tworzywa PET jest nieistotna (3 mg w ciągu pół roku do butelki o poj. 0,5 l) [11]. Na podstawie analizy wyników licznych badań dotyczących warunków przechowywania oliwy *extra virgin* nie można jednoznacznie stwierdzić, że opakowania szklane mają przewagę nad tymi z tworzywa sztucznego PET, ponieważ oba tworzą podobną ochronę [4, 12, 13, 18, 25, 27]. W większości prac porównuje się opakowania szklane barwne z popularnymi bezbarwnymi butelkami PET. Przy takim zestawieniu zawsze korzystniej oceniane jest opakowanie szklane. Często również ocenia się zmiany w olejach rynkowych, różnego pochodzenia, o różnym wyjściowym stopniu utlenienia, nienadające się już do prowadzenia badań przechowalniczych [25].

Celem pracy było określenie wpływu opakowania o barwie brązowej (szklanego i PET) i warunków przechowywania (temp. 20 i 4 $^\circ\text{C}$, brak i dostęp światła, okresowy dostęp tlenu) na wybrane cechy jakościowe, w tym cechy sensoryczne i stabilność oksydacyjną oleju rzepakowego tłoczonego na zimno. Zakres pracy obejmował ocenę niepożądanych zmian w ciągu 12 miesięcy przechowywania olejów w rzeczywistych warunkach, stosowanych przez dystrybutorów w handlu detalicznym i konsumentów w domu.

Materiał i metody badań

Materiałem do badań były nasiona rzepaku ozimego odmiany 'Monolit' (Hodowla Roślin Strzelce, grupa IHAR) pochodzące ze zbiorów z 2012 r. Nasiona przechowywano w wielowarstwowych workach papierowych, w pomieszczeniu o temp. $20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$. Nasiona były zdrowe i nieuszkodzone. Porcje nasion ($1,5 \div 2 \text{ kg}$) w dwóch seriach tłoczono na zimno w prasie ślimakowej z wykorzystaniem dyszy o średnicy 6 mm. Temperatura oleju wypływającego z prasy wahała się w granicach $38 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$,

olej zbierano i poddawano naturalnej sedymentacji (3 dni) w warunkach chłodniczych oraz dekantacji. Następnie olej rozlewano do dwóch rodzajów opakowań:

- szklanych (butelki farmaceutyczne o barwie brązowej i poj. 500 cm³), które zamykano nakrętką z polietylenu, dodatkowo korek zabezpieczano folią aluminiową,
- z poliestrowego tworzywa sztucznego PET (butelki o barwie brązowej i poj. 500 cm³).

Olej przechowywano przez 12 miesięcy w nieotwieranych butelkach (po napełnieniu zamkniętych) i równolegle w butelkach otwieranych, tj. o zwiększającej się co miesiąc przestrzeni powietrznej nad olejem. Doświadczenie prowadzono w trzech następujących wariantach:

- I wariant – temp. 20 ± 2 °C, na półce okresowy dostęp światła dziennego,
- II wariant – temp. 20 ± 2 °C, bez dostępu światła,
- III wariant – warunki chłodnicze 4 ± 2 °C.

Co 3 miesiące otwierano nowe opakowanie i poddawano olej analizie, równolegle badano jakość oleju przechowywanego w otwieranym co miesiąc, tym samym opakowaniu. W oleju oznaczano: liczbę kwasową (LK) [22]), nadtlenującą (LOO) [21] i anizydynową (LAn) [23]. Dodatkowo wyznaczano stabilność oksydacyjną w teście Rancimat w 120 °C – masa próbki 2,5 g, a przepływ powietrza 20 l/h [24].

Oceny intensywności cech sensorycznych dokonywano metodą profilową [2], przyjmując wyróżniki sensoryczne, podobnie jak Brühl i Matthäus [3]. Wzorowano się również na ocenie cech sensorycznych oliwy *extra virgin* opisanej w Rozporządzeniu WE 2568/91 z późn. zmianami [26]. Metoda polega na ocenie intensywności atrybutów pozytywnych i negatywnych. Wybrano 5 cech: pozytywne – charakterystyczny/typowy dla nasion rzepaku i/lub drewna, orzechowy i negatywne – zleżały/stęchły oraz zjełczały. Oceniono również stopień akceptacji konsumenckiej (nie lubię/ lubię).

Definicje poszczególnych wyróżników były następujące [3]:

- typowy, charakterystyczny dla nasion rzepaku – partia materiału doskonałej jakości, przypominająca zielone, świeże warzywa, czasem z nutą siarkową kapusty lub szparagów,
- orzechowy – typowy dla orzecha laskowego,
- drewna – przypominający ołówek, łądygę, wilgotne drewno,
- zleżały – drożdżowy (wyczuwalny alkohol, octan etylu),
- stęchły – wyczuwalna fermentacja, kiszonka,
- zjełczały – typowy dla utlenionego oleju.

Wykorzystano formularz oceny z 10-centymetrową skalą intensywności wrażeń sensorycznych doznanych w odniesieniu do cech pozytywnych i negatywnych (gdzie: 0 – niewyczuwalne wrażenie sensoryczne, 10 – wyjątkowo silne wrażenie sensoryczne). Wyniki wyrażono w jednostkach umownych [2].

Wartości zawarte w tabelach i na wykresach stanowią średnią arytmetyczną z dwóch serii doświadczeń i co najmniej dwóch powtórzeń ($n = 2 \times 2$). Zastosowano jednoczynnikową lub wieloczynnikową analizę wariancji, wyznaczono grupy jednorodne (ANOVA, test Duncana przy $p \leq 0,05$). Obliczenia wykonano przy użyciu programu Statgraphics 4.1.

Wyniki i dyskusja

Podstawowe cechy jakości, takie jak: stopień hydrolizy, pierwotny i wtórny stopień utlenienia w olejach przechowywanych w nieotwieranych opakowaniach, zarówno szklanych, jak i z tworzywa sztucznego, po 12 miesiącach przechowywania uległy statystycznie istotnym ($p \leq 0,05$) zmianom, jednak ich wartości były nadal bardzo niskie (tab. 1). Wartości liczb charakterystycznych nie przekroczyły poziomów dopuszczonych dla olejów tłoczonych na zimno (LK < 4 mg KOH/g, LOO < 15 meq O₂/kg), zawartych w Codex Stan 210 [8], na koniec rocznego okresu przechowywania.

Zaobserwowane zmiany hydrolityczne, tj. wzrost LK od 1,2 do 1,5 mg KOH/g w olejach były statystycznie istotne ($p \leq 0,05$), ale stosunkowo niewielkie we wszystkich wariantach (tab. 1). Zmiany hydrolityczne lipidów mogą zachodzić w olejach tłoczonych na zimno w wyniku działania enzymów natywnych – lipaz albo na skutek obecności drobnoustrojów o właściwościach lipolitycznych, a w mniejszym stopniu na skutek hydrolizy chemicznej ze względu na śladową zawartość wody. Również przy intensywnym przebiegu procesu utleniania powstające wodoronadtlenki ulegają dekompozycji do kwasów karboksylowych i mogą zwiększać ilość wolnych kwasów tłuszczowych w oleju [31].

Dostęp tlenu miał statystycznie istotny ($p \leq 0,05$) wpływ na obniżenie jakości przechowywanych olejów (tab. 2). Tlen to najważniejszy czynnik spośród przyspieszających utlenianie [26]. W olejach okresowo otwieranych, tj. o wzrastającej przestrzeni powietrznej nad olejem, wartość LOO = 15 meq O₂/kg została przekroczona pomiędzy 2. a 3. miesiącem przechowywania, a po roku wynosiła ok. 28 ÷ 30 meq O₂/kg, podczas gdy w nieotwieranych 5 ÷ 8 meq O₂/kg. Natomiast wartość liczby anizydynowej wahała się od 1,2 do 1,4 w olejach w butelkach otwieranych i od 0,7 do 0,8 w nieotwieranych (tab. 1).

Stwierdzono również statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) zmniejszenie stabilności oksydacyjnej w teście Rancimat z 3,6 do 2,5 h w ciągu 12 miesięcy przechowywania (rys. 1C, 1D). Cecchi i wsp. [5] stwierdzili, że próbki oliwy w opakowaniach PET wypełnionych do 1/3 objętości, przechowywane przez 2 miesiące z dostępem światła wykazywały wartości LOO wahające się od 20 do 95 meq O₂/kg i nie nadawały się do spożycia ze względu na negatywne cechy sensoryczne. Podobnie Ayton i wsp. [1]

Tabela 1. Cechy jakości świeżego oleju rzepakowego tłoczonego na zimno oraz po 3, 6, 9 i 12 miesiącach przechowywania w zróżnicowanych opakowaniach i warunkach przechowywania

Table 1. Quality characteristics of cold-pressed fresh rapeseed oil and cold-pressed oil stored in various types of packaging and under differentiated storage conditions over 3-, 6-, 9-, and 12-month period

Czynniki / factors	Liczba kwasowa / Acid value [mg KOH/g]		Liczba nadlenkowa / Peroxide value [meq O ₂ /kg]		Liczba anizydynowa / Anisidine value [-]	
	światło light 20 °C	bez światła without light 20 °C	światło light 20 °C	bez światła without light 20 °C	światło light 20 °C	bez światła without light 20 °C
Warunki przechowywania Storage conditions	4 °C	4 °C	4 °C	4 °C	4 °C	4 °C
Świeży / Fresh	1,20 a ± 0,04		2,86 a ± 0,17		0,61 a ± 0,01	
Czas przechowywania [miesiące] Storage time [months]	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$
Nieotwierane opakowanie szklane / Unopened glass packaging						
3	1,22a ±0,01	1,27a ±0,08	1,17a ±0,07	4,30b ±0,06	3,69b ±0,07	3,49b ±0,04
6	1,38b ±0,07	1,37b ±0,07	1,30b ±0,03	4,13b ±0,08	4,09b ±0,24	3,69b ±0,07
9	1,47c ±0,01	1,39b ±0,24	1,29b ±0,10	5,40c ±0,19	4,81bc ±0,13	4,12c ±0,31
12	1,51d ±0,08	1,43b ±0,01	1,29b ±0,07	5,72c ±0,26	5,96d ±0,44	4,77d ±0,13
Nieotwierane opakowanie PET / Unopened PET packaging						
3	1,20a ±0,08	1,39b ±0,08	1,18a ±0,08	5,30c ±0,04	5,91d ±0,05	4,12c ±0,04
6	1,27b ±0,04	1,41c ±0,04	1,26b ±0,04	6,13d ±0,02	6,70d ±1,17	4,50d ±0,09
9	1,31b ±0,05	1,43c ±0,03	1,3b ±0,03	7,40e ±0,31	7,20d ±1,70	5,15d ±0,31
12	1,38b ±0,03	1,46c ±0,04	1,19a ±0,04	7,72e ±0,13	7,57d ±0,45	5,96e ±0,13
Otwierane opakowanie szklane / Opened glass packaging						
3	0,63a ±0,12	0,65a ±0,11	0,63a ±0,12	0,65a ±0,11	0,63a ±0,12	0,63a ±0,11
6	0,60a ±0,18	0,82b ±0,05	0,60a ±0,18	0,82b ±0,05	0,60a ±0,18	0,57a ±0,11
9	0,67a ±0,08	0,72a _b ±0,21	0,67a ±0,08	0,72a _b ±0,21	0,67a ±0,08	0,50a ±0,14
12	0,83b ±0,06	0,94c ±0,03	0,83b ±0,06	0,94c ±0,03	0,83b ±0,06	0,72b ±0,05
3	0,79a _b ±0,02	0,79a _b ±0,02	0,67a ±0,02	0,79a _b ±0,02	0,67a ±0,02	0,60a ±0,11
6	0,81b _c ±0,10	0,81b _c ±0,10	0,7ab ±0,09	0,81b _c ±0,10	0,7ab ±0,09	0,67a ±0,07
9	1,08c _d ±0,04	1,08c _d ±0,04	0,9c ±0,05	1,08c _d ±0,04	0,9c ±0,05	0,59a ±0,05
12	1,28e ±0,09	1,28e ±0,09	1,07c ±0,17	1,28e ±0,09	1,07c ±0,17	0,79b ±0,02

3	1,21a	±0,01	1,20a	±0,11	1,24a	±0,06	9,71f	±0,82	9,91e	±0,12	5,43d e	±0,03	0,89c	±0,11	0,88b	±0,05	0,69b	±0,02	
6	1,45c	±0,00	1,38b	±0,03	1,25a	±0,03	20,04g	±0,61	17,55f	±0,88	7,17f	±0,20	1,18cd	±0,14	0,92c	±0,06	0,77b	±0,05	
9	1,45c	±0,14	1,26a	±0,07	1,24a	±0,04	26,37h	±0,73	27,52h	±0,74	9,43g	±0,01	1,15cd	±0,17	0,98c d	±0,12	0,82b c	±0,05	
12	1,47c	±0,01	1,38b	±0,07	1,30a	±0,10	28,21i	±0,72	29,60hi	±1,31	11,21 h	±0,57	1,41e	±0,19	1,21e	±0,11	0,99c	±0,16	
Otwierane opakowanie PET / Opened PET packaging																			
3	1,19a	±0,11	1,22a	±0,01	1,23a	±0,04	9,18f	±0,75	11,30e	±0,88	6,17e	±0,02	0,69a	±0,02	0,83b c	±0,18	0,96c	±0,09	
6	1,37b	±0,04	1,41b	±0,03	1,21a	±0,01	17,00g	±1,69	22,10g	±1,03	9,18g	±0,75	0,77b	±0,05	0,93b c	±0,14	0,82c	±0,13	
9	1,39b	±0,06	1,26a	±0,05	1,25a	±0,03	20,26g	±0,59	26,71h	±0,49	11,49 h	±0,03	0,82b	±0,27	1,08c d	±0,04	0,74b	±0,03	
12	1,50cd	±0,13	1,35b	±0,05	1,24a	±0,03	28,25i	±0,04	30,26i	±1,48	12,7i	±0,11	1,25e	±0,05	1,18e	±0,02	0,96c	±0,09	

Objaśnienia / Explanatory notes:

$\bar{x} \pm s$ / SD – wartość średnia \pm odchylenie standardowe / mean value \pm standard deviation; n = 4; a, b, c...- wartości średnie w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) / mean values in the columns and denoted by the same letter do not differ statistically ($p \leq 0.05$).

zaobserwowali, że dostęp tlenu miał najbardziej istotny wpływ na oceniane cechy jakości oliwy tj. intensywny wzrost LOO, sprzężonych dienów, trienów, obniżenie poziomu polifenoli, α -tokoferolu, chlorofilu, zmianę profilu kwasów tłuszczowych, skrócenie czasu indukcji i największe zmiany cech sensorycznych. Zaobserwowano szybkie zmiany już w początkowym okresie przechowywania. Duże stężenie tlenu w przestrzeni nad olejem sprzyja wysokiemu poziomowi wodoronadtlenków, następnie ich rozpadowi i tworzeniu kwasów karboksylowych odpowiedzialnych za wzrost kwasowości [33]. W przypadku olejów w butelkach nieotwieranych tj. bez okresowego dostępu tlenu, nie zaobserwowano statystycznie istotnego ($p \leq 0,05$) wpływu czasu przechowywania na stabilność oksydacyjną w teście Rancimat (rys. 1A, B), bez względu na wariant przechowywania. Czas indukcji olejów świeżych oraz przechowywanych 12 miesięcy wynosił $3,5 \div 3,6$ h.

Wykazano statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) mniej intensywne zmiany degradacyjne spowodowane utlenianiem w przypadku przechowywania olejów z dostępem tlenu w warunkach chłodniczych, nie zaobserwowano natomiast przekroczenia dopuszczalnej liczby nadtlenkowej (LOO wahała się od 11,2 do 12,7 meq O_2/kg), stwierdzono niższy poziom LAn i mniejsze obniżenie stabilności do końca rocznego okresu przechowywania (tab. 1), podobnie jak w innych opublikowanych badaniach [12, 33, 25, 28]. Ayton i wsp. [1] również odnotowali istotne obniżenie jakości wraz ze wzrostem temperatury, ale znacznie mniejsze niż przy dostępie tlenu.

Stwierdzono brak istotnej różnicy pod względem jakości olejów przechowywanych z dostępem i bez dostępu światła (tab. 2). Zastosowane ciemne, brązowe opakowania skutecznie chroniły olej przed dostępem światła z zewnątrz. Światło to drugi istotny czynnik przyspieszający utlenianie lipidów, szczególnie zawierających chlorofile – fotosensybilizatory. Jakość oleju ulega istotnemu obniżeniu w obecności światła, w stosunku do zmian w ciemności, gdzie utlenianie wynika tylko z autooksydacji, natomiast w obecności światła również z fotooksydacji [6, 18].

Wykazano również brak istotnego ($p \leq 0,05$) wpływu rodzaju opakowania na wszystkie oznaczane cechy jakości przechowywanych olejów (tab. 2). Brązowe opakowania, zarówno z PET, jak i ze szkła, podobnie chroniły oleje rzepakowe tłoczone na zimno przed utlenianiem. Zbliżone tendencje stwierdzono w przypadku oliwy [4, 12, 18, 25, 27]. W badaniach Guillaume'a i Ravettiego [13], z użyciem opakowań szklanych i PET o barwie brązowej, zaobserwowano, że oba rodzaje opakowań równie dobrze chroniły oleje przed zmianami degradacyjnymi. Wprawdzie oznaczono większy poziom nadtlenków w olejach przechowywanych w opakowaniach PET, ale za to stwierdzono mniej wtórnych produktów utlenienia i mniejsze straty związków fenolowych niż w oleju przechowywanym w opakowaniach szklanych. Méndez i Falqué [18] wykazali zbliżone zmiany w oleju z butelek PET i szklanej (mniej nadtlenków, porównywalne wartości K232). Dowiedziono, że skuteczniejszą ochronę zapewniają opako-

wania PET z absorberami tlenu niż z bezbarwnego szkła. Zauważono, że odpowiada za to poziom tlenu rozpuszczonego w oleju w momencie pakowania i ważne jest barierowe zamknięcie opakowania [27].

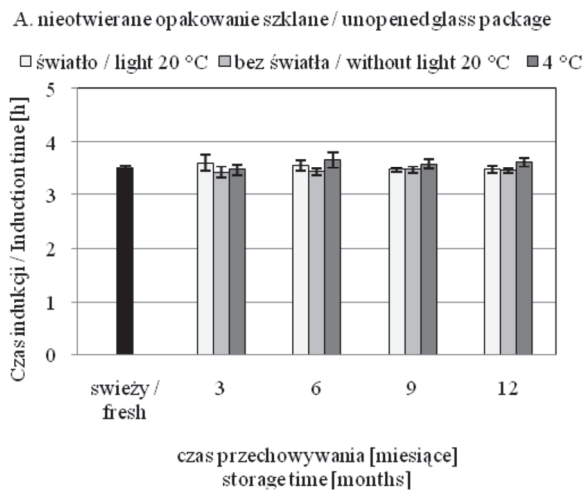
Tabela 2. Wyniki analizy statystycznej wpływu poszczególnych czynników na jakość przechowywanych olejów

Table 2. Results of statistical analysis of effect of individual factors on quality of stored oils

Czynnik / Factor	Liczba kwasowa Acid value [mg KOH/g]	Liczba nadtlenkowa Peroxide value [meq O ₂ /kg]	Liczba anizydynowa Anisidine value
Otwieranie / Opening			
Nieotwierane / Unopened	1,32 A	5,17 A	0,94 A
Otwierane / Opened	1,38 A	24,59 B	1,16 B
Warunki / Conditions			
Światło / Light 20 °C	1,46 A	19,25 A	1,14 A
Bez światła Without light 20 °C	1,42 A	20,32 A	1,15 A
4 °C	1,18 B	5,07 B	0,87 B
Opakowanie / Packaging			
Szklane / Glass	1,36 A	16,18 A	1,02 A
PET	1,34 A	13,58 A	1,09 A

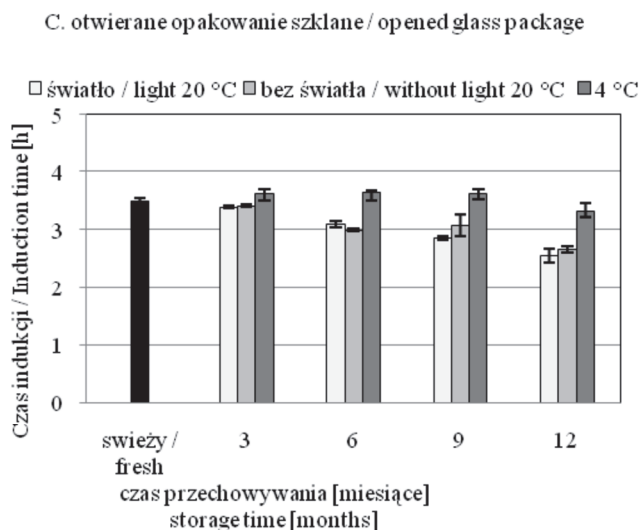
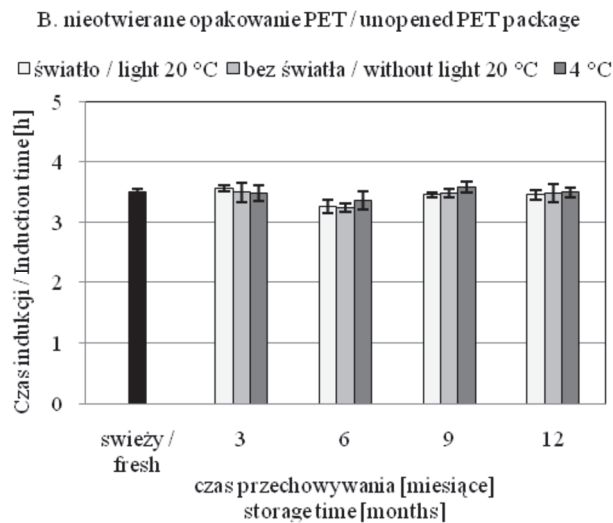
Objaśnienia / Explanatory notes:

A, B.– wartości średnie w kolumnach w obrębie jednego czynnika, oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) / mean values in the columns, referring to one factor, and denoted by the same letter do not differ statistically significantly ($p \leq 0.05$).



Rys. 1A. Czas indukcji w teście Rancimat w zależności od rodzaju opakowania oraz warunków i czasu przechowywania

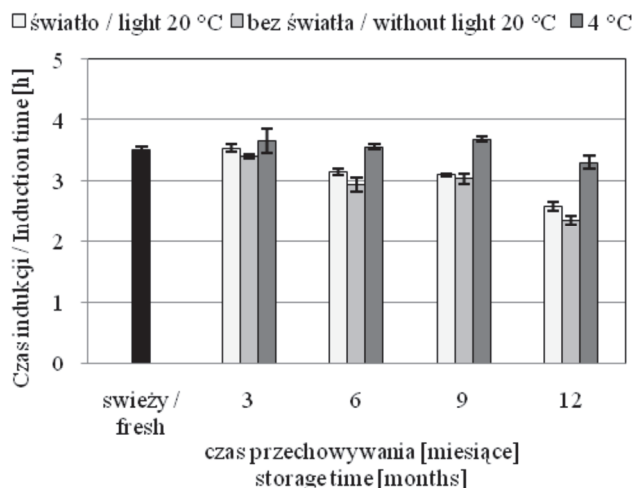
Fig. 1A. Induction time in Rancimat test depending on type of packaging, storage conditions, and storage period



Rys. 1B, C. Czas indukcji w teście Rancimat w zależności od rodzaju opakowania oraz warunków i czasu przechowywania

Fig. 1B, C. Induction time in Rancimat test depending on type of packaging, storage conditions, and storage period

D. otwierane opakowanie PET / opened PET package



Rys. 1D. Czas indukcji w teście Rancimat w zależności od rodzaju opakowania oraz warunków i czasu przechowywania

Fig. 1D. Induction time in Rancimat test depending on type of packaging, storage conditions, and storage period

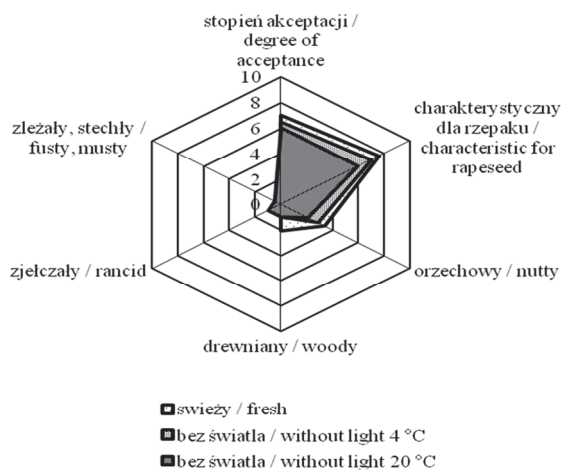
Rodzaj opakowania nie wpływał również na jakość oleju przy regularnym dostępie tlenu do opakowania (przypadek użytkowania przez konsumenta). Zmiany spowodowane utlenianiem (wzrost LOO, skrócenie czasu indukcji) były tak intensywne, że nie miało znaczenia, w jakim opakowaniu (szkło, PET) przechowywano olej (tab. 1). Bez względu na warunki przechowywania, olej rzepakowy tłoczony na zimno po otwarciu opakowania powinien być zużyty przez konsumenta w ciągu kilku tygodni, maksymalnie do 2 - 3 miesięcy. Należałoby rozważyć znakowanie olejów tłoczonych na zimno informacją o postępowaniu po otwarciu.

Wyniki oceny sensorycznej oleju świeżego oraz zmiany intensywności jego cech sensorycznych po 12 miesiącach przechowywania w różnych wariantach przedstawiono na przykładowych wykresach (rys. 2). Olej świeży charakteryzował się wysokim stopniem akceptacji konsumenckiej (7 j.u.). W ocenie profilowej intensywność smaku i zapachu „charakterystycznego dla rzepaku” była na poziomie 7,6 j.u. „orzechowego” – 3,4 j.u., „drewnianego” – 2,1 j.u. i nie stwierdzono cech negatywnych. Podobnie, ale w skali 5-punktowej, stwierdzili Brühl i Matthäus [3] podczas oceny sensorycznej oleju rzepakowego *virgin* z nasion o zróżnicowanej jakości.

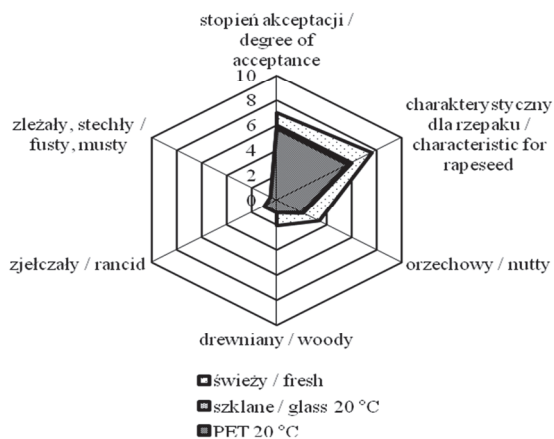
Zaobserwowano, że oleje w butelkach nieotwieranych, przechowywane przez 12 miesięcy w temp. 4 °C, podobnie jak przechowywane w 20 °C z dostępem i bez światła (zarówno w opakowaniu szklanym (rys. 2A), jak i w opakowaniu PET (rys. 2B) nie wykazywały zasadniczych zmian w profilowej ocenie sensorycznej. Tylko w olejach

przechowywanych w temp. 20 °C na koniec testu, tj. w 12. miesiącu stwierdzono częściowe obniżenie intensywności wyróżników: „charakterystycznego dla rzepaku” do 6 j.u. „orzechowego” do 2,1 j.u i pojawienie się „zjełczałego” (1 j.u.), podczas gdy w olejach w warunkach chłodniczych nadal ten wyróżnik nie występował (olej był bardzo dobrej jakości sensorycznej) (rys. 2A). W tym czasie zmiany parametrów chemicznych olejów (LK, LOO, LAn) były niewielkie (tab. 1).

A. Wpływ temperatury przechowywania / Influence of storage temperature
Opakowanie szklane nieotwierane po 12 m / Glass package unopened after 12 m

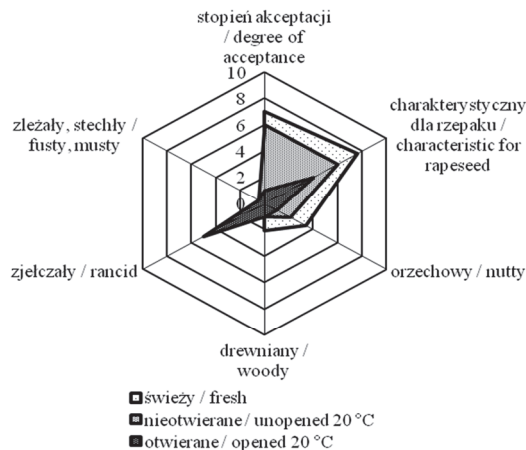


B. Wpływ rodzaju opakowania / Influence of kind of package
Opakowanie nieotwierane, po 12 m przechowywania / Package unopened, after 12 m storage

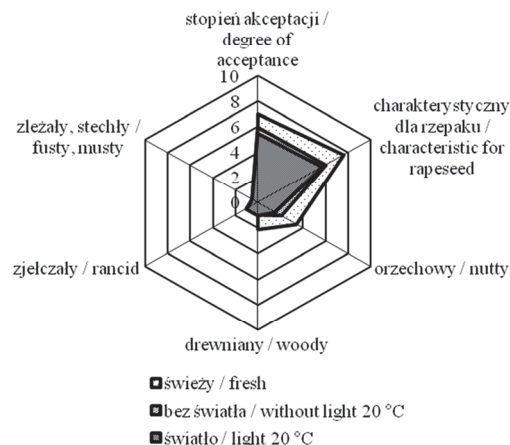


Rys. 2A, B. Wpływ rodzaju opakowania i warunków przechowywania na cechy sensoryczne oleju
Fig. 2A, B. Effect of type of packaging and storage conditions on sensory characteristics of oil

C. Wpływ dostępu tlenu / Influence of oxygen
Opakowanie szklane po 12 m przechowywania / Glass package after 12 m storage



D. Wpływ światła / Influence of light
Opakowanie PET nieotwierane po 12 m / Glass package unopened after 12 m



Rys. 2C, D. Wpływ rodzaju opakowania i warunków przechowywania na cechy sensoryczne oleju
Fig. 2C, D. Effect of type of packaging and storage conditions on sensory characteristics of oil

W olejach wystawionych na działanie tlenu, światła i temperatury 20 °C pojawienie się nieakceptowanego smaku i zapachu „zjelczonego” miało miejsce już w 3. miesiącu przechowywania (LOO od 9 do 11 meq O₂/kg, a LAn od 0,8 do 0,9), w kolejnych miesiącach zapach ten był na tyle intensywny, że dyskwalifikował ten olej do oceny smaku. Mińkowski [19] w przechowywanym oleju lnianym stwierdził bardziej intensywne utlenianie również po 3 - 4 miesiącach. Wartości wyróżników chemicznych

w tym czasie były niskie, mimo stwierdzonych istotnych zmian sensorycznych (smaku gorzkiego i utlenionego).

Na koniec przechowywania olejów w opakowaniach otwieranych, zarówno szklanym, jak i PET, zaobserwowano zmniejszenie intensywności zapachu „charakterystycznego dla rzepaku” (4 j.u.) i „orzecowego” (1 j.u.). Pojawił się zapach „stęchły/zleżały” (1 j.u.) jednak o niższej intensywności niż „zjełczały” (5 j.u.) oraz nastąpiło zmniejszenie stopnia akceptacji konsumenckiej do 1 j.u. (rys. 2C). Mogło to być spowodowane większą zawartością pierwotnych i lotnych wtórnych produktów utlenienia odpowiedzialnych za nieprzyjemny utleniony zapach oleju (LOO od 28 do 30 meq O₂/kg, LAn od 1,2 do 1,4) (tab. 1). Znajduje to potwierdzenie w badaniach przechowalniczych oliwy *extra virgin*, w których zaobserwowano w ocenie sensorycznej zmniejszenie intensywności wyróżnika „gorzkiego” i „pikantnego”, a pojawienie się – „zjełczałego” [1].

W przeprowadzonym teście przechowalniczym nie wykazano istotnej różnicy pod względem intensywności zmian cech sensorycznych w olejach w zależności od rodzaju opakowania i dostępu światła w temperaturze 20 °C (rys. 2B i 2D). Oba rodzaje opakowań równie dobrze chroniły olej przed dostępem światła, a wpływ przenikającego przez opakowanie PET tlenu był niewielki, co wykazano zarówno przy ocenie chemicznej, jak i sensorycznej olejów.

Wnioski

1. Niepożądane zmiany spowodowane utlenianiem zachodzą najwolniej w oleju rzepakowym tłoczonym na zimno przechowywanym w opakowaniach nieotwieranych, w temp. 4 °C.
2. Dostęp tlenu i przechowywanie w temp. 20 °C powoduje intensywny wzrost poziomu nadtlenków w oleju i przekroczenie dopuszczonych wartości pomiędzy 2. a 3. miesiącem składowania.
3. Opakowania o barwie brązowej, zarówno szklane, jak i z tworzywa sztucznego PET, gwarantują porównywalne zachowanie dobrych właściwości chemicznych i cech sensorycznych oleju do końca rocznego okresu przechowywania.
4. Nie wykazano różnicy pod względem jakości olejów przechowywanych przez 12 miesięcy z dostępem i bez dostępu światła. Zatem możliwe jest wykorzystanie brązowych opakowań z tworzywa sztucznego PET jako alternatywy szkła do pakowania olejów tłoczonych na zimno.

Badania wykonano w ramach projektu finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki - N N312 256740.

Literatura

- [1] Ayton J., Mailer R.J., Graham K.: The effect of storage conditions on extra virgin olive oil quality. RIRDC Publication 2012, No. 12/024, RIRDC Project No. PRJ-002297.
- [2] Baryłko-Pikielna N., Matuszewska I.: Sensoryczne badania żywności. Podstawy. Metody. Zastosowania. Wyd. Naukowe PTTŻ, Kraków 2009, ss. 163-164, 170, 181.
- [3] Brühl L., Matthäus B.: Sensory assessment of virgin rapeseed oils. Eur. J. Lipid Sci. Technol., 2008, **110**, 608-610.
- [4] Cecchi T., Passamonti P., Cecchi P.: Study of the quality of extra virgin olive oil stored in PET bottles with or without an oxygen scavenger. Food Chem., 2010, **120**, 730-735.
- [5] Cecchi T., De Marco C., Passamonti P., Pucciarelli F.: Analytical definition of the quality of extra-virgin olive oil stored in polyethylene terephthalate bottles. J. Food Lipids, 2006, **13**, 251-258.
- [6] Choe E., Min D.: Mechanisms and factors for edible oil oxidation. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2006, **5**, 169-186.
- [7] Cichosz G., Czeczot H.: Stabilność oksydacyjna tłuszczów jadalnych – konsekwencje zdrowotne. Bromat. Chem. Toksykol., 2011, **44**, **1**, 50-60.
- [8] CODEX STAN 210 - 1999. Codex standard for named vegetable oil. Codex Alimentarius. Amendment 2005, 2011.
- [9] Dabbou S., Gharbi I., Dabbou S., Brahmi F., Nakbi A., Hammami M.: Impact of packaging material and storage time on olive oil quality. African J. Biotechnol., 2011, **10** (74), 16937-16947.
- [10] Del Nobile M. A., Bove S., La Notte E., Sacchi R.: Influence of packaging geometry and material properties on the oxidation kinetics of bottled virgin olive oil. J. Food Eng., 2003, **57**, 189-197.
- [11] Di Felice R., Cazzola D., Cobror S., Oriani L.: Oxygen permeation in PET bottles with passive and active walls. Packaging Technol. Sci., 2008, **21**, 405-415.
- [12] Gambacorta G., Del Nobile M.A., Tamagnone P., Leonardi M., Faccia M., La Notte E.: Shelf-life of extra virgin olive oil stored in packages with different oxygen barrier properties. Ital. J. Food Sci., 2004, **16**, 417-428.
- [13] Guillaume C., Ravetti L.: Evaluation of new analytical methods to detect lower quality olive oils. [online] Australian Government. Rural Industries Research and Development Corporation RIRDC Publication 2012, No. 12/007. Dostęp w Internecie [20.03.14.]: <http://www.rirdc.gov.au/>, <https://rirdc.infoservices.com.au/items/12-007>.
- [14] Khaneghah M., Shoeibi Sh., Ameri M.: Effects of storage conditions and PET packaging on quality of edible oils in Iran. Advances in Environmental Biology, 2012, **6** (2), 694-701.
- [15] Kucuk M., Caner C.: Effect of packaging materials and storage conditions on sunflower oil quality. J. Food Lipids, 2005, **12**, 222-231.
- [16] Matthäus B., Brühl L.: Why is it so difficult to produce high-quality virgin rapeseed oil for human consumption?, Eur. J. Lipid Sci. Technol., 2008, **110**, 611-617.
- [17] Matthäus B.: Oil technology in: Technological innovations in major world oil crops, Volume 2: Perspectives Ed. S.K. Gupta. Springer Science Business Media, 2012, pp. 23-92.
- [18] Méndez A.I., Falqué E.: Effect of storage time and container type on the quality of extra virgin olive oil. Food Control, 2007, **18**, 521-529.
- [19] Mińkowski K.: Studia nad stabilnością oksydacyjną olejów roślinnych bogatych w polienowe kwasy tłuszczowe o budowie trienowej. Rozprawa habilitacyjna. Roczniki IPMiT, 2008, **46**, (4), ss. 44, 47, 49, 51-52, 61, 90.
- [20] Pekkarinen S., Hopia A., Heinonen M.: Effect of processing on the oxidative stability of low erucic acid turnip rapeseed (*Brassica rapa*) oil. Fett/Lipid, 1998, **100**, 3, 69-74.
- [21] PN-EN ISO 3960:2005. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby nadtlenukowej.

- [22] PN-EN ISO 660:2005. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby kwasowej i kwasowości.
- [23] PN-EN ISO 6885:2001. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby anizydynowej.
- [24] PN-EN ISO 6886:2009. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie stabilności oksydacyjnej (Test przyspieszonego utleniania).
- [25] Pristouri G., Badeka A., Kontominas M.G.: Effect of packaging material headspace, oxygen and light transmission, temperature and storage time on quality characteristics of extra virgin olive oil. *Food Control*, 2010, **21**, 412-418.
- [26] Rozporządzenie Komisji (UE) nr 61/2011 z dnia 24 stycznia 2011 roku zmieniające Rozporządzenie Komisji (EWG) nr 2568/91 z dnia 11 lipca 1991 roku w sprawie właściwości oliwy z oliwek i oliwy z wytloczyn oliwek oraz w sprawie odpowiednich metod analizy Dz. U. L 248 z 5.9.1991 s. 1 z późn. zm.
- [27] Sacchi R., Savarese M., Del Regno A., Paduano A., Terminiello P., Ambrosino M.L.: Shelf life of vegetables oils bottled in different scavenging polyethyleneterephthalate (PET) containers. *Packaging Technol. Sci.*, 2008, **21**, 269-277.
- [28] Samaniego-Sanchez C., Oliveras-Lopez M.J., Quesada-Granados J.J., Villalon-Mir M., Lopez-G Serrana H.: Alterations in picual extra virgin olive oils under different storage conditions. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2012, **114**, 194-204.
- [29] Shafqatullah Hussain A., Sohail M.: Effect of packing materials on storage stability of sunflower oil. *Pak. J. Biochem. Mol. Biol.*, 2011, **44** (3), 92-94.
- [30] Tawfik M.S., Huyghebaert A.: Interaction of packaging materials and vegetable oils: oil stability. *Food Chem.*, 1999, **64**, 451-459.
- [31] Velasco J., Dobarganes C.: Oxidative stability of virgin olive oil. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2002, **104**, 661-676.
- [32] Wroniak M., Łukasik D., Maszewska M.: Porównanie stabilności oksydacyjnej wybranych olejów tłoczonych na zimno z olejami rafinowanymi. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **1** (46), Supl., 214-221.
- [33] Wroniak M., Łukasik D.: Ocena stabilności oksydacyjnej wybranych spożywczych olejów tłoczonych na zimno. *Rośliny Oleiste*, 2007, **28**, 303-317.

EFFECT OF PACKAGING TYPE AND STORAGE CONDITIONS ON SELECTED QUALITY PROPERTIES OF COLD-PRESSED RAPESEED OIL

S u m m a r y

The objective of the research study was to determine the effect of packaging material and storage conditions on some selected quality properties of cold-pressed rapeseed oil. The scope of the research study comprised the pressing of oils from rapeseed seeds of 'Monolit' cultivar with the use of a Farnet screw press, the oil refining using natural sedimentation and decantation, and the quality analysis of freshly cold-pressed oils and of cold-pressed oils stored under various conditions and in different packages (made of brown glass and PET) over a period of 12 months. Under the oil analysis the following was determined: degree of hydrolysis, primary and secondary oxidation degree of lipids, oxidation stability using a Rancimat test at a temperature of 120 °C, and consumer acceptance level; also, a sensory assessment of the pressed oils was performed with the use of a profiling method.

It was confirmed that the storage conditions significantly affected the rate of oxidative changes in cold-pressed oils. The access to oxygen and the storing of rapeseed oil at 20°C over a period of 12 months caused the level of peroxides (PV) and aldehydes (AnV) to strongly increase (respectively, from 2.9 to 28

÷ 30 meq O₂/kg and from 0.6 to 1.2 ÷ 1.4) and the length of induction period to decrease (from 3.6 to 2.5 h), the rancid sensory attribute of oil to appear already between the 2nd and 3rd month of oil utilization (at PV ranging between 9 and 11 meq O₂/kg and at AnV ranging between 0.8 and 0.9). The oil stored at a temperature of 20^oC in unopened bottles oxidized slower than the oil in the bottles with the periodic exposure to oxygen, and the slowest oxidative changes were reported in the oil stored under the refrigeration conditions. It was found that the unopened brown packages (both of glass and PET) guaranteed that the good chemical properties of oil (PV ranging between 5 and 8 meq O₂/kg and AnV ranging between 0.7 and 0.8), length of induction period, and sensory properties of oil were comparatively well maintained until the end of the one-year storage period. As regards the oils in brown packaging and stored with and without the exposure to light, no differences in quality thereof were reported.

Key words: cold-pressing, rapeseed oil, packaging, storage, quality ☒

KAROL MIŃKOWSKI, ARTUR KALINOWSKI, ANNA KRUPSKA

WPLYW PŁATKOWANIA NASION I NISKOTEMPERATUROWEJ HYDROTERMICZNEJ OBRÓBKİ PŁATKÓW NA PARAMETRY PROCESU TŁOCZENIA I CECHY JAKOŚCIOWE OLEJU LNIANEGO

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu płatkowania nasion i hydrotermicznej obróbki płatków na wybrane parametry procesu tłoczenia i cechy jakościowe oleju lnianego. Materiałem do badań były nasiona lnu wysokolinolenowej odmiany 'Bukoz' (IWNiRZ Poznań). Płatkowanie nasion wykonywano w dwuwalcowym młynie laboratoryjnym wyposażonym w walce gładkie, przy szczelinie 0,2 mm. Obróbkę hydrotermiczną płatków o wilgotności 20 % prowadzono przez 3 h w temperaturze 50 °C, w cieplarni laboratoryjnej. Płatki po obróbce podsuszano w suszarce owiewowej. Oleje tłoczono za pomocą prasy ślimakowej UNO-SE, Farnet (Czechy). Płatkowanie nasion przyczyniło się do wzrostu przelotowości prasy z 8,5 do 10,6 kg/h i wydajności tłoczenia z 72,0 do 73,5 %, obniżenia temperatury oleju z 48 do 43 °C i wytloku z 68 do 64 °C oraz do wzrostu zawartości zanieczyszczeń nierozpuszczalnych z 3,2 do 4,0 %. Obróbka hydrotermiczna płatków surowych wpłynęła na wzrost przelotowości prasy z 10,6 do 13,5 kg/h i wydajności tłoczenia z 73,5 do 74,8 %, jak również na wzrost temperatury oleju z 43 do 47 °C i wytloku z 64 do 68 °C. W wyniku tego procesu nastąpił wzrost liczby kwasowej oleju o 0,16 mg KOH/g oraz liczby nadtlenkowej o 0,65 meq O₂/kg. Płatkowanie nasion powoduje wzrost zawartości zanieczyszczeń nierozpuszczalnych w oleju, a obróbka hydrotermiczna płatków sprzyja hydrolizie i utlenianiu pozyskiwanego oleju.

Słowa kluczowe: nasiona lnu, płatkowanie, obróbka hydrotermiczna, tłoczenie na zimno, prasa ślimakowa, olej lniany

Wprowadzenie

Olej lniany z nasion odmian wysokolinolenowych charakteryzuje się dużą zawartością polienowych kwasów tłuszczowych z rodziny *n-3*, o specyficznych cechach prozdrowotnych. Olej przeznaczony na cele spożywcze zwykle jest tłoczony na zimno

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

z całych nasion. Technologia ta jest mało efektywna i charakteryzuje się niską wydajnością. Zastosowanie podwójnego tłoczenia zwiększa uzysk oleju, ale jest on niższej jakości [9]. Zwiększenie przelotowości prasy i stopnia wydobycia oleju może być osiągnięte w wyniku rozdrabniania nasion przed tłoczeniem poprzez ich zgniatanie, ścinanie, rozłupywanie, rozcieranie bądź płatkowanie. Zniszczenie struktury tkankowej nasion i otwarcie większości komórek zdecydowanie ułatwia wydobycie oleju z surowca [14]. Rozdrobnienie nasion umożliwia jednak enzymom komórkowym, takim jak: lipazy, peroksydazy czy fosfolipazy dostęp do substratów, co sprzyja zachodzeniu niekorzystnych reakcji enzymatycznych. Operacja ta ułatwia także dostęp tlenu atmosferycznego i utlenianie oleju. Dlatego też rozdrobnione nasiona są zwykle bezpośrednio poddawane dalszemu przerobowi [14, 30]. W celu ułatwienia wydobycia oleju podczas tłoczenia rozdrobnione nasiona można poddać kondycjonowaniu, które polega na podgrzaniu surowca i ewentualnym doprowadzeniu miazgi nasiennej do optymalnej wilgotności. Zabieg ten wpływa pozytywnie na efekty technologiczne (łatwość i głębokość wydobycia tłuszczu), ale jednocześnie może powodować obniżanie jakości oleju i wyciągu [7]. Procesem zwiększającym wydajność tłoczenia jest hydroliza enzymatyczna miazgi nasiennej, której celem jest degradacja ścian komórkowych i ułatwienie wydobycia oleju [6]. Może ona być prowadzona przed klasycznymi technikami wydobywczymi, takimi jak tłoczenie mechaniczne i ekstrakcja rozpuszczalnikami organicznymi [1], chociaż najczęściej poprzedza ekstrakcję wodną [24]. Prawidłowo przeprowadzony proces, zastosowany przed tłoczeniem mechanicznym, wymaga nawilżenia rozdrobnionych nasion, ich kondycjonowania w podwyższonej temperaturze oraz podsuszenia przed tłoczeniem [27, 28]. Interesujące jest, jak sposób przygotowania nasion i warunki wilgotnościowo-termiczne planowanego procesu hydrolizy enzymatycznej same, tj. bez dodatku enzymów, wpływają na proces tłoczenia mechanicznego w prasie ślimakowej. Według założeń pracy, cały proces technologiczny powinien być prowadzony w temperaturze nieprzekraczającej 50 °C, aby pozyskiwany olej mógł być określany jako tłoczony na zimno, natomiast wilgotność płatków, temperatura i czas ich hydrotermicznej obróbki tak dobrane, aby umożliwiały efektywne zastosowanie enzymów celulolitycznych i proteolitycznych w dalszych badaniach.

Celem pracy było określenie wpływu płatkowania nasion i niskotemperaturowej hydrotermicznej obróbki płatków na parametry procesu tłoczenia i cechy jakościowe oleju lnianego.

Material i metody badań

Materiałem wyjściowym do badań były nasiona lnu polskiej odmiany 'Bukoz' (IWNiRZ Poznań) pochodzące z upraw ekologicznych, ze zbiorów roku 2012. W nasionach oznaczano wilgotność metodą suszarkową [19] i zawartość tłuszczu – metodą Soxhleta [15]. Nasiona charakteryzowały się typową wilgotnością – 6,0 % oraz zawar-

tością tłuszczu – 41,9 %, i były niemal pozbawione zanieczyszczeń. Do badań stosowano całe nasiona, płatki surowe i płatki po obróbce hydrotermicznej. Płatkowanie prowadzono w młynie laboratoryjnym typu Gosmet wg Sadkiewicza (RSZZBM „Gosmet” Bydgoszcz) o wymiennych walcach, wyposażonym zgodnie z zamówieniem w parę gładkich walców z ustawioną fabrycznie stałą szczeliną pomiędzy nimi o wielkości 0,2 mm, poruszających się z prędkością obrotową 450 r/min. Nasiona wyjściowe przed badaniami podlegały wstępnemu nawilżeniu za pomocą wody destylowanej do wilgotności 8,5 % [13], starannemu ręcznemu wymieszaniu i przetrzymaniu w szczelnie zamkniętych torbach polietylenowych w temp. 8 °C (chłodziarka) przez 5 dni, w celu wyrównania wilgotności w całej masie. Obróbka hydrotermiczna płatków surowych polegała na ich nawilżeniu, kondycjonowaniu w podwyższonej temperaturze i podsuszeniu przed tłoczeniem. Próbkę płatków o wilgotności 20 % uzyskano w wyniku ich nawilżenia za pomocą wody destylowanej, starannego ręcznego wymieszania i przechowania w szczelnie zamkniętych torbach polietylenowych przez 2 dni w temp. 8 °C (chłodziarka), w celu wyrównania wilgotności w całej masie materiału. Kondycjonowanie nawilżonych płatków prowadzono w temp. $50 \pm 0,5$ °C, w ciągu 3 h, w cieplarni laboratoryjnej Incubat 801 firmy J P Selecta SA., Barcelona, Hiszpania. Płatki po kondycjonowaniu podsuszano w 4-półkowej suszarce owiewowej firmy Rommelsbacher typ DA 750, Dinkelsbühl, Niemcy. Temperatura powietrza suszącego wynosiła 60 °C, temperatura wewnętrzna złoża płatków na półce, mierzona za pomocą bezkontaktowego termometru laserowego Ray Temp 3. firmy ETI Ltd., Worthing, Wielka Brytania, wynosiła 44,5 °C, a przybliżony czas podsuszania do wilgotności 8,5 %, to około 50 min. Koniec podsuszania określano metodą wagową (punkt końcowy stanowiła masa płatków sprzed ich nawilżania). Ustalając powyższe parametry brano pod uwagę z jednej strony dobrą efektywność tłoczenia oleju, z drugiej – możliwie najkrótszy czas podsuszania. Podsuszone i częściowo schłodzone płatki poddawano następnie tłoczeniu.

Oleje tłoczono w prasie ślimakowej o nominalnej przelotowości 9 - 12 kg/h, typ UNO-SE firmy Farnet a.s, Česká Skalice, Czechy. Prasa była wyposażona w dyszę wylotową o średnicy 8 mm. Temperaturę płatków, oleju oraz wyciągu mierzono za pomocą bezkontaktowego termometru laserowego Ray Temp 3. firmy ETI Ltd., Worthing, Wielka Brytania. Oleje oczyszczano przez naturalną sedimentację w ciągu 3 dni i ich dekantację, a następnie analizowano w ciągu 4 dni. Zawartość zanieczyszczeń nierozpuszczalnych oznaczano w olejach otrzymanych bezpośrednio po tłoczeniu. Doświadczenia przeprowadzono w dwóch seriach, a oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach ($n = 2 \times 3$). We wszystkich wariantach doświadczeń określano przelotowość prasy, a także wydajność tłoczenia. Przelotowość prasy określano na podstawie pomiaru czasu tłoczenia 1 kg porcji surowca. Wydajność tłoczenia (W) obliczano (1)

z masy uzyskanego oleju, masy próbki nasion/płatków i procentowej zawartości oleju w nasionach.

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

Otrzymane oleje poddano analizie sensorycznej [11] oraz oznaczano: barwę ogółem – metodą spektrofotometryczną przy długościach fali $\lambda = 442 \text{ nm}$ i 668 nm [22], zawartość zanieczyszczeń nierozpuszczalnych w heksanie [18], zawartość wody i substancji lotnych [17], liczbę kwasową [16], liczbę nadtlenkową [20], liczbę anizydynową [21], zawartość związków fenolowych ogółem [12]. Wskaźnik oksydacji Totox wyliczano (2) z równania:

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

gdzie:

LOO – liczba nadtlenkowa wyrażona w milirównoważnikach tlenu aktywnego/kg,

LA – liczba anizydynowa.

Oznaczenie zawartości związków fenolowych ogółem w olejach wykonywano metodą Folina-Ciocalteu'a [12]. Olej (3 g) rozpuszczano w 15 ml heksanu i ekstrahowano związki fenolowe za pomocą metanolu ($3 \times 5 \text{ ml}$) przez wytrząsanie po 2 min przy każdej ekstrakcji. Połączone ekstrakty zostawiano na 16 h. Po rozdziale frakcję metanolową przemywano 25 ml heksanu w celu usunięcia resztek oleju. Próbki metanolowych ekstraktów (0,2 ml) przenoszono do kolbek o pojemności 10 ml, do których dodawano 0,5 ml odczynnika Folina-Ciocalteu'a. Całość wytrząsano i zostawiano na 3 min. Następnie dodawano 1 ml nasyconego roztworu węgla sodu i uzupełniano wodą destylowaną do 10 ml. Po 1 h mierzono absorbancję roztworu przy długości fali $\lambda = 725 \text{ nm}$ w odniesieniu do próby kontrolnej, z zastosowaniem spektrofotometru U-2900 Hitachi High-Tech, Tokio, Japonia. Całkowitą zawartość związków fenolowych określano z krzywej kalibracyjnej, jako ekwiwalent kwasu ferulowego (FAE), dominującego wśród kwasów fenolowych nasion lnu [5].

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej za pomocą programu Statgraphic Plus 5.1. Do porównania wartości średnich zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA, test Duncana przy $p \leq 0,05$).

Wyniki i dyskusja

W tab. 1. zestawiono dane dotyczące parametrów procesu tłoczenia całych nasion, surowych płatków oraz płatków poddanych obróbce hydrotermicznej. W poszczególnych wariantach doświadczeń różniły się one między sobą.

Tabela 1. Wpływ płatkowania nasion i obróbki hydrotermicznej płatków na parametry procesu tłoczenia
 Table 1. Effect of seed flaking and hydrothermal treatment of flakes on parameters of pressing process

Parametry Parameters	Rodzaj próby / Type of sample		
	Nasiona Seeds	Płatki / Flakes	
		Surowe Raw	Po obróbce Treated
	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$
Przelotowość prasy Capacity of press [kg/h]	8,5 ^a ± 0,1	10,6 ^b ± 0,1	13,5 ^c ± 0,1
Wydajność tłoczenia Yield of pressing [%]	72,0 ^a ± 1,1	73,5 ^{ab} ± 1,0	74,8 ^b ± 1,1
Temperatura nasion / płatków Temperature of seeds / flakes [°C]	23 ^a ± 1	24 ^a ± 1	32 ^b ± 1
Temperatura oleju Temperature of oil [°C]	48 ^a ± 1	43 ^b ± 1	47 ^a ± 1
Temperatura wytłoku Temperature of cake [°C]	68 ^a ± 1	64 ^b ± 1	68 ^a ± 1

Objaśnienia / Explanatory notes:

\bar{x} – wartość średnia / mean value; s / SD – odchylenie standardowe / standard deviation; n = 6;
 wartości średnie oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) /
 mean values in rows and denoted by different letters differ statistically significant ($p \leq 0.05$).

Przelotowość prasy była istotnie zależna ($p \leq 0,05$) od formy przerabianego surowca. Najmniejszą przelotowość stwierdzono podczas tłoczenia całych nasion Inu. Podczas tłoczenia oleju z surowych płatków była ona większa o 24,7 %, a z płatków poddanych obróbce hydrotermicznej – o dalsze 27,3 %. W pierwszym przypadku było to możliwe dzięki znacznemu ograniczeniu oporów tarcia związanych z rozdrabnianiem całych nasion w samej prasie ślimakowej. W drugim, w którym temperatura płatków po obróbce hydrotermicznej była wyższa o 8 °C od temperatury płatków surowych, było to prawdopodobnie skutkiem zmian cech fizycznych płatków oraz oleju. Na skutek podgrzewania następuje zmniejszenie lepkości oleju i jego napięcia powierzchniowego, co ułatwia następnie mechaniczne wytłoczenie oleju [14]. Oba te zabiegi przyczyniły się przede wszystkim do zwiększenia przelotowości prasy, natomiast w niewielkim stopniu wpłynęły na wydajność tłoczenia, która w przypadku płatków surowych i kondycjonowanych wzrosła odpowiednio o 1,5 i 2,8 % wobec wydajności tłoczenia całych nasion. Jak podają Head i wsp. [8], przy tłoczeniu oleju w prasach ślimakowych, w warunkach przemysłowych, możliwe jest uzyskanie wydajności tłoczenia wynoszącej około 90 %, natomiast w niedużych urządzeniach i w małej skali wynosi ona zazwyczaj 60 ÷ 65 %, rzadko przekracza 80 % i jest istotnie związana z wyjściową zawartością oleju w przerabianym surowcu. Zheng i wsp. [33] tłocząc olej z nasion Inu w prasie typu Komet, w zależności od wilgotności surowca,

uzyskali wydajność tłoczenia od 70,1 do 85,7 %. Można zatem uznać, że tłoczenie nasion lnu za pomocą prasy typu Farmet było skuteczne, a uzyskana wydajność tłoczenia duża. Temperatura oleju była istotnie ($p \leq 0,05$) zależna od formy tłoczonego surowca. Była ona najwyższa, kiedy olej tłoczono z całych nasion (48 °C). Płatkowanie, oprócz zwiększenia przelotowości prasy oraz wydajności tłoczenia mogło przyczynić się do zmniejszenia oporów tarcia w prasie, czego efektem było obniżenie temperatury oleju o 5 °C. Z kolei olej otrzymany z płatków poddanych obróbce hydrotermicznej miał temperaturę istotnie wyższą od oleju z płatków surowych, zbliżoną do temperatury oleju z całych nasion. Wiązało się to z podwyższoną temperaturą płatków po obróbce hydrotermicznej, które w trakcie poduszania do wilgotności 8,5 % ulegały tylko częściowemu schłodzeniu przed podaniem na prasę. Warunkiem, żeby olej zakwalifikować do tłoczonych na zimno jest jego temperatura, która nie powinna przekraczać 50 °C [23]. Warunek ten został spełniony w każdym z badanych wariantów. Temperatura wyciągu otrzymanego z całych nasion oraz z płatków poddanych obróbce hydrotermicznej wynosiła 68 °C. Natomiast istotnie niższa, o 4 °C, była temperatura wyciągu otrzymanego z płatków surowych. A zatem forma, w jakiej występuje surowiec (nasiona, płatki), a także jego obróbka hydrotermiczna przed tłoczeniem, mają istotny wpływ na parametry procesu tłoczenia oleju lnianego w prasie ślimakowej.

W tab. 2. przedstawiono wyniki badań wybranych cech jakościowych olejów pozyskanych w poszczególnych wariantach doświadczeń. Oleje charakteryzowały się dobrą smakowitością ogółem, a ich oceny punktowe były zbliżone. Olej pochodzący z całych nasion, a także olej pozyskany z płatków surowych, cechowała łagodna nuta smaku orzechowego, bez cech gorzkości i posmaku utlenionego. Największe zmiany sensoryczne stwierdzono w przypadku oleju pochodzącego z płatków poddanych obróbce hydrotermicznej. Dominowała w nim nuta smakowa „skórki od chleba”, natomiast zanikowi uległa nuta smaku orzechowego. Oleje tłoczone na zimno zawierają szereg związków nietriacyloglicerolowych, przechodzących do nich w trakcie tłoczenia z nasion i wpływających na ich cechy sensoryczne. Mogą to być niewielkie ilości białek i peptydów odpowiedzialnych za występowanie gorzkiego smaku oleju lnianego [2]. Obróbka hydrotermiczna mogła spowodować ich częściową denaturację oraz sprzyjać reakcjom Maillarda zachodzącym także w niskich temperaturach, których skutkiem była nuta smakowa „skórki od chleba”. Reakcje Maillarda inicjowane są przez bezpośrednią reakcję grupy karbonylowej bądź hemiacetalowej cukrów redukujących z grupą aminową aminokwasów, peptydów lub innych związków, a ich skutkiem jest między innymi powstawanie lotnych związków o małych cząsteczkach, nadających produktom charakterystyczny aromat [29]. Substraty tych reakcji występują w masie beztłuszczowej nasion lnu [5]. Płatkowanie nasion spowodowało nieistotne ($p \leq 0,05$) rozjaśnienie barwy oleju, pomimo obniżenia o $1/3$ absorbancji przy $\lambda =$

Tabela 2. Wpływ płatkowania nasion i obróbki hydrotermicznej płatków na cechy jakościowe oleju
Table 2. Effect of seed flaking and hydrothermal treatment of flakes on quality characteristics of oil

Wyszczególnienie Specification	Rodzaj próby / Type of sample		
	Nasiona / Seeds	Płatki / Flakes	
		Surowe / Raw	Po obróbce / Treated
	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$
Smakowitość ogółem [pkt] General palatability [score] Nuta smakowa / Flavour note	4,5 lekko orzechowa bez cech gorzkości light nutty without bitterness	4,4 lekko orzechowa bez cech gorzkości light nutty without bitterness	4,6 nuta „skórki od chleba” / „crust of bread” note
Barwa ogólna / General colour [1000 × (A ₄₄₂ + A ₆₆₈) A ₄₄₂ A ₆₆₈	598 ^a 0,549 ^a 0,049 ^a	586 ^a 0,554 ^a 0,032 ^b	549 ^b 0,529 ^b 0,020 ^c
Zawartość zanieczyszczeń nierozpuszczalnych Content of insoluble impurities [%]	3,2 ^a ± 0,1	4,0 ^b ± 0,1	4,2 ^c ± 0,1
Zawartość wody i substancji lotnych Content of water and volatile substances [%]	0,39 ^a ± 0,02	0,37 ^{ab} ± 0,02	0,41 ^b ± 0,02
Liczba kwasowa Acid value [mg KOH/g]	1,92 ^a ± 0,04	1,95 ^{ab} ± 0,05	2,11 ^b ± 0,05
Liczba nadtlenkowa Peroxide value [meq O ₂ /kg]	0,80 ^a ± 0,07	0,83 ^a ± 0,08	1,48 ^b ± 0,06
Liczba anizydynowa Anisidine value [-]	0,32 ^a ± 0,04	0,34 ^a ± 0,03	0,35 ^b ± 0,05
Wskaźnik Totox Totox index [-]	1,92 ^a ± 0,09	2,00 ^{ab} ± 0,09	3,83 ^b ± 0,08
Zawartość związków fenolowych ogółem Total content of phenolic compounds [mg/kg]	14,0 ^a ± 0,7	14,1 ^a ± 0,7	14,8 ^b ± 0,7

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

668 nm, związanego z ubytkiem barwników chlorofilowych. Obróbka hydrotermiczna płatków spowodowała istotne ($p \leq 0,05$) rozjaśnienie barwy oleju, związane z obniżeniem absorbancji przy długościach fal $\lambda = 442$ nm oraz 668 nm. Wskazuje to

w pierwszym przypadku na ubytek barwników karotenoidowych, w drugim barwników chlorofilowych. Ubytek barwników karotenoidowych był prawdopodobnie spowodowany ich utlenianiem, a chlorofilowych być może aktywnością enzymu chlorofilazy, hydrolizującego barwniki chlorofilowe [10]. W badaniach Wroniak i wsp. [32] obróbka termiczna nasion rzepaku powodowała wzrost intensywności barwy oleju. Wynikało to z obróbki całych nasion (a nie płatków), a stosowana temperatura była dwukrotnie wyższa. Barwniki karotenoidowe są uznawane za związki najbardziej skuteczne w hamowaniu utleniania fotosensybilizowanego i ich ubytek jest niekorzystny, natomiast barwniki chlorofilowe są w olejach niepożądane. Barwniki chlorofilowe pełnią rolę fotosensybilizatorów, które przez reakcję bezpośrednią z tlenem tripletowym generują wysoce reaktywny tlen singletowy, inicjując w ten sposób proces autooksydacji lipidów oraz, rzadziej, kiedy są w stanie wzbudzonym, biorą udział w utlenianiu lipidów tlenem tripletowym [25]. Płatkowanie nasion przyczyniło się do zwiększenia o 1/4 zawartości zanieczyszczeń nierozpuszczalnych w oleju, natomiast obróbka hydrotermiczna płatków tylko w niewielkim stopniu zwiększyła ich zawartość (tab. 2). Zawartość zanieczyszczeń nierozpuszczalnych jest ważnym parametrem jakościowym olejów tłoczonych na zimno. Zanieczyszczenia te to przede wszystkim drobne fragmenty nasion przechodzące wraz z olejem przez otwory cedzidła prasy. Stanowią one zbędny balast i podlegają usunięciu, zwykle na drodze sedymentacji i filtracji lub wirowania. Zwiększona zawartość zanieczyszczeń w oleju wymaga większej powierzchni filtracyjnej i podwyższa jego straty na etapie filtracji [14]. Stwierdzono niewielkie, ale statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) różnice zawartości wody i substancji lotnych pomiędzy poszczególnymi olejami. Zawartość wody w olejach ma duży związek z wilgotnością surowca. Olej otrzymany z płatków surowych zawierał mniej wody niż olej z nasion, co prawdopodobnie wynikało z niewielkiego, naturalnego podeschnięcia płatków wskutek rozwiniętej powierzchni kontaktu z otoczeniem. Olej otrzymany z płatków poddanych hydrotermicznej obróbce zawierał więcej wody niż olej z nasion, co być może wynikało z wyższej wilgotności tych płatków. Duża zawartość wody w oleju jest niepożądana, gdyż jej obecność przyczynia się przede wszystkim do hydrolizy triacylogliceroli [14]. W badanych olejach nie przekraczała ona 0,5 % i była mniejsza od podanej przez Choo i wsp. [3]. Płatkowanie nasion nie miało praktycznie wpływu na liczbę kwasową (LK), liczbę nadtlenkową (LOO) i liczbę anizydynową (LA) oleju oraz wskaźnik Totox (tab. 2). Istotne zmiany tych parametrów powodowała obróbka hydrotermiczna płatków, to jest nawilżanie, kondycjonowanie w podwyższonej temperaturze i podsuszanie owiewowe. Operacje te w mniejszym stopniu sprzyjały procesom hydrolitycznym, natomiast w większym zmianom oksydacyjnym. Olej z nasion po obróbce charakteryzował się średnim stopniem hydrolizy lipidów, a jego liczba kwasowa wzrosła w sposób statystycznie istotny ($p \leq 0,05$) o blisko 10 % – z 1,95 do 2,11 mg KOH/g, przy dopuszczalnym dla olejów tłoczonych na zimno poziomie LK – 4 mg

KOH/g [4]. Zawartość pierwotnych produktów utlenienia określona za pomocą liczby nadtlenkowej wzrosła o 78 %, z 0,83 do 1,48 meq O₂/kg. Było to jednak zdecydowanie poniżej dopuszczalnego dla olejów tłoczonych na zimno poziomu LOO – 15 meq O₂/kg [4]. Zawartość wtórnych produktów utlenienia mierzona za pomocą liczby anizydynowej wzrosła z 0,34 jednostek w oleju tłoczonym z całych nasion do 0,35 jednostek w oleju z płatków po obróbce hydrotermicznej. Oznaczenie LOO i LA umożliwiło wyliczenie wskaźnika Totox, który w sposób umowny wyraża ogólny stopień utlenienia olejów. Jego wartości wahały się od 1,92 – w przypadku oleju z całych nasion, do 3,83 – w oleju z płatków poddanych obróbce hydrotermicznej, a zatem były znacznie poniżej granicznego poziomu 10, wyznaczającego dobrą jakość olejów jadalnych [31]. Podobne zmiany parametrów oleju w przypadku zastosowania obróbki termicznej nasion rzepaku zaobserwowano w badaniach innych autorów [7, 32]. Obróbka hydrotermiczna płatków przyczyniła się do istotnego wzrostu zawartości związków fenolowych ogółem w oleju z 14,1 do 14,7 mg/kg. Nasiona lnu zawierają szereg związków fenolowych, ale ich hydrofilowa natura sprawia, że tylko w niewielkim stopniu uwalniają się do oleju [5]. Przy porównywaniu wyników należy mieć na uwadze niespecyficzną powszechnie stosowaną metodę oznaczania zawartości związków fenolowych ogółem z użyciem odczynnika Folina-Ciocolteu'a, gdyż może on reagować także z innymi składnikami wykazującymi właściwości redukujące, takimi jak: niektóre cukry, aminokwasy, białka czy produkty reakcji Maillarda [26]. Związki fenolowe pełnią funkcje naturalnych przeciwutleniaczy i wywierają korzystny wpływ na stabilność oksydacyjną i wartość żywieniową oleju [12].

Wnioski

1. Płatkowanie nasion lnu przed tłoczeniem przyczynia się do wzrostu przelotowości prasy ślimakowej i wydajności tłoczenia oraz do obniżenia temperatury oleju i wytloku.
2. Obróbka hydrotermiczna płatków w zastosowanych warunkach powoduje wzrost przelotowości prasy ślimakowej i wydajności tłoczenia, ale jej negatywnym skutkiem jest wzrost temperatury oleju i wytloku.
3. Płatkowanie nasion lnu powoduje istotny wzrost zawartości zanieczyszczeń nierozpuszczalnych w oleju, natomiast obróbka hydrotermiczna płatków sprzyja procesom hydrolitycznym i oksydacyjnym.
4. Obróbka hydrotermiczna płatków przed tłoczeniem powoduje istotne zmiany cech sensorycznych oleju, co przejawia się z jednej strony zanikiem nuty smakowej orzechowej, a z drugiej wykształceniem się nuty smakowej „skórki od chleba”.
5. Podsuszanie w suszarce owiewowej nie jest efektywnym sposobem usuwania nadmiaru wody z płatków po obróbce hydrotermicznej. Należy rozważyć zastoso-

wanie innych wydajniejszych sposobów, na przykład wykorzystać suszenie w fazie fluidalnej.

Literatura

- [1] Bargale P.C., Sosulski K., Sosulski F.W.: Enzymatic hydrolysis of soybean for solvent and mechanical oil extraction. *J. Food Proc. Eng.*, 2000, **23**, 321-327.
- [2] Brühl L., Matthäus B., Fehling E., Wiege B., Lehmann B., Luftmann H., Bergander K., Quiroga K., Scheipers A., Frank O., Hofmann T.: Identification of bitter off-taste compounds in the stored cold pressed linseed oil. *J. Agric. Food Chem.*, 2007, **55**, 7864-7868.
- [3] Choo W.S., Birch J., Dufour J.P.: Physicochemical and quality characteristics of cold-pressed flaxseed oils. *J. Food Comp. Anal.*, 2006, **20**, 202-211.
- [4] CODEX STAN 210-1999. Codex standard for named vegetable oil. Codex Alimentarius. Amendment 2005, 2011.
- [5] Daun J.K., Barthelet V.J., Chomick T.L., Duguid S.: Structure, composition, and variety development of flaxseed. In: *Flaxseed in human nutrition*. 2nd ed. by L. U. Thompson and S.C. Cunnae. AOCS Press, Champaign, Illinois, USA, 2003, 1-40.
- [6] Dominguez H., Nunez M.J., Lema J.M.: Oil extractability from enzymatically treated soybean and sunflower: Range of operational variables. *Food Chem.*, 1993, **46** (3), 277-284.
- [7] Górecka A., Wroniak M., Krygier K.: Wpływ ogrzewania nasion rzepaku na jakość wyłoczonego oleju. *Rośliny Oleiste*, 2003, **24**, 567-576.
- [8] Head S.W., Swetman A.A., Hammonds T.W., Gordon A., Southwell K.H., Harris R.V.: *Small Scale Vegetable Oil Extraction*. NRI, University of Greenwich, Chatham, Kent, Great Britain, 1995, p.105.
- [9] Kasote D.M., Badhe Y.S., Hegde M.V.: Effect of mechanical press oil extraction processing on quality of linseed oil. *Ind. Crops Prod.* 2013, **42**, 10-13.
- [10] Levadoux W.L., Kalmokoff M.L., Pickard M.D., GrootWassink J.W.D.: Pigment removal from canola oil using chlorophyllase. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1987, **64** (1), 139-144.
- [11] Mińkowski K.: Studia nad stabilnością oksydacyjną olejów roślinnych bogatych w polienowe kwasy tłuszczowe o budowie trienowej. Rozprawa habilitacyjna. *Roczn. Inst. Przem. Mies.* 2008, **46**, (4).
- [12] Mińkowski K., Zawada K., Ptasznik S., Kalinowski A.: Wpływ związków fenolowych nasion na stabilność oksydacyjną i aktywność antyrodnikową wyłoczonych z nich olejów bogatych w PUFA *n-3*. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, **4** (89), 118-132.
- [13] Mińkowski K., Kalinowski A., Krupska A.: Wpływ sposobu przygotowania nasion oraz dławienia masy nasiennej w prasie ślimakowej na parametry procesu tłoczenia i cechy jakościowe oleju lnianego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2014, **4** (95), 75-87.
- [14] Niewiadomski H. *Technologia tłuszczów jadalnych*. WNT, Warszawa 1993.
- [15] PN-EN ISO 659:1999. Nasiona oleiste. Oznaczanie zawartości oleju (Metoda odwoławcza).
- [16] PN-EN ISO 660:2010. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczenie liczby kwasowej i kwasowości.
- [17] PN EN ISO 662:2001. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie zawartość wody i substancji lotnych.
- [18] PN-EN ISO 663:2009. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie zawartości zanieczyszczeń nierozpuszczalnych.
- [19] PN-EN ISO 665:2004. Nasiona oleiste. Oznaczanie wilgotności i zawartości substancji lotnych.
- [20] PN-EN ISO 3960:2012. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby nadtlenkowej. Jodometryczne (wizualne) oznaczanie punktu końcowego.
- [21] PN-EN-ISO 6885:2008. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby anizydynowej.

- [22] PN-A-86934:1995. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Spektrofotometryczne oznaczanie barwy.
- [23] Panfilis F.D., Toschi T.G., Lercker G.: Quality control for cold-pressed oils. *Inform*, 1998, **9**, 212-221.
- [24] Rosenthal A., Pyle D.L., Niranjana K., Gilmour S., Trinca L.: Combined effect of operation variables and enzyme activity on aqueous enzymatic extraction of oil and protein from soybean. *Enzyme and Microbial Technology*, 2001, **28**, 499-509.
- [25] Rotkiewicz D., Konopka I., Tańska M.: Barwniki karotenoidowe i chlorofilowe olejów roślinnych oraz ich funkcje. *Rośliny Oleiste*, 2002, **23**, 561-579.
- [26] Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M.: Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Meth. Enzymol.*, 1999, **299**, 152-178.
- [27] Smith D.D., Agrawal Y.C., Sarkar B.C., Singh B.P.N.: Enzymatic hydrolysis pretreatment for mechanical expelling of soybeans. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1993, **70** (9), 885-890.
- [28] Soto C., Chamy R., Zúñiga M.E.: Enzymatic hydrolysis and pressing conditions effect on borage oil extraction by cold pressing. *Food Chem.*, 2007, **102**, 834-840.
- [29] Wilska-Jeszka J.: Monosacharydy i oligosacharydy. W: *Chemiczne i funkcjonalne właściwości składników żywności*. Red. Sikorski Z.E. WNT, Warszawa 1994, ss. 93-130.
- [30] Wroniak M., Krygier K.: Oleje tłoczone na zimno. *Przem. Spoż.*, 2006, **7**, 30-32, 34.
- [31] Wroniak M., Kwiatkowska M., Krygier K.: Charakterystyka wybranych olejów tłoczonych na zimno. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **2** (47), 46-58.
- [32] Wroniak M., Krygier K., Kaczmarczyk M.: Comparison of cold pressed and virgin rapeseed oils with industrially obtained oils. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2008, **58**, (1), 85-89.
- [33] Zheng Y.L., Wiesenborn D.P., Tostenson K., Kangas N.: Screw pressing of whole and dehulled flaxseed for organic oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2003, **80** (10), 1039-1045.

**EFFECT OF SEEDS FLAKING AND LOW-TEMPERATURE HYDROTHERMAL
TREATMENT OF FLAKES ON PRESSING PROCESS PARAMETERS AND
QUALITY OF LINSEED OIL**

S u m m a r y

The objective of the research study was to determine the effect of flaking seeds and hydrothermally treating seed flakes on some selected parameters of pressing process and the quality characteristics of linseed oil. The research material consisted of flaxseeds of the 'Bukoz' high linolenic variety (IWNiRZ, Poznan, PL). The seeds were flaked in a two-roll laboratory mill equipped with smooth rolls and a 0.2 mm slot. The flakes produced of 20 % of moisture were hydrothermally treated in a laboratory incubator, at a temperature of 50 °C, over a period of 3 h. The hydrothermally treated flakes were dried in an air flow dryer. The oils were pressed in an UNO-SE expeller press manufactured by Farnet (CZ). The flaking of seeds contributed to the increase in the press capacity from 8.5 to 10.6 kg/h as well as in the oil yield from 72.0 to 73.5 %; further, it contributed to the decrease in the oil temperature from 48 to 43 °C and in the cake temperature from 68 to 64 °C. The flaking of seeds caused the amount of insoluble impurities in oil to increase from 3.2 to 4.0 %. The hydrothermal treatment of raw flakes caused the press capacity to increase from 10.6 to 13.5 kg/h, the oil yield to increase from 72.0 to 73.5 %, the oil temperature to increase from 43 to 47 °C, and the cake temperature to increase from 64 to 68°C. The latter process resulted in the increase in the acid value of oil by 0.16 mg KOH/g and in the increase in the peroxide value by 0.65 meq

O₂/kg. The flaking of seeds causes the amount of insoluble impurities in oil to increase whereas the hydrothermal treatment of flakes aids the hydrolysis and oxidation of the oil being produced.

Key words: flax seeds, flaking, hydrothermal treatment, cold pressing, expeller press, flax oil ☒

MAGDALENA WIRKOWSKA-WOJDYŁA, JOANNA BRYŚ, AGATA GÓRSKA,
EWA OSTROWSKA-LIGEŻA

WPLYW PRZEESTRYFIKOWANIA ENZYMATYCZNEGO NA WARTOŚĆ ŻYWIENIOWĄ TŁUSZCZU ZASTOSOWANEGO DO WYPIEKU CIASTEK DLA DZIECI

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu przeestryfikowania enzymatycznego na jakość tłuszczu, na bazie którego wypieczono ciastka przeznaczone dla małych dzieci. Mieszaninę tłuszczu mlecznego, oleju rzepakowego i koncentratu oleju rybnego (4 : 5 : 1) poddano enzymatycznemu przeestryfikowaniu, wykorzystując preparat Lipozyme RM IM. Na bazie otrzymanego przeestryfikowanego tłuszczu wypieczono ciastka.

W przeestryfikowanej mieszaninie oraz w tłuszczu wyekstrahowanym z ciastek stwierdzono obecność kwasów pochodzących z tłuszczu mlecznego oraz długołańcuchowych niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych: eikozapentaenowego (EPA) i dokozaheksaenowego (DHA). Ich zawartość w mieszaninie przeestryfikowanej wynosiła: EPA – 1,48 %, a DHA – 1,66 %, natomiast w tłuszczu z ciastek było 1,29 % EPA i 1,42 % – DHA. Otrzymane produkty przeestryfikowania oraz tłuszcz wyekstrahowany z ciastek charakteryzowały się składem kwasów tłuszczowych oraz strukturą triacylogliceroli zbliżoną do tłuszczu mleka matki. Kwas palmitynowy w ponad 60 % zestryfikowany był w pozycji wewnętrznej triacylogliceroli, natomiast kwasy nienasycone – w pozycjach zewnętrznych.

Słowa kluczowe: ciastka, kwasy tłuszczowe, przeestryfikowanie, tłuszcz mleka matki

Wprowadzenie

Przemysł cukierniczy oferuje szeroki asortyment ciastek – przekąsek. Produkty te charakteryzują się zróżnicowaną zawartością tłuszczu. W trwałych wyrobach cukierniczych przeznaczonych dla dzieci, w których tłuszcz stanowi 30 %, powinno się zwracać uwagę na jakość frakcji lipidowej ze względów technologicznych, jak i żywieniowych [5]. Brak jest regulacji prawnych, które chroniłyby organizm dzieci przed

nadmiernym spożyciem tłuszczów utwardzonych. Ich stosowanie, zwłaszcza do produkcji ciastek, jest powszechne. Obecne w tłuszczach utwardzonych izomery trans przenikają z pożywienia do tkanek i płynów ustrojowych człowieka. Najwięcej lokuje się ich w tkance tłuszczowej, osoczu krwi, wątrobie i sercu oraz w tłuszczu mleka kobiet [7]. Alternatywą dla uwodornienia może być reakcja przeestryfikowania enzymatycznego. Proces ten zmienia strukturę i skład triacylogliceroli, natomiast nie zmienia naturalnej budowy występujących w nich kwasów tłuszczowych, co powoduje, że cenne, biologicznie aktywne kwasy tłuszczowe pozostają nienaruszone [18]. Podczas przeestryfikowania nie powstają niepożądane nienasycone kwasy tłuszczowe o konfiguracji trans. Tego typu modyfikacja prowadzona jest w łagodnych warunkach z zastosowaniem lipaz specyficznych jako katalizatora biologicznego [1]. Wykorzystanie lipaz, zwłaszcza tych, które wykazują różną specyficzność w stosunku do struktury kwasów tłuszczowych czy też położenia wiązania estrowego w cząsteczkach triacylogliceroli pozwala na uzyskanie lipidów strukturyzowanych o założonej z góry strukturze [8]. Położenie kwasów tłuszczowych w cząsteczkach triacylogliceroli ma szczególne znaczenie nie tylko przy programowaniu nowych tłuszczów modyfikowanych technologicznie, ale również podczas ich trawienia i wchłaniania w organizmie człowieka. Ustalając warunki przeestryfikowania, przy wykorzystaniu odpowiednio dobranych surowców oraz specyficznych lipaz, można uzyskać lipidy o wcześniej założonych właściwościach, składzie i rozkładzie kwasów tłuszczowych w cząsteczce triacylogliceroli [1]. Specyficzne rozmieszczenie kwasów tłuszczowych w otrzymanych produktach przyczyni się również do powstawania odpowiednich produktów podczas trawienia w organizmie dziecka [28].

Celem pracy było określenie wpływu enzymatycznego przeestryfikowania na wartość żywieniową tłuszczu, na bazie którego wypieczono ciastka przeznaczone dla małych dzieci.

Material i metody badań

Mieszaninę tłuszczu mlecznego (MF), oleju rzepakowego (RSO) i koncentratu oleju rybnego (ROPUFA, preparat handlowy ROPUFA 30 *n-3* FOOD Oil zakupiony w firmie DSM Nutritional Products Sp. z o.o.) o składzie masowym 4 : 5 : 1 poddano enzymatycznemu przeestryfikowaniu przy użyciu preparatu Lipozyme RM IM (o 4-procentowej zawartości wody), zawierającego immobilizowaną lipazę, specyficzną w stosunku do wiązań estrowych w pozycji *sn-1,3* triacylogliceroli. Kolbę stożkową z odważoną mieszaniną tłuszczów (niepoddanych suszeniu) oraz z preparatem enzymatycznym (ilość katalizatora w stosunku do masy mieszaniny wynosiła 8 %) mieszało w wytrząsarce termostatowej w temp. 60 °C, przez 2 h. Po tym czasie reakcję przerywano. Przeestryfikowaną mieszaninę oczyszczano poprzez odkwaszanie alkaliczne [10]. Tak przygotowany tłuszcz stosowano do wypieku kruchych ciastek. Do sporzą-

dzenia ciasta używano: mąki pszennej (300 g), tłuszczu (200 g), fruktozy (60 g), żółtek jaj (60 g) i soli (0,5 g). Po wyrobieniu ciasto zawijano w folię i umieszczano w chłodziarce na 24 h. Schłodzone ciasto rozwałkowywano na grubość 4 mm (stosując prowadnice umieszczone na stolnicy) i wycinano z niego ciastka o wymiarach 50 mm × 50 mm, które wypiekano na blachach w piecu elektrycznym w temp. 180 °C przez 10 min. Ciastka wypiekano dwukrotnie.

W wyjściowej mieszance tłuszczów (MF : RSO : ROPUFA), mieszanie przeestryfikowanej oraz w tłuszczu wyekstrahowanym z wypieczonych ciastek oznaczano: liczbę kwasową [23], zawartość frakcji polarnej – metodą chromatografii kolumnowej [22] oraz czas indukcji – metodą różnicowej kalorymetrii skaningowej. Tłuszcz utleniano tlenem pod ciśnieniem 1350 ÷ 1400 kPa, w warunkach izotermicznych w temp. 120 °C. Oznaczenia wykonywano w trzech równoległych powtórzeniach. Metodą chromatografii gazowej oznaczano w triacyloglicerolach skład kwasów tłuszczowych oraz rozmieszczenie kwasów tłuszczowych pomiędzy pozycjami triacylogliceroli. Używano kolumny kapilarnej BPX-70 o dł. 60 m, Ø wewnętrznej 0,22 mm i grubości filmu 0,25 µm. W tym celu wykorzystano zdolność enzymu lipazy trzustkowej do selektywnej hydrolizy wiązań estrowych w pozycjach *sn-1,3* triacylogliceroli, przy założeniu ich równocенności. Zastosowanie enzymu regiospecyficznego pozwoliło na oznaczenie składu kwasów tłuszczowych w pozycji wewnętrznej *sn-2* cząsteczek triacylogliceroli [21].

Uzyskane wyniki opracowano statystycznie testem Tukeya ma poziomie istotności $p < 0,05$, przy użyciu programu Statgraphics Plus, wersja 4.1.

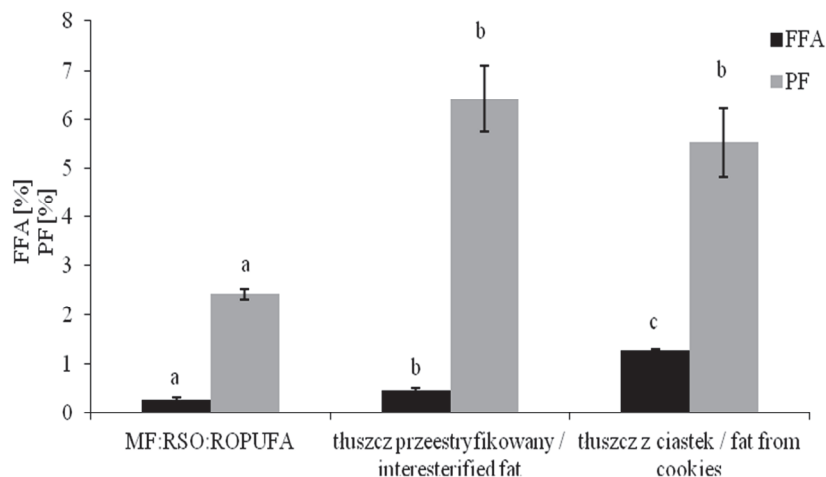
Wyniki i dyskusja

Lipazy będące katalizatorami w procesie przeestryfikowania enzymatycznego mają zdolność hydrolizy triacylogliceroli do wolnych kwasów tłuszczowych mono- i diacylogliceroli. Reakcja hydrolizy tłuszczów w pewnych, określonych warunkach może być odwracalna. Zmieniając środowisko reakcji w procesie przeestryfikowania na ubogie w wodę przesuwa się kierunek reakcji w stronę estryfikacji [30]. W procesie enzymatycznego przeestryfikowania zachodzą zatem dwie przeciwstawne reakcje: częściowa hydroliza i resynteza estrów, co powoduje, że w końcowym produkcie obecne są obok triacylogliceroli również pewne ilości wolnych kwasów tłuszczowych oraz mono- i diacylogliceroli [24]. Istnieje związek pomiędzy zawartością wolnych kwasów tłuszczowych (FFA) i zawartością frakcji polarnej (PF) w lipidach. Związane jest to z obecnością wolnych kwasów tłuszczowych w składzie oznaczonych frakcji polarnych. W skład frakcji polarnej wchodzi bowiem mono- i diacyloglicerole, a także wolne kwasy tłuszczowe [28].

Po analizie zawartości wolnych kwasów tłuszczowych (FFA), obliczonych na podstawie liczb kwasowych, oraz frakcji polarnej (FP) w mieszance przeestryfikowa-

nej stwierdzono, że proces ten spowodował istotny wzrost zawartości tych dwóch frakcji w odniesieniu do mieszaniny nieprzeestryfikowanej (rys. 1). Badania Bryś i wsp. [4], Tarnowskiej i wsp. [27], Wirkowskiej i wsp. [28] potwierdzają powyższą tendencję. Obecność w produkcie końcowym frakcji FFA i PF jest niepożądana i traktuje się je jako produkty uboczne reakcji przeestryfikowania. Wzrost zawartości frakcji polarnej związany jest z równoczesnym zmniejszeniem zawartości frakcji triacylogliceroli, dlatego też należy dążyć do uzyskania lipidów o najmniejszych zawartościach frakcji polarnej, szczególnie kiedy przeestryfikowany produkt ma mieć dalsze zastosowanie.

Wykazano, że podczas pieczenia zaszła nieznaczna hydroliza triacylogliceroli, gdyż tłuszcz z ciastek charakteryzował się istotnie większą ($p < 0,05$) zawartością wolnych kwasów tłuszczowych w porównaniu z przeestryfikowanym tłuszczem, z którego wypieczono ciastka (rys. 1). Zawartość frakcji polarnej w tłuszczu przeestryfikowanym i z wypieczonych ciastek kształtowała się na podobnym poziomie.



Objaśnienie: / Explanatory note:

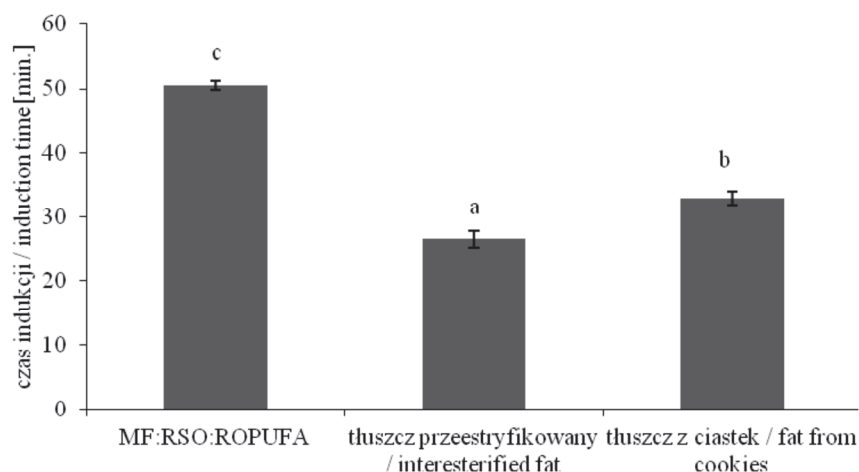
Te same litery oznaczają brak różnic statystycznie istotnych między wartościami średnimi FFA ($p \leq 0,05$) i PF ($p \leq 0,05$) / The same letters denote no statistically significant differences between mean values of FFA ($p \leq 0.05$) and of PF ($p \leq 0.05$).

Rys. 1. Zawartość wolnych kwasów tłuszczowych oraz frakcji polarnej w mieszaninie wyjściowej, tłuszczu przeestryfikowanym oraz wyekstrahowanym z ciastek

Fig. 1. Content of free fatty acids and polar fraction in starting mixture, in interesterified fat, and in fat extracted from cookies

Proces wypieku miał znaczący wpływ na jakość tłuszczu w gotowym produkcie. Kruche produkty wypieka się w trzech fazach. W pierwszych dwóch następuje ogrzewanie ciasta i zwiększanie wilgotności warstw powierzchniowych [3], które

mogło przyczynić się do częściowej hydrolizy tłuszczu. Podwyższona zawartość wolnych kwasów tłuszczowych oraz frakcji polarnej w przeestryfikowanym tłuszczu może powodować obniżenie odporności tego tłuszczu na utlenianie [11]. Stwierdzono, że proces przeestryfikowania w istotny sposób wpłynął na obniżenie stabilności oksydatywnej, mierzonej czasem indukcji, z 50,5 min (tłuszcz nieprzeestryfikowany) do 26,5 min (tłuszcz przeestryfikowany) – rys. 2. W badaniach stabilności tłuszczów przyjmuje się zasadę, że im dłuższy jest czas indukcji, tym większa ich stabilność oksydacyjna. Lee i wsp. [12] oraz Martin i wsp. [18] sugerują, że główną przyczyną niższej stabilności oksydacyjnej lipidów strukturyzowanych jest częściowa utrata naturalnych przeciwutleniaczy (tokoferoli, tokotrienoli, fitosteroli), która jest szczególnie istotna w przypadku przeestryfikowania olejów roślinnych.



Objaśnienie: / Explanatory note:

Te same litery oznaczają brak różnic statystycznie istotnych między wartościami średnimi ($p \leq 0,05$) / The same letters denote no statistically significant differences between mean values ($p \leq 0.05$).

Rys. 2. Czas indukcji w mieszaninie wyjściowej, tłuszczu przeestryfikowanym oraz wyekstrahowanym z ciastek

Fig. 2. Induction time in starting mixture, in interesterified fat, and in fat extracted from cookies

Na podstawie czasu indukcji tłuszczu wyekstrahowanego z ciastek stwierdzono, że tłuszcz ten charakteryzował się większą odpornością na utlenianie niż tłuszcz użyty do wypieku tych ciastek (rys. 2). Podczas termicznego przetwarzania żywności zachodzi wiele przemian chemicznych inicjowanych bezpośrednią reakcją pomiędzy grupą karbonylową lub hemiacetalową cukrów redukujących a grupą aminową aminokwasów lub peptydów. Proces ten prowadzi do powstania związków odpowiedzialnych za smak, zapach oraz atrakcyjność produktów i nosi nazwę reakcji Maillarda [19]. Koń-

cowymi produktami tej reakcji są melanoidyny – wysokocząsteczkowe polimery lub kopolimery [17]. Jednym z ważniejszych aspektów dotyczących występowania melanoidyn w żywności są ich właściwości przeciwutleniające [3, 19, 20]. Dłuższy czas indukcji tłuszczu wyekstrahowanego z ciastek (32,9 min) w porównaniu z czasem indukcji tłuszczu przeestryfikowanego (26,5 min) może wynikać właśnie z powstających podczas wypieku melanoidyn.

Tłuszcz stanowi składnik o szczególnym znaczeniu fizjologicznym dla małych dzieci. Jest niezbędny do prawidłowego wzrostu i aktywności fizycznej, a także stanowi materiał zapasowy dla organizmu. Lipidy są również elementem konstrukcyjnym wszystkich tkanek i są niezbędne do syntezy komórek i błon komórkowych [16]. W produktach przeznaczonych dla małych dzieci zawartość poszczególnych grup kwasów tłuszczowych powinna być jak najbardziej zbliżona do wzorca, jakim jest mleko matki. Stwierdzono, że zawartość kwasów nasyconych (SFA) jednonienasyconych (MUFA) i wielonienasyconych (PUFA) wynosiła w mieszaninie przeestryfikowanej odpowiednio [%]: 32,87, 42,47 i 19,09, a w tłuszczu z ciastek – odpowiednio [%]: 32,84, 43,32 i 19,03 (tab. 1). Była więc zbliżona do zawartości tych kwasów w tłuszczu mleka matki, w którym ich udział, według Xu [30], wynosi odpowiednio [%]: 46,4, 34,2 i 18,8. W tłuszczu przeestryfikowanym oraz wyekstrahowanym z wypieczonych ciastek zaobserwowano jedynie mniejszą zawartość kwasów nasyconych i większy udział kwasów jednonienasyconych. W tłuszczu, na bazie którego wypieczono ciastka oraz w tłuszczu wyizolowanym z ciastek stwierdzono obecność kwasów pochodzących z tłuszczu mlecznego, jak i z koncentratu oleju rybnego (ROPUFA), w tym kwasów krótko- i średniołańcuchowych oraz długołańcuchowych: eikozapentaenowego (EPA) i dokozaheksaenowego (DHA). Zawartość dwóch ostatnich kwasów wynosiła odpowiednio [%]: 1,48 i 1,66 w mieszaninie przeestryfikowanej oraz 1,29 i 1,42 w tłuszczu z ciastek (tab. 1). Kwasy te odgrywają ważną rolę we wzroście młodego organizmu oraz w prawidłowym funkcjonowaniu narządu wzroku i rozwoju układu nerwowego niemowląt, wzmacniają i uszczelniają naczynia włosowate, regulują czynność śródbłonna naczyniowego [26]. Wpływają również pozytywnie na gospodarkę lipidową poprzez zwiększenie korzystnej frakcji HDL-cholesterolu, a obniżenie stężenia triacylogliceroli [9]. Natomiast kwasy krótko- i średniołańcuchowe stanowią źródło szybkiej energii, ponieważ są bardzo łatwo wchłaniane w jelicie cienkim, a następnie transportowane żyłą wrotną do wątroby, w której są natychmiast metabolizowane. Nie tworzą one praktycznie tkanki tłuszczowej dziecka. Kwasy krótko- i średniołańcuchowe są wykorzystywane w organizmie m.in. jako paliwo energetyczne dla mięśni, serca, wątroby, nerek, płytek krwi [25].

Tabela 1. Skład kwasów tłuszczowych w mieszaninie wyjściowej, tłuszczu przeestryfikowanym oraz w tłuszczu wyekstrahowanym z ciastek

Table 1. Fatty acids composition in starting mixture, in interesterified fat, and in fat extracted from cookies

Kwas tłuszczowy Fatty acid	Zawartość kwasów tłuszczowych / Content of fatty acid [%]		
	MF:RSO:ROPUFA	Tłuszcz przeestryfikowany Intesterified fat	Tłuszcz z ciastek Fat from cookies
C4:0	2,04 ± 0,11	2,07 ± 0,10	1,81 ± 0,13
C6:0	0,96 ± 0,19	0,96 ± 0,20	0,84 ± 0,16
C8:0	0,52 ± 0,16	0,48 ± 0,10	0,43 ± 0,11
C10:0	1,12 ± 0,19	1,08 ± 0,21	0,96 ± 0,25
C12:0	1,33 ± 0,21	1,33 ± 0,23	1,20 ± 0,19
C14:0	4,95 ± 0,39	5,01 ± 0,52	4,60 ± 0,41
C14:1	0,48 ± 0,06	0,51 ± 0,09	0,46 ± 0,12
C15:0	0,58 ± 0,11	0,60 ± 0,10	0,56 ± 0,10
C16:0	17,18 ± 1,21	15,82 ± 1,14	16,78 ± 0,97
C16:1	1,33 ± 0,12	1,37 ± 0,15	1,56 ± 0,18
C17:0	0,38 ± 0,06	0,34 ± 0,08	0,33 ± 0,07
C17:1	0,25 ± 0,06	0,23 ± 0,07	0,23 ± 0,06
C18:0	4,21 ± 0,39	4,61 ± 0,48	4,78 ± 0,51
C18:1 (cis-9)	41,00 ± 1,57	39,05 ± 1,60	39,85 ± 1,39
C18:2 trans	0,3 ± 0,06	0,28 ± 0,05	0,28 ± 0,05
C18:2 n-6	12,1 ± 0,72	10,60 ± 0,71	11,30 ± 0,69
C 20:0	0,42 ± 0,12	0,37 ± 0,10	0,35 ± 0,10
C18:3 trans	0,31 ± 0,06	0,32 ± 0,05	0,28 ± 0,05
C18:3 n-3	5,09 ± 0,65	4,98 ± 0,61	4,60 ± 0,57
C20:1	0,99 ± 0,10	1,00 ± 0,14	0,940 ± 0,27
C22:0	0,21 ± 0,06	0,20 ± 0,08	0,2 ± 0,07
C20:3 n-3	0,18 ± 0,07	0,21 ± 0,09	0,19 ± 0,08
C22:1	0,17 ± 0,05	0,19 ± 0,07	0,17 ± 0,05
C20:4 n-6	0,13 ± 0,04	0,16 ± 0,05	0,23 ± 0,09
C20:5 n-3	1,36 ± 0,41	1,48 ± 0,32	1,29 ± 0,27
C24:1	0,14 ± 0,06	0,12 ± 0,05	0,11 ± 0,04
C22:6 n-3	1,5 ± 0,20	1,66 ± 0,18	1,42 ± 0,16

Objaśnienie: / Explanatory note:

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

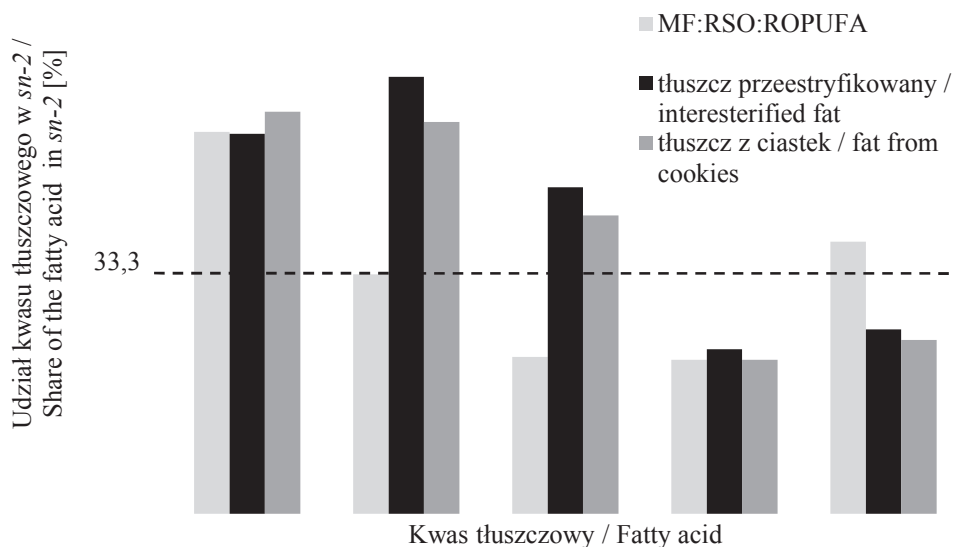
W tłuszczu przeestryfikowanym oraz wyekstrahowanym z wypieczonych ciastek nie zmieniła się ilość izomerów trans kwasów tłuszczowych (TFA) w stosunku do mieszaniny wyjściowej. Obecność izomerów trans na poziomie 0,6 % (tłuszcz przeestryfikowany) i 0,56 % (tłuszcz z ciastek) wynika z naturalnej obecności tych kwasów w tłuszczu mlecznym – surowcu użytym do modyfikacji. Właściwości tłuszczów zależą nie tylko od składu kwasów tłuszczowych, lecz także od struktury triacylogliceroli.

Położenie kwasów tłuszczowych w cząsteczkach triacylogliceroli ma szczególne znaczenie przy programowaniu lipidów modyfikowanych technologicznie, jak i podczas ich trawienia i wchłaniania w organizmie człowieka. W produktach przeznaczonych dla dzieci należy nie tylko zadbać o odpowiednią zawartość tłuszczu, ale przede wszystkim uzyskać strukturę triacylogliceroli, która będzie najbardziej zbliżona do tłuszczu mleka kobiecego.

Rozmieszczenie kwasów tłuszczowych w cząsteczkach triacylogliceroli tłuszczu mleka matki jest unikatowe ze względu na ułożenie kwasu mirystynowego (C14:0) i palmitynowego (C16:0). Kwasy te mają wyjątkową skłonność do zajmowania pozycji środkowych (*sn*-2) w TAG. Według różnych autorów w mleku kobiecym udział kwasu mirystynowego w pozycji wewnętrznej może wynosić od 53 do 57 %, a kwasu palmitynowego – od 68 do 88 % [6, 13, 14]. Większość kwasów nienasyconych w tłuszczu mleka kobiecego ulokowana jest w pozycjach zewnętrznych TAG, a ich udział w pozycji środkowej jest niewielki [13]. Dzięki takiej strukturze poprawia się wchłanianie kwasów tłuszczowych w jelicie. W wyniku hydrolizy triacylogliceroli prowadzonej w jelicie cienkim przez lipazę trzustkową powstaje *sn*-2 monopalmitynian glicerolu, który jest w ponad 98 % wchłaniany przez organizm dziecka i nie tworzy nierozpuszczalnych soli z kationami, takimi jak wapń i magnez. Uwalniane natomiast w wyniku hydrolizy kwasy tłuszczowe nienasycone oraz ich sole wapniowe są dobrze wchłaniane w organizmie dziecka. W przypadku spożywania przez dzieci tłuszczu o innej budowie przestrzennej TAG niż tłuszcz mleka matki, odszczepione ze skrajnych pozycji wolne kwasy tłuszczowe, w większości nasycone (C16:0; C18:0), są słabiej wchłaniane, ponieważ reagują z wolnymi jonami Ca^{2+} , tworząc nierozpuszczalne sole wapniowe, które następnie wraz z kałem są usuwane z organizmu [14, 15].

Na rys. 3. przedstawiono udział głównych kwasów tłuszczowych w pozycji wewnętrznej triacylogliceroli w mieszaninie wyjściowej, w tłuszczu przeestryfikowanym, który użyto do wypieku ciastek oraz w tłuszczu wyekstrahowanym z ciastek. W mieszaninie niepoddanej modyfikacji kwas stearynowy znajdował się w przeważającej ilości w pozycjach zewnętrznych, natomiast rozmieszczenie kwasu palmitynowego było bliskie statystycznemu. Spośród kwasów nienasyconych, kwas linolowy wykazywał tendencję do obsadzania pozycji wewnętrznej. W tłuszczu przeestryfikowanym oraz wyizolowanym z wypieczonych ciastek odpowiednio: 70,1 i 62,9 % kwasu palmitynowego było zestryfikowane w pozycji *sn*-2. Oznacza to, że zdecydowana większość tego kwasu znajdowała się w pozycji wewnętrznej. Nienasycony kwas linolowy był ulokowany głównie w pozycjach zewnętrznych *sn*-1,3, ponieważ tylko 29,6 % tego kwasu w tłuszczu przeestryfikowanym oraz 27,9 % w tłuszczu wyekstrahowanym z ciastek znajdowało się w pozycji wewnętrznej. Wirkowska i wsp. [29] stwierdzili, że rozkład kwasów w tłuszczach wyizolowanych z dostępnych na polskim rynku ciastek dla niemowląt i małych dzieci znacznie różni się od tego, który występuje w tłuszczu

mleka kobiecego. Spożycie takich ciastek przez niemowlęta powinno być zatem ograniczone.



Rys. 3. Udział wybranych kwasów w pozycji wewnętrznej (*sn-2*) triacyloglicerolu

Fig. 3. Percent content of selected fatty acids in internal position (*sn-2*) of triacylglycerol

Skład i rozmieszczenie kwasów tłuszczowych w tłuszczu wyekstrahowanym z wypieczonych ciastek generalnie nie uległy zmianie w stosunku do tłuszczu na bazie którego wypieczono produkt. Tłuszcze te charakteryzowały się strukturą triacylogliceroli zbliżoną do tłuszczu mleka kobiecego.

Wnioski

1. Przeestryfikowanie mieszaniny tłuszczu mlecznego, oleju rzepakowego i koncentratu oleju rybnego spowodowało wzrost zawartości wolnych kwasów tłuszczowych i frakcji polarnej oraz zmniejszenie stabilności oksydatywnej mieszaniny, mierzonej czasem indukcji.
2. W przeestryfikowanej mieszaninie oraz w tłuszczu wyekstrahowanym z ciastek stwierdzono obecność kwasów pochodzących zarówno z tłuszczu mlecznego, jak i długołańcuchowych niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych EPA i DHA pochodzących z koncentratu oleju rybnego.
3. Skład i rozmieszczenie kwasów tłuszczowych w tłuszczu wyekstrahowanym z wypieczonych ciastek nie uległy zmianie w stosunku do tłuszczu, na bazie którego wypieczono produkt.

4. Tłuszcz przeestryfikowany użyty do wypieku ciastek charakteryzował się strukturą triacylogliceroli zbliżoną do tłuszczu mleka kobiecego, to znaczy kwas palmitynowy zestryfikowany był głównie w pozycji *sn-2* (ponad 60 % tego kwasu znajdowała się w pozycji wewnętrznej), natomiast kwasy nienasycone zestryfikowane były w pozycjach zewnętrznych.

Literatura

- [1] Aguedo M., Giet J.M., Hanon E., Logany G., Wathélet B., Destain J., Brasseur R., Vandebol M., Danthine S., Blecker C., Wathélet J.P.: Calorimetric study of milkfat/rapeseed oil blends and their interesterification products. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2009, **111**, 376-385.
- [2] Amarowicz R.: Anitoxidant activity of Maillard reaction products. *Eur. Food Res. Technol.*, 2009, **11**, 109-111.
- [3] Ambroziak Z.: Produkcja gotowych wyrobów ciastkarskich. W: Produkcja piekarsko-ciastkarska. Część 2. WSiP, Warszawa 1999, ss. 183-244.
- [4] Bryś J., Wirkowska M., Kowalski B.: Przeestryfikowanie mieszanin tłuszczu mlekowego z olejem słonecznikowym w obecności preparatu Novozym 435. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **2 (47) Supl.**, 28-35.
- [5] Caponio F., Summo C., Paradiso V.M., Pasqualone A., Gomes T.: Evolution of the oxidative and hydrolytic degradation of biscuits' fatty fraction during storage. *J. Sci. Food Agric.*, 2009, **89**, 1392-1396.
- [6] Cichon R, Stołyhwo A.: Charakterystyka tłuszczów spożywczych dla dzieci. *Pediatrics Współczesna. Gastroenterologia, Hepatologia i Żywnienie Dziecka*, 1999, **1, 2/3**, 151-154.
- [7] Craig-Schmidt M.C.: Isomeric fatty acids: evaluating status and implications for maternal and child health. *Lipids*, 2001, **36 (9)**, 997-1006.
- [8] Gruczyńska E., Maciaszek K.: Przeestryfikowanie jako metoda modyfikacji właściwości lipidów. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2000, **24 (3)**, 31-38.
- [9] Jacobson T., Glickstein S., Rowe J., Soni P.: Effects of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on low-density lipoprotein cholesterol and other lipids: A review. *J. Clin. Lipid.*, 2012, **6**, 5-18.
- [10] Jiménez M.J., Esteban L., Robles A., Hita E., González P.A., Muñoz M.M., Molina E.: Production of triacylglycerols rich in palmitic acid at *sn-2* position by lipase-catalyzed acidolysis. *Bioch. Eng. J.*, 2010, **51**, 172-179.
- [11] Ledóchowska E., Datta I.: Wpływ frakcji nietriacyloglicerolowej na stabilność oksydacyjną tłuszczu przeestryfikowanego chemicznie i enzymatycznie. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 1999, **18 (1)**, 15-23.
- [12] Lee J.H, Akoh C.C., Lee K.-T.: Physical properties of trans-free bakery shortening produced by lipase-catalyzed interesterification. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2008, **85**, 1-11.
- [13] Lien E.L., Boyle F.G., Yuhás R., Tomorelli R. M., Quinlan P.: The effect of triglyceride positional distribution of fatty acid absorption in rats. *J. Pediatric Gastroent. Nutr.*, 1997, **25**, 167-174.
- [14] Lopez-Lopez A., Castellote-Bargalló A.I., Campoy-Folgoso C., Rivero-Urgel M., Lopez-Sabater M.C.: Fatty acid and *sn-2* fatty acid composition in human milk from Granada (Spain) and infant formulas. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 2002, **56**, 1242-1254.
- [15] Lopez-Lopez A., Castellote-Bargalló A.I., Campoy-Folgoso C., Rivero-Urgel M., Tormo-Carnice R., Infante-Pina D., Lopez-Sabater M.C.: The influence of dietary palmitic acid triacylglyceride po-

- sition on the fatty acid, calcium and magnesium contents of at term newborn faeces. *Early Human Development*, 2001, **65 (Suppl)**, 83-94.
- [16] Makrides M., Gibson R.A., Udell T., Ried K.: The International LC-PUFA Investigators: Supplementation of infant formula with long-chain polyunsaturated fatty acids does not influence the growth of term infants. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2005, **81**, 1094-1101.
- [17] Manzocco L., Calligaris S., Mastrocola D., Nicoli M.C., Lericci C.R.: Review on nonenzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods. *Trends Food Sci. Technol.*, 2001, **11**, 340-346.
- [18] Martin D., Reglero G., Senorans F.: Oxidative stability of structured lipids. *Eur. Food Res. Technol.*, 2010, **231**, 635-653.
- [19] Michalska A., Zieliński H.: Produkty reakcji Maillarda w żywności. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **2 (51)**, 5-16.
- [20] Morales F.J., Jiménez-Pérez S.: Peroxyl radical scavenging activity of melanoidins in aqueous systems. *Eur. Food Res. Technol.*, 2004, **218**, 515-520.
- [21] PN-EN ISO 6800: 2002. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie składu kwasów tłuszczowych w pozycji 2 cząsteczek triacylogliceroli.
- [22] PN-EN ISO 8420: 2004. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie zawartości związków polarnych.
- [23] PN-EN ISO 660: 2010. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby kwasowej i kwasowości.
- [24] Rozenaal A.: Interesterification of oils and fats. *International News on Fats, Oils and Related Materials*, 1992, **3 (11)**, 1232-1237.
- [25] Rutkowska J.: Tłuszcz mleczny: struktura, skład i właściwości prozdrowotne. W: *Chemia żywności: Odżywcze i zdrowotne właściwości składników żywności*. Red. Z.E. Sikorski. WNT, Warszawa 2007, ss. 39-89.
- [26] Stark K.D., Patterson A.C.: EPA and DHA – protein, not fat is “where it’s at”? Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids, 2012, **87**, 49-51.
- [27] Tarnowska K., Bryś J., Kostecka M., Wirkowska M.: Wpływ ilości wody w katalizatorze na właściwości przeestryfikowanych enzymatycznie mieszanin łożu wołowego i oleju rzepakowego. *Brom. Chemia Toksykol.*, 2009, **42 (3)**, 339-443.
- [28] Wirkowska M., Bryś J., Górka A., Ostrowska-Ligęza E., Tarnowska K.: Próby wzbogacania tłuszczu mlecznego kwasami EPA i DHA. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **3 (82)**, 46-55.
- [29] Wirkowska, M., Górka, A., Bryś, J., Ostrowska-Ligęza, E. Koczoń P.: Oxidative stability and triacylglycerols structure of lipid fraction from cookies for infants. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 2012, **63 (3)**, 296-302.
- [30] Xu X.: Production of specific-structured triacylglycerols by lipase-catalyzed reactions: a review. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2000, **102 (4)**, 287-303.

EFFECT OF ENZYMATIC INTERESTERIFICATION ON NUTRITIONAL VALUE OF FAT USED TO BAKE COOKIES FOR CHILDREN

Summary

The objective of the research study was to determine the effect of enzymatic interesterification on the quality of fat used to bake cookies for young children. A mixture of milkfat, rapeseed oil, and fish oil concentrate (4 : 5 : 1) was enzymatically interesterified with the use of a Lipozyme RM IM preparation. The cookies were baked on the basis of the interesterified fat.

In the interesterified mixture and in the fat extracted from the cookies, fatty acids were found, which originated from milkfat and from the long-chain polyunsaturated fatty acids: eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA). Their amounts in the interesterified mixture were, respectively: EPA - 1.48 % and DHA - 1.66 % DHA; their amounts in the fat from cookies were, respectively: EPA - 1.29 % and DHA - 1.42 %. The interesterification products produced and the fat extracted from the cookies were characterized by the fatty acid composition and structure of triacylglycerols similar to that in human milkfat. More than 60% of palmitic acid was esterified in the internal position of triacylglycerols, whereas the unsaturated fatty acids - in the external positions.

Key words: cookies, fatty acids, interesterification, human milkfat 

JUSTYNA CYBULSKA, JOANNA MIERCZYŃSKA, PIOTR PIECZYWEK,
MATEUSZ STASIAK, ARTUR ZDUNEK

WPŁYW JONÓW METALI DWUWARTOŚCIOWYCH NA WŁAŚCIWOŚCI REOLOGICZNE MATRYCY POLISACHARYDOWEJ Z WYTŁOKÓW JABŁKOWYCH

Streszczenie

Wytłoki powstające podczas produkcji soku jabłkowego składają się głównie z polisacharydów ścian komórkowych, które stanowią błonnik pokarmowy. Związki te powodują znaczny wzrost lepkości roztworów wodnych dzięki zdolności do sieciowania jonami metali dwuwartościowych według modelu *egg-box*. Wytłoki jabłkowe poddawano fizycznym i chemicznym przekształceniom, uzyskując matrycę polisacharydową MPSN. Celem badań było określenie zdolności do sieciowania matrycy polisacharydowej MPSN za pomocą dwuwartościowych kationów metali Ca^{2+} , Mg^{2+} i Fe^{2+} . Na podstawie wzrostu lepkości pozornej badanych roztworów stwierdzono, że każdy zastosowany kation miał zdolności sieciujące, ale w największym stopniu sieciowanie zachodziło pod wpływem Ca^{2+} i Fe^{2+} . Krzywe płynięcia matrycy MPSN opisano modelem Ostwalda de Waele'a. Roztwory MPSN z dodatkiem jonów wapnia w stężeniu 12 i 15 mM cechowały się najniższymi wartościami wskaźnika płynięcia i tym samym największym stopniem pseudoplastyczności. We wszystkich analizowanych materiałach wystąpiło zjawisko tiksotropii, które w przypadku dodatku Ca^{2+} i Fe^{2+} było zależne od ich stężenia, co świadczy o zdolności do odtwarzania struktury podczas relaksacji.

Słowa kluczowe: polisacharydy ścian komórkowych, wytłoki jabłkowe, właściwości reologiczne, jony metali dwuwartościowych

Wprowadzenie

Wytłoki stanowią główną masę odpadową w produkcji win, soków i napojów, w przeważającej części składają się z polisacharydów ścian komórkowych: celulozy, hemicelulozy i pektyn. Są one zagospodarowywane głównie jako dodatek do pasz, jed-

Dr inż. J. Cybulska, mgr inż. J. Mierczyńska, dr inż. P. Pieczywek, dr hab. A. Zdunek, prof. IA PAN, Zakład Mikrostruktury i Mechaniki Biomateriałów, dr inż. M. Stasiak, Zakład Fizycznych Właściwości Materiałów Roślinnych, Instytut Agrofizyki PAN, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin. Kontakt: j.cybulska@ipan.lublin.pl

nak ze względu na swój skład i właściwości mogłyby być stosowane w różnych gałęziach przemysłu [4]. Wyniki badań epidemiologicznych pozwoliły na powiązanie występowania tzw. chorób cywilizacyjnych ze zbyt niskim spożyciem włókna roślinnego, które powinno wynosić 25÷30 g dziennie [2, 24]. Błonnik pochodzący z owoców i warzyw m.in. wspomaga obniżenie poziomu cukru i cholesterolu we krwi, wpływa na obniżenie masy ciała, jest czynnikiem przeciwnowotworowym [13, 18]. Polisacharydy wchodzące w skład błonnika mogą też pełnić określone funkcje technologiczne w przetwórstwie żywności. Były używane jako wypełniacze, stabilizatory struktury, zagęstniki, matryce do enkapsulacji antyoksydantów oraz substancji smakowych i zapachowych [10, 12]. Błonnik z owoców i warzyw był wykorzystywany jako dodatek funkcjonalny do produktów piekarskich, lodów, przekąsek, pastylek, produktów „instant”, przetworów mięsnych i napojów dietetycznych [26, 28].

Polisacharydy mają zdolność wiązania metali [1], szczególnie pektyny mogą tworzyć stabilne sieci za pomocą wiązań pomiędzy jonami wapnia oraz wolnymi grupami karboksylowymi. Reszty karboksylowe są z reguły estryfikowane metanolem, zwłaszcza w stanie dojrzałości zbiorczej, technologicznie korzystne jest więc obniżenie stopnia metylacji, aby umożliwić tworzenie mostków wapniowych [7, 8].

Właściwości reologiczne, istotne zarówno dla procesów technologicznych, jak i dla konsumentów, określają strukturę i stopień organizacji komponentów płynów spożywczych [11, 15]. Zależność lepkości, jako podstawowego parametru opisującego zdolność do płynięcia, od prędkości ścinania określa charakter płynów. Jeżeli lepkość wzrasta ze wzrostem prędkości ścinania, płyny nazywa się dylatancyjnymi (zagęszczonymi ścinaniem), natomiast gdy lepkość zmniejsza się ze wzrostem prędkości ścinania, płyny mają charakter pseudoplastyczny (rozrzedzony ścinaniem) [27]. Charakterystyka płynów pseudoplastycznych i dylatancyjnych jest niezmienna w czasie. Wiele płynów spożywczych wykazuje jednak zachowania zmienne w czasie, związane ze wzrostem (reopeksja) lub zmniejszeniem (tikotropia) lepkości z czasem ścinania [17, 27].

Wytłoki poddane konwencjonalnemu suszeniu charakteryzują się niekorzystnymi właściwościami, podlegają bowiem sedymentacji w roztworach, są trudno rozpuszczalne i tym samym wyczuwalne dla konsumenta. W celu wykorzystania wytłoków roślinnych jako dodatku do żywności opracowano technologię fizycznego i chemicznego przetworzenia surowca do postaci umożliwiającej wykorzystanie w wielu produktach spożywczych.

Celem pracy było określenie zdolności do sieciowania matrycy polisacharydowej pochodzącej ze ścian komórkowych jabłek otrzymanych z wytłoków po produkcji soku za pomocą dwuwartościowych kationów metali.

Material i metody badań

Material do badań stanowiła, opracowana wcześniej w Instytucie Agrofizyki PAN (P.407011), matryca polisacharydowa MPSN, będąca mieszaniną polisacharydów ścian komórkowych jabłek otrzymanych z ich wytlóków po produkcji soku. Wytlóki jabłkowe suszono w warstwie fluidalnej, susz odcukrzano etanolem oraz homogenizowano ultradźwiękowo i liofilizowano. Z części suszu ekstrahowano pektyny poprzez traktowanie go roztworem kwasu cytrynowego w temp. 70 °C, zagęszczanie supernatantu w wyparce, a następnie traktowanie 25-procentową wodą amoniakalną, strącanie alkoholem izopropylowym, filtrację i suszenie rozpyłowe. Część pektyn dodatkowo deestryfikowano, traktując je węglanem potasu. Pozostały susz zawieszano w wodzie i po godzinnym mieszaniu zbierano supernatant zawierający pektyny rozpuszczalne, które suszono rozpyłowo. Liofilizat, pektyny niskoestryfikowane oraz pektyny suszone rozpyłowo mieszano w doświadczalnie zoptymalizowanych proporcjach 6 : 1 : 3, uzyskując matrycę polisacharydową (MPSN).

W matrycy MPSN oznaczano: pH, zawartość kwasu galakturonowego metodą kolorymetryczną [7, 8] i frakcje włókna pokarmowego metodą van Soesta [30]. Granulację proszku określano za pomocą standaryzowanych sit. Gęstość luźną, gęstość utrzęsioną oraz wilgotność próbki wyznaczano w automatycznym testerze proszków PT-S (Hosokawa B.V., Holandia) [25]. Analizy fizykochemiczne wykonywano w trzech powtórzeniach.

W celu zbadania wpływu jonów metali: Ca^{2+} , Mg^{2+} oraz Fe^{2+} na właściwości reologiczne matrycy polisacharydowej zastosowano wodorotlenek wapnia – $\text{Ca}(\text{OH})_2$, wodorotlenek magnezu – $\text{Mg}(\text{OH})_2$ oraz mleczan żelaza(II) – $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{FeO}_6$. Sporządzano roztwory podanych związków o stężeniach [mM]: 3, 6, 9, 12 i 15, a następnie zawieszano w nich odpowiednią naważkę matrycy polisacharydowej, otrzymując 5-procentowe roztwory. Próbkę kontrolną stanowił 5-procentowy roztwór MPSN w wodzie dejonizowanej. Wszystkie próbki homogenizowano za pomocą procesora ultradźwiękowego (VCX-130FSJ, Sonics) 2×30 min, przy częstotliwości 20 kHz i amplitudzie 57 μm . Pomiar reologiczne wykonano w pięciu powtórzeniach w stałej temp. $20 \pm 0,5$ °C za pomocą reometru rotacyjnego R/S Plus (Brookfield, Middleboro, MA), wyposażonego w układ pomiarowy typu stożek-plate. Lepkość pozorną roztworów wyznaczano przy stałej prędkości obrotowej równej 200 obr./min.

Do teoretycznego opisu doświadczalnych krzywych płynięcia zastosowano model potęgowej Ostwalda de Waele'a, zwany również modelem Power Law [21, 22]:

$$\sigma = K \times \dot{\gamma}^n$$

gdzie: σ – naprężenie styczne [Pa], K – współczynnik konsystencji [$\text{Pa} \cdot \text{s}^n$], $\dot{\gamma}$ – prędkość ścinania [s^{-1}], n – wskaźnik płynięcia.

Pole powierzchni pętli histerezy definiujące wielkość efektu tiksotropowego oznaczano jako różnicę pomiędzy polem powierzchni pod krzywą płynięcia biegnącą w górę (od początkowej wartości prędkości ścinania do maksymalnej wartości prędkości ścinania) a polem powierzchni pod krzywą płynięcia biegnącą w dół (od maksymalnej do początkowej wartości prędkości ścinania) [23].

Otrzymane wyniki poddano analizie wariancji (ANOVA), istotne różnice określano na poziomie $p < 0,05$ przy użyciu programu Statistica 10.

Wyniki badań i analiza

Matryca MPSN, złożona z polisacharydów ścian komórkowych pochodzących z wytlóków jabłkowych, zawierała znaczne ilości związków rozpuszczalnych w naturalnych detergentach (NDS) – tab. 1. Wynika to ze znacznego dodatku komponentu pektynowego oraz z funkcjonalizacją wytlóków w kierunku dezintegracji sieci polisacharydowych, rozerwania niektórych wiązań, w szczególności wodorowych i tym samym zmianę rozpuszczalności poszczególnych frakcji polisacharydów. Duża zawartość kwasu galakturonowego, powyżej 200 $\mu\text{g}/\text{mg}$, była typowa dla ścian komórkowych jabłek, w których znaczną część związków pektynowych stanowią homogalakturoniany. Matryca zawierała około 8 % wody, gęstość luźna proszku wynosiła 392 kg/m^3 , a gęstość utrzęsiona – 705 kg/m^3 .

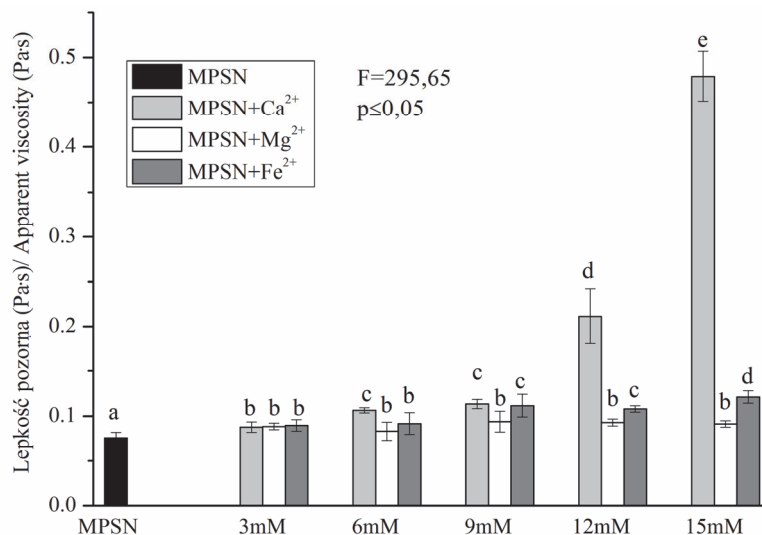
Tabela 1. Charakterystyka fizykochemiczna matrycy polisacharydowej (MPSN)

Table 1. Physical-chemical profile of polysaccharide matrix (MPSN)

Parametr Parameter	$\bar{x} \pm s / \text{SD}$
Gęstość luźna [kg/m^3] / Loose density [kg/m^3]	392 \pm 2
Gęstość utrzęsiona [kg/m^3] / Tapped density [kg/m^3]	705 \pm 9
Granulacja [μm] / Granulation [μm]	50 - 100
Wilgotność [%] / Moisture content [%]	8,05 \pm 0,04
pH	3,31 \pm 0,02
Zawartość kwasu galakturonowego [$\mu\text{g}/\text{mg}$] Galacturonic acid content [$\mu\text{g}/\text{mg}$]	204,3 \pm 8,9
Frakcje włókna pokarmowego / dietary fibre fractions	
NDF [%]	18,7 \pm 0,7
ADF [%]	13,5 \pm 0,5
NDS [%]	81,3 \pm 0,7
Hemicelulozy [%] / Hemicelluloses [%]	5,2 \pm ?

Objaśnienia: / Explanatory notes:

\bar{x} – wartość średnia / mean value; s – odchylenie standardowe / SD – standard deviation; n = 5



Objaśnienia: / Explanatory notes:

Symbole literowe oznaczają różnice statystycznie istotne względem MPSN oraz w grupach dla danych czynników sieciujących ($p < 0,05$) / Letters denote statistically significant differences in regard to MPSN and in groups for given cross-linking factors ($p < 0.05$).

Rys. 1. Lepkość pozorna 5-procentowego roztworu matrycy polisacharydowej (MPSN) w zależności od rodzaju i stężenia jonów metali obecnych w roztworze

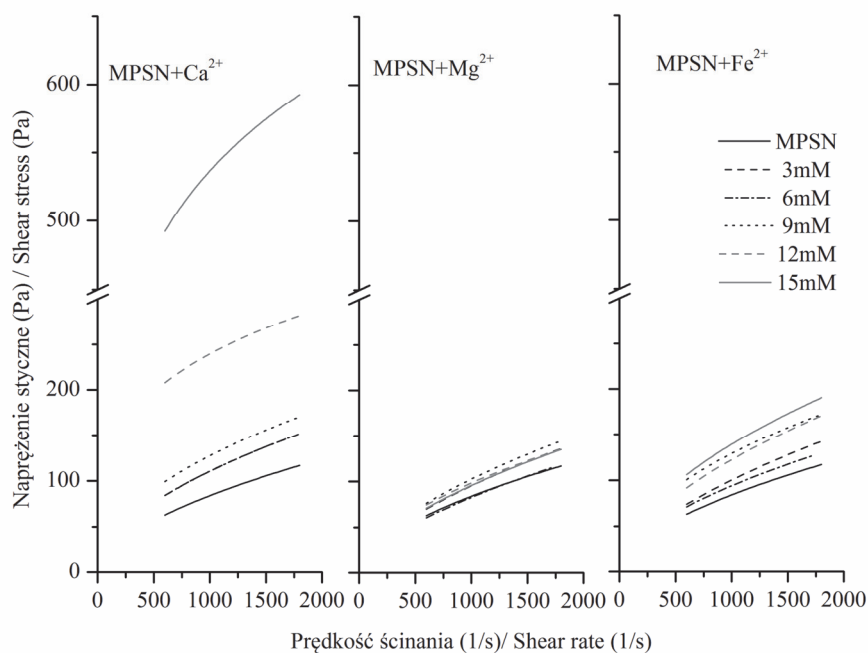
Fig. 1. Apparent viscosity of 5 % solution of polysaccharide matrix (MPSN) depending on type of metal ions that are present in solution and on their concentration

Na rys. 1. przedstawiono zmiany lepkości pozornej matrycy MPSN w zależności od rodzaju i stężenia jonów metali obecnych w jej 5-procentowym roztworze. Dodatek każdego czynnika sieciującego powodował wzrost lepkości pozornej matrycy. Mechanizm tworzenia żeli przez niskoestryfikowane pektyny przy udziale mostków wapniowych wynika z modelu *egg-box* dotyczącego sieciowania polisacharydów przez dwuwartościowe kationy [14]. Formacja tzw. stref węzłowych (*junction zones*) według modelu *egg-box* odbywa się poprzez tworzenie wiązań jonowych przez jony Ca^{2+} pomiędzy przyległymi, nieestryfikowanymi resztami kwasu galakturonowego cząsteczek pektyn. Liczba tworzonych mostków wapniowych w ramach jednego punktu węzłowego decyduje o sile wiązania oddzielnych cząsteczek pektyn. Rozkład obszarów o niskim stopniu estryfikacji w łańcuchach homogalakturonianów oraz ich rozmiar decydują o mocy, stabilności oraz liczbie stref węzłowych. W skali makroskopowej determinuje to reologiczne i mechaniczne właściwości żelu pektynowego [19]. Największy wzrost lepkości pozornej był wywołany dodatkiem jonów wapnia, przy czym wzrost ten zależał od stężenia Ca^{2+} . Efekt sieciowania jonami wapnia jest znany i opisany przez wielu autorów [3, 6, 19]. Tak duża zdolność do sieciowania wapniem

w przypadku MPSN jest związana z występowaniem sekwencji wolnych grup COO^- w ilości wystarczającej do utworzenia połączeń jonowych. Uzyskano to poprzez wkład niskoestryfikowanego komponentu pektynowego, co pozwoliło uzyskać stopień metylacji matrycy na poziomie 37,9 % [5].

Dotychczas nie stwierdzono sieciowania polisacharydów ścian komórkowych jonami żelaza. W przypadku matrycy MPSN z jonami żelaza(II) o stężeniu 15 mM lepkość pozorna układu wynosiła 0,121 Pa·s, natomiast matryca bez dodatku jonów metali miała lepkość pozorną równą 0,076 Pa·s, co świadczy o sieciowaniu polisacharydów matrycy również przez jony Fe^{2+} . Najmniejszy wzrost lepkości pozornej, ale statystycznie istotny ($p < 0,05$), zaobserwowano w przypadku jonów magnezu. I w tym przypadku dla każdego zastosowanego stężenia lepkość pozorna była podobna i oscylowała wokół wartości 0,09 Pa·s.

Na rys. 2. przedstawiono teoretyczne krzywe płynięcia roztworów matrycy MPSN z dodatkiem Ca^{2+} , Mg^{2+} i Fe^{2+} w różnych stężeniach, obliczone na podstawie danych eksperymentalnych według modelu Ostwalda de Waele'a.



Rys. 2. Krzywe płynięcia 5-procentowego roztworu matrycy polisacharydowej (MPSN) z dodatkiem jonów Ca^{2+} , Mg^{2+} i Fe^{2+} w stężeniach 3, 6, 9, 12 i 15 mM, wyznaczone wg modelu Ostwalda de Waele'a

Fig. 2. Flow curves of 5 % polysaccharide matrix (MPSN) with addition of Ca^{2+} , Mg^{2+} , and Fe^{2+} ions at 3, 6, 9, 12, and 15 mM rates of concentration, and determined according to Ostwald de Waele's model

Parametry modelu Ostwalda de Waele'a zamieszczono w tab. 2. Dla wszystkich krzywych teoretycznych uzyskano dopasowanie do danych doświadczalnych na poziomie $R^2 > 0,95$. W zależności od wskaźnika płynięcia n , płyny mogą być klasyfikowane jako niutonowskie ($n = 1$), pseudoplastyczne ($n < 1$) bądź dylatancyjne ($n > 1$) [16]. We wszystkich analizowanych roztworach wskaźnik płynięcia n był mniejszy od 1, co oznacza, że płyny te są płynami pseudoplastycznymi. W większości przypadków współczynnik płynięcia wynosił około 0,5, natomiast przy najwyższych stężeniach jonów wapnia – 12 i 15 mM Ca^{2+} wynosił odpowiednio: 0,3 i 0,2. Matryca polisacharydowa z dodatkiem jonów Ca^{2+} o wyższych stężeniach miała więc najbardziej pseudoplastyczny charakter. W tych dwóch przypadkach również wskaźnik konsystencji różnił się znacząco od pozostałych, wynoszących od 1,2 do 4,4 Pa·sⁿ i wynosił odpowiednio: około 35 i 167 Pa·sⁿ.

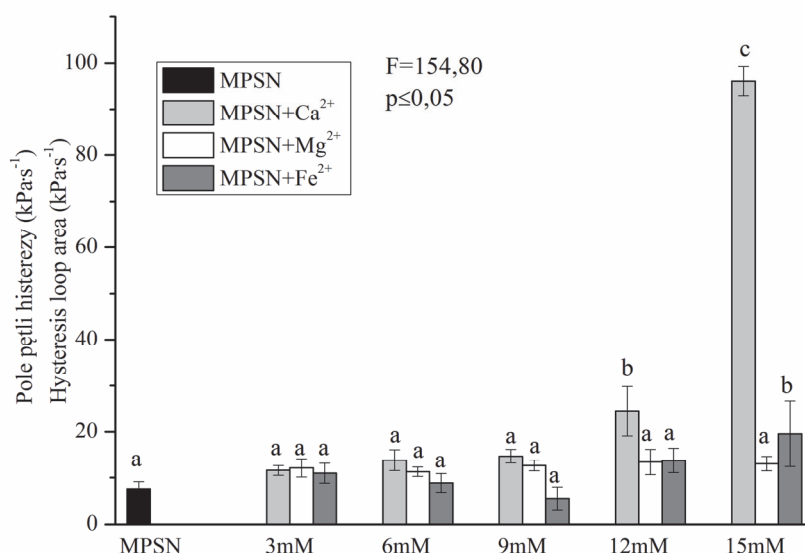
Tabela 2. Parametry modelu Ostwalda de Waele'a opisujące właściwości reologiczne matrycy polisacharydowej z dodatkiem jonów metali w porównaniu z próbką kontrolną (5-procentowy roztwór matrycy polisacharydowej)

Table 2. Parameters of Ostwald de Waele's model, which describe rheological properties of polysaccharide matrix with addition of metal ions, compared to control sample (5 % polysaccharide matrix solution)

Próbka Sample	Stężenie jonów metali Metals ions concentration rate [mM]	K (Pa·s ⁿ)	N	R ²
MPSN kontrolna / MPSN control		1,7	0,6	0,97
MPSN + Ca ²⁺	3	3,1	0,5	0,98
	6	2,7	0,5	0,99
	9	4,3	0,5	0,98
	12	35,1	0,3	0,96
	15	167,4	0,2	0,95
MPSN + Mg ²⁺	3	1,5	0,6	0,99
	6	1,2	0,6	0,98
	9	1,9	0,6	0,98
	12	2,4	0,5	0,98
	15	1,7	0,6	0,97
MPSN + Fe ²⁺	3	1,6	0,6	0,98
	6	2,1	0,5	0,98
	9	4,4	0,5	0,96
	12	2,5	0,6	0,98
	15	3,5	0,5	0,98

Na podstawie analizy krzywych płynięcia matrycy MPSN z dodatkiem dwuwartościowych metali zaobserwowano, że krzywe wstępujące i zstępujące nie pokrywają się w żadnym przypadku i tym samym formują pętlę histerezy (rys. 3). Występowanie

pętli histerezy jest charakterystyczne dla zjawiska tiksotropii, które oznacza odwracalne przejście z żelu do zolu w wyniku zastosowanych sił oraz powrót do stanu żelu, gdy siła przestaje oddziaływać na próbkę. Efekt tiksotropowy jest związany ze złożoną strukturą materiału [20], tak jak w przypadku matrycy polisacharydowej składającej się z polimerów o różnym stopniu rozgałęzienia oraz krystaliczności [5]. Im większe pole pętli histerezy, tym silniejsze właściwości tiksotropowe [9]. Największy wpływ na tiksotropię matrycy MPSN miał dodatek jonów wapnia i żelaza w najwyższych stężeniach: 12 i 15 mM. Zdolność do odtwarzania struktury przez układy o największym stopniu zżelowania jest prawdopodobnie związana z zastosowanymi modyfikacjami polisacharydów na poziomie molekularnym. Ultradźwiękowa homogenizacja, mechaniczna mikronizacja oraz suszenie rozpyłowe powodowały zmniejszenie długości włókien polisacharydów i licznych bocznych łańcuchów hemiceluloz i pektyn, co ułatwia reorganizację sieci polisacharydowej w procesie relaksacji. Efekt tiksotropowy może mieć duże znaczenie w przetwórstwie żywności. W wielu procesach technologicznych



Objaśnienia: / Explanatory notes:

Symbole literowe oznaczają różnice statystycznie istotne względem MPSN oraz w grupach dla danych czynników sieciujących ($p < 0,05$) / Letters denote statistically significant differences in regard to MPSN and in groups for given cross-linking factors ($p < 0.05$).

Rys. 3. Wykres opisujący zjawisko histerezy krzywych płynięcia 5-procentowego roztworu matrycy MPSN z dodatkiem jonów Ca^{2+} , Mg^{2+} i Fe^{2+} w stężeniach 3, 6, 9, 12 i 15 mM

Fig. 3. Graph describing phenomenon of hysteresis loop in flow curves of 5 % MPSN polysaccharide matrix with addition of Ca^{2+} , Mg^{2+} , and Fe^{2+} ions at following concentration rates: 3, 6, 9, 12, and 15 mM

występuje zaburzenie wewnętrznej struktury materiału i stopień jej regeneracji może decydować o postaci finalnego produktu. Wiedza na temat tego procesu jest istotna podczas prognozowania właściwości reologicznych materiałów podczas mieszania, przepływu przez przewody i relaksacji [17, 27]. Biorąc pod uwagę, że pektyny, jako związki rozpuszczalne, są przyswajalną i częściowo wykorzystywaną przez organizm człowieka frakcją błonnika, dodatek jonów metali do preparatów zawierających pektyny może być skutecznym sposobem do wprowadzania deficytowych jonów do diety oraz jednocześnie poprawienia właściwości strukturyzowania produktów płynnych i półpłynnych.

Wnioski

1. Dodatek jonów dwuwartościowych metali Ca^{2+} , Mg^{2+} i Fe^{2+} powodował wzrost lepkości pozornej matrycy polisacharydowej (MPSN) pozyskanej z wycieków jabłkowych, przy czym wzrost ten był największy w przypadku jonów wapnia oraz żelaza, natomiast w przypadku magnezu sieciowanie wystąpiło w znacznie mniejszym stopniu.
2. Model Ostwalda de Waele'a opisywał krzywe doświadczalne z dokładnością na poziomie $R^2 > 0,95$. Na podstawie teoretycznych krzywych płynięcia stwierdzono, że roztwory MPSN z dodatkiem jonów wapnia w stężeniu 12 i 15 mM cechują się największym stopniem pseudoplastyczności.
3. We wszystkich analizowanych materiałach wystąpiło zjawisko tiksotropii, które w przypadku dodatku Ca^{2+} i Fe^{2+} było zależne od ich stężenia. Matryce polisacharydowe sieciowane tymi metalami potencjalnie mogą odtwarzać swoją strukturę podczas relaksacji.

Badania były finansowane ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju w ramach programu Lider (Nr projektu Lider/23/109/L-2/10/NCBiR/2011).

Literatura

- [1] Borycka B.: Wiązanie jonów miedzi, cynku i żelaza przez włókno pokarmowe z wycieków czarnych porzeczek. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **3 (44)**, 83-91.
- [2] Brownlee I.A.: The physiological roles of dietary fibre. *Food Hydrocoll.*, 2011, **25**, 238-250.
- [3] Cybulska J., Pieczywek P.M., Zdunek A.: The effect of Ca^{2+} and cellular structure on apple firmness and acoustic emission. *Eur. Food Res. Technol.*, 2012, **235**, 119-128.
- [4] Cybulska J., Sitkiewicz I., Galus S., Janiszewska E., Łaba S., Nowacka M., Zdunek A.: Możliwości zagospodarowywania wycieków i innych odpadów przemysłu owocowo-warzywnego. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2013, **9**, 27-29.
- [5] Cybulska J., Szymańska-Chargot M., Zdunek A.: Zastosowanie spektrometrii ramanowskiej oraz FT-IR w analizie matryc polisacharydowych. W: *Nauka i przemysł – metody spektroskopowe w praktyce, nowe wyzwania i możliwości*. Red. Z. Hubicki. UMCS, Lublin 2014, ss. 481-484.

- [6] Cybulska J., Zdunek A., Konstankiewicz K.: Calcium effect on mechanical properties of model cell walls and apple tissue. *J. Food Eng.*, 2011, **102**, 217-223.
- [7] Cybulska J., Zdunek A., Kozioł A.: Structural changes of cell wall pectin in the carrot during post-harvest ripening. *Food Hydrocoll.*, 2014, DOI: 10.1016/j.foodhyd.2014.04.032.
- [8] Cybulska J., Zdunek A., Psonka-Antonczyk K.M., Stokke B.T.: The relation of apple texture with cell wall nanostructure studied using an atomic force microscope. *Carbohydr. Polym.*, 2013, **92**, 128-137.
- [9] Dolz M., Hernández M.J., Delegido J., Alfaro M.C., Muñoz J.: Influence of xanthan gum and locust bean gum upon flow and thixotropic behavior of food emulsions containing modified starch. *J. Food Eng.*, 2007, **81**, 179-186.
- [10] Elleuch M., Bedigian D., Roiseux O., Besbes S., Blecker C., Attia H.: Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: A review. *Food Chem.*, 2011, **124**, 411-421.
- [11] Espinosa-Muñoz L., Renard C.M.G.C., Symoneaux R., Biau N., Cuvelier G.: Structural parameters that determine the rheological properties of apple puree. *J. Food Eng.*, 2013, **119**, 619-626.
- [12] Figuerola F., Hurtado M.L., Estévez A.M., Chiffelle I., Asenjo F.: Fibre concentrates from apple pomace and citrus peel as potential fibre sources for food enrichment. *Food Chem.*, 2005, **91**, 395-401.
- [13] Foster-Powell K., Holt S.H.A., Brand-Miller J.C.: International tables of glycemic index and glycemic load values. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2002, **76**, 5-56.
- [14] Grant G.T., Morris E.R., Rees D.A., Smith P.J.C., Thom D.: Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: the egg-box model. *FEBS Letters*, 1973, **32**, 1, 195-198.
- [15] Juszczak L., Witczak M., Zięba T., Fortuna T.: Rheological behavior of heated potato starch dispersions. *Int. Agrophys.*, 2012, **26**, 381-386.
- [16] Liang Z.P., Wang X.D., Duan Y.Y., Min Q.: Energy-based model for capillary spreading of power-law liquids on a horizontal plane. *Colloid. Surface A*, 2012, **403**, 155-163.
- [17] Ma J., Lin Y., Chen X., Zhao B., Zhang J.: Flow behavior, thixotropy and dynamical viscoelasticity of sodium alginate aqueous solutions. *Food Hydrocoll.*, 2014, **38**, 119-128.
- [18] Nawirska A., Kwaśniewska M.: Dietary fibre fractions from fruit and vegetable processing waste. *Food Chem.*, 2005, **91**, 221-225.
- [19] Ngouémazong D.E., Tengweh F.F., Fraeye I., Duvetter T., Cardinaels R., Van Loey A., Moldenaers P., Hendrickx M.: Effect of de-methylesterification on network development and nature of Ca²⁺-pectin gels: Towards understanding structure-function relations of pectin. *Food Hydrocoll.*, 2012, **26**, 89-98.
- [20] Ottone M., Peirotti M.B., Deiber J.A.: Rheokinetic model to characterize the maturation process of gelatin solutions under shear flow. *Food Hydrocoll.*, 2009, **23**, 1342-1350.
- [21] Penna A.L.B., Sivieri K., Oliveira M.N.: Relation between quality and rheological properties of lactic beverages. *J. Food Eng.*, 2001, **49**, 7-13.
- [22] Plaskota D.: Właściwości reologiczne jogurtów w zależności od czasu ich dojrzewania. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **4** (41), 88-99.
- [23] Razavi S.M.A., Karazhiyan H.: Flow properties and thixotropy of selected hydrocolloids: Experimental and modeling studies. *Food Hydrocoll.*, 2009, **23**, 908-912.
- [24] Slavin J.L.: Dietary fiber and body weight. *Nutrition*, 2005, **21**, 411-418.
- [25] Stasiak M., Molenda M., Opaliński I., Błaszczak W.: Mechanical properties of native corn, wheat and potato starches. *Czech J. Food Sci.*, 2013, **31** (4), 347-354.
- [26] Soukoulis C., Lebesi D., Tzia C.: Enrichment of ice cream with dietary fibre: Effects on rheological properties, ice crystallisation and glass transition phenomena. *Food Chem.*, 2009, **115**, 665-671.
- [27] Tabilo-Munizaga G., Barbosa-Cánovas G.V.: Rheology for the food industry. *J. Food Eng.*, 2005, **67**, 147-156.
- [28] Tharanathan R.N.: Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. *Trends Food Sci. Technol.*, 2003, **14**, 71-78.
- [29] Van Heerden I., Cronjé C., Swart S.H., Kotzé J.M.: Microbial, chemical and physical aspects of citrus waste composting. *Bioresource Technol.*, 2002, **81**, 71-76.

- [30] Van Soest P.J., Robertson J.B., Lewis B.A.: Symposium: Carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. J. Dairy Sci., 1991, **74**, 3583-3597.

EFFECT OF DIVALENT METAL IONS ON RHEOLOGICAL PROPERTIES OF POLYSACCHARIDE MATRIX FROM APPLE POMACE

S u m m a r y

Pomace produced during the apple juice production is composed mainly of cell wall polysaccharides, which constitute a dietary fibre. Since those compounds can be cross-linked with some divalent metal ions according to an *egg-box* model, they cause the viscosity of aqueous solutions to significantly increase. The apple pomace analyzed was physically and chemically transformed in order to obtain an MPSN polysaccharide matrix. The objective of the research study was to determine the ability of MPSN polysaccharide matrix to cross-link by means of the divalent metal cations of Ca^{2+} , Mg^{2+} , and Fe^{2+} . On the basis of the increase in the apparent viscosity of the solutions analyzed, it was found that each ion applied had the cross-linking ability; however, the greatest degree of cross-linking was obtained by the Ca^{2+} and Fe^{2+} ions. The flow curves of MPSN matrix were described by an Ostwald de Waele's model. The MPSN solutions with calcium ions added at 12 and 15 mM concentration rates were characterized by the lowest flow behaviour indices and, thus, by the highest pseudoplasticity degree. In all the analyzed samples, a thixotropy phenomenon occurred: in the case of Ca^{2+} and Fe^{2+} , this phenomenon depended on their concentration rate. This fact proves their ability to regenerate structure during relaxation.

Key words: cell wall polysaccharides, apple pomace, rheological properties, divalent metal ions 

KRYSTIAN MARSZAŁEK, ŁUKASZ WOŹNIAK, SYLWIA SKĄPSKA

WPLYW DITLENKU WĘGLA W STANIE NADKRYTYCZNYM NA WYBRANE WYRÓŻNIKI JAKOŚCI UTRWALANEGO SOKU TRUSKAWKOWEGO

Streszczenie

Zastosowanie ditlenku węgla pod wysokim ciśnieniem (HPCD) jest nietermiczną metodą utrwalania żywności, umożliwiającą efektywną redukcję liczby drobnoustrojów i inaktywację enzymów tkankowych przy jednoczesnym zachowaniu właściwości odżywczych i jakości sensorycznej produktu. Celem pracy było określenie wpływu parametrów procesu na jakość soku truskawkowego utrwalonego metodą HPCD. Surowcem do badań były mrożone truskawki odmiany *Senga Sengana*. Bezpośrednio po tłoczeniu sok poddawano działaniu ditlenku węgla, wykorzystując urządzenie Spe-ed SFE 4 (Applied Separations, USA) przy różnych parametrach ciśnienia (10, 30, 60 MPa), temperatury (35, 45, 65 °C) oraz czasu (10, 20, 30 min). Próbę kontrolną stanowił sok nieutrwalany. Badania wykazały, że proces prowadzony przy ciśnieniu 60 MPa pozwalał na skuteczną redukcję drobnoustrojów, nawet o ponad 3 cykle logarytmiczne. Pełną inaktywację oksydazy polifenolowej można było uzyskać w każdym z testowanych ciśnień, zaś najwyższy jej stopień (95 %) osiągano w temp. 65 °C, niezależnie od stosowanego czasu i ciśnienia. Antocyjany były dobrze zachowane, jedynie w temp. 65 °C obserwowano istotne zmniejszenie ich zawartości – o 10 %. Zmiany barwy soku wyrażone jako bezwzględna różnica barwy ΔE były niższe od 2, co oznacza, że były one niemal niezauważalne przez niedoświadczonego obserwatora. HPCD okazało się dobrą metodą utrwalania soku truskawkowego, zapewniającą jego wysoką jakość mikrobiologiczną i fizykochemiczną.

Słowa kluczowe: nadkrytyczny ditlenek węgla, aktywność enzymatyczna, oksydaza polifenolowa, peroksydaza, sok truskawkowy

Wprowadzenie

Od ponad 10 lat Polska należy do pierwszej dziesiątki krajów pod względem produkcji truskawek, a zbiory tych owoców są tu największe na świecie w przeliczeniu na

Dr inż. K. Marszałek, mgr. inż. Ł. Woźniak, dr inż. S. Skąpska, Zakład Technologii Przetworów Owocowych i Warzywnych, Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego, ul. Rakowiecka 36, 02-532 Warszawa. Kontakt: krystian.marszalek@ibprs.pl

jednego mieszkańca [6, 19]. Truskawki, poza atrakcyjną barwą oraz oryginalnym smakiem i aromatem, charakteryzuje duża zawartość cennych składników biologicznie aktywnych, takich jak: antocyjany, flawonole, flawanole, kwasy fenolowe, witamina C, makro- i mikroelementy oraz wysoka pojemność przeciwutleniająca [13, 10]. Przetwórstwo truskawek jest utrudnione ze względu na małą trwałość barwników antocyjanowych odpowiadających za barwę owoców oraz wysoką aktywność enzymów tkanekowych odpowiedzialnych za brązowienie enzymatyczne [6, 8, 9].

Wśród konsumentów obserwuje się coraz większą świadomość związku między odżywianiem i jakością życia, stąd zainteresowanie żywnością o niskim stopniu przetworzenia i bogatą w składniki biologicznie aktywne [3, 8]. Poza wysoką wartością żywieniową, żywność taka charakteryzuje się również cenionymi walorami sensorycznymi: barwą, smakiem i zapachem zbliżonymi do surowca świeżego. Dlatego też innowacyjne metody utrwalania żywności są przedmiotem zainteresowania naukowców i przemysłu. Duży potencjał ma w tym aspekcie użycie wysokich ciśnień hydrostatycznych (HPP) stosowanych w skali przemysłowej od przeszło dwóch dekad. W technice tej wykorzystuje się ciśnienia rzędu $200 \div 800$ MPa, co pozwala na skuteczną inaktywację większości wegetatywnej mikroflory. Ciśnienia tego rzędu nie są jednak skuteczne w stosunku do szeregu termo- i barostabilnych enzymów, takich jak polifenoloksydazy (PPO) czy peroksydazy (POD), odpowiedzialne za niekorzystne zmiany w trakcie przechowywania utrwalanych produktów, tj. brunatnienie enzymatyczne czy pogarszanie smaku i zapachu w efekcie reakcji utleniania [9]. Prowadzone ostatnio badania wykazały, że utrwalanie żywności wysokim ciśnieniem w atmosferze ditlenku węgla w stanie nadkrytycznym (HPCD), mimo stosowania znacząco (o rząd wielkości) niższego ciśnienia, jest równie skuteczne w aspekcie inaktywacji drobnoustrojów co HPP, umożliwiając jednocześnie osiągnięcie istotnie wyższego poziomu inaktywacji enzymów [1, 2, 15].

Ditlenek węgla (CO_2) w stanie nadkrytycznym był przedmiotem badań technologii żywności już w latach 70. ubiegłego stulecia. Ze względu na niską cenę, nietoksyczność, niewielką reaktywność chemiczną i stosunkowo niskie parametry punktu krytycznego znalazł on zastosowanie podczas ekstrakcji różnych związków z żywności. Obecnie nadkrytyczny CO_2 stosuje się m.in. podczas produkcji kawy bezkofeinowej, ekstrakcji aromatów chmielowych czy usuwania tłuszczu z szerokiej gamy produktów spożywczych [2, 15]. Zainteresowanie wzbudza stosowanie płynów w stanie nadkrytycznym do utrwalania żywności. Dzięki stosowaniu dość niskich temperatur metoda ta ogranicza straty substancji bioaktywnych, co jest istotne w przypadku wrażliwych składników termolabilnych, m.in. antocyjanów i witaminy C, obecnych w truskawkach. Wykazano skuteczność tej metody w redukcji liczby mikroorganizmów, również w formie spor, i inaktywacji enzymów w licznych matrycach [2]. Zmniejszaniu liczby mikroorganizmów w wyniku działania nadkrytycznego CO_2 przy-

pisuje się kilka mechanizmów, m.in. inaktywację kluczowych enzymów na skutek obniżenia pH cytoplazmy, zaburzenie balansu elektrolitów w komórce oraz wymywanie składników z błon komórkowych [5].

Celem pracy była ocena zastosowania ditlenku węgla w stanie nadkrytycznym do utrwalania soku truskawkowego, w tym określenie zmian podstawowych wskaźników jakości: liczby mikroorganizmów, aktywności enzymów tkankowych, zawartości antocyanów i parametrów barwy, zachodzących pod wpływem procesu prowadzonego przy różnych parametrach czasu, temperatury i ciśnienia.

Materiał i metody badań

Materiałem do badań był sok truskawkowy otrzymany w skali laboratoryjnej przez tłoczenie truskawek odmiany 'Senga Sengana'. Owoce zakupiono w firmie Ulmer Sp.j. (Stare Zadybie, Polska) ze zbiorów w czerwcu 2013 r., a następnie posortowano na sortowniku optycznym (Niagara Sortex, Bühler, Szwajcaria) pod względem wielkości ($45 \div 55$ mm) oraz barwy i zamrożono w przemysłowym tunelu fluidyzacyjnym (UniDex, Polska). Owoce przechowywano w temp. -24 °C do momentu rozpoczęcia badań. Bezpośrednio przed obróbką owoce rozmrażano w temp. 20 ± 2 °C, rozdrabniano w urządzeniu wielofunkcyjnym (CL-30, Robot Coupe, Francja) oraz poddawano działaniu preparatu pektynolitycznego (Klerzyme 150, DSM, Francja). Otrzymaną miazgę tłoczono przy użyciu hydraulicznej prasy warstwowej (Tako, Polska), a powstały sok poddawano odpowietrzaniu pod ciśnieniem 0,06 MPa w odpowietrzaczu rozpyłowym (LVE, Fryma, Szwajcaria). Bezpośrednio po odpowietrzeniu sok rozlewano do szklanych probówek, które umieszczano w komorze ciśnieniowej i utrwalano przy użyciu ditlenku węgla w stanie nadkrytycznym w aparacie Spe-ed SFE 4 (Applied Separations, USA), stosując po trzy warianty temperatury (35, 45 i 65 °C), ciśnienia (10, 30 i 60 MPa) oraz czasu trwania procesu (10, 20 i 30 min). Próbkę kontrolną stanowił sok niepoddany procesowi utrwalania.

Zmiany zawartości antocyanów podczas utrwalania oznaczano metodą HPLC według Oszmiańskiego [14]. Przed oznaczaniem próbki oczyszczano w kolumnkach Sep-Pak C₁₈ (Waters, USA). Analizy prowadzono z użyciem wysokosprawnego chromatografu cieczowego Waters 2695 z detektorem spektrofotometrycznym Waters 2996. Do rozdziału używano kolumny Sunfire C18 $5 \mu\text{m} \times 250 \text{ mm} \times 4,6 \text{ mm}$ z prekolumną w temp. 25 °C. Zastosowano układ gradientowy [14], w którym eluent A stanowił 4,5-procentowy kwas mrówkowy oraz czynnik B – acetonitryl. Wyniki rejestrowano przy $\lambda = 520 \text{ nm}$, zaś monomery antocyanów identyfikowano na podstawie porównania czasów retencji ze wzorcami i danymi literaturowymi.

Wpływ nadkrytycznego ditlenku węgla na aktywność enzymatyczną oceniano na przykładzie oksydazy polifenolowej (PPO) oraz peroksydazy (POD). Aktywność obu enzymów oznaczano metodą spektrofotometryczną [17]. W badaniach aktywności

PPO mierzono zmiany absorbancji podczas enzymatycznego utleniania katecholu do benzochinonu, a do badania zmian aktywności POD wykorzystano reakcję utleniania fenylendiaminy towarzyszącej utlenianiu nadtlenu wodoru.

Jakość mikrobiologiczną próbek określano jako ogólną liczbę drobnoustrojów mezofilnych zgodnie z normą PN-EN ISO 4833:2004+AP1:2005 [20]. Metoda ta polega na posiewie płytek z pożywką agarową metodą zalewową i inkubacji w warunkach tlenowych w temp. 30 °C przez 72 h.

W próbkach określano również barwę przy użyciu kolorymetru Konica Minolta CR-200 w kuwetach szklanych o grubości 5 mm wobec wzorca bieli. Pomiaru prowadzone były w systemie CIE L*a*b* z zastosowaniem iluminantu D65. Całkowitą bezwzględną różnicę barwy próbek po procesie w stosunku do barwy próbki nieutralowanej wyrażano współczynnikiem $\Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$.

Wszystkie analizy wykonywano dwukrotnie, a ich wyniki opracowano przy użyciu programu Statistica 10 z zastosowaniem jednoczynnikowej analizy wariancji. Ocenę istotności wpływu poszczególnych składników przeprowadzono testem Tuckeya na poziomie istotności $p = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

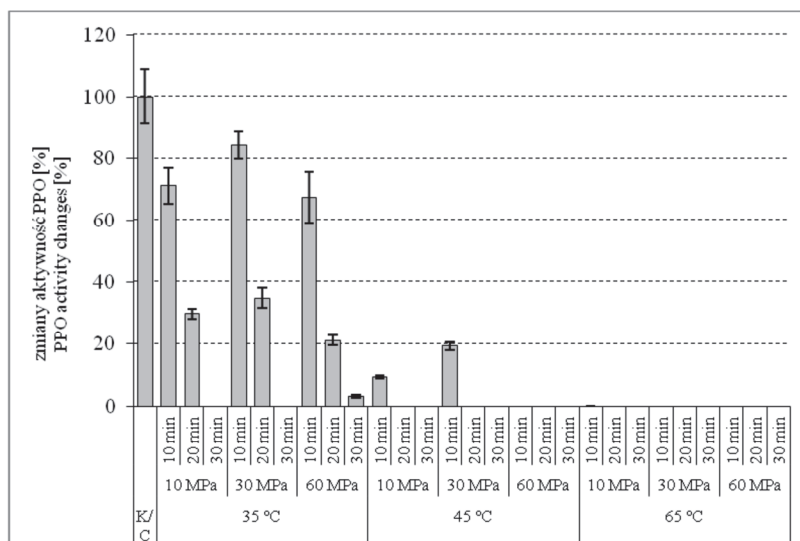
Najważniejszym kryterium oceny skuteczności stosowanej metody utrwalania żywności jest stopień redukcji mikroflory obecnej w produkcie (tab. 1). Zastosowanie niższych wartości ciśnienia (10 i 30 MPa) pozwoliło jedynie na nieznaczne zmniejszenie liczby jednostek tworzących kolonie, redukcja nie przekraczała 1,7 log. Zadowolające wyniki uzyskano dopiero po zastosowaniu najwyższego ciśnienia (60 MPa), które umożliwiło zmniejszenie liczby drobnoustrojów poniżej 10 jtk/ml (o trzy cykle logarytmiczne) po 30 min procesu, niezależnie od stosowanej temperatury. W próbce poddanej działaniu ciśnienia 60 MPa w temp. 65 °C przez 30 min uzyskano całkowitą inaktywację mikroflory mezofilnej.

Na rys. 1. i 2. przedstawiono zmiany aktywności oksydazy polifenolowej (PPO) oraz peroksydazy (POD). PPO okazała się bardziej wrażliwa na działanie ditlenku węgla – w większości testowanych parametrów nastąpiła całkowita inaktywacja tego enzymu. Skuteczny okazał się nawet proces prowadzony w najniższym stosowanym ciśnieniu i najniższej temperaturze w ciągu 30 min. Jedynie w próbkach poddawanych działaniu temp. 35 °C przez 10 lub 20 min enzym ten zachował znaczącą aktywność, a czas działania procesu wpływał statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) na obniżenie aktywności PPO. Zaobserwowano również istotnie ($p \leq 0,05$) niższą aktywność badanego enzymu we wszystkich badanych próbkach względem próby kontrolnej. Aktywność peroksydazy istotnie ($p \leq 0,05$) malała na skutek utrwalania, jednak w żadnym z wariantów nie uzyskano pełnej inaktywacji. Stopień inaktywacji tego enzymu w temp. 35 i 45 °C istotnie ($p \leq 0,05$) zależał od czasu trwania procesu, natomiast wpływ ciśnienia

nie był jednoznaczny. Najkorzystniejsze wyniki uzyskano po zastosowaniu temp. 65 °C; soki poddane działaniu ditlenku węgla w tej temperaturze cechowała statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) niższa aktywność POD na poziomie 5 ÷ 10 % wobec próbki kontrolnej.

Tabela 1. Ogólna liczba drobnoustrojów w soku truskawkowym utrwalanym w nadkrytycznym CO₂
Table 1. Total microbial count in strawberry juice preserved using supercritical CO₂

Seria nr 1 / Series 1		Seria nr 2 / Series 2	
Parametry procesu/ Process parameters	Ogólna liczba drobnoustrojów Total microbial count [jtk/ml] / [cfu/ml]	Parametry procesu/ Process parameters	Ogólna liczba drobnoustrojów Total microbial count [jtk/ml] / [cfu/ml]
10 MPa 10 min 45 °C	$9,1 \cdot 10^3$	60 MPa 10 min 65 °C	10
10 MPa 20 min 45 °C	$5,8 \cdot 10^3$	60 MPa 30 min 35 °C	4
10 MPa 30 min 45 °C	$3,5 \cdot 10^3$	60 MPa 30 min 45 °C	2
30 MPa 10 min 45 °C	$2,3 \cdot 10^2$	60 MPa 30 min 65 °C	<1
30 MPa 10 min 45 °C	$2,3 \cdot 10^2$	60 MPa 30 min 65 °C	<1

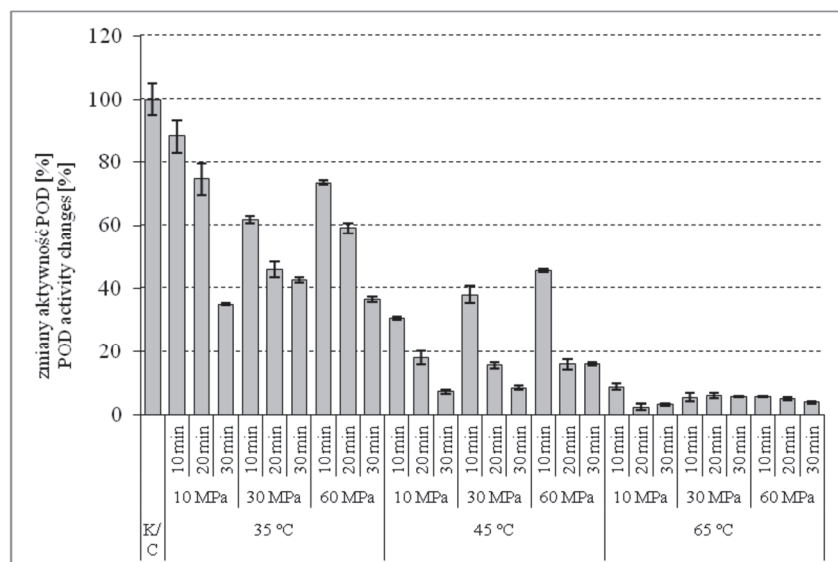


Objaśnienie: / Explanatory note:

K / C = próbka kontrolna / control sample

Rys. 1. Zmiany aktywności oksydazy polifenolowej w soku truskawkowym utrwalonym w nadkrytycznym CO₂

Fig. 1. Changes in activity of polyphenol oxidase in strawberry juice preserved using supercritical CO₂



Objaśnienie: / Explanatory note:

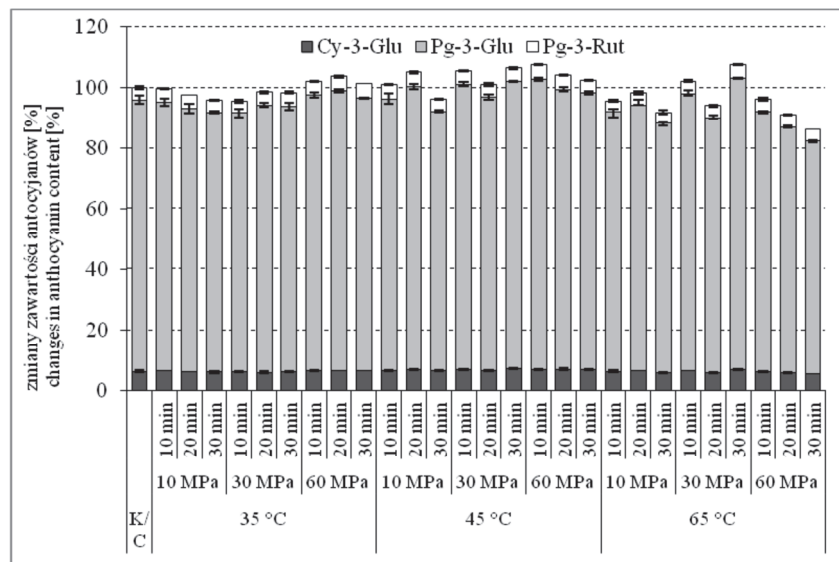
K / C = próbka kontrolna / control sample

Rys. 2. Zmiany aktywności peroksydazy w soku truskawkowym utrwalonym w nadkrytycznym CO₂

Fig. 2. Changes in activity of peroxidase activity in strawberry juice preserved using supercritical CO₂

Na rys. 3. przedstawiono zmiany zawartości trzech głównych monomerycznych antocyjanów występujących w truskawkach: cyjanidyno-3-*O*-glukozydu, pelargonidyno-3-*O*-glukozydu, pelargonidyno-3-*O*-rutozydu w stosunku do próby kontrolnej nieutrwalonej. W temp. 35 i 45 °C procesu nie zaobserwowano dużej degradacji barwników antocyjanowych, natomiast zastosowanie najwyższej temperatury (65 °C) spowodowało statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) największe zmniejszenie zawartości sumy trzech monomerów, nawet o 10 % w stosunku do próbki kontrolnej. Statystycznie istotnym ($p \leq 0,05$) czynnikiem wpływającym na degradację antocyjanów w próbkach był również czas obróbki. Zmiany te nie były jednak istotne w takim stopniu jak temperatura procesu.

Na rys. 4. przedstawiono zmiany barwy soków utrwalonych metodą HPCD w odniesieniu do próbki kontrolnej. W niemal wszystkich próbkach różnica pomiędzy barwą soku po utrwalaniu a próbką kontrolną, wyrażona współczynnikiem ΔE , nie przekraczała wartości 2, co oznacza, że była ona niemal niezauważalna dla niedoświadczonego obserwatora. Obserwowano wzrost badanego parametru wraz ze wzrostem ciśnienia procesu w temp. 35 i 65 °C, ale zmiany te nie zawsze były istotne statystycznie. Sok poddany utrwalaniu przez 30 min w temp. 65 °C przy ciśnieniu 60 MPa był jedynym, w którym barwa uległa statystycznie istotnej ($p \leq 0,05$) zmianie ($\Delta E > 2$).



Objaśnienia: / Explanatory notes:

K / C = próbka kontrolna / control sample;

cy-3-glu = cyanidyno-3-*O*-glukozyd / cyanidin-3-*O*-glucoside;

pg-3-glu = pelargonidyno-3-*O*-glukozyd / pelargonidin-3-*O*-glucoside;

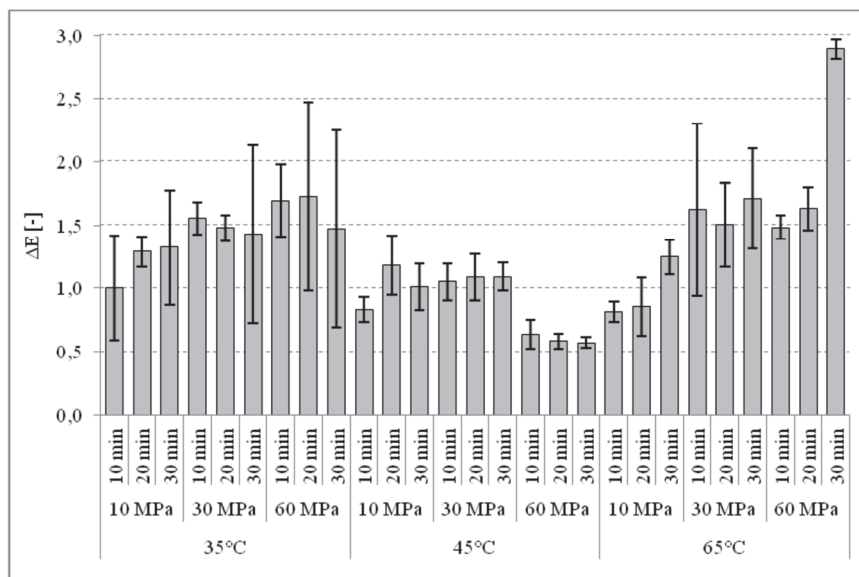
pg-3-rut = pelargonidyno-3-*O*-rutozyd / pelargonidin-3-*O*-rutoside.

Rys. 3. Zmiany zawartości antocyjanów w soku truskawkowym utrwalonym w nadkrytycznym CO₂

Fig. 3. Changes in content of anthocyanins in strawberry juice preserved using supercritical CO₂

Otrzymane rezultaty są zgodne z wynikami uzyskanymi przez inne zespoły badawcze w przypadku podobnych matryc. Podczas utrwalania soku z arbuza metodą HPCD (10 ÷ 30 MPa, 50 °C, 5 ÷ 60 min) przez Liu i wsp. [6] stwierdzono częściową inaktywację PPO i POD. Aktywność enzymów wynosiła ok. 4 i 42 % odpowiednio: PPO i POD obecnych w soku z arbuza utrwalanym pod ciśnieniem 30 MPa w temp. 50 °C przez 60 min. Zaobserwowano również wyraźną zmianę barwy soku, ale zmiana ta nie korelowała z zawartością związków fenolowych, które były stabilne we wszystkich badanych parametrach procesu. W badaniach soku z kantalupy wykazano niewielkie zmiany barwy, częściową inaktywację enzymów tkankowych oraz odpowiednią jakość mikrobiologiczną przy utrwalaniu ditlenkiem węgla w 65 °C i w zakresie ciśnień 8 ÷ 35 MPa [1]. Zastosowanie CO₂ do utrwalenia świeżo wyciśniętego soku z czerwonych pomarańczy również dowiodło możliwości całkowitego usunięcia wegetatywnych form drobnoustrojów z soku. Otrzymano sok różniący się jednak barwą od soku surowego, mimo bardzo nieznacznego ubytku antocyjanów [4]. Podczas utrwalania soku marchwiowego metodą HPCD wykazano z kolei możliwość zmniejszenia

aktywności oksydazy polifenolowej do około 4 % początkowej wartości, przy jednoczesnym zachowaniu barwy soku [18].



Rys. 4. Zmiany barwy soku truskawkowego utrwalonego w nadkrytycznym CO₂
 Fig. 4. Changes in colour of strawberry juice due preserved using supercritical CO₂

Wnioski

1. Zastosowanie ditlenku węgla w stanie nadkrytycznym przy ciśnieniu 60 MPa pozwoliło na istotną redukcję liczby drobnoustrojów mezofilnych do poziomu <10 jtk/ml w soku truskawkowym utrwalonym już w temperaturze 35 °C.
2. Ditlenek węgla w stanie nadkrytycznym okazał się skutecznym czynnikiem inaktywującym enzymy oksydoredukcyjne truskawek, odpowiadające za brązowienie produktu, zmniejszając aktywność peroksydazy do ok. 3 % oraz całkowicie inaktywując oksydazę polifenolową.
3. Niemal we wszystkich próbkach soku truskawkowego utrwalanego CO₂ w stanie nadkrytycznym zawartość antocyjanów pozostała na niezmiennym poziomie, zaś barwa soku nie zmieniła się w zauważalny sposób.
4. Zastosowanie CO₂ w stanie nadkrytycznym może być korzystną alternatywą dla tradycyjnie stosowanych termicznych metod utrwalania soku truskawkowego.

Praca finansowana ze środków na działalność statutową IBPRS.

Literatura

- [1] Chen J.I., Zhang J., Song L., Jiang Y., Wu J., Hu X.S.: Changes in microorganism, enzyme, aroma of hami melon (*Cucumis melo* L.) juice treated with dense phase carbon dioxide and stored at 4 °C. *Innov. Food Sci. Emerg.*, 2010, **11**, 623-629.
- [2] Damar S., Balaban M.O.: Review of dense phase CO₂ technology: microbial and enzyme inactivation, and effects on food quality. *J. Food Sci.*, 2006, **71** (1), R1-R11.
- [3] Dłużewski M., Dłużewska A.: *Technologia żywności*. T. 2, WSiP, Warszawa 2010.
- [4] Fabroni S., Amenta M., Timpanaro N., Rapisarda P.: Supercritical carbon dioxide-treated blood orange juice as a new product in the fresh fruit market. *Innov. Food Sci. Emerg.*, 2010, **11**, 477-484.
- [5] Garcia-Gonzales L., Geeraerd A.H., Spilimbergo S., Elst K., van Ginneken L., Debevere J., van Impe J.F., Devlighere F.: High pressure carbon dioxide inactivation of microorganisms in foods: The past, the present and the future. *Int. J. Food Microbiol.*, 2007, **117**, 1-28.
- [6] Kalisz S., Marszałek K., Mitek M.: Badania nad wpływem dodatku preparatów pektyn wysoko metylowanych na parametry jakościowe nektarów truskawkowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, **6** (67), 129-139.
- [7] Liu Y., Hu X., Zhao X., Song H.: Combined effect of high pressure carbon dioxide and mild heat treatment on overall quality parameters of watermelon juice. *Innov. Food Sci. Emerg.*, 2013, **13**, 112-119.
- [8] Lopez-Serrano M., Ros Barcelo A.: Histochemical localization and developmental expression of peroxidase and polyphenol oxidase in strawberries. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 2001, **126** (1), 27-32.
- [9] Marszałek K., Mitek M., Skąpska S.: Zastosowanie wysokich ciśnień hydrostatycznych (UHP) do utrwalania soków i nektarów truskawkowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, **1** (74), 112-123.
- [10] Marszałek K., Mitek M.: Wpływ parametrów procesu ciśnieniowania na pojemność przeciwutleniającą puree truskawkowego utrwalonego metodą UHP. *Zesz. Prob. Post. Nauk Rol.*, 2012, **571**, 79-85.
- [11] Molenda J.: Wybrane niekonwencjonalne metody utrwalania żywności. *Med. Weter.*, 2007, **63** (9), 1016-1020.
- [12] Oszmiański J.: Stabilizacja i zastosowanie barwnika antocyjanowego aronii do barwienia napoi. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.*, 2002, **1** (1), 37-45.
- [13] Oszmiański J., Wojdyło A.: Zawartość związków fenolowych w produktach z truskawek oferowanych w handlu. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2008, **4**, 27-29.
- [14] Oszmiański J., Wojdyło A., Matuszewski P.: Zmiany zawartości związków fenolowych podczas produkcji zagęszczonego soku truskawkowego w warunkach przemysłowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **1** (50), 94-104.
- [15] Palmer M.V., Ting S.S.T.: Applications for supercritical fluid technology in food processing. *Food Chem.*, 1995, **52**, 345-352.
- [16] Seyderhelm I., Boguslawski S., Michaelis G., Knorr D.: Pressure induced inactivation of selected food enzymes. *J. Food Sci.*, 1996, **61**, 308-310.
- [17] Terefe N.S., Yang Y.H., Knoerzer K., Buckow R., Versteeg C.: High pressure and thermal inactivation kinetics of polyphenol oxidase and peroxidase in strawberry puree. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2010, **11**, 52-60.
- [18] Zhou L., Wang Y., Hu X., Wu J., Liao X.: Effect of high pressure carbon dioxide on the quality of carrot juice. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2009, **10**, 321-327.
- [19] Żurawicz E.: *Truskawka i poziomka*. Zesz. Pomol. Instytut Sadownictwa i Kwiaciarnictwa. Zakład Upowszechniania Postępu, 1994, ss. 3-24.

- [20] PN-EN ISO 4833:2004+AP1:2005. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów. Metoda płytkowa w temperaturze 30 °C.

EFFECT OF SUPERCRITICAL CARBON DIOXIDE ON SELECTED QUALITY PARAMETERS OF PRESERVED STRAWBERRY JUICE

S u m m a r y

The use of high pressure carbon dioxide (HPCD) is a novel, non-thermal method of food preservation; with that method, it is possible to effectively reduce a microbial count, to inactivate tissue enzymes and, at the same time, to preserve all the nutritional values and sensory quality of a product. The objective of the research study was to determine the effect of process parameters on the quality of strawberry juice preserved using the HPCD method. The raw material analyzed were frozen strawberries of 'Senga Sengana' cultivar. Immediately after pressing, the juice was treated with supercritical carbon dioxide using a Spe-ed SFE 4 apparatus (Applied Separations, USA) at varying pressure levels (10, 30, 60 MPa), at different temperatures (35, 45, 65 °C), and for varying time durations (10, 20, 30 min). The unpreserved juice was a control sample. The analyzes showed that the application of CO₂ at a pressure of 60 MPa made it possible to effectively reduce, even more than by the three logarithmic cycles, the total microbial count. The polyphenol oxidase could be fully inactivated at every level of the pressures tested, and the highest level of peroxidase inactivation (95 %) was achieved at a temperature of 65 °C irrespective of the pressure and time applied. Anthocyanins were well preserved; only at a temperature of 65 °C, a significant decrease of 10% was reported. The juice colour changes, expressed as ΔE coefficient, i.e. an absolute colour difference, were below 2, thus, they were almost unnoticeable by an inexperienced observer. HPCD turned out to be an effective method of preserving strawberry juice and its high microbial and physicochemical quality were ensured under this method.

Key words: supercritical carbon dioxide, enzymes activity, polyphenol oxidase, peroxidase, strawberry juice ☒

ARTUR WIKTOR, MATTHIAS SCHULZ, ERIK VOIGT, DIETRICH KNORR,
DOROTA WITROWA-RAJCHERT

WPLYW PULSACYJNEGO POLA ELEKTRYCZNEGO NA KINETYKĘ ZAMRAŻANIA IMMERSYJNEGO, ROZMRAŻANIA ORAZ WŁAŚCIWOŚCI MECHANICZNE MARCHWI

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu pulsacyjnego pola elektrycznego (PEF) na przebieg procesu zamrażania immersyjnego, rozmrażania oraz na wybrane parametry rozmrożonej tkanki marchwi. Tkanekę marchwi poddano działaniu pulsacyjnego pola elektrycznego ($E = 1,85 \div 5$ kV/cm; $n = 0 \div 100$ impulsów, $W_s = 0 \div 80$ kJ/kg), a następnie zamrażano immersyjnie w etanolu w temp. -20 °C. Wyznaczono krzywe zamrażania i rozmrażania, a na ich podstawie obliczono czas trwania poszczególnych etapów tych procesów. Rozmrożoną tkankę roślinną oceniono na podstawie ubytku masy podczas rozmrażania oraz właściwości mechanicznych – maksymalnej siły ściskania oraz pracy ściskania. Stwierdzono, że działanie pulsacyjnego pola elektrycznego przed zamrażaniem spowodowało skrócenie czasu zamrażania maksymalnie o 31,7 % w porównaniu z próbką niepotraktowaną PEF. Skróceniu (maksymalnie o 31,1 %) uległ także czas rozmrażania. Próbki poddane działaniu pulsacyjnego pola elektrycznego charakteryzowały się także innymi właściwościami mechanicznymi – niższymi wartościami pracy ściskania (o $21,5 \div 83,6$ %) oraz maksymalnej pracy ściskania (o $16,4 \div 87,3$ %) w porównaniu z tkanką niepotraktowaną PEF. Ubytek masy tkanki po rozmrożeniu, niepoddanej działaniu PEF, wynosił 9,21 %, a próbek poddanych takiemu oddziaływaniu – $7,15 \div 11,35$ %. Stwierdzono także statystycznie istotną korelację ($p \leq 0,05$) pomiędzy całkowitym czasem zamrażania a stopniem dezintegracji komórkowej CDI ($r = 0,84$).

Słowa kluczowe: pulsacyjne pole elektryczne, marchew, zamrażanie immersyjne, rozmrażanie, właściwości mechaniczne

Wprowadzenie

Na kształtowanie właściwości produktów spożywczych w największym stopniu wpływają wymagania konsumentów [3]. Nie bez znaczenia jest także zainteresowanie

Mgr A. Wiktor, prof. dr hab. D. Witrowa-Rajchert, Katedra Inżynierii Żywności i Organizacji Produkcji, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa, Dipl. ing. M. Schulz, Dipl. ing. E. Voigt, prof. dr Dipl. ing. D. Knorr, Institut für Lebensmittelbiotechnologie und Lebensmittelchemie, Technische Universität Berlin, Königin-Luise-Str. 22, 14195 Berlin, Niemcy. Kontakt: artur_wiktor@sggw.pl

ochroną środowiska naturalnego oraz zmiany regulacji prawnych. Wdrożenie zasad zrównoważonego rozwoju oraz ochrony środowiska jest jednym z pięciu celów strategii Unii Europejskiej „Europa 2020” [9]. W technologii żywności największe zużycie energii występuje w procesach polegających na ruchu ciepła (np. pasteryzacji lub sterylizacji) lub masy (np. suszenia czy zamrażania). Procesy te należą do powszechnie stosowanych w przemyśle spożywczym, a zamrażanie uważa się za jedną z najkorzystniejszych form przedłużania trwałości żywności. Wiąże się to z ograniczonym wpływem tego procesu na wyróżniki fizykochemiczne oraz sensoryczne rozmrożonej żywności. W procesie zamrażania można wyróżnić trzy zasadnicze etapy: schładzanie, przemianę fazową i domrażanie. Czas trwania etapu związanego z wymrażaniem wody ma największy wpływ na jakość żywności mrożonej. W związku z tym, w badaniach nad zamrażaniem żywności dąży się do skrócenia czasu zarówno zamrażania, jak i etapu przemiany fazowej. Uwagę naukowców zwraca wykorzystanie nietermicznych technik, np. ultradźwięków (US), wysokich ciśnień (HHP) czy pulsacyjnego pola elektrycznego (PEF) jako zabiegów wspomagających procesy wymiany masy i/lub ciepła [5, 6, 11, 15, 18]. Ostatnia z wymienionych technik, ze względu na mechanizm oddziaływania na komórki biologiczne – zwana elektroporacją lub elektropermeabilizacją – może znaleźć zastosowanie także do wspomagania procesów zamrażania [4, 10, 17, 19].

Celem pracy było określenie wpływu pulsacyjnego pola elektrycznego na kinetykę procesu zamrażania immersyjnego oraz rozmrażania tkanki marchwi, jak również ocena ubytku masy w materiale po zamrażaniu/rozmrażaniu oraz określenie właściwości mechanicznych.

Materiał i metody badań

Materiałem doświadczalnym była marchew zakupiona w supermarkecie (Berlin). Surowiec przechowywano w komorze chłodniczej w temp. 4 °C. Przed doświadczeniem materiał myto i wykrawano korkoborem, prostopadle do wzdłużnej osi korzenia, krążki o średnicy $d = 15$ mm i wysokości $h = 10$ mm.

Obróbkę pulsacyjnym polem elektrycznym (PEF) prowadzono w prototypowym reaktorze impulsowym (Technische Universität Berlin, Germany), składającym się z generatora wysokiego napięcia (A.L.E. Systems Inc., model 802L, LAMBDA), oscyloskopu (Tektronix TDS220, USA) oraz generatora funkcyjnego (TTI Ltd. TGP110 – 10 MHz Pulse Generator). Reaktor był wyposażony w baterię kondensatorów o pojemności $C = 1$ μ F i był zdolny wygenerować napięcie 30 kV. Aplikacja pulsacyjnego pola elektrycznego odbywała się poprzez wyładowanie ładunku zgromadzonego w kondensatorze przez materiał umieszczony w komorze i zanurzony w wodzie wodociągowej (konduktywność w temp. 20 °C – 0,725 mS/cm).

Tabela 1. Parametry pulsacyjnego pola elektrycznego zastosowane w doświadczeniu

Table 1. Parameters of pulsed electric field that were applied in experiment

Kod próbki Sample code	Natężenie pola elektrycznego Electric field intensity E [kV/cm]	Liczba impulsów Number of pulse n [-]	Szerokość impulsu Pulse width t_i^* [μs]	Zużycie energii Specific energy consumption W_{spec} [kJ/kg]	Stopień dezintegracji komórkowej Cell disintegration index CDI
0p0	0	0	0	0	0,000 ± 0,000
1.85p10	1,85	10	15	1,13	0,038 ± 0,002
1.85p50	1,85	50	15	5,63	0,375 ± 0,001
1,85p100	1,85	100	15	11,25	0,379 ± 0,002
3p10	3	10	20	3	0,487 ± 0,005
3p50	3	50	20	15	0,508 ± 0,000
3p100	3	100	20	30	0,500 ± 0,000
5p10	5	10	24	8	0,446 ± 0,008
5p50	5	50	24	40	0,570 ± 0,001
5p100	5	100	24	80	0,679 ± 0,001

Objaśnienie: / Explanatory note:

szerokość impulsu wyznaczona w 37 % maksymalnej wysokości / pulse width determined at 37 % of maximum height.

Częstość aplikacji PEF wynosiła 1 Hz i została dobrana w taki sposób, aby ograniczyć wzrost temperatury produktu po obróbce elektrycznej. Odległość pomiędzy równoległe ustawionymi elektrodami (ze stali nierdzewnej) wynosiła 30 mm, a pole powierzchni każdej z nich było równe 140 cm². Masa materiału umieszczanego w komorze oddziaływania elektrycznego wynosiła 0,135 ± 0,005 kg. Parametry PEF zastosowane do obróbki elektrycznej przedstawiono w tab. 1. Właściwe zużycie energii W_{spec} obliczano z równania, które podali Zhang i wsp. [20]:

$$W_{spec} = \frac{(V^2 C n)}{2m} \quad (1)$$

gdzie: C – pojemność elektryczna kondensatora [F], V – napięcie elektryczne [V], n – liczba impulsów [-], m – masa próbki umieszczona w komorze elektrycznej [kg].

Przyrost temperatury próbki po aplikacji pulsacyjnego pola elektrycznego nie przekroczył 7,1 °C.

W tkance marchwi świeżej i po obróbce pulsacyjnym polem elektrycznym mierzono konduktywność elektryczną w zakresie zmiennej częstotliwości (Biotronix, Henningsdorf, Niemcy). W tym celu z marchwi pobierano próbkę w kształcie krążka

o średnicy i wysokości 10 mm i umieszczano w celi pomiarowej pomiędzy dwoma elektrodami (średnica 10 mm, odległość między elektrodami 10 mm), wykonanymi ze stali nierdzewnej. Na podstawie wartości konduktywności elektrycznej wyznaczano współczynnik dezintegracji komórkowej *CDI* (ang. *cell disintegration index*) [16], zgodnie z równaniem:

$$CDI = 1 - b \frac{(K'_h - K'_l)}{K_h - K_l} \quad b = \frac{K_h}{K'_h} \quad (2)$$

gdzie: K_l oraz K'_l – konduktywność elektryczna próbek mierzona w zakresie niskiej częstotliwości (2,75 kHz), odpowiednio: niepoddanych i poddanych oddziaływaniu PEF; K_h oraz K'_h – konduktywność elektryczna próbek mierzona w zakresie wysokiej częstotliwości (2,8 MHz), odpowiednio: niepoddanych i poddanych oddziaływaniu PEF.

Współczynnik dezintegracji komórkowej przyjmuje wartość „zero” w przypadku próbki bez oddziaływania PEF oraz „jeden”, gdy próbka jest całkowicie zniszczona. Oznaczenie wykonano w co najmniej 3 powtórzeniach.

Zamrażanie immersyjne prowadzono w temp. -20 °C w kriostacie (Lauda, RUK 50-P, Niemcy) wypełnionym etanolem. Natychmiast po aplikacji pulsacyjnego pola elektrycznego próbki zanurzano w etanolu tak, aby każdorazowo były umieszczone w tej samej pozycji. Zmiany temperatury zamrażanego materiału monitorowano przy użyciu zestawu rejestrującego, składającego się z komputera PC wraz z zespołem termopar typu K, umieszczonych w centrum termicznym produktu. Czas trwania każdego z etapów zamrażania (schładzania, przemiany fazowej – wymrażania wody, domrażania) wyznaczano na podstawie analizy krzywych zamrażania, zgodnie z metodą zaproponowaną przez Kamińską i Lewickiego [12]. Rozmrażanie prowadzono w powietrzu (konwekcja swobodna) w temp. 20 ± 2 °C. Zmiany temperatury rejestrowano identycznie jak przy zamrażaniu. Czasy poszczególnych etapów rozmrażania wyznaczano z krzywej rozmrażania, według zależności (analogicznej jak w przypadku procesu zamrażania), definiując przy tym następujące etapy: ogrzewanie – czas, w którym próbka osiągnęła temperaturę od -15 do -4 °C, przemiana fazowa (rozmrężanie wody) – czas, w którym próbka zmieniła temperaturę od -4 do 0 °C, dogrzewanie – czas potrzebny na ogrzanie próbki od 0 do 10 °C.

Zamrażanie oraz rozmrażanie tkanki marchwi wykonano w co najmniej dwóch powtórzeniach.

Ubytek masy materiału w czasie zamrażania/rozmrażania *ML* obliczano na podstawie różnicy masy pomiędzy materiałem niezamrożonym (m_0) oraz rozmrożonym (m_t) z równania:

$$ML = \frac{m_0 - m_t}{m_0} \cdot 100\% \quad (3)$$

Oznaczenie wykonano w co najmniej 4 powtórzeniach.

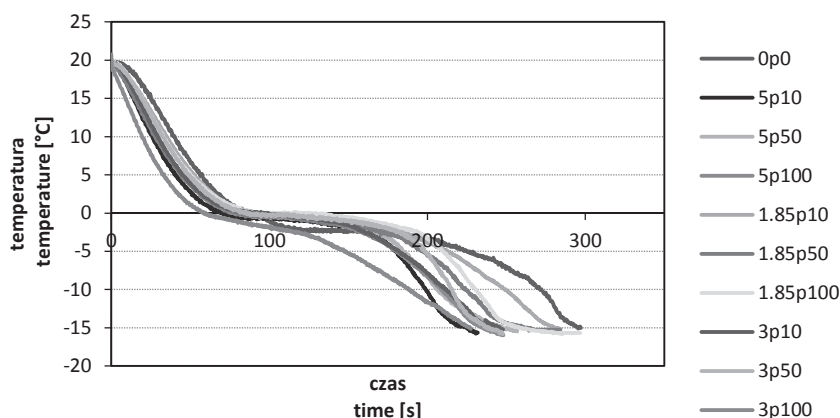
Właściwości mechaniczne określano na podstawie testu ściskania, prowadzonego do 30-procentowego odkształcenia, z prędkością 0,5 mm/s, na podstawie zmodyfikowanej metody zaproponowanej przez Lentas i Witrową-Rajchert [14]. Pomiary wykonywano przy użyciu teksturometru TA-TX2 (Stable Micro Systems Ltd, United Kingdom; software: Texture Expert Vers. 1.16, Stable Micro Systems Ltd., Surrey, Wielka Brytania), wyposażonego w głowicę ściskającą w kształcie cylindra o średnicy 30 mm. Na podstawie otrzymanych wyników wyznaczano maksymalną siłę ściskania oraz pracę ściskania. Badania wykonano w co najmniej 8 powtórzeniach.

Wyniki opracowano statystycznie za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji (test Tukeya, $p = 0,05$, jednorodność wariancji sprawdzono testem Leavena) i dwuczynnikowej analizy wariancji bez powtórzeń. Obliczono współczynniki korelacji Pearsona oraz przeprowadzono Analizę Głównym Składowych (PCA). Obliczenia statystyczne wykonano w programach Statistica 10 (StatSoft Inc., Kraków, Poland) oraz MS Excel 2013.

Wyniki i dyskusja

Spośród trzech etapów zamrażania (schładzanie, przemiana fazowa oraz domrażanie) najważniejsza jest faza wymrażania wody. Krótszy czas trwania tej fazy wiąże się na ogół z wyższą jakością produktu końcowego. Dodatkowo, krótszy czas właściwego zamrażania to niższa energochłonność, co wpływa korzystnie na koszty prowadzonego procesu. Na rys. 1. przedstawiono krzywe zamrażania tkanki marchwi niepoddanej i poddanej działaniu pulsacyjnego pola elektrycznego o różnych parametrach oraz o różnym stopniu dezintegracji komórkowej *CDI* (tab. 1). Na podstawie przebiegu krzywych stwierdzono, że aplikacja PEF zmieniła kinetykę zamrażania. Szczególnie widoczne jest to w przypadku analizy odcinka odpowiadającego wymrażaniu głównej masy wody, który w przypadku próbek poddanych działaniu pulsacyjnego pola elektrycznego przesunął się na całej swojej długości w kierunku dodatnich wartości temperatury. Wspomnianą graficzną interpretację krzywej można tłumaczyć wyciekami treści wewnątrzkomórkowej, występującym na skutek elektroporacji, co zmienia przewodnictwo cieplne i jest obserwowane jako wzrost stopnia dezintegracji komórkowej [19] oraz wpływa na wartość temperatury krioskopowej, czyli temperatury, w której rozpoczyna się przemiana fazowa wody w lód [8]. W pierwszym etapie zamrażania (schładzanie) próbki potraktowane polem elektrycznym wykazywały niższą temperaturę niż tkanka niepoddana obróbce wstępnej. Przykładowo, po 60 s od rozpoczęcia procesu temperatura wynosiła 4,18 °C oraz od -0,13 do 3,35 °C, odpowiednio

w przypadku próbki kontrolnej oraz poddanej działaniu pulsacyjnego pola elektrycznego.



Rys. 1. Krzywe zamrażania marchwi niepoddanej oraz poddanej działaniu PEF

Fig. 1. Freezing curves of untreated and PEF-treated carrot

W tab. 2. przedstawiono czas trwania poszczególnych etapów zamrażania w zależności od wariantu obróbki wstępnej próbek marchwi. Aplikacja pulsacyjnego pola elektrycznego, niezależnie od zastosowanych parametrów, pozwoliła skrócić czas każdej z wyróżnionych faz zamrażania. W rezultacie całkowity czas trwania procesu był krótszy o 6,8 ÷ 30,6 % w porównaniu z próbką referencyjną. Podobne wyniki uzyskali Jalté i wsp. [10] oraz Wiktor i wsp. [17] w przypadku zamrażania konwekcyjnego odpowiednio: ziemniaków i jabłek. Takie zachowanie można wyjaśnić połączeniem mechanizmu elektroporacji oraz krystalizacji – fragmenty błony komórkowej, zdeintegrowanej poprzez przyłożenie wysokiego napięcia, stały się dodatkowymi centrami nukleacji lodu.

Dodatkowo perforacja błony komórkowej oraz wywołane elektroporacją zmiany struktur wewnątrzkomórkowych ułatwiały wymianę treści pomiędzy wnętrzem komórki a przestrzeniami ją otaczającymi (wypełnionymi także powietrzem), co ułatwiało proces wymiany ciepła. Potwierdzeniem tego może być także statystycznie istotna korelacja, która została stwierdzona pomiędzy wartością stopnia dezintegracji CDI a całkowitym czasem zamrażania ($r = -0,84$, $p\text{-value} = 0,002$). Różnice pomiędzy czasami schładzania oraz przemiany fazowej analizowanych przypadków miały charakter nieistotny ($p = 0,05$).

Tabela 2. Czas trwania poszczególnych etapów zamrażania [s]

Table 2. Duration time of individual freezing stages [s]

Próbka Sample	Zamrażanie / Freezing			
	Schładzanie Cooling	Przemiana fazowa Phase transition	Domrażanie Final freezing	Całkowity czas zamrażania Total freezing time
0p0	97,50 ^a ± 17,82	124,80 ^a ± 0,01	102,15 ^a ± 23,55a	324,45 ^a ± 41,37
1.85p10	85,95 ^a ± 13,36	118,85 ^a ± 8,32	56,85 ^{ab} ± 7,85	271,65 ^{ab} ± 30,76
1.85p50	77,25 ^a ± 4,45	115,20 ^a ± 8,07	55,05 ^{ab} ± 2,33	249,60 ^{ab} ± 16,97
1.85p100	90,90 ^a ± 5,52	116,10 ^a ± 10,61	47,10 ^b ± 1,70	254,10 ^{ab} ± 17,82
3p10	82,05 ^a ± 9,55	93,45 ^a ± 9,73	62,70 ^{ab} ± 10,18	238,20 ^b ± 8,06
3p50	83,25 ^a ± 2,76	110,55 ^a ± 10,43	43,65 ^b ± 0,21	237,45 ^b ± 2,76
3p100	67,65 ^a ± 13,79	99,10 ^a ± 23,24	82,20 ^{ab} ± 11,46	236,25 ^b ± 12,94
5p10	67,80 ^a ± 5,09	105,90 ^a ± 0,01	48,00 ^b ± 8,91	221,70 ^b ± 3,82
5p50	77,20 ^a ± 2,77	102,20 ^a ± 4,33	51,00 ^{ab} ± 20,26	230,40 ^b ± 18,71
5p100	81,30 ^a ± 11,88	96,20 ^a ± 18,20	61,20 ^b ± 12,30	234,45 ^b ± 0,64

Objaśnienia: / Explanatory notes:

0p0 – próbka kontrolna / control sample; 1.85p10 – 1,85 kV/cm, 100 impulsów / pulses; 1.85p50 – 1,85 kV/cm, 50 impulsów / pulses; 1.85p100 – 1,85 kV/cm, 100 impulsów / pulses; 3p10 – 3 kV/cm, 10 impulsów / pulses; 3p50 – 3 kV/cm, 50 impulsów / pulses; 3p100 – 3 kV/cm, 100 impulsów / pulses; 5p10 – 5 kV/cm, 10 impulsów / pulses; 5p50 – 5 kV/cm, 50 impulsów / pulses; 5p100 – 5 kV/cm, 100 impulsów / pulses. n = 2

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviations; wartości średnie w kolumnach oznaczone tymi samymi literami oznaczają grupy statystycznie jednorodne (p = 0,05) / Mean values in column denoted by the same letters are statistically homogeneous groups (p = 0.05).

Podobnie, jak w przypadku kinetyki zamrażania pod wpływem aplikacji PEF, zmienił się także przebieg procesu rozmrażania (tab. 3). W tym przypadku całkowity czas rozmrażania próbek poddanych działaniu pulsacyjnego pola elektrycznego przed zamrażaniem był krótszy od 5,0 do 31,1 % w porównaniu z marchwią niepoddaną obróbce wstępnej, przy czym największą redukcję zaobserwowano w przypadku próbek poddanych działaniu 100 impulsów przy 5 kV/cm. Można zauważyć, że w niektórych przypadkach czas dogrzewania nie uległ skróceniu na skutek obróbki wstępnej, a wystąpiła tendencja do jego wydłużania. Przykładowo, próbki oznaczone jako 1.85p50 ogrzewały się 463,65 s, a próbki 0p0 – 428,55 s, jednak różnica ta była statystycznie nieistotna (p = 0,05). Podobne zależności zaobserwowano także w odniesieniu do przemiany fazowej w trakcie rozmrażania. Redukcja czasu trwania etapu dogrzewania w wyniku aplikacji wstępnej pulsacyjnego pola elektrycznego wynosiła maksymalnie 60,6 %, w porównaniu z próbką kontrolną w przypadku tkanki potraktowanej 5 kV/cm i 100 impulsami. Brak istotnych różnic pomiędzy analizowanymi próbkami

w odniesieniu do czasu trwania dogrzewania oraz przemiany fazowej w trakcie rozmrażania może wiązać się z dużą ilością kryształów lodu o niewielkich rozmiarach, powstałych podczas zamrażania marchwi obrabianej PEF, których czas ogrzania (ze względu na ich ilość) mógł być podobny do czasu podwyższenia temperatury kryształów lodu próbki kontrolnej, które najprawdopodobniej charakteryzowały się większymi rozmiarami.

Tabela 3. Czas trwania poszczególnych etapów rozmrażania [s]

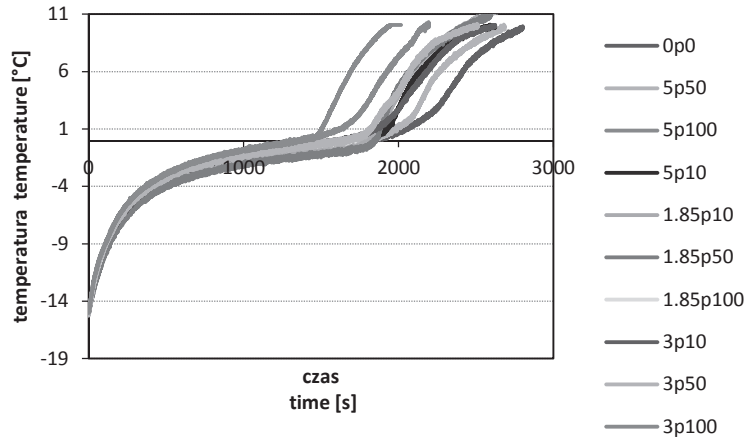
Table 3. Duration time of individual thawing stages [s]

Próbka Sample	Rozmrażanie / Thawing			
	Ogrzewanie	Przemiana fazowa	Dogrzewanie	Całkowity czas rozmrażania
	Heating	Phase transition	Final heating	Total thawing time
0p0	428,25 ^a ± 14,21	1085,4 ^{ab} ± 50,49	1284,75 ^a ± 35,43	2798,40 ^a ± 0,85
1.85p10	444,45 ^a ± 117,31	1222,35 ^{ab} ± 127,49	738,15 ^{bc} ± 149,13	2404,95 ^{cd} ± 95,67
1.85p50	463,65 ^a ± 105,85	1284,00 ^b ± 58,55	654,90 ^{bc} ± 61,94	2402,55 ^{cd} ± 102,46
1.85p100	378,90 ^a ± 6,36	1137,45 ^{ab} ± 101,61	854,55 ^{bc} ± 93,55	2370,90 ^{cd} ± 14,42
3p10	391,20 ^a ± 25,88	1080 ^{ab} ± 72,97	1016,40 ^{ab} ± 72,97	2487,6 ^{acd} ± 171,83
3p50	375,45 ^a ± 11,24	1129,05 ^{ab} ± 139,80	825,15 ^{bc} ± 30,76	2329,65 ^{cd} ± 181,80
3p100	345,00 ^a ± 5,94	910,8 ^{ab} ± 163,77	900,45 ^{abc} ± 161,43	2156,25 ^{bc} ± 8,27
5p10	415,8 ^a ± 44,55	1261,65 ^{ab} ± 39,24	837,00 ^{bc} ± 171,83	2514,45 ^{acd} ± 88,03
5p50	428,55 ^a ± 30,33	1199,1 ^{ab} ± 0,85	1029,90 ^{ab} ± 34,37	2657,55 ^{ac} ± 3,18
5p100	438,60 ^a ± 71,28	983,4 ^{ab} ± 15,27	506,55 ^c ± 42,64	1928,55 ^d ± 13,36

Objaśnienia: / Explanatory notes:

0p0 – próbka kontrolna / control sample; 1.85p10 – 1,85 kV/cm, 100 impulsów / pulses; 1.85p50 – 1,85 kV/cm, 50 impulsów / pulses; 1.85p100 – 1,85 kV/cm, 100 impulsów / pulses; 3p10 – 3 kV/cm, 10 impulsów / pulses; 3p50 – 3 kV/cm, 50 impulsów / pulses; 3p100 – 3 kV/cm, 100 impulsów / pulses; 5p10 – 5 kV/cm, 10 impulsów / pulses; 5p50 – 5 kV/cm, 50 impulsów / pulses; 5p100 – 5 kV/cm, 100 impulsów / pulses; n=2

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



Rys. 2. Krzywe rozmrażania marchwi niepoddanej i poddanej obróbce wstępnej pulsacyjnym polem elektrycznym

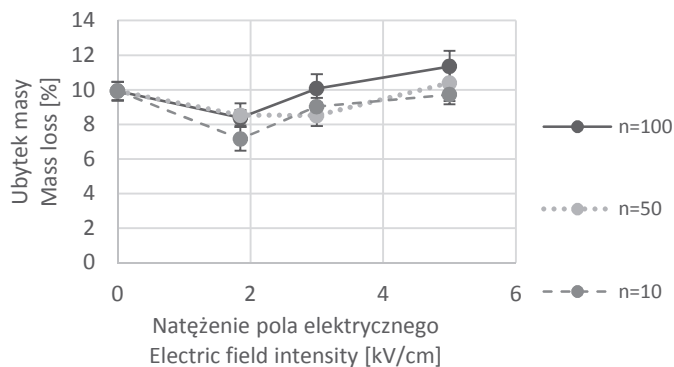
Fig. 2. Thawing curves of untreated and pulsed electric field-pretreated carrot

Z kolei krótszy czas dogrzewania próbki najpewniej wynikał z większych zmian mikrostrukturalnych, ułatwiających ruch „treści” wewnątrz komórek tkanki marchwi oraz pomiędzy nimi, co ułatwiało wyrównanie temperatury pomiędzy otoczeniem a próbką (konwekcja).

Wykazano istotną zależność pomiędzy właściwym zużyciem energii a całkowitym czasem rozmrażania ($r = -0,66$, $p\text{-value} = 0,039$). Tego typu wyniki są cenne ze względu na projektowanie oraz optymalizację procesu obróbki pulsacyjnym polem elektrycznym przed procesem zamrażania.

Ubytek masy w czasie zamrażania/rozmrażania jest ważnym parametrem charakteryzującym jakość produktu zamrożonego. Obróbka wstępna pulsacyjnym polem elektrycznym wpłynęła na wartość tego parametru. Ubytek masy marchwi niepoddanej działaniu PEF wynosił 9,92 %, a próbek potraktowanych pulsacyjnym polem elektrycznym – od 7,15 do 11,35 %, przy czym wyższe wartości zarejestrowano w przypadku zastosowania natężenia 5 kV/cm (rys. 3). Z kolei natężenie 1,85 kV/cm, bez względu na liczbę impulsów, nieoczekiwanie wpłynęło na zmniejszenie ubytku masy po rozmrożeniu o 14,01 ÷ 27,82 %, w stosunku do marchwi niepoddanej obróbce elektrycznej. Zjawisko to można tłumaczyć zmianami i uszkodzeniami wewnątrzkomórkowych struktur, a zwłaszcza błony komórkowej. Ze względu na niewielki stopień dezintegracji błony komórkowej materiału (tab. 1), osiągnięty poprzez zastosowanie niższych natężeń pola elektrycznego i mniejszą energię dostarczoną do próbki, powstałe pory membranowe mogły mieć niewielkie rozmiary, a fragmenty błony komórkowej mogły tworzyć swoistą „siatkę” zdolną do utrzymania pewnych ilości „treści” komórkowej. Innym wytłumaczeniem takiego zachowania może być teoria selektywnej elek-

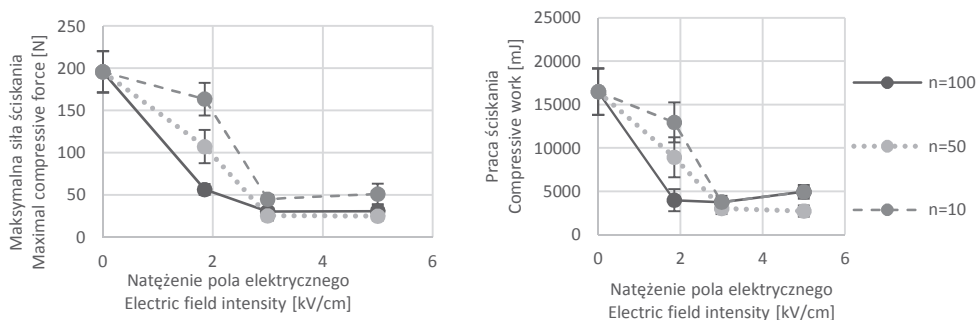
tropermeabilizacji, według której aplikacja PEF może prowadzić do plazmolemy lub do perforacji wyłącznie tonoplastu [1].



Rys. 3. Ubytek masy próbek marchwi po rozmrożeniu w zależności od parametrów pulsacyjnego pola elektrycznego (n – liczba impulsów)

Fig. 3. Mass loss of carrot samples after thawing depending on pulsed electric field parameters (n – number of pulses)

W przypadku, w którym dezintegracji uległyby jedynie tonoplast i nie doszłoby do przerwania ciągłości błony komórkowej, ubytek masy po rozmrożeniu mógłby być mniejszy niż w przypadku próbki referencyjnej. Należy jednak podkreślić, że zaproponowane wytłumaczenie stanowi jedynie teorię i wymaga potwierdzenia. Dodatkowo wykazano istotną zależność pomiędzy energią dostarczoną do próbki a ubytkiem masy ($r = 0,79$, $R^2 = 0,62$, $p\text{-value} = 0,007$).



A

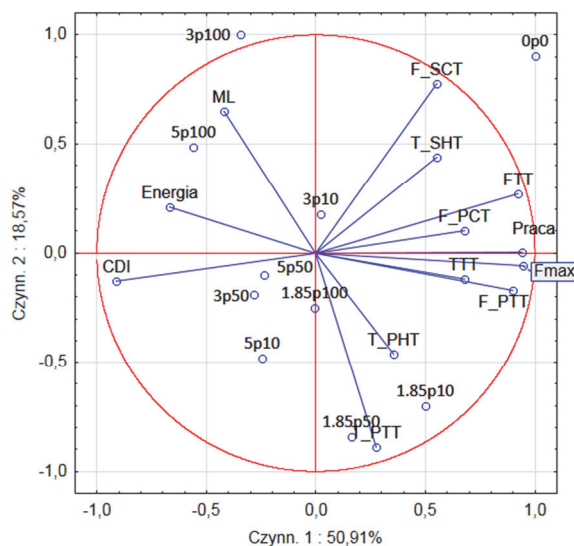
B

Rys. 4. Maksymalna siła ściskania (A) oraz praca ściskania (B) w zależności od parametrów pulsacyjnego pola elektrycznego (n – liczba impulsów)

Fig. 4. Maximal compressive force (A) and compressive work (B) values depending on pulsed electric field parameters (n – number of pulses)

Na rys. 4. przedstawiono właściwości mechaniczne rozmrożonej tkanki marchwi w zależności od parametrów aplikowanego pola elektrycznego. Obróbka PEF przed procesem zamrażania marchwi wpłynęła na statystycznie istotne ($p < 0,05$) zmniejszenie zarówno maksymalnej siły, jak i pracy ściskania. Przykładowo, marchew potraktowana 5 kV/cm i 50 impulsami charakteryzowała się 7,87 razy mniejszą maksymalną siłą ściskania niż tkanka rozmrożona i niepoddana obróbce PEF. Z kolei próbki potraktowane niższym natężeniem pola – 1,85 kV/cm i 10 impulsami charakteryzowały się pracą ściskania mniejszą o 21,49 % w porównaniu z tkanką kontrolną. Marchew poddana działaniu pola elektrycznego stała się bardziej miękka oraz mniej sztywna, co można tłumaczyć utratą naturalnego turgoru tkanki, spowodowanego zjawiskiem elektroporacji. Analogiczne wyniki otrzymano w badaniach nad wpływem pulsacyjnego pola elektrycznego na teksturę jabłka, prowadzonych przez Lebovka i wsp. [13]. Dwuczynnikowa analiza wariancji bez powtórzeń wykazała, że większy oraz istotny wpływ na wartość maksymalnej siły ściskania ma natężenie pola elektrycznego (p -value = 0,039) niż liczba impulsów (p -value = 0,103). Stwierdzono także statystycznie istotną korelację Pearsona pomiędzy stopniem dezintegracji komórkowej *CDI* a maksymalną siłą ściskania ($r = -0,90$, p -value < 0,001) oraz pracą ściskania ($r = -0,90$, $R^2 = 0,80$, p -value < 0,001). Analiza dostępnych danych literaturowych wskazuje jednak, że potraktowanie tkanki roślinnej PEF nie zawsze prowadzi do zmian właściwości mechanicznych. Niektórzy badacze wskazują, że obróbka elektryczna może skutkować zwiększeniem maksymalnej siły penetracji, co tłumaczą reakcjami usieciowania pektyn, aktywacją metylowej esterazy pektynowej czy łatwiejszym wiązaniem jonów wapnia dzięki zjawisku elektroporacji [2, 7]. Należy jednak podkreślić, że „odpowiedź” tkanki w postaci zmiany właściwości mechanicznych będzie zależała przede wszystkim od jej rodzaju, składu chemicznego czy stopnia dojrzałości.

Na podstawie analizy głównych składowych (PCA) stwierdzono, że próbki niepoddane działaniu pulsacyjnego pola elektrycznego przed zamrażaniem wyraźnie różniły się od tkanki poddanej działaniu PEF (rys. 5). Czynniki 1 tłumaczył 50,91 %, a czynnik 2 – 18,57 % całkowitej zmienności wariancji 13 analizowanych zmiennych. Próbki opisane jako 3p10, 5p50 oraz 1.85p100 charakteryzowały się parametrami, których wielkość była najbliższa wartości średnich obliczonych na podstawie wszystkich analizowanych przypadków. Wariantami obróbki PEF, które skutkowały otrzymaniem próbek najbardziej podobnych były: 3p10; 5p50; 3p50; 1.85p100 oraz 5p10. Tego typu dane są ważne podczas projektowania procesu obróbki elektrycznej oraz analizy energochłonności procesu. Spośród badanych zmiennych najbardziej różnicujący charakter miały właściwości mechaniczne – maksymalna praca ściskania (długość wektora 0,948) oraz praca ściskania (długość wektora 0,939).



Rys. 5. Biplot analizy głównych składowych próbek poddanych i niepoddanych działaniu pulsacyjnego pola elektrycznego (ML – ubytek masy, Fmax – maksymalna siła ściskania, Praca – praca ściskania, FTT – całkowity czas zamrażania, F_PTT – czas przemiany fazowej podczas zamrażania, F_PCT – czas schładzania podczas zamrażania, F_SCT – czas domrażania podczas zamrażania, TTT – całkowity czas rozmrażania, T_PTT – czas przemiany fazowej podczas rozmrażania, T_PHT – czas ogrzewania podczas rozmrażania, T_SHT – czas dogrzewania podczas rozmrażania, CDI – stopień dezintegracji komórkowej, Energia – energia dostarczona do próbki w czasie aplikacji PEF)

Fig. 5. Bi-plot of Principle Component Analysis of untreated and pulsed electric field-treated samples (ML – mass loss; Fmax – maximal compressive force; Praca – compressive work; FTT – freezing total time; F_PTT – phase transition time during freezing; F_PCT – cooling time during freezing; F_SCT – final freezing time; TTT – total thawing time; T_PTT – phase transition time during thawing; T_PHT – thawing preheating time; T_SHT – final heating time during freezing; CDI – cell disintegration index; Energia – specific energy input into sample during PEF treatment)

Na podstawie analizy głównych składowych stwierdzono, że najbardziej dodatnio skorelowane były ze sobą właściwości mechaniczne. Silną korelację wykazano także pomiędzy maksymalną siłą ściskania, pracą ściskania a całkowitym czasem zamrażania (FTT) czy rozmrażania (TTT). Z kolei zależność pomiędzy ubytkiem masy (ML) a czasem przemiany fazowej podczas rozmrażania opisana została przez dość niską wartość współczynnika korelacji $r = -0,52$. Dodatkowo, ubytek masy był także dodatnio skorelowany ($r = 0,77$) z energią dostarczoną do próbki podczas działania pulsacyjnego pola elektrycznego.

Wnioski

1. Obróbka wstępna pulsacyjnym polem elektrycznym (w badanym zakresie parametrów) pozwoliła skrócić całkowity czas zamrażania marchwi maksymalnie o 31,7 % oraz całkowity czas rozmrażania maksymalnie o 31,1 %, w porównaniu z próbką niepoddaną działaniu PEF.
2. Zastosowanie pulsacyjnego pola elektrycznego przed procesem zamrażania immersyjnego marchwi umożliwiło modyfikację ubytku masy w czasie zamrażania/rozmrażania.
3. Próbki marchwi poddane działaniu PEF przed zamrożeniem, a następnie rozmrożone charakteryzowały się niższymi wartościami maksymalnej siły ściskania oraz pracy ściskania.
4. Wartość stopnia dezintegracji komórkowej może być stosowana do przewidywania kinetyki zamrażania immersyjnego tkanki potraktowanej wstępnie PEF.

Literatura

- [1] Angersbach A., Heinz V., Knorr D.: Electrophysiological model of intact and processed plant tissues: cell disintegration criteria. *Biotechnol. Progr.*, 1999, **15**, 753-762.
- [2] Asavasanti S., Ersus S., Ristenpart W., Stroevé P., Barrett D.M.: Critical electric field strengths of onion tissues treated by pulsed electric fields. *J. Food Sci.*, 2010, **75** (7), 433-443.
- [3] Babicz-Zielińska E.: Postawy konsumentów wobec nowej żywności. *Zesz. Nauk. Akademii Morskiej w Gdyni*, 2010, **65**, 16-22.
- [4] Ben Ammar J., Lanoisellé J-L., Lebovka N., Vorobiev E.: Effect of a pulsed electric field and osmotic treatment on freezing of potato tissue. *Food Biophys.*, 2010, **5**, 247-254.
- [5] Comandini P., Blanda G., Soto-Caballero M.C., Sala V., Tylewicz U., Mujica-Paz H., Valdez Frago A., Gallina Toschi T.: Effects of power ultrasound on immersion freezing parameters of potatoes. *Innovative Food Sci. Emerg. Technol.*, 2013, **18**, 120-125.
- [6] Fernández P.P., Otero L., Guignon B., Sanz P.D.: High-pressure shift freezing versus high-pressure assisted freezing: Effects on the microstructure of a food model. *Food Hydrocoll.*, 2006, **20** (4), 510-522.
- [7] Grimi N., Lebovka N., Vorobiev E., Vaxelaire J.: Compressing behavior and texture evaluation for potatoes pretreated by pulsed electric field. *J. Texture Stud.*, 2009, **40** (2), 208-224.
- [8] Gruda Z., Postolski J.: *Zamrażanie żywności*. WNT, Warszawa 1999.
- [9] Europa 2020 – cele [online] Dostęp w Internecie [06.07.2014]: http://ec.europa.eu/europe2020/europe-2020-in-a-nutshell/targets/index_pl.htm
- [10] Jalté M., Lanoisellé J-L., Lebovka N., Vorobiev E.: Freezing of potato tissue pre-treated by pulsed electric fields. *LWT Food Sci. Technol.*, 2009, **42**, 576-580.
- [11] Kalichevsky M.T., Knorr D., Lillford P.J.: Potential food applications of high-pressure effects on ice-water transitions. *Trends Food Sci. Technol.*, 1995, **6**, 253-258.
- [12] Kamińska A., Lewicki P.P.: Wpływ wstępnej obróbki osmotycznej na przebieg procesów zamrażania i rozmrażania jabłek. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **2** (47) Supl., 101-107.

- [13] Lebovka N.I., Praporscic I., Vorobiev E.: Effect of moderate thermal and pulsed electric field treatments on textural properties of carrots, potatoes and apples. *Innovative Food Sci. Emerg. Technol.*, 2004, **(1)**, 9-16.
- [14] Lentas K., Witrowa-Rajcert D.: Wpływ wstępnego nasycania jonami wapnia na wybrane właściwości suszu jabłkowego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, 5 (**60**), 178-188.
- [15] Nowacka M., Fijałkowska A., Witrowa-Rajchert D.: Wpływ oddziaływania ultradźwięków na przebieg procesu zamrażania tkanki jabłka. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2013, **12**, 6-7.
- [16] Rastogi N.K., Eshtiaghi M.N., Knorr D.: Accelerated mass transfer during osmotic dehydration of high intensity electrical field pulse pretreated carrots. *J. Food Sci.*, 1999, **64** (**6**), 1020-1023.
- [17] Wiktor A.D., Chudoba T., Witrowa-Rajchert D.: Influence of pulsed electric field on air freezing of apple tissue. *International Conference of Agricultural Engineering CIGR-AgEng2012 Monographie*, 2012, 1-6 (dostęp online: http://wcigr.ageng2012.org/images/fotosg/tabla_137_C1631.pdf)
- [18] Wiktor A.D., Witrowa-Rajchert D.: Zastosowanie pulsacyjnego pola elektrycznego do wspomaganiania procesów usuwania wody z tkanek roślinnych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **2** (**81**), 22-32.
- [19] Wiktor A., Chudoba T., Witrowa-Rajchert D.: Przewodność elektryczna właściwa jako parametr stopnia dezintegracji komórek tkanki mięszu jabłka poddanego działaniu pulsacyjnego pola elektrycznego. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, 2011, **569**, 293-300.
- [20] Zhang B., Zeng X.A., Sun D.W., Yu S.J., Yang M.F., Ma S.: Effect of electric field treatments on brandy aging in oak barrels. *Food Bioprocess Technol.*, 2012, **7**, 1-9.

IMPACT OF PULSED ELECTRIC FIELD ON KINETICS OF IMMERSION FREEZING, THAWING, AND ON MECHANICAL PROPERTIES OF CARROT

S u m m a r y

The objective of the research study was to determine the impact of pulsed electric field (PEF) on the processes of immersion freezing, thawing, and on the selected parameters of thawed carrot tissue. The carrot tissue was treated by a pulsed electric field ($E = 1.85\text{-}5 \text{ kV/cm}$; $n = 0 - 100$ impulses, $W_s = 0 - 80 \text{ kJ/kg}$) and, next, it was immersion-frozen in ethanol at a temp. of $-20 \text{ }^\circ\text{C}$. The freezing and thawing curves were determined and, on their basis, the duration time of individual process stages of those processes was computed. The thawed tissue was assessed based on the mass loss during thawing and on the mechanical properties: maximal compressive force, and on the compressive work. It was found that the impact of the pulsed electric field application applied prior to freezing caused the total freezing time to decrease 31.7 % maximally compared to the PEF-untreated tissue. Moreover, the thawing time was also reduced (31.1 % maximally). Compared to the PEF-untreated tissue, the PEF-treated samples were also characterized by different mechanical properties, i.e. by lower values of both the compressive work (21.5 – 83.6 %) and the maximal compressive force (16.4 – 87.3 %). The mass loss after thawing of PEF-untreated tissue was 9.21 % and of the PEF-treated samples the mass loss ranged between 7.15 and 11.35 %. A statistically significant correlation ($r = 0.84$; $p\text{-value} = 0.002$) was also reported between the total freezing time and the cell disintegration index (CDI) ($r = 0.84$).

Key words: pulsed electric field, carrot, immersion freezing, thawing, mechanical properties 

ALEKSANDRA FIJAŁKOWSKA, MAŁGORZATA NOWACKA,
DOROTA WITROWA-RAJCHERT

WPLYW FAL ULTRADŹWIĘKOWYCH NA PRZEBIEG SUSZENIA I WYBRANE WŁAŚCIWOŚCI TKANKI BURAKA ĆWIKŁOWEGO

Streszczenie

Celem badań było określenie wpływu ultradźwięków, jako zabiegu wstępnego, na kinetykę suszenia tkanki buraka ćwikłowego i zużycie energii w tym procesie. Analizowano również wpływ obróbki wstępnej na zawartość suchej masy, zawartość barwników betalainowych oraz parametry barwy materiału. Plastry buraka ćwikłowego poddano działaniu ultradźwięków o częstotliwości 21 kHz przez 10, 20 i 30 min lub blanszowano 3 min w wodzie o temperaturze 90 °C. Materiał wysuszono metodą konwekcyjną w temp. 70 °C. Wykazano, że obróbka wstępna wpłynęła na istotne zmniejszenie zawartości suchej masy w świeżej tkance buraka, co było spowodowane ubytkiem składników i wnikaniem wody do wnętrza próbek. Zastosowanie obróbki wstępnej ultradźwiękami wpłynęło na skrócenie czasu suszenia plasterków buraka od 4,5 do 9 %, w porównaniu z tkanką niepoddaną zabiegom wstępnym, co doprowadziło do istotnego zmniejszenia (o 11 ÷ 14 %) nakładów energetycznych niezbędnych do wysuszenia materiału. Fale ultradźwiękowe spowodowały znaczące zmiany parametrów barwy suszu, zwiększając jasność plasterków buraka od 23,8 do wartości 35,6 ÷ 37,6, a także zmniejszając udział barwy czerwonej i żółtej odpowiednio do 13,1 ÷ 14,2 i 1 ÷ 1,6. Pomimo strat barwników betalainowych wywołanych obróbką wstępną oraz ich degradacją termiczną w procesie suszenia, w tkance buraka poddanej działaniu ultradźwięków oznaczono istotnie większą ($p = 0,05$) zawartość czerwonego (o 22,5 ÷ 26,5 %) i żółtego barwnika (o 23,5 ÷ 34,6 %) w porównaniu z próbką niepoddaną obróbce wstępnej ani blanszowaniu, co może świadczyć, że wstępne przygotowanie tkanki za pomocą ultradźwięków ułatwia ekstrakcję barwników z tkanki.

Słowa kluczowe: burak ćwikłowy, ultradźwięki, suszenie, barwa, betalainy

Wprowadzenie

Suszenie konwekcyjne jest powszechnie stosowaną metodą utrwalania żywności, umożliwiającą uzyskanie produktu o wydłużonym okresie trwałości. Proces ten powo-

Mgr inż. A. Fijałkowska, dr inż. M. Nowacka, prof. dr hab. D. Witrowa-Rajchert, Katedra Inżynierii Żywności i Organizacji Produkcji, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa. Kontakt: aleksandra_fijalkowska@sggw.pl

duje obniżenie aktywności wody do poziomu uniemożliwiającego rozwój mikroorganizmów oraz ogranicza do minimum szybkość reakcji enzymatycznych i nieenzymatycznych. Ponadto suszenie modyfikuje właściwości produktów pochodzenia roślinnego, redukuje ich masę i objętość, co jest korzystne ze względu na ograniczenie kosztów podczas magazynowania i transportu [3, 5, 14, 29].

Wysoka temperatura stosowana podczas usuwania wody z materiału może obniżać jakość produktu końcowego poprzez degradację witamin, utratę niezbędnych aminokwasów, a także zmianę barwy, smaku i aromatu [1, 26]. Pomimo szerokiego zastosowania w przemyśle spożywczym, proces suszenia konwekcyjnego charakteryzuje się wysokimi nakładami energetycznymi [6, 28].

Ze względu na rosnące zapotrzebowanie nabywców na produkty o wyższej jakości, przy jednoczesnym dążeniu producentów do obniżania kosztów procesu, poszukuje się optymalnych rozwiązań w zakresie połączenia suszenia konwekcyjnego z nietermicznymi technikami obróbki wstępnej, takimi jak: wysokie ciśnienie hydrostatyczne [8], pulsacyjne pole elektryczne [9] czy ultradźwięki [21].

Ultradźwięki są to wibracje powietrza o częstotliwości od 20 kHz do 100 MHz. Dotychczas były stosowane głównie w celach analitycznych do badania produktów żywnościowych. Obecnie ultraakustyka odgrywa ważną rolę również w bezpośrednim wspomaganiu procesów produkcyjnych i przetwórczych żywności, a jej dużą zaletą jest precyzyjne, szybkie i nieinwazyjne działanie [2, 11, 16].

Fale ultradźwiękowe wywołują serię szybkich kompresji i dekompresji, podobnych do tych, które zachodzą w gąbce na skutek jej ściskania i rozluźniania, co prowadzi do powstawania mikroskopijnych kanałów, a tym samym przyspieszenia dyfuzji podczas suszenia [19, 24]. Ultradźwięki wywołują również zjawisko kawitacji, które jest odpowiedzialne za nagły wzrost ciśnienia i temperatury w produkcie, powodujące zniszczenie struktury komórkowej i ułatwiające usuwanie wody [2, 12].

Zastosowanie ultradźwięków powoduje skrócenie czasu suszenia, co ma istotne znaczenie dla zachowania składników wrażliwych na wysoką temperaturę. Efekt ich działania zależy od rodzaju produktu oraz parametrów obróbki wstępnej, tj. częstotliwości i czasu aplikacji. Wykorzystanie ultradźwięków jest jedną z najbardziej obiecujących alternatyw dla termicznej obróbki wstępnej surowców, a prowadzone badania potwierdzają słusność ich stosowania w celu optymalizacji przebiegu procesów technologicznych [4, 18].

Celem pracy było określenie wpływu obróbki wstępnej za pomocą ultradźwięków na kinetykę suszenia tkanki buraka ćwikłowego i zużycie energii w tym procesie oraz zawartość suchej masy, zawartość barwników betalainowych oraz parametry barwy materiału. Skutki zastosowania ultradźwięków w obróbce wstępnej porównano z wpływem blanszowania na tkankę buraka. Do badań wybrano buraka ćwikłowego ze

względu na jego wysoką zdolność przeciwutleniającą oraz powszechne spożycie w Polsce [15].

Material i metody badań

Materiał do badań stanowiły buraki ćwikłowe odmiany 'Boro F1', zakupione na lokalnym rynku, które przechowywano w chłodni w temp. 5 - 8 °C do 4 tygodni, podczas których wykonywano badania. Surowiec krojono w plastry o średnicy $30,0 \pm 0,1$ mm i grubości $5,0 \pm 0,1$ mm.

Przygotowany materiał poddawano obróbce ultradźwiękami (US) o częstotliwości 21 kHz (MKD-3, MKD Ultrasonic, Stary Konik, Polska, wymiary wewnętrzne: $240 \times 140 \times 110$ mm) w ciągu 10, 20 i 30 min, przy stosunku masy wody i surowca 4 : 1 lub blanszowano przez 3 min w wodzie o temp. 90 °C przy takim samym stosunku masy wody i materiału.

Zawartość suchej masy w materiale surowym, blanszowanym oraz poddanym ultradźwiękom oznaczano metodą suszarkową, zgodnie z PN-90/A-75101/03 [22]. Suszenie konwekcyjne prowadzono w suszarce laboratoryjnej (Warszawa, Polska) w temperaturze powietrza 70 °C oraz w przepływie równoległym do warstwy materiału z prędkością 1,5 m/s. Obciążenie sita wynosiło 0,25 kg ($2,15 \text{ kg/m}^2$). Proces prowadzono do osiągnięcia równowagowej zawartości wody. Przy użyciu programu komputerowego „Pomiar” (Radwag, Radom, Polska) rejestrowano zmiany masy podczas procesu suszenia. Czas suszenia plastrów buraka ćwikłowego określano dla materiału zawierającego 0,2 kg $\text{H}_2\text{O/kg}$ s.m. Kinetykę suszenia przedstawiono jako zależność względnej zawartości wody, określającej stosunek zawartości wody po danym czasie suszenia i początkowej zawartości wody, od czasu suszenia. Suszenie powtórzono dwukrotnie.

Badano zużycie energii podczas obróbki wstępnej ultradźwiękami za pomocą licznika kosztów energii Energy Logger 4000F (Voltcraft, Niemcy), a także w trakcie trwania procesu suszenia przy użyciu miernika (Pawbol Sp. z o.o., Sułkowice). Pomiar wykonano w dwóch powtórzeniach.

Barwę tkanki surowej oraz suszu określano metodą odbiciową w systemie CIE $L^*a^*b^*$ przy użyciu chromometru CM-5 (Konica Minolta, Japonia) (światło rozproszone, kąt pomiaru 8°, obserwator standardowy CIE 2°), gdzie parametr L^* oznacza jasność próbki, współrzędna chromatyczna a^* określa udział barwy zielonej (-) i czerwonej (+), a współrzędna b^* opisuje udział barwy niebieskiej (-) i żółtej (+). Pomiar wykonano w 15 powtórzeniach.

Zawartość betalain oznaczano metodą chemiczną według Nilssona [17], polegającą na ekstrakcji barwników za pomocą buforu fosforanowego o pH 6,5 oraz spektrofotometrycznym pomiarze absorpcji przy długościach fali $\lambda = 476, 538$ i 600 nm. Zawartość barwników czerwonych wyrażano w mg betaniny w 100 g suchej masy,

a barwników żółtych – w mg wulgaksantyny w 100 g suchej masy. Oznaczenie wykonano trzykrotnie dla każdego rodzaju próbek.

Opracowanie matematyczne i graficzne uzyskanych wyników wykonano stosując oprogramowanie Microsoft Office Excel 2010 (Microsoft Corporation). Do analizy statystycznej wyników zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA) wykonaną w programie Statgraphics Plus 5.1 (StatPoint Technologies, Inc.). Za pomocą testu Levene'a sprawdzono jednorodność wariancji. Grupy homogenne, statystycznie nieróżniące się istotnie pod względem średniej, identyfikowano testem Duncana ($p = 0,05$). W przypadku niejednorodności wariancji lub rozkładu odmiennego od normalnego, do identyfikowania grup jednorodnych zastosowano test Kruskala-Wallisa (test porównań wielokrotnych), wykonany za pomocą oprogramowania Statistica 10 (StatSoft, Inc.) przy poziomie istotności $p = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Surowy burak ćwikłowy charakteryzował się zawartością suchej masy na poziomie 14,3 %. Wszystkie rodzaje obróbki wstępnej spowodowały statystycznie istotne ($p < 0,05$) zmniejszenie zawartości suchej masy, a największy ubytek wystąpił w tkance poddanej blanszowaniu (tab. 1). Zmniejszenie zawartości suchej masy spowodowane było przebiegiem dwóch przeciwkierunkowych procesów: wnikania składników suchej masy do środowiska oraz wody do materiału. Podobnie Nowacka i wsp. [18] stwierdzili, że podczas obróbki jabłka ultradźwiękami następuje ubytek suchej masy, przy czym wraz ze wzrostem czasu działania ultradźwięków obserwowano większy jej ubytek.

Tabela 1. Zawartość suchej masy w burakach niepoddanych i poddanych obróbce wstępnej

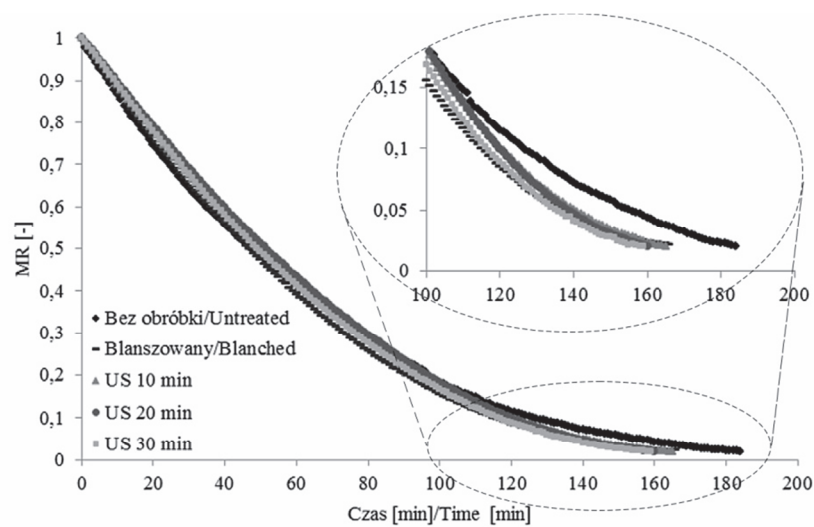
Table 1. Dry matter content in untreated and pre-treated beetroots

Rodzaj obróbki wstępnej Type of pre-treatment	Zawartość suchej masy [%] Dry matter content [%]
Bez obróbki / Untreated	14,3 ^d ± 0,1
Blanszowany / Blanched	12,8 ^a ± 0,1
US 10 min	13,5 ^b ± 0,1
US 20 min	13,5 ^b ± 0,1
US 30 min	13,9 ^c ± 0,1

Objaśnienia: / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviations; $n = 3$; a - d – grupy homogeniczne ($p < 0,05$) / homogeneous groups ($p < 0,05$).

Proces suszenia konwekcyjnego wywołuje wiele niepożądanych zmian w mikrostrukturze i wartości odżywczej surowców roślinnych. W celu ograniczenia tych zmian dąży się do redukcji czasu suszenia [13]. Czas potrzebny do wysuszenia tkanki buraka bez obróbki wstępnej do zawartości wody 0,2 kg H₂O/kg s.m. wynosił 178 min (rys. 1). Wszystkie rodzaje obróbki wstępnej spowodowały skrócenie procesu do 168, 170, 164 i 162 min odpowiednio: w przypadku tkanki blanszowanej oraz traktowanej ultradźwiękami przez 10, 20 i 30 min. Materiał poddany działaniu ultradźwięków charakteryzował się czasem suszenia krótszym o 4, 8 i 9 % tkanki traktowanej odpowiednio przez: 10, 20 i 30 min, przy czym w porównaniu z materiałem niepoddanym obróbce wstępnej statystycznie istotne różnice ($p < 0,05$) stwierdzono jedynie w przypadku materiału poddanego działaniu ultradźwięków przez 20 i 30 min. Podobne efekty obserwowali Rodrigues i Fernades [23] w przypadku melona, Jambaka i wsp. [10] – w przypadku kalafiora i brukselki, García-Pérez i wsp. [7] – skórki cytryny, Ortuño i wsp. [20] – skórki pomarańczy oraz Nowacka i wsp. [18] – jabłka. Zastosowanie ultradźwięków przed procesem suszenia prowadzi do niszczenia struktury tkanki roślinnej, co przyspiesza wymianę masy podczas suszenia [18].



Rys. 1. Względna zawartość wody [MR] podczas suszenia buraka ćwikłowego niepoddanego i poddanego obróbce wstępnej

Fig. 1. Relative water content [MR] during drying of untreated and treated beetroot

Stwierdzono również, że po ok. 120 min trwania procesu nastąpiło znaczące zwiększenie szybkości suszenia buraka poddanego zabiegom wstępnym w porównaniu z tkanką niepoddaną obróbce wstępnej. Skrócenie suszenia spowodowało istotne zmniejszenie zużycia energii w trakcie procesu (tab. 2). Nakłady energetyczne na wy-

suszenie plastrów buraka ćwikłowego poddanego obróbce wstępnej przed suszeniem zostały zredukowane od 11 do 14 % w stosunku do materiału niepoddanego zabiegom wstępnym i różnice te były statystycznie istotne ($p < 0,05$). Natomiast zużycie energii związane z obróbką wstępną było nieznaczne i wynosiło od 0,002 do 0,007 kWh.

Tabela 2. Zużycie energii podczas obróbki ultradźwiękami i w trakcie suszenia

Table 2. Energy consumption during ultrasound pre-treatment and drying

Rodzaj procesu Type of process	Bez obróbki Untreated	Blanszowany Blanched	US 10 min	US 20 min	US 30 min
Obróbka ultradźwiękami [kWh] Ultrasound pre-treatment [kWh]	–	–	0,002	0,004	0,007
Proces suszenia [kWh] Drying process [kWh]	155 ^b ± 1	137 ^a ± 5	138 ^a ± 3	134 ^a ± 3	133 ^a ± 1

Objaśnienia / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviations; $n = 2$; a - b – grupy homogeniczne ($p < 0,05$) / homogeneous groups ($p < 0,05$).

Barwa jest istotnym parametrem decydującym o jakości surowców i produktów spożywczych. W trakcie procesu suszenia barwa produktów uległa zmianie. Surowa tkanka buraka charakteryzowała się średnią jasnością na poziomie 20,3 (tab. 3). Barwa suszu buraczanego uległa rozjaśnieniu, jednak różnice pod względem wartości parametru L^* nie były statystycznie istotne ($p < 0,05$). Zastosowanie blanszowania nie spowodowało znaczących zmian jasności suszu w porównaniu z suszem niepoddanym obróbce. Natomiast istotnie wyższą wartością parametru L^* charakteryzowały się susze buraczane potraktowane ultradźwiękami przed procesem suszenia. Jasność badanych próbek była o ponad 50 % wyższa w porównaniu z wysuszoną tkanką niepoddaną zabiegom wstępnym. Różnice barwy między produktami surowym i suszonym mogą być konsekwencją różnic w strukturze powierzchni tych materiałów. Oznaczenie polega na pomiarze światła odbitego od badanej powierzchni. Inaczej odbijane jest światło od powierzchni surowca świeżego, który jest produktem o dużej zawartości wody, a inaczej od porowatej powierzchni suszu. Może to doprowadzić do zwiększenia mierzonej instrumentalnie jasności materiału wysuszonego, mimo braku takich spostrzeżeń podczas sensorycznej oceny barwy [25]. Ponadto na barwę materiału po obróbce wstępnej, którą przeprowadzano w środowisku wodnym, mogło mieć wpływ wypłukiwanie składników suchej masy, w tym barwników betalainowych rozpuszczalnych w wodzie, co istotnie wpływało na wzrost jasności tkanki [15].

Podobną zależność zaobserwowali Tiwari i wsp. [27], którzy badali wpływ ultradźwięków na barwę soków z czerwonych winogron. Zastosowanie ultradźwięków

spowodowało wzrost jasności soku w porównaniu z próbką kontrolną, niezależnie od zastosowanego czasu działania i amplitudy ultradźwięków.

Tabela 3. Parametry barwy buraka surowego oraz suszu niepoddanego i poddanego obróbce wstępnej
Table 3. Colour parameters of raw beetroot, untreated dried and pre-treated dried beetroot

Rodzaj obróbki wstępnej Type of pre-treatment	L*	a*	b*
Surowiec / Raw	20,28 ^a ± 0,70	21,01 ^c ± 3,29	5,56 ^e ± 1,20
Bez obróbki/ Untreated	23,77 ^a ± 2,45	21,91 ^c ± 2,44	2,45 ^d ± 0,81
Blanszowany / Blanched	22,53 ^a ± 2,08	16,68 ^b ± 2,25	0,32 ^a ± 0,72
US 10 min	35,56 ^b ± 2,55	14,19 ^a ± 2,21	1,00 ^b ± 1,10
US 20 min	37,04 ^b ± 3,54	13,14 ^a ± 2,78	1,56 ^c ± 1,21
US 30 min	37,60 ^b ± 2,98	13,59 ^a ± 2,08	1,42 ^{bc} ± 0,75

Objaśnienia / Explanatory notes:

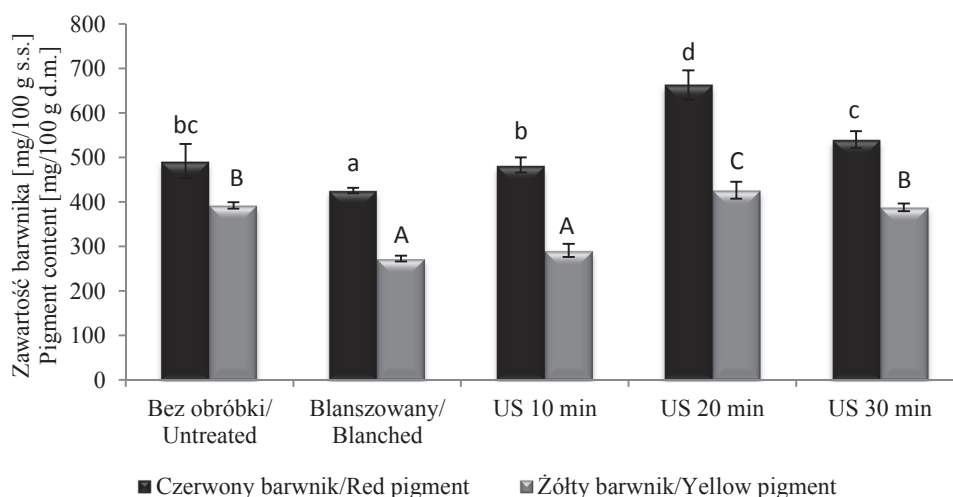
W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviations; n = 25; a - e – grupy homogeniczne w kolumnach (p < 0,05) / homogeneous groups in columns (p < 0.05).

W przypadku parametru a* zaobserwowano, że proces suszenia konwekcyjnego nie wpłynął istotnie na wartość tej współrzędnej chromatycznej w porównaniu z surowcem (tab. 3). Z kolei blanszowanie znacznie zmniejszyło wartość tego parametru w stosunku do materiału niepoddanego obróbce wstępnej. Najniższą wartość a*, a tym samym najniższy udział barwy czerwonej, stwierdzono w tkance potraktowanej ultradźwiękami i różnice te były statystycznie istotne (p < 0,05).

W przypadku parametru b* istotny był wpływ suszenia na wartość współrzędnej chromatycznej b* (tab. 3). Susz buraczany charakteryzował się znacznie mniejszym udziałem barwy żółtej w porównaniu z tkanką surową, której średnia wartość b* wynosiła 5,6. Najniższą wartość b*, statystycznie różniącą się od pozostałych, uzyskano po blanszowania tkanki buraka przed suszeniem. Zastosowanie ultradźwięków również spowodowało istotne zmniejszenie udziału barwy żółtej w stosunku do suszu niepoddanego zabiegom wstępnym. Jednak po zastosowaniu 20-minutowej obróbki ultradźwiękami uzyskano większą wartość parametru b* niż po 10 min działania ultradźwięków.

Zawartość betalain w próbkach określa się na podstawie udziału barwnika czerwonego, wyrażonego w mg betaniny na 100 g s.m. i żółtego – w mg wulgaksantyny na 100 g s.m. Barwniki betalainowe dobrze rozpuszczają się w wodzie i są wrażliwe na wysoką temperaturę. Dlatego w wyniku obróbki wstępnej oraz procesu suszenia następuje ich ubytek [15], co potwierdzają uzyskane wyniki.

Podczas obróbki wstępnej, polegającej na zanurzeniu surowca w wodzie jako medium przenoszącym ultradźwięki lub powodującym blanszowanie, stwierdzono ubytek rozpuszczalnych składników suchej masy, w tym barwników betalainowych (tab. 1). Wysoka temperatura podczas blanszowania spowodowała statystycznie istotne ($p < 0,05$), w stosunku do buraka niepoddanego zabiegom wstępnym, zmniejszenie zawartości zarówno barwnika czerwonego, jak i żółtego (rys. 2). Natomiast w wyniku poddania buraka działaniu ultradźwięków oznaczono większą zawartość betalain w stosunku do buraka niepoddanego zabiegom wstępnym. Istotnie większą zawartością barwnika czerwonego i żółtego charakteryzował się materiał traktowany ultradźwiękami przez 20 min. Zwiększenie zawartości betalain w tkance poddanej sonikacji świadczy o tym, że fale ultradźwiękowe ułatwiają ekstrakcję betalain. Ponadto nie obserwowano liniowej zależności pomiędzy czasem oddziaływania ultradźwięków a wzrostem zawartości barwników, co wskazuje, że istnieje konieczność ustalenia określonych parametrów obróbki wstępnej przy wykorzystaniu ultradźwięków, w celu uzyskania najkorzystniejszych wyników dla określonego surowca.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

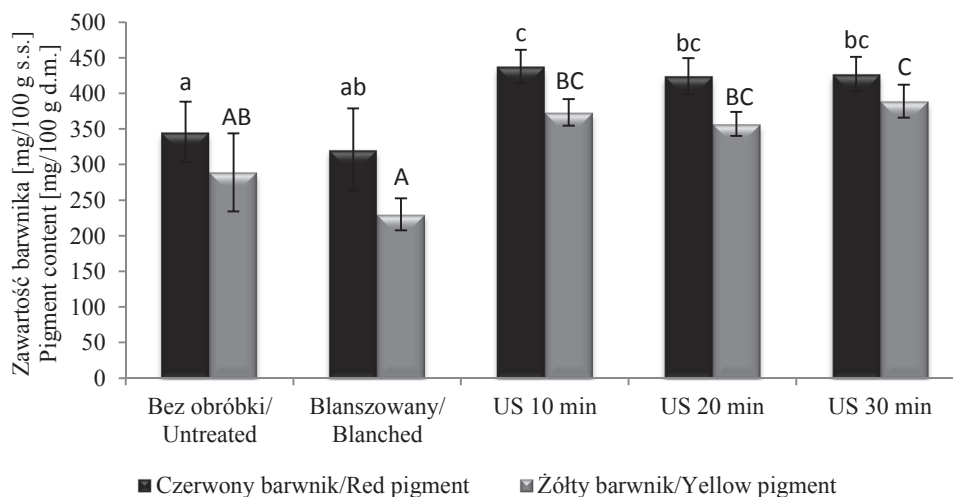
a - c – grupy homogeniczne w przypadku barwnika czerwonego ($p < 0,05$) / homogeneous groups in case of red pigment ($p < 0,05$); A - C – grupy homogeniczne w przypadku barwnika żółtego ($p < 0,05$) / homogeneous groups in case of yellow pigment ($p < 0,05$).

Rys. 2. Zawartość betalain w buraku niepoddanym i poddanym obróbce wstępnej

Fig. 2. Betalains content in untreated and pre-treated beetroot

Susz buraczany charakteryzował się mniejszą zawartością barwników betalainowych w porównaniu z surową tkanką (rys. 2 i 3). W przypadku wysuszonej tkanki

buraka poddanej blanszowaniu przed suszeniem wykazano brak statystycznie istotnych różnic ($p < 0,05$) pod względem zawartości barwnika czerwonego i żółtego w stosunku do suszu niepoddanego zabiegom wstępnym (rys. 3). Z kolei tkanka buraka poddana działaniu ultradźwięków charakteryzowała się większą zawartością betalain w stosunku do suszu niepoddanego procesom wstępnym. Zastosowanie ultradźwięków spowodowało podwyższenie zawartości zarówno barwnika czerwonego, jak i żółtego. Jednak statystycznie istotna różnica wystąpiła jedynie w przypadku barwnika czerwonego. Najwyższą wartością charakteryzowała się próbka poddana 10-minutowemu oddziaływaniu ultradźwięków, uzyskując wartość zbliżoną do zawartości betalain w surowej tkance buraka.



Objaśnienia jak pod rys. 2. / Explanatory notes as in Fig. 2.

Rys. 3. Zawartość betalain w suszu buraczanym niepoddanym i poddanym obróbce wstępnej
Fig. 3. Betalains content in untreated dried and pre-treated dried beetroot

W badaniu parametrów barwy stwierdzono wzrost jasności i zmniejszenie udziału barwy czerwonej i żółtej (tab. 3) w suszach po zastosowaniu ultradźwięków, co znalazło potwierdzenie w wynikach badania dotyczącego wpływu obróbki wstępnej i procesu suszenia na ubytek barwników betalainowych. Pomimo stwierdzonych strat związanych z zastosowaniem procesu suszenia oznaczono większą zawartość betalain w próbkach poddanych działaniu ultradźwięków w porównaniu z suszem bez obróbki wstępnej. Oznacza to, że wstępne działanie fal ultradźwiękowych przed suszeniem zwiększa możliwość późniejszej ekstrakcji, a tym samym ułatwia wydobycie barwników z wysuszonej tkanki buraka.

Wnioski

1. Zastosowanie obróbki wstępnej ultradźwiękami skróciło czas suszenia plastrów buraka od 4,5 do 9 % w porównaniu z tkanką niepoddaną zabiegom wstępnym, co doprowadziło do istotnego zmniejszenia nakładów energetycznych niezbędnych do wysuszenia materiału.
2. Fale ultradźwiękowe wpłynęły na znaczące zmiany barwy suszu, zwiększając jasność plastrów buraka i zmniejszając udział barwy czerwonej i żółtej.
3. Pomimo strat barwników betalainowych spowodowanych obróbką wstępną oraz ich degradacją termiczną w procesie suszenia, w tkance buraka poddanej działaniu ultradźwięków oznaczono istotnie większą zawartość czerwonego i żółtego barwnika, co może dowodzić, że działanie fal ultradźwiękowych ułatwia ekstrakcję barwników z tkanki.

Literatura

- [1] Azoubel P.M., Baima M.A.M., Amorim M.R., Oliveira S.S.B.: Effect of ultrasound on banana cv Pacovan drying kinetics. *J. Food Eng.*, 2010, **97**, 194-198.
- [2] Carcel J.A., Garcia-Perez J.V., Benedito J., Mulet A.: Food process innovation through new technologies: Use of ultrasound. *J. Food Eng.*, 2012, **110**, 200-207.
- [3] Ciurzyńska A., Janowicz M., Piotrowski D., Pomarańska-Lazuka W., Sitkiewicz I., Lenart A.: Właściwości rekonstrukcyjne suszonych próżniowo truskawek. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 2011, **569**, 21-34.
- [4] Cybulska J., Zdunek A., Konstankiewicz K.: Calcium effect on mechanical properties of model cell walls and apple tissue. *J. Food Eng.*, 2011, **102**, 217-223.
- [5] Gamboa-Santos J., Soria A.C., Pérez-Mateos M., Carrasco J.A., Montilla A., Villamiel M.: Vitamin C content and sensorial properties of dehydrated carrots blanched conventionally or by ultrasound. *Food Chem.*, 2013, **136 (2)**, 782-788.
- [6] Gamboa-Santos J., Montilla A., Carcel J.A., Villamiel M., Garcia-Perez J.V.: Air-borne ultrasound application in the convective drying of strawberry. *J. Food Eng.*, 2014, **128**, 132-139.
- [7] García-Pérez J.V., Carcel J.A., Riera E., Mulet A.: Influence of the applied acoustic energy on the drying of carrots and lemon peel. *Dry Technol.*, 2009, **27**, 281-287.
- [8] Hsu H.Y., Sheen S., Sites J., Huang L., Wu J.S-B.: Effect of high pressure treatment on the survival of Shiga toxin-producing *Echerichia coli* in strawberry puree. *Food Microbiol.*, 2014, **40**, 25-30.
- [9] Jaeger H., Meneses N., Knorr D.: Food Technologies: Pulsed Electric Field Technology. *Encyclopedia of Food Safety*, 2014, **3**, 239-244.
- [10] Jambrak A.R., Mason T.J., Paniwnyk L., Lelas V.: Accelerated drying of button mushrooms, Brussels sprouts and cauliflower by applying power ultrasound and its rehydration properties. *J. Food Eng.*, 2007, **81**, 88-97.
- [11] Jambrak A.R., Lelas V., Mason T.J., Kresić G., Badanjak M.: Physical properties of ultrasound treated soy proteins. *J. Food Eng.*, 2009, **93**, 386-393.
- [12] Jambrak A.R., Mason T.J., Lelas V., Kresić G.: Ultrasonic effect on physicochemical and functional properties of α -lactalbumin. *LWT-Food Sci. Technol.*, 2010, **43 (2)**, 254-262.

- [13] Janowicz M., Lenart A.: Znaczenie suszenia owoców i warzyw. Post. Techniki Przetw. Spoż., 2003, **12** (1), 28-32.
- [14] Kek S.P., Chin N.L., Yusof Y.A.: Direct and indirect power ultrasound assisted pre-osmotic treatments in convective drying of guava slices. Food Bioprod. Process., 2013, **91** (4), 495-506.
- [15] Kidoń M., Czapski J.: Wpływ obróbki termicznej na zawartość barwników betalainowych i zdolność przeciwutleniającą buraka ćwikłowego. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2007, **1** (50), 124-131.
- [16] Mason T.J., Paniwnyk L., Lorimer J.P.: The uses of ultrasound in food technology. Ultrason. Sonochem., 1996, **3** (3), 253-260.
- [17] Nilsson T.: Studies into the pigments in beetroot (*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* var. *rubra* L.) Lantbrukshogskolans Annaler, 1970, **36**, 179-197.
- [18] Nowacka M., Wiktor A., Śledź M., Jurek N., Witrowa-Rajchert D.: Drying of ultrasound pretreated apple and its selected physical properties. J. Food Eng., 2012, **113**, 427-433.
- [19] Nowacka M., Tylewicz U., Laghi L., Dalla Rosa M., Witrowa-Rajchert D.: Effect of ultrasound treatment on the water state in kiwifruit during osmotic dehydration. Food Chem., 2014, **144**, 18-25.
- [20] Ortuño C., Pérez-Munuera I., Puig A., Riera E., Garcia-Perez J.V.: Influence of power ultrasound application on mass transport and microstructure of orange peel during hot air drying. Physics Procedia, 2010, **3**, 153-159.
- [21] Ozuna C., Álvarez-Arenas T.G., Riera E., Cárcel J.A., Garcia-Perez J.V.: Influence of material structure on air-borne ultrasonic application in drying. Ultrason. Sonochem., 2014, **21**, 1235-1243.
- [22] PN-90/A-75101/03. Przetwory owocowe i warzywne. Oznaczenie zawartości suchej masy metodą wagową.
- [23] Rodrigues S., Fernandes F.A.N.: Use of ultrasound as pretreatment for dehydration of melons. Dry Technol., 2007, **25**, 1791-1796.
- [24] Rodríguez Ó., Santacatalina J.V., Simal S., Garcia-Perez J.V., Fermentia A., Rosselló C.: Influence of power ultrasound application on drying kinetics of apple and its antioxidant and microstructural properties. J. Food Eng., 2014, **129**, 21-29.
- [25] Rząca M., Witrowa-Rajchert D.: Wpływ parametrów suszenia konwekcyjno-mikrofalowego na barwę jabłek. Acta Agrophysica, 2007, **10** (2), 445-454.
- [26] Rząca M., Witrowa-Rajchert D.: Wpływ parametrów suszenia konwekcyjno-mikrofalowego na aktywność przeciwnadrodnikową jabłek. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2007, **5** (54), 222-230.
- [27] Tiwari B.K., Patras A., Brunton N., Cullen P.J., O'Donnell C.P.: Effect of ultrasound processing on anthocyanins and color of red grape juice. Ultrasonics Sonochemistry, 2010, **17**, 598-604.
- [28] Wiktor A., Łuczywek K., Witrowa-Rajchert D., Hankus M., Królikowski K.: Aproksymacja krzywych kinetycznych suszenia mikrofalowo-konwekcyjnego liści oregano wybranymi równaniami. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 2013, **573**, 61-73.
- [29] Zotarelli M.F., Almeida Porciuncula B.D. i Borges Laurindo J.: A convective multi-flash drying process for producing dehydrated crispy fruits. J. Food Eng., 2012, **108** (4), 523-531.

EFFECT OF ULTRASOUND WAVES ON DRYING PROCESS AND SELECTED PROPERTIES OF BEETROOT TISSUE

S u m m a r y

The objective of the research study was to determine both the effect of ultrasounds as an pre-treatment procedure on the drying kinetics of beetroot tissue and the energy consumption during the process. Also, there was analyzed the effect of that pre-treatment procedure on the content of dry matter and betalains

pigments, as well as on the colour parameters of the samples analyzed. Beetroot slices were either sonicated using a frequency of 21 kHz for 10, 20, and 30 minutes or blanched for 3 minutes in water at a temperature of 90°C. To dry the material analyzed, a convection method was applied, the drying temperature was 70 °C. It was shown that the pre-treatment significantly decreased the dry matter content in the fresh tissue of beetroot by reason of the loss of compounds and water penetration into the samples. The application of ultrasound pre-treatment caused the drying time of beetroot slices to be shortened 4.5 to 9 % in comparison to the drying time of untreated tissue; the shortening of the drying time resulted in a significant decrease in the energy inputs (11-14 %) indispensable for drying the samples. Ultrasound waves caused substantial changes in the colour parameters of the dried beetroot: the colour lightness of the beetroot slices increased from a value of 23.8 to 35.6-37.6 and the redness and yellowness increased to 13.1-14.2 and 1-1.6, respectively. Despite the losses of betalains pigments caused by the pre-treatment process applied and despite their thermal degradation during the drying process, a substantial ($p = 0.05$) increase was determined in the content of red pigment (22.5-26.5 %) and yellow pigment (23.5-34.6 %) in the sonicated beetroot tissue compared to the untreated and not blanched samples. This fact may prove that the ultrasound pre-treatment of beetroot tissue facilitates the extraction of pigments from the beetroot tissue.

Key words: beetroot, ultrasounds, drying, colour, betalains ☒

KATARZYNA KOTARSKA, WOJCIECH DZIEMIANOWICZ

WPLYW RÓŻNYCH WARUNKÓW FERMENTACJI ALKOHOLOWEJ MELASY NA JEJ INTENSYFIKACJĘ I JAKOŚĆ OTRZYMANEGO SPIRYTUSU

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu różnych szczepów drożdży gorzelnicznych oraz dodatku stymulatorów (związków mineralnych) na szybkość i wydajność procesu alkoholowej fermentacji melasy. Oceniono także jakość otrzymywanego spirytusu surowego.

Wykazano, że rodzaj użytego szczepu drożdży gorzelnicznych oraz dodatek stymulatorów był istotny. Przy zastosowaniu drożdży rasy O₁₁, po 72 h fermentacji uzyskano stężenie alkoholu na poziomie 8,04 % (v/v). Było ono o 15 % większe od stężenia alkoholu uzyskanego przy użyciu drożdży D-2 oraz o 3 % większe – w przypadku drożdży As-4. Dodatek stymulatorów w postaci związków mineralnych wpłynął na zwiększenie tempa namnażania drożdży gorzelnicznych, a tym samym na wzrost wydajności fermentacji alkoholowej. Największą wydajność alkoholu uzyskano w przypadku zastosowania stymulatorów w postaci mieszaniny: siarczanu(VI) magnezu, fosforanu(V) amonu oraz pantotenianu wapnia (sm+fa+pw). W tym wariantcie po 72 h procesu wydajność alkoholu z sacharozy zawartej w melasie kształtowała się na poziomie 63,16 dm³ A₁₀₀·100 kg⁻¹ (przy sprawności fermentacji 92,83 %) i była większa o 5 % w stosunku do próby kontrolnej (60,07 dm³ A₁₀₀·100 kg⁻¹ sacharozy).

Najważniejszym efektem, jaki osiągnięto przy zastosowaniu stymulatorów fermentacji, była poprawa jakości spirytusu surowego. Uzyskano zawartość aldehydów mniejszą o 69 % w stosunku do próby kontrolnej.

Słowa kluczowe: melasa, związki mineralne, drożdże gorzelniczne, fermentacja alkoholowa, jakość surowego spirytusu

Wprowadzenie

Melasa jest produktem ubocznym w procesie otrzymywania cukru z buraków cukrowych [9]. Wykorzystywana jest jako pożywka w przemyśle drożdżowym do otrzy-

Dr inż. K. Kotarska, mgr inż. W. Dziemianowicz, Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. Wacława Dąbrowskiego, Zakład Technologii Gorzelnictwa i Odnawialnych Źródeł Energii, ul. Powstańców Wielkopolskich 17, 85-090 Bydgoszcz. Kontakt: kotarska@ibprs.pl

mywania drożdży piekarskich lub paszowych [15]. Może być również stosowana do biosyntezy kwasów organicznych, np. kwasu cytrynowego, metodą powierzchniową lub węglaną, względnie jako źródło węgla do produkcji β -karotenu [18].

Ze względów ekonomicznych melasa jest dobrym surowcem do produkcji etanolu, gdyż zawiera dużo cukrów ulegających bezpośrednio fermentacji alkoholowej. Dzięki temu w procesie technologicznym nie ma konieczności stosowania parowania oraz używania preparatów enzymatycznych, niezbędnych w przypadku fermentacji surowców skrobiowych [1].

Do prawidłowego rozwoju drożdży niezbędne są m.in. pierwiastki, takie jak: azot, węgiel, fosfor, potas, magnez w formie łatwo przyswajalnej. Niekorzystny skład związków mineralnych w melasie wyraża się zbyt małą ilością fosforanów i nieprzyswajalnością 2/3 substancji azotowych [7]. Dodatek do podłoża stymulatorów w postaci związków mineralnych pozwala na przyspieszenie rozwoju i wzrostu liczby komórek drożdży, a tym samym na zwiększenie wydajności biomasy oraz produkcji etanolu [3, 7].

Podczas fermentacji brzezki melasowej oprócz etanolu powstają związki o charakterze lotnym, przechodzące w trakcie destylacji do spirytusu i powodujące jego zanieczyszczenie. Ze względu na budowę i właściwości chemiczne można je sklasyfikować jako: związki karbonylowe (aldehydy, ketony), wyższe alkohole, estry, kwasy organiczne i inne [5]. Ilościowy i jakościowy skład tych zanieczyszczeń w dużym stopniu zależy od jakości i czystości melasy, przebiegu procesu fermentacji brzezki oraz od występowania w środowisku związków żelaza w przypadku korozji zbiorników fermentacyjnych i magazynowych [13, 14].

Celem pracy było określenie wpływu różnych szczepów drożdży gorzelnicznych oraz dodatku stymulatorów (związków mineralnych) na szybkość i wydajność procesu alkoholowej fermentacji melasy. Oceniono także jakość otrzywanego spirytusu surowego.

Material i metody badań

Melasa użyta do badań pochodziła z Gorzelnicy w Chełmży. Charakteryzowała się laboratoryjną wydajnością alkoholu ze 100 kg surowca na poziomie 30 dm³ oraz suchą masą wynoszącą 83,3 %. Pozostałe parametry fizykochemiczne surowca wynosiły: gęstość – 1,36 kg·dm⁻³, zawartość sacharozy – 49,22 %, azot ogólny – 1,57 %.

Do przeprowadzenia fermentacji alkoholowej użyto trzech szczepów drożdży gorzelnicznych *Saccharomyces cerevisiae*: D-2, As-4 i O₁₁. Drożdże D-2 są tetraploidalnym szczepem otrzymany po zastosowaniu metody „szoku alkoholowego”. Natomiast szczep As-4 otrzymany został drogą hybrydyzacji płciowej. Szczepy te charakteryzują się podwyższoną odpornością na końcowe stężenie alkoholu (12 ÷ 14 % v/v) i tolerancją na podwyższone ciśnienie osmotyczne środowiska fermentacji

(do 24 °Błg). Drożdże o symbolu As-4 i D-2 są termofilne (optymalna temperatura fermentacji wynosi 38 ÷ 39 °C), natomiast drożdże O₁₁ są mezofilne (30 °C). Wszystkie szczepy drożdży pochodziły z kolekcji Zakładu Technologii Gorzelnictwa i Odnawialnych Źródeł Energii Instytutu Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego w Bydgoszczy.

Drożdże hodowano na podłożu płynnym YPG. Hodowlę prowadzono przez 24 h w termostacie w temp. 38 °C (szczepy D-2, As-4) oraz w temp. 30 °C (szczep O₁₁).

Brzeczkę melasową o gęstości 20 °Błg poddawano pasteryzacji, a następnie podczas ochładzania doprowadzano pH do poziomu 5,4 ÷ 5,6 za pomocą stężonego kwasu siarkowego. Podczas przygotowywania brzeczek melasowej nie stosowano żadnych preparatów enzymatycznych.

Brzeczkę melasową zaszczipiano drożdżami gorzelnicznymi oraz, w zależności od wariantu badań, wzbogacano stymulatorami procesu fermentacji alkoholowej, tj. siarczanem(VI) amonu (1 g·dm⁻³ brzeczek), siarczanem(VI) magnezu (1 g·dm⁻³), fosforanem(V) amonu (0,5 g·dm⁻³) i pantotenianem wapnia (0,5 g·dm⁻³). Dawka użytych stymulatorów została ustalona na podstawie prac badawczych realizowanych wcześniej w Zakładzie Technologii Gorzelnictwa i Odnawialnych Źródeł Energii [10 - 12]. Związki mineralne dodawano do brzeczek w formie pojedynczego związku – fosforan(V) amonu (fa) lub w postaci mieszanin, tj. siarczanu(VI) amonu i fosforanu(V) amonu (sa+fa) oraz siarczanu(VI) magnezu, fosforanu(V) amonu i pantotenianu wapnia (sm+fa+pw). Próbę kontrolną stanowił wariant bez dodatku wymienionych stymulatorów. Proces fermentacji prowadzono przez 72 h w inkubatorze, w temp. 38 °C (drożdże termofilne) i 30 °C (drożdże mezofilne).

Fermentację kontrolowano w trakcie jej trwania i po zakończeniu, aby ocenić prawidłowość przebiegu procesu technologicznego. Oznaczano: zawartość sacharozy w melasie, zawartość ekstraktu pozornego i rzeczywistego, pH, stężenie etanolu, zawartość cukrów bezpośrednio redukujących w wywarach. Średnie wyniki pomiarów i oznaczeń posłużyły do obliczenia wskaźników biotechnologicznych procesu fermentacji, takich jak: wydajność alkoholu, szybkość właściwa fermentacji, produktywność procesu, sprawność fermentacji.

Po 72 h fermentacji przeprowadzano destylację przefermentowanych brzeczek melasowych w laboratoryjnej kolumnie szklanej, wyposażonej w 26 półek przelewowych typu kapslowego. Zestaw ten umożliwiał otrzymywanie spirytusów o mocy 89,9 ÷ 93,9 % (v/v) podczas jednorazowej destylacji. Analizę spirytusu surowego wykonywano metodą kapilarnej chromatografii gazowej przy użyciu chromatografu gazowego Hewlett Packard (HP 6890) z układem EPC (elektroniczna regulacja pneumatyki), detektorem płomieniowo-jonizacyjnym FID i polarną kolumną kapilarną CP-WAX 57-CB (*high polarity polyethylene glycol*) firmy Chrompack o wymiarach 50 m × 320 μm × 0,20 μm.

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej. Obliczono wartości średnie z trzech powtórzeń i odchylenia standardowe. Do szacowania różnic między wartościami średnimi w grupach zastosowano test Tukeya ($p \leq 0,05$). Obliczenia wykonano za pomocą pakietu statystycznego Statistica 7.1 (StatSoft).

Wyniki i dyskusja

Wpływ szczepu drożdży na przebieg fermentacji alkoholowej brzeczek melasowych

Fermentacja alkoholowa przebiegała bez zakłóceń. Po 72 h procesu uzyskano ekstrakt pozorny na poziomie: $6,0 \div 7,8$ °Błg. Do fermentacji brzeczek melasowych najskuteczniejsze były drożdże gorzelnicze As-4 i O₁₁. W wariantach tych stwierdzono najmniejsze wartości ekstraktu rzeczywistego, który wynosił odpowiednio: 8,6 i 8,9 °Błg (tab. 1).

Tabela 1. Przebieg 3-dobowej fermentacji brzeczek melasowej o gęstości 20 °Błg, przy zastosowaniu różnych szczepów drożdży gorzelniczych

Table 1. 3-day process of fermenting molasses wort of 20 °Błg density with the use of different strains of distillery yeasts

Parametry procesu fermentacji alkoholowej Parameters of alcoholic fermentation process	Czas trwania fermentacji [h] Duration of fermentation [h]	Szczep drożdży gorzelniczych Strain of distillery yeasts		
		D-2	As-4	O ₁₁
Ekstrakt pozorny Apparent extract [°Błg]	24	16,4 ^a ± 0,1	15,0 ^b ± 0,0	14,4 ^c ± 0,1
	48	10,9 ^a ± 0,0	9,0 ^b ± 0,1	7,1 ^c ± 0,0
	72	7,8 ^a ± 0,2	6,0 ^b ± 0,0	6,1 ^b ± 0,0
pH	24	5,5 ^a ± 0,1	4,7 ^b ± 0,0	4,8 ^b ± 0,0
	48	5,2 ^a ± 0,0	4,7 ^b ± 0,0	4,8 ^b ± 0,1
	72	5,2 ^a ± 0,0	4,7 ^b ± 0,1	4,8 ^b ± 0,0
Stężenie alkoholu Alcoholic strength [% (v/v)]	24	2,23 ^c ± 0,08	3,01 ^b ± 0,03	3,85 ^a ± 0,02
	48	4,26 ^c ± 0,12	6,23 ^b ± 0,04	7,91 ^a ± 0,01
	72	6,83 ^c ± 0,05	7,78 ^b ± 0,02	8,04 ^a ± 0,08
Ekstrakt rzeczywisty Actual extract [°Błg]	24	16,8 ^a ± 0,2	15,4 ^b ± 0,1	15,5 ^b ± 0,2
	48	12,2 ^a ± 0,0	11,1 ^b ± 0,0	9,0 ^c ± 0,0
	72	10,5 ^a ± 0,0	8,6 ^b ± 0,0	8,9 ^b ± 0,1
Cukry redukujące [%] Reducing sugars [%]	72	1,62 ^a ± 0,02	0,46 ^b ± 0,02	0,53 ^b ± 0,01

Objaśnienia: / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviations; a - c – wartości średnie w rzędach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) / mean values in rows and denoted using various letter differ statistically significantly ($p \leq 0.05$); n = 3.

Największe stężenie alkoholu po 72 h fermentacji uzyskano przy użyciu drożdży O₁₁ – 8,04 % (v/v). W stosunku do pozostałych szczepów było ono większe o 15 % (D-2) i o 3 % (As-4).

Przy zastosowaniu drożdży O₁₁ i As-4 zawartość cukrów redukujących w wywarze melasowym wynosiła 0,46 ÷ 0,53 %. W przypadku użycia drożdży D-2 zawartość cukrów redukujących była większa i wynosiła 1,62 %.

Z przeprowadzonych badań wynika, że rodzaj użytego szczepu drożdży gorzelnicznych wpłynął na przebieg fermentacji alkoholowej oraz na końcową wydajność alkoholu. Szczepy drożdży często wykazują odmienną tolerancję na podwyższone ciśnienie osmotyczne. Potwierdzają to El-Abyad i wsp. [6], którzy przeanalizowali dwadzieścia dwa szczepy drożdży. Ocenie poddana została ich skuteczność prowadzenia fermentacji alkoholowej melasy buraczanej. Jednym z najlepszych okazał się szczep *Saccharomyces cerevisiae* Y-7, który osiągnął największą wydajność fermentacji. Zayed i Foley [19] badali wpływ zastosowanych szczepów drożdży na produkcję etanolu z melasy. Stwierdzili, że sposób wykorzystania cukrów obecnych w surowcu zależy od szczepu drożdży, co powoduje uzyskanie odmiennej końcowej wydajności alkoholu.

Wpływ dodatku stymulatorów na przebieg fermentacji alkoholowej brzeczek melasowych

Do przebadania wpływu stymulatorów dodawanych do brzeczek melasowych poddanych fermentacji zastosowano drożdże gorzelnicze As-4. Podłożem doświadczalnym była brzeczką melasowa o gęstości 20 °Błg. Stwierdzono, że stymulatory użyte w badaniach wpłynęły na poprawę parametrów i wskaźników biotechnologicznych procesu fermentacji. Zaobserwowano zwiększenie wydajności alkoholu z sacharozy we wszystkich przebadanych wariantach doświadczalnych, w porównaniu z próbą kontrolną (tab. 2).

Po 72 h fermentacji brzeczek melasowych pH wynosiło 4,7, co świadczyło o prawidłowo prowadzonym procesie oraz o braku zanieczyszczeń bakteryjnych. Zanieczyszczenie brzeczek melasowych bakteriami powoduje bowiem zwiększenie ilości jonów wodorowych, co skutkuje zmniejszeniem pH nawet do poziomu 3,5. Zayed i Foley [18] stwierdzili, że optymalne pH w trakcie produkcji etanolu z melasy wynosi 4,5. Jednocześnie zaobserwowali zmniejszenie wydajności alkoholu przy pH 5,5. Spowodowane to było zwiększoną produkcją glicerolu, który jest wytwarzany przez drożdże w warunkach podwyższonego pH. El-Abyad i wsp. [6] ustalili natomiast, że fermentacja alkoholowa melasy przebiega najlepiej przy pH = 5,0.

Zawartość cukrów redukujących w wywarze po 72 h była zbliżona we wszystkich wariantach doświadczalnych i wahała się od 0,41 do 0,49 %. Mała zawartość substancji redukujących wskazuje na całkowite wykorzystanie cukrów z podłoża fermentacyjnego

Tabela 2. Parametry i wskaźniki biotechnologiczne fermentacji alkoholowej brzożek melasowych z dodatkiem stymulatorów, prowadzonej przy udziale drożdży As-4

Table 2. Parameters and biotechnological indices of alcoholic fermentation of molasses worts with added stimulants, conducted using As-4 yeasts

Wariant doświadczalny Experimental variant	Wydajność alkoholu z sacharozy po h [dm ³ A ₁₀₀ ·100 kg ⁻¹ sacharozy] Alcohol yield from sucrose after h [dm ³ EtOH·100 kg ⁻¹ sucrose]			Szybkość właściwa fermentacji po h [cm ³ A ₁₀₀ ·kg ⁻¹ glukozy × h ⁻¹] Specific fermentation rate after h [cm ³ EtOH·kg ⁻¹ glucose × h ⁻¹]			Produktywność fermentacji po h [cm ³ A ₁₀₀ dm ⁻³ brzożki × h ⁻¹] Fermentation productivity after h [cm ³ EtOH·dm ⁻³ × h ⁻¹]			Energia fermentacji po h [%] Fermentation energy [%] after h			Cukry redukujące Reducing sugars [%]
	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72	
Próba kontrolna Control sample	23,24 ^b ± 1,12	48,10 ^b ± 0,42	60,07 ^b ± 1,04	9,20 ^b ± 0,47	9,52 ^b ± 0,20	7,92 ^b ± 0,10	1,25 ^b ± 0,03	1,30 ^b ± 0,00	1,08 ^c ± 0,02	29,37 ^a ± 0,22	76,73 ^a ± 1,24	100	0,53 ^a
fa	21,16 ^c ± 0,37	47,25 ^b ± 1,15	61,07 ^b ± 0,21	8,37 ^c ± 0,31	9,35 ^b ± 0,19	8,06 ^{ab} ± 0,05	1,14 ^c ± 0,07	1,28 ^b ± 0,01	1,10 ^{bc} ± 0,03	26,23 ^c ± 0,54	74,81 ^a ± 0,68	100	0,49 ^b
sa+fa	25,63 ^a ± 0,97	52,43 ^a ± 0,31	62,93 ^a ± 1,01	10,14 ^a ± 0,41	10,37 ^a ± 0,17	8,30 ^a ± 0,20	1,38 ^{ab} ± 0,01	1,41 ^a ± 0,01	1,13 ^{ab} ± 0,01	29,69 ^a ± 0,13	73,91 ^a ± 0,21	100	0,43 ^c
sm+fa+pw	26,17 ^a ± 0,78	53,20 ^a ± 0,19	63,16 ^a ± 0,47	10,36 ^a ± 0,29	10,53 ^a ± 0,12	8,33 ^a ± 0,05	1,41 ^a ± 0,05	1,44 ^a ± 0,02	1,14 ^a ± 0,01	27,80 ^b ± 0,68	67,07 ^b ± 1,10	100	0,41 ^c

Objaśnienia: / Explanatory notes:

fa – fosforan(V) amonu / ammonium phosphate(V); sa – siarczan(VI) amonu / ammonium sulphate (VI); sm – siarczan(VI) magnezu / magnesium sulphate (VI); pw – pantotenian wapnia / calcium pantothenate; W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviations; a - c – wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie (p ≤ 0,05) / mean values in columns and denoted using various letters differ statistically significantly (p ≤ 0,05); n = 3

przez drożdże gorzelnicze. Według Beltrana i wsp. [2] dodatek azotu do podłoża fermentacyjnego może wpłynąć na zwiększenie produkcji biomasy mikroorganizmów lub na zwiększenie stopnia wykorzystania cukrów zawartych w surowcu. Podobne wnioski przedstawili Irvali i wsp. [8] oraz Kotarska i wsp. [10]. Stwierdzili oni, że wprowadzenie do zacieru gorzelniczego azotu w postaci związków mineralnych lub aminokwasów powoduje przyrost biomasy drożdżowej bez ubytku białka z przerabianego surowca.

Po 72 h procesu wydajność alkoholu z sacharozy zawartej w melasie kształtowała się na poziomie $61,07 \div 63,16 \text{ dm}^3 \text{ A}_{100} \cdot 100 \text{ kg}^{-1}$ sacharozy (przy sprawności fermentacji $89,76 \div 92,83 \%$), co stanowiło wzrost o $2 \div 5 \%$ w stosunku do próby kontrolnej ($60,07 \text{ dm}^3 \text{ A}_{100} \cdot 100 \text{ kg}^{-1}$ sacharozy) – tab. 2. Największą, statystycznie istotną różnicę ($p \leq 0,05$), w porównaniu z próbą kontrolną, osiągnięto w wariancie, w którym zastosowano dodatek mieszaniny siarczanu(VI) magnezu, fosforanu(V) amonu i pantotenianu wapnia (sm+fa+pw). W wariantach ze stymulatorami dynamika tworzenia etanolu była wyższa w stosunku do próby kontrolnej. Największą szybkością właściwą wytwarzania etanolu oraz produktywnością fermentacji charakteryzowały się warianty z dodatkiem mieszanin: siarczanu(VI) amonu i fosforanu(V) amonu (sa+fa) oraz siarczanu(VI) magnezu, fosforanu(V) amonu oraz pantotenianu wapnia (sm+fa+pw). Szybkość właściwa tworzenia etanolu po zakończeniu procesu wynosiła w tych wariantach odpowiednio: $8,30$ i $8,33 \text{ cm}^3 \text{ A}_{100} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ glukozy} \times \text{h}^{-1}$ i była większa w porównaniu z próbą kontrolną ($7,92 \text{ cm}^3 \text{ A}_{100} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ glukozy} \times \text{h}^{-1}$). Natomiast produktywność fermentacji kształtowała się na poziomie $1,13 \div 1,14 \text{ cm}^3 \text{ A}_{100} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ brzeczki} \times \text{h}^{-1}$ (tab. 2).

Wpływ dodatku stymulatorów na jakość uzyskiwanego spirytusu surowego

Najważniejszym efektem badań było podwyższenie jakości spirytusu surowego przy zastosowaniu stymulatorów fermentacji. Wyniki zawartości aldehydów, estrów, alkoholi wyższych oraz metanolu w uzyskanych spirytusach przedstawiono w tab. 3.

W próbach, w których zastosowano dodatek stymulatorów, stwierdzono zmniejszenie zawartości związków karbonylowych, w stosunku do próby kontrolnej. Zawartość aldehydów w spirytusach melasowych może wynosić $0,3 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ A}_{100}$ według Polskiej Normy [17] i jest trzykrotnie większa niż określona dla spirytusów zbożowych i ziemniaczanych. W spirytusie surowym uzyskanym z fermentacji brzeczki melasowej z dodatkiem mieszaniny siarczanu(VI) magnezu, fosforanu(V) amonu i pantotenianu wapnia (sm+fa+pw) stwierdzono mniejszą o 69% ($0,121 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ A}_{100}$) zawartość aldehydów w stosunku do próby kontrolnej ($0,389 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ A}_{100}$). Po zastosowaniu do brzeczki dodatku fosforanu(V) amonu (fa) oraz mieszaniny siarczanu(VI) amonu i fosforanu(V) amonu (sa+fa) uzyskano mniejszą zawartość związków karbonylowych odpowiednio o: 62 i 28% . Według Lafona-Lafourcade'a i wsp. [16] stymulatory zwiększają wykorzystanie aldehydu octowego, przez co następuje zmniejszenie jego stężenia w środowisku fermentacyjnym.

Tabela 3. Zawartość lotnych produktów ubocznych w spirytusie otrzymanym z fermentacji brzeczki melasowych z dodatkiem stymulatorów

Table 3. Content of volatile by-products in spirit produced during fermentation of molasses worts with stimulants added

Produkty uboczne fermentacji By-products of fermentation	Wariant doświadczalny / Experimental variant			
	Próba kontrolna Control sample	fa	sa+fa	sm+fa+pw
Aldehydy [$\text{g}\cdot\text{dm}^{-3} A_{100}$] Aldehydes [$\text{g}\cdot\text{dm}^{-3} \text{EtOH}$]	$0,389^a \pm 0,030$	$0,147^c \pm 0,015$	$0,280^b \pm 0,022$	$0,121^d \pm 0,010$
Kwasy [$\text{g}\cdot\text{dm}^{-3} A_{100}$] Acids [$\text{g}\cdot\text{dm}^{-3} \text{EtOH}$]	$0,021^c \pm 0,003$	$0,031^a \pm 0,006$	$0,032^a \pm 0,002$	$0,028^b \pm 0,003$
Estry [$\text{g}\cdot\text{dm}^{-3} A_{100}$] Esters [$\text{g}\cdot\text{dm}^{-3} \text{EtOH}$]	$0,258^a \pm 0,008$	$0,298^a \pm 0,007$	$0,138^b \pm 0,005$	$0,064^c \pm 0,005$
Metanol [$\text{g}\cdot 100 \text{cm}^{-3} \text{EtOH}$] Methanol [$\text{g}\cdot 100 \text{cm}^{-3} \text{EtOH}$]	$0,003^a \pm 0,001$	$0,001^b \pm 0,000$	$0,001^b \pm 0,000$	$0,003^a \pm 0,001$
Alkohole wyższe [$\text{g}\cdot\text{dm}^{-3} A_{100}$] Higher alcohols [$\text{g}\cdot\text{dm}^{-3} \text{EtOH}$]	$3,460^a \pm 0,039$	$1,523^b \pm 0,042$	$1,149^{bc} \pm 0,094$	$0,855^c \pm 0,036$

Objaśnienia: / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie \pm odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviations; a - c – wartości średnie w rzędach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) / mean values in rows and denoted using various letters differ statistically significantly ($p \leq 0,05$); $n = 3$.

Ilość powstających alkoholi wyższych w przebadanych próbkach była mała i wahała się w granicach $0,855 \div 1,523 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3} A_{100}$. W spirytusach stwierdzono mniej fuzli: o 56 % w wariacie fa, o 67 % w wariacie sa+fa oraz o 75 % w wariacie sm+fa+pw.

Zawartość zanieczyszczeń chemicznych w spirytusach surowych jest bardzo istotna przy produkcji bioetanolu, gdyż wymagania jakościowe dotyczące biokomponentów ściśle określają zakres występowania poszczególnych grup związków chemicznych. Ilość tworzących się alkoholi wyższych nie może przekraczać 2 % (v/v). W przypadku zbyt dużej zawartości może wystąpić zjawisko dezaktywacji katalizatorów podczas wytwarzania eteru etylo-tert-butyłowego (EETB) [4, 11].

Najmniejszą zawartość estrów stwierdzono w spirytusie surowym otrzymanym z fermentacji alkoholowej brzeczki z dodatkiem mieszaniny: siarczanu(VI) magnezu, fosforanu(V) amonu i pantotenianu wapnia (sm+fa+pw). Wynosiła ona $0,064 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3} A_{100}$ i w stosunku do próby kontrolnej była mniejsza o 75 %. Natomiast w pozostałych wariantach zawartość estrów kształtowała się na poziomie $0,138 \div 0,298 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3} A_{100}$.

We wszystkich próbach stwierdzono bardzo niski poziom alkoholu metylowego, tj. $0,001 \div 0,003 \text{ g}\cdot 100 \text{cm}^{-3} A_{100}$.

Wnioski

1. Na przebieg fermentacji oraz końcową wydajność alkoholu (72 h) wpływ miał rodzaj zastosowanego szczepu drożdży gorzelnicznych oraz wzbogacenie podłoża fermentacyjnego stymulatorami.
2. Stwierdzono, że do fermentacji brzeczek melasowych najkorzystniejsze było zastosowanie szczepów drożdży gorzelnicznych: O₁₁ i As-4.
3. Dodatek stymulatorów do brzeczek melasowych wpłynął na intensyfikację procesu fermentacji alkoholowej. Dodatek mieszaniny: siarczanu(VI) magnezu, fosforanu(V) amonu oraz pantotenianu wapnia (sm+fa+pw) do brzeczek melasowych przyczynił się do uzyskania wzrostu wydajności alkoholu o 5 % w stosunku do próby kontrolnej.
4. Podwyższenie jakości spirytusu surowego poprzez zastosowanie stymulatorów fermentacji było najważniejszym efektem, jaki osiągnięto w badaniach. W uzyskanych spirytusach stwierdzono ograniczenie zawartości aldehydów o ok. 28 ÷ 69 % w stosunku do próby kontrolnej.

Literatura

- [1] Arshad M., Chan Z.M., Khalil-ur-Rehman M., Szach F.A., Rajoka M.I.: Optimization of process variables for minimization of byproduct formation during fermentation of blackstrap molasses to ethanol at industrial scale. *Lett. Appl. Microbiol.*, 2008, **47** (5), 410-414.
- [2] Beltran G., Esteve-Zarzoso B., Rozés N., Mas A., Guillamón J.M.: Influence of the timing of nitrogen additions during synthetic grape must fermentations on fermentation kinetics and nitrogen consumption. *J. Agric. Food Chem.*, 2005, **53** (4), 996-1002.
- [3] Bonin S., Stanisławczyk M.: Wpływ pierwiastków magnezu i wapnia na proces fermentacji winiarskiej. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2011, **5**, 16-17.
- [4] Burnus Z., Jędrzychowska S., Kopydłowski A., Wieczorek A.: Przegląd metod analitycznych stosowanych w oznaczaniu właściwości bioetanolu. *Nafta-Gaz*, 2011, **6**, 410-416.
- [5] Eden A.L., Nederveld V., Drukker M., Benvenisty N., Debourg A.: Involvement of branched chain amino acid aminotransferases in the production of fusel alcohols during fermentation in yeast. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2001, **55** (3), 296-300.
- [6] El-Abyad M.S., El-Diwany A.I., Sallam L.A., Reda F.: Some physiological parameters for ethanol production from beet molasses by *Saccharomyces cerevisiae* Y-7. *Bioresour. Technol.*, 1992, **42** (3), 183-189.
- [7] Ergun M., Mutlu S.F.: Application of a statistical technique to the production of ethanol from sugar beet molasses by *Saccharomyces cerevisiae*. *Bioresour. Technol.*, 2000, **73** (3), 251-255.
- [8] Irvani N., Bärwald G., Windish S.: Einfluß der Stickstoffquelle auf die Leistung und Regenerierung der Hefe unter anaeroben Bedingungen. *Die Branntweinwirtschaft*, 1986, **5**, 10-73.
- [9] Kopsahelis N., Agouridis N., Bekatorou A., Kanellaki M.: Comparative study of spent grains and delignified spent grains as yeast supports for alcohol production from molasses. *Bioresour. Technol.*, 2007, **98** (7), 1440-1447.
- [10] Kotarska K., Czupryński B., Kłosowski G.: Effect of various activators on the course of alcoholic fermentation. *J. Food Eng.*, 2006, **77** (4), 965-971.

- [11] Kotarska K., Dziemianowicz W., Czupryński B.: Wpływ dodatku stymulatorów na fermentację melasy oraz jakość uzyskiwanego spirytusu. Inż. Aparat. Chem., 2013, **52** (2), 54-56.
- [12] Kotarska K., Czupryński B., Wolska M.: Wpływ pantotenianu wapnia z tiaminą oraz wybranych związków mineralnych na przebieg fermentacji alkoholowej żytnich zacierów gorzelnicznych (1). Przem. Ferm. Owoc. Warz., 2005, **49** (4), 35-36.
- [13] Kotarska K., Żakowicz A., Czupryński B.: Ocena zawartości produktów ubocznych weryfikująca jakość spirytusu surowego. Inż. Aparat. Chem., 2011, **50** (3), 41-42.
- [14] Kłosowski G., Czupryński B., Kotarska K., Wolska M.: Charakterystyka zanieczyszczeń chemicznych obniżających jakość spirytusu surowego (1). Przem. Ferm. Owoc. Warz., 2003, **47** (6), 20-21.
- [15] Kurtanek Z.: Principal component ANN for modeling and control of baker's yeast production. J. Biotechnol., 1998, **65** (1), 23-25.
- [16] Lafon-Lafourcade S., Genex C., Ribereau-Gayon P.: Inhibition of alcoholic fermentation of grape must by fatty acids produced by yeasts and their elimination by yeast ghosts. Appl. Envir. Microbiol., 1984, **47** (6), 1246-1249.
- [17] PN-A-79523:2002. Destylat rolniczy.
- [18] Toğrul H., Arslan N.: Mathematical model for prediction of apparent viscosity of molasses. J. Food Eng., 2004, **62** (3), 281-289.
- [19] Zayed G.Z.A., Foley J.: The influence of fermentation conditions on ethanol yields from sugar beet molasses and fodder beet juice using *Saccharomyces cerevisiae* strains. Irish J. Food Sci. Technol., 1987, **11** (2), 119-133.

EFFECT OF DIFFERENT CONDITIONS OF ALCOHOLIC FERMENTATION OF MOLASSES ON ITS INTENSIFICATION AND QUALITY OF PRODUCED SPIRIT

S u m m a r y

The objective of the research study was to determine the effect of various distillery yeast strains and the addition of stimulants (mineral compounds) on the rate and efficiency of alcoholic fermentation process of molasses. Furthermore, the quality of the raw spirit produced was assessed.

It was proved that the type of distillery yeast strains and the addition of stimulants were significant. Upon the application of O₁₁ species of yeasts, after 72 hours of the fermentation process, the alcoholic strength level was 8.04 % (v/v). It was 15 % higher than the alcoholic strength level of alcohol produced using D-2 yeasts and 3 % higher when using As-4 yeasts. The addition of stimulants in the form of mineral compounds caused the growth rate of distillery yeasts to increase and, consequently, the efficiency of alcoholic fermentation to increase. The highest alcohol yield was reported when using stimulants in the form of a mixture of: magnesium sulphate (VI), ammonium phosphate (V), and calcium pantothenate (sm+fa+pw). In that variant, after 72 hours of the process, the alcohol yield from sucrose contained in the molasses was 63.16 dm³ EtOH·100·kg⁻¹ (and the fermentation efficiency was 92.83 %), and it was 5 % higher compared to the control sample (60.07 dm³ EtOH·100 kg⁻¹ of sucrose).

The most important effect of the use of fermentation stimulants was the improvement of raw spirit quality. Compared to the control sample, the obtained content of aldehydes was 69 % lower.

Key words: molasses, mineral compounds, distillery yeasts, alcoholic fermentation, quality of raw spirit



MAGDALENA MATYSIAK, KATARZYNA GAWEL-BĘBEN,
KAMILA RYBCZYŃSKA, JAN GMIŃSKI, STANISŁAW SURMA

PORÓWNANIE WYBRANYCH WŁAŚCIWOŚCI BIOLOGICZNYCH CZOSNKU (*ALLIUM SATIVUM* L.) POCHODZĄCEGO Z POLSKI I CHIN

Streszczenie

Mimo licznych publikacji naukowych potwierdzających korzystne dla zdrowia działanie czosnku i jego preparatów, w literaturze niewiele jest danych dotyczących właściwości tego surowca w zależności od kraju pochodzenia. W niniejszej pracy porównano wybrane właściwości wodnych ekstraktów czosnku pochodzącego z Polski (odmiana 'Harnaś') oraz z Chin (odmiana nieznana), ze względu na powszechne występowanie chińskiego czosnku na polskim rynku. Wodny ekstrakt z czosnku chińskiego charakteryzował się wyższą zdolnością do neutralizacji wolnego rodnika DPPH•, kationorodnika ABTS•+ i chelatowania jonów miedzi(II) niż ekstrakt z czosnku polskiego. Natomiast substancje zawarte w wodnym ekstrakcie z czosnku polskiego znacznie skuteczniej chelatowały jony żelaza(II). W ocenie właściwości przeciwgrzybiczych w stosunku do drożdży *Saccharomyces cerevisiae* wykazano, że wodny ekstrakt z czosnku chińskiego znacznie silniej hamował wzrost drożdży niż ekstrakt z odmiany polskiej. Podsumowując można stwierdzić, że oceniane próbki czosnku charakteryzowały się zróżnicowanym działaniem przeciwutleniającym i przeciwgrzybiczym.

Słowa kluczowe: czosnek, *Saccharomyces cerevisiae*, antyoksydanty, chelatowanie jonów

Wprowadzenie

Czosnek pospolity (*Allium sativum* L.) jest jedną z najstarszych roślin uprawianych przez człowieka, popularną ze względu na właściwości przyprawowe, jak i szerokie spektrum właściwości prozdrowotnych [15]. Czosnek działa silnie bakterioobójczo na liczne drobnoustroje Gram-dodatnie i Gram-ujemne, łącznie ze szczepami antybiotykoopornymi. W literaturze szeroko opisano antywirusowe, przeciwgrzybicze

Mgr M. Matysiak, dr K. Gawel-Bęben, prof. dr hab. J. Gmiński, Katedra Zdrowia Publicznego, Dietetyki i Chorób Cywilizacyjnych, dr K. Rybczyńska, Katedra Kosmetologii, S. Surma, Wydz. Medyczny, Wyższa Szkoła Informatyki i Zarządzania, ul. Sucharskiego 2, 35-225 Rzeszów.
Kontakt: mmatysiak@wsiz.rzeszow.pl

oraz przeciwpasożytnicze właściwości czosnku i jego preparatów. Ponadto wzmacnia on odporność organizmu, stymuluje układ immunologiczny oraz wykazuje silne właściwości przeciwutleniające [16]. Wzrosło zainteresowanie działaniem przeciwnowotworowym tego cennego surowca. Powszechnie znany jest także dobroczynny wpływ czosnku na układ sercowo-naczyniowy, m.in. poprzez utrzymanie prawidłowego poziomu cholesterolu i lipidów we krwi, działanie fibrynolityczne i zmniejszające agregację płytek krwi [10].

Świeże ząbki czosnku składają się głównie z wody, węglowodanów i białek, zawierają także witaminy, wśród których najwięcej jest witaminy C oraz witamin z grupy B. Spośród licznych składników mineralnych na uwagę zasługuje zawartość potasu, fosforu, żelaza, seleniu i manganu. W skład ząbków czosnku wchodzi ponadto związki przeciwutleniające, jak flawonoidy i kwasy fenolowe, a przede wszystkim organiczne związki siarki, takie jak allicyna [21], nadająca ząbkom charakterystyczny, ostry zapach i decydująca o większości jego prozdrowotnych właściwości [23]. Istotny udział polifenoli w mechanizmie przeciwutleniającym czosnku potwierdzono w licznych badaniach [2, 3, 5, 9, 20]. Potencjał przeciwutleniający tych związków jest związany z ich budową chemiczną – występowaniem grup hydroksylowych, połączonych z pierścieniem aromatycznym [18].

Czosnek jest uprawiany w wielu strefach klimatycznych, a jego wzrost zależy od czynników środowiskowych. W zależności od nich, przedstawiciele tego samego gatunku *Allium sativum* mogą różnić się między sobą nie tylko morfologią, ale także zawartością substancji biologicznie czynnych [24]. Według danych Organizacji do spraw Wyżywienia i Rolnictwa ONZ największym producentem czosnku na świecie są Chiny [19]. Są one jednym z głównych eksporterów czosnku na rynek polski. Jak podaje GUS [8], w 2012 roku do Polski sprowadzono z Chin ponad 1500 ton tego surowca.

Celem badań było porównanie potencjału przeciwutleniającego, właściwości przeciwgrzybiczych i cytotoksyczności czosnku (*Allium sativum L.*) pochodzącego z Chin oraz rodzimej odmiany 'Harnaś'.

Materialy i metody badań

Przygotowanie wodnych ekstraktów z czosnku polskiego i chińskiego

Polski czosnek odmiany 'Harnaś' oraz czosnek pochodzący z Chin otrzymano z Firmy Produkcyjno-Handlowo-Usługowej "MARKIE-POL" w Dąbrówce Wielkiej. Świeże obrane ząbki czosnku w ilości 10 g zalewano 100 ml wody destylowanej i rozdrabniano w łaźni lodowej, przy użyciu blendera firmy Bosch. Otrzymaną zawiesinę inkubowano w temp. 4 °C przez 30 min, po czym wirowano 10 min przy prędkości 3900 g. Uzyskany supernatant filtrowano przez sterylny filtr strzykawkowy o średnicy

porów równej 0,22 μm (Millipore) [17]. Ekstrakt z każdej odmiany czosnku wykonywano co najmniej trzykrotnie.

Za zdolności przeciwutleniające mogą odpowiadać różne mechanizmy, dlatego dokonana analiza powinna być kompleksowa [1].

Zawartość związków fenolowych

Zawartość związków fenolowych ogółem w badanych ekstraktach oznaczano spektrofotometrycznie, stosując odczynnik Folina-Ciocalteu'a (Sigma-Aldrich), zgodnie z metodą opisaną przez Fukumota i Mazzę [7], w modyfikacji Bozina i wsp. [3]. Do 300 μl wodnego ekstraktu z czosnku (100 mg/ml) dodawano 1,5 ml odczynnika Folina-Ciocalteu'a (1 : 10). Po 6 min dodawano 7,5 % Na_2CO_3 i inkubowano przez 2 h w temp. 20 ± 2 °C. Absorbancję prób mierzono przy długości fali $\lambda = 740$ nm. Zawartość związków fenolowych wyrażano w μg kwasu galusowego (GA) na g świeżej masy czosnku (ś.m.) użytego do sporządzenia ekstraktu.

Wygaszanie stabilnego wolnego rodnika DPPH•

Zdolność ekstraktów z czosnku do wygaszania wolnego rodnika DPPH• (1,1-difenylo-2-pikrylohydrazyl) (Sigma-Aldrich) mierzono zgodnie z metodą, którą opisali Brand-Williams i wsp. [4]. Etanolewy roztwór DPPH• o stężeniu 25 mM, (absorbancja przy długości fali $\lambda = 517$ nm mniejsza niż 1) mieszano w stosunku 1 : 1 z rozcieńczonymi wodnymi ekstraktami z badanych prób czosnku (20, 10, 5, 2,5, i 1,25 mg/ml) i inkubowano w temp. 20 ± 2 °C przez 30 min, w ciemności. Próbkę kontrolną stanowiła równa objętość wody destylowanej. Po inkubacji dokonywano pomiaru absorbancji przy długości fali $\lambda = 517$ nm, za pomocą spektrofotometru UV-Vis Aqua-Mate (Thermo Scientific). Stopień neutralizacji rodnika DPPH• obliczano z równania: $\text{DPPH}\bullet [\%] = (1 - A_{\text{próby}} / A_{\text{kontroli}}) \times 100$.

Wygaszanie kationorodnika ABTS•+

Analizę wygaszania kationorodnika ABTS•+ (2,2-azynobis-3-etylobenzotiazolino-6-sulfonian) wykonywano metodą Re i wsp. [21], w modyfikacji Bartosza [1]. ABTS (Sigma-Aldrich) rozpuszczano w buforze fosforanowym o pH = 7.4 i inkubowano w ciemności przez 16 h. Przed rozpoczęciem analizy roztwór ABTS•+ rozcieńczono tak, aby absorbancja przy długości fali $\lambda = 414$ nm wynosiła około 1. Następnie 0,98 ml roztworu ABTS•+ mieszano z 0,02 ml rozcieńczonych ekstraktów (2, 1,5, 1, 0,5 i 0,125 mg/ml), uzyskanych z badanych próbek czosnku. Po 10-minutowej inkubacji w temp. 20 ± 2 °C mierzono absorbancję przy długości fali $\lambda = 414$ nm i obliczano stopień wygaszania kationorodnika z równania: $\text{ABTS}\bullet+ [\%] = (1 - A_{\text{próby}} / A_{\text{kontroli}}) \times 100$.

Chelatowanie jonów żelaza(II)

Zdolność badanych ekstraktów do chelatowania jonów żelaza(II) określano, mierząc absorbancję kompleksu Fe^{2+} - ferrozyna przy długości fali $\lambda = 562$ nm. W obliczeniach korzystano z równania: chelatowanie Fe(II) [%] = $(1 - A_{\text{próby}} / A_{\text{kontroli}}) \times 100$. W tym celu do 0,5 ml ekstraktów o stężeniu 0,4, 0,2, 0,1, 0,05 i 0,025 mg/ml dodawano 3,7 ml H_2O oraz 0,1 ml 1 mM roztworu chlorku żelaza (Sigma-Aldrich). Reakcję inicjowano dodając do mieszaniny 0,2 ml 5 mM ferrozyny (Sigma-Aldrich), a następnie inkubowano ją przez 10 min w temp. 20 ± 2 °C [22].

Chelatowanie jonów miedzi(II)

Do 100 μl ekstraktu z czosnku (o rozcieńczeniu 2,5, 2, 1,5, 1 i 0,5 mg/ml) dodawano 500 μl 0,1-procentowego CuSO_4 (Chempur) oraz 400 μl buforu octanowego o pH = 5,6. Po 2 min dodawano 250 μl 4 mM wodnego roztworu pirokatecholu (Sigma-Aldrich) i inkubowano 10 min w temp. 20 ± 2 °C. Absorbancję prób mierzono przy długości fali $\lambda = 632$ nm. Próbę kontrolną stanowił bufor octanowy, a obliczenia wykonywano z równania [6]:

$$\text{chelatywowanie Cu(II) [\%]} = (1 - A_{\text{próby}} / A_{\text{kontroli}}) \times 100$$

Badane ekstrakty analizowano również pod względem wartości IC₅₀ (ang. *half maximal inhibitory concentration*). Wartość IC₅₀ wyliczano z równania regresji liniowej, odnosząc stopień wygaszania wolnego rodnika DPPH• do zawartości związków fenolowych w badanym ekstrakcie. Wartość ta określa ilość przeciwutleniacza, przy której początkowe stężenie rodnika DPPH• zmniejsza się o 50 %, wyrażoną w μg związków fenolowych na 1 ml badanego ekstraktu.

Analiza statystyczna

Każde doświadczenie wykonywano w trzech powtórzeniach. W celu porównania wartości IC₅₀, charakteryzującej siłę wygaszania wolnych rodników DPPH• i ABTS•+ oraz chelatowania jonów Fe^{2+} i Cu^{2+} przez wodne ekstrakty z dwóch ocenianych prób czosnku zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA oraz test Tukeya ($p = 0,05$). Obliczenia przeprowadzono w programie GraphPad Prism 5.0.

Wzrost Saccharomyces cerevisiae w obecności wodnych ekstraktów z czosnku

Dwunastogodzinną hodowlę drożdży *Saccharomyces cerevisiae* rozcieńczano w pożywce YPD (ang. *Yeast Extract Peptone Dextrose* – ekstrakt drożdżowy, pepton, dekstroza) o składzie: 1 % ekstraktu drożdżowego, 2 % glukozy (Chempur), 2 % peptonu (Beckton Dickinson) do gęstości optycznej $\text{OD}_{600} = 0,300$. Do próbek zawierających 4,4 ml YPD dodawano po 100 μl przygotowanej zawiesiny drożdży o rozcień-

czeniu wynoszącym 10^{-5} oraz 500 μl ekstraktów z czosnku w odpowiednim rozcieńczeniu (1,25, 2,5, 5, 10 mg/ml). Do hodowli kontrolnych dodawano po 500 μl jałowej wody destylowanej. Drożdże hodowano w temp. 28 °C na wytrząsarce. Po 12, 24, 36 i 48 h mierzono spektrofotometrycznie gęstość optyczną hodowli (OD_{600}).

Wyniki i dyskusja

Stwierdzono, że czosnek chiński charakteryzował się zbliżoną zawartością związków fenolowych (średnio 334,50 μg kwasu GA/g ś.m. czosnku), z tendencją do większej zawartości w porównaniu z czosnkiem polskim (średnio 320,80 μg kwasu GA/g ś.m. czosnku) – tab. 1. Przeciwutleniacze neutralizują rodnik DPPH• w procesie jednoelektronowej redukcji, czemu towarzyszy zmiana barwy zredukowanego rodnika. Obie badane próbki czosnku wykazały zdolność do wygaszania wolnego rodnika DPPH•. Wraz ze wzrostem stężenia badanych ekstraktów wzrastała efektywność wygaszania wolnych rodników. Czosnek chiński we wszystkich badanych stężeniach (1,25 ÷ 20 mg/ml) charakteryzował się wyższą zdolnością do neutralizowania rodnika DPPH• niż polska odmiana ‘Harnaś’ (rys. 1 A). Wartości IC_{50} ekstraktów różniły się istotnie (tab. 1).

Tabela 1. Zawartość polifenoli oraz wartość IC_{50} odnosząca się do siły wygaszania rodników DPPH•, ABTS•+ i zdolności chelatowania jonów Fe^{2+} i Cu^{2+} przez wodne ekstrakty badanych odmian czosnku

Table 1. Content of polyphenols in and IC_{50} value ref. to DPPH• and ABTS•+ free radical scavenging activity and Fe^{2+} and Cu^{2+} ions chelating capacity by aqueous extracts of garlic varieties studied

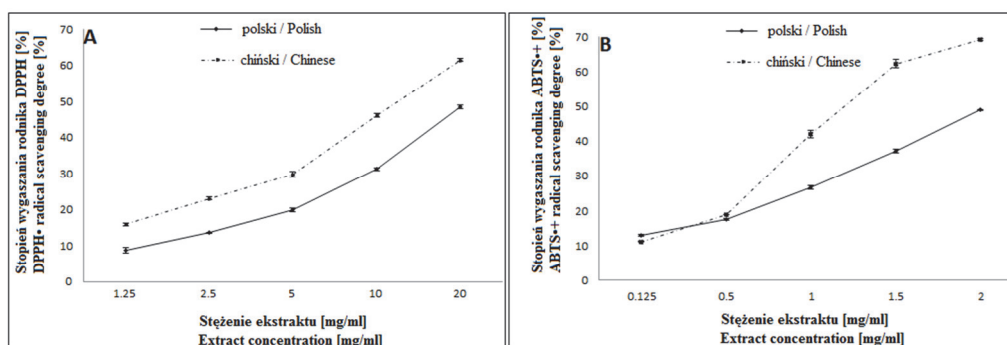
<i>Alium sativum</i> extracts	F	DPPH•	ABTS•+	Fe^{+2}	Cu^{+2}
		IC_{50} [$\mu\text{g}/\text{ml}$]	IC_{50} [$\mu\text{g}/\text{ml}$]	IC_{50} [$\mu\text{g}/\text{ml}$]	IC_{50} [$\mu\text{g}/\text{ml}$]
Polish	320,80 ± 1,94	6,52 ^b ± 0,06	0,68 ^b ± 0,01	0,04 ^a ± 0,03	1,09 ^a ± 0,19
Chinese	334,50 ± 2,38	4,63 ^a ± 0,05	0,43 ^a ± 0,01	0,10 ^b ± 0,02	1,57 ^b ± 0,11

Objaśnienia: / Explanatory notes:

F – zawartość związków fenolowych w μg kwasu galusowego/g ś.m. czosnku ± odchylenie standardowe / content of phenolics expressed in μg of gallic acid/1g of raw garlic ± standard deviation; wartość IC_{50} – wyrażono w μg związków fenolowych na 1 ml ekstraktu czosnku / IC_{50} value was expressed in μg of phenolics for 1ml of garlic extract; a, b – grupy homogenne w kolumnach, oznaczone na podstawie różnicy pomiędzy średnimi ($p \leq 0,05$) / homogenic groups in columns, determined based on difference between means ($p \leq 0.05$); n = 3.

Wodne ekstrakty z polskiego i chińskiego czosnku wykazywały wysoki potencjał redukujący kationorodnik ABTS•+, zależny od stężenia ekstraktów. W tym układzie eksperymentalnym silniejszym działaniem przeciwutleniającym charakteryzował się ekstrakt z czosnku chińskiego, który w stężeniach powyżej 0,5 mg/ml znacznie silniej

wygasał ABTS•+ niż ekstrakt z czosnku polskiego (rys. 1 B). Wartość IC50 ekstraktu z czosnku chińskiego wynosiła średnio 0,43 µg/ml i była istotnie niższa od wartości ekstraktu czosnku polskiego (średnio 0,68 µg/ml). Ponadto, niższe wartości IC50 uzyskane w przypadku kationorodnika ABTS•+ dowodzą, że ta metoda pomiaru zdolności przeciwrodnikowych jest znacznie czulsza niż metoda z użyciem rodnika DPPH• (tab. 1).

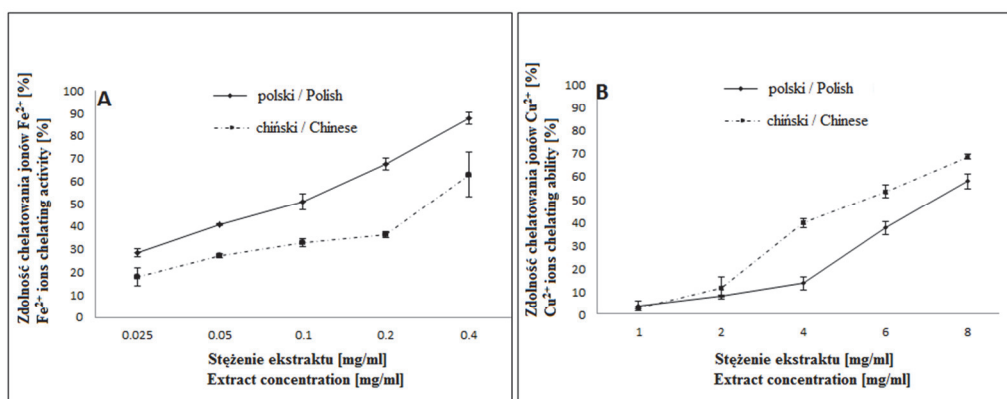


Rys. 1. Zdolność wygaszania rodnika DPPH• (A) i ABTS•+ (B) przez wodne ekstrakty z polskiego i chińskiego czosnku

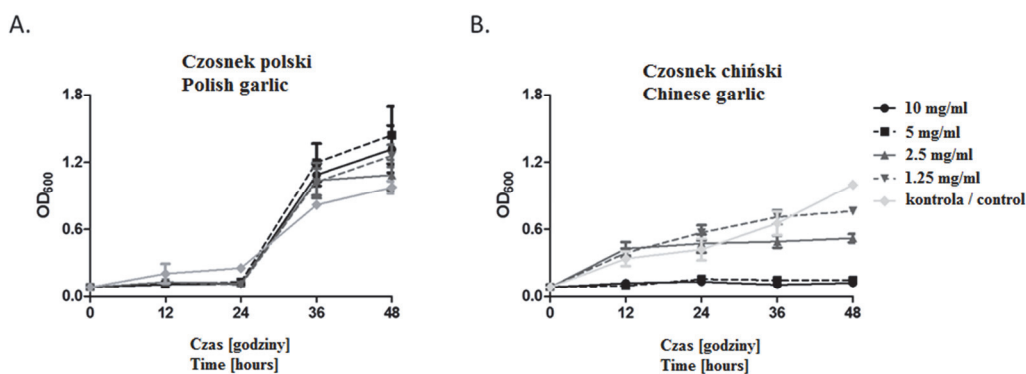
Fig. 1. Ability to scavenge free radicals of DPPH• (A) and ABTS•+ (B) by aqueous extracts of Polish and Chinese garlic

Kolejne działanie przeciwutleniaczy polega na zapobieganiu powstawaniu wolnych rodników w komórkach. Przykładem takiej reakcji jest synteza rodnika hydroksylowego przy udziale jonów metali prooksydacyjnych, takich jak żelazo lub miedź [1]. W celu określenia potencjału przeciwutleniającego wodnych ekstraktów z polskiego i chińskiego czosnku zmierzono ich zdolność do chelatowania jonów żelaza(II) w reakcji z ferrozyną. Oba badane ekstrakty zapobiegały tworzeniu się kompleksów Fe^{2+} – ferrozyna, co dowodzi, że związki w nich zawarte mają zdolność do chelatowania jonów żelaza(II). Zdolność ta wzrastała wraz ze wzrostem stężenia ekstraktów, przy czym wysoki stopień chelatowania jonów Fe^{2+} (20 ÷ 30 %) stwierdzano, stosując już małe stężenia badanego ekstraktu (0,025 mg/ml). Czosnek pochodzenia polskiego, w porównaniu z chińskim, charakteryzował się wyższą efektywnością chelatowania jonów Fe^{2+} (rys. 2 A). Pomiędzy wartościami IC50 badanych ekstraktów stwierdzono statystycznie istotne różnice ($p \leq 0,05$) – tab. 1. Uzyskane wartości IC50 w przypadku tego układu eksperymentalnego były najniższe, co może sugerować, że głównym mechanizmem przeciwutleniającego działania związków fenolowych zawartych w czosnku jest chelatowanie jonów żelaza(II). Ponadto, zarówno ekstrakty z czosnku polskiego, jak i z chińskiego, wykazywały zdolność do chelatowania jonów miedzi(II). Podobnie, jak w przypadku chelatowania jonów żelaza, zależność ta była uwarunkowana stężeniem ekstraktów. Przy stężeniach przekraczających 2 mg/ml ekstrakt

z czosnku pochodzenia chińskiego charakteryzował się wyższą efektywnością chelatowania jonów miedzi(II) (rys. 2 B). W przeliczeniu na zawartość związków fenolowych badane ekstrakty z czosnku polskiego charakteryzowały się istotnie niższą ($p \leq 0,05$) wartością IC50. Zjawisko to można wytłumaczyć różnicą zawartości związków fenolowych w badanych ekstraktach oraz ich zróżnicowaną efektywnością. Przeciwutleniacze już w niewielkim stężeniu wykazują efektywność neutralizacji wodnych rodników [11]. Właściwości przeciwutleniające ekstraktów roślinnych uzależnione są także od składu jakościowego związków fenolowych, których potencjał przeciwutleniający zależy od pozytywnego i negatywnego synergizmu składników aktywnych [12].



Rys. 2. Chelatowanie jonów Fe²⁺ (A), Cu²⁺ (B) przez wodne ekstrakty z polskiego i chińskiego czosnku
Fig. 2. Fe²⁺ (A) and Cu²⁺ (B) ions chelating by aqueous extracts of Polish and Chinese garlic



Rys. 3. Wyniki wzrostu *Saccharomyces cerevisiae* pod wpływem wodnych ekstraktów z polskiego (A) i chińskiego (B) czosnku

Fig. 3. Growth performance of *Saccharomyces cerevisiae* under the effect of aqueous extracts of Polish (A) and Chinese (B) garlic

W celu określenia aktywności przeciwgrzybiczej ekstraktów z polskiego i chińskiego czosnku zbadano ich wpływ na wzrost drożdży *Saccharomyces cerevisiae* (rys. 3). Ekstrakty z czosnku chińskiego o stężeniach 5 i 10 mg/ml całkowicie hamowały wzrost drożdży (rys. 3 B), natomiast wodny ekstrakt z czosnku polskiego nie wpływał na wzrost hodowli *Saccharomyces cerevisiae* w żadnym z badanych stężeń (rys. 3 A).

Wyniki niniejszych badań dowodzą, że czosnek pospolity (*Allium sativum* L.) uprawiany w różnych regionach geograficznych charakteryzuje się zróżnicowanym potencjałem przeciwutleniającym, odmienną cytotoksycznością wobec ludzkich fibroblastów skóry i hamowaniem wzrostu drożdży *Saccharomyces cerevisiae*. Różnice w działaniu wodnych ekstraktów ze świeżego czosnku, pochodzącego z Polski oraz z Chin, świadczą o zróżnicowanej zawartości substancji biologicznie czynnych. Otrzymane wyniki są zgodne z danymi aktywności biologicznej różnych odmian *Allium sativum* w zależności od regionu geograficznego, z którego pochodzą [2, 5, 9, 14]. W Polsce uprawia się wiele odmian czosnku, ale warunki klimatyczne są zbliżone. Chiny to państwo obejmujące wiele krain geograficznych i kilka stref klimatycznych. Czosnek sprowadzany z Chin może więc charakteryzować się zróżnicowaną zawartością składników biologicznie aktywnych i właściwościami prozdrowotnymi, czego dowodzą badania prowadzone przez naukowców z tego kraju [5]. Należy pamiętać, że producenci żywności w Unii Europejskiej muszą stosować określone normy bezpieczeństwa. W polskich i światowych mediach pojawiały się liczne negatywne doniesienia, dotyczące jakości chińskich produktów żywnościowych. W ostatnich latach Chiny podjęły działania dotyczące poprawy standardów bezpieczeństwa żywności i dostosowania własnych regulacji do norm międzynarodowych, jednak proces ten z pewnością będzie długotrwały [13].

Wnioski

1. Wyższym potencjałem przeciwutleniającym, mierzonym zarówno zdolnością wygaszania wolnych rodników DPPH•, jak i ABTS•+ charakteryzował się wodny ekstrakt z czosnku chińskiego.
2. Ekstrakty z polskiego i z chińskiego czosnku wykazywały wysoką efektywność chelatowania jonów metali prooksydacyjnych. Ekstrakt z czosnku polskiego silniej chelatował jony żelaza(II), a ekstrakt z czosnku chińskiego wykazywał wyższą zdolność chelatowania jonów miedzi(II).
3. Wodny ekstrakt z czosnku chińskiego wpływał na hamownie wzrostu drożdży *Saccharomyces cerevisiae*, natomiast ekstrakt z czosnku polskiego nie wykazywał takiego oddziaływania.

Literatura

- [1] Bartosz G.: The second face of oxygen. Free radicals in nature. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2009.
- [2] Beato V.M., Orgaz F., Mansilla F., Montaña A.: Changes in phenolic compounds in garlic (*Allium sativum* L.) owing to the cultivar and location of growth. *Plant Foods Hum. Nutr.*, 2011, **66** (3), 218-223.
- [3] Bozin B., Mimica-Dukic N., Samojlik I., Goran A., Igic R.: Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae). *Food Chem.*, 2008, **111**, 925-929.
- [4] Brand-Williamis W., Cuvelier M., Berset C.: Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT – Food Sci. Technol.*, 1995, **28** (1), 25-30.
- [5] Chen S., Shen X., Cheng S., Li P., Du J., Chang Y., Meng H.: Evaluation of garlic cultivars for polyphenolic content and antioxidant properties. *PLoS ONE*, 2013, **8** (11), e79730.
- [6] Docker E.A., Welch B.: Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food. *J. Agric. Food Chem.*, 1990, **38** (3), 674-677.
- [7] Fukumoto L., Mazza G.: Assessing antioxidant and pro-oxidant activities of phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, **44** (8), 3597-3604.
- [8] Baza Danych Handlu Zagranicznego, 070320 – Czosnek świeży lub schłodzony. Import rok 2012. GUS, Warszawa 2012.
- [9] Gorinstein S., Drzewiecki J., Leontowicz H., Leontowicz M., Najman K., Jastrzebski Z., Zachwieja Z., Barton H., Shtabsky B., Katrich E., Trakhtenberg S.: Comparison of the bioactive compounds and antioxidant potentials of fresh and cooked Polish, Ukrainian, and Israeli garlic. *J. Agric. Food Chem.*, 2005, **53** (7), 2726-2732.
- [10] Grajek W.: Rola przeciwutleniaczy w zmniejszeniu ryzyka wystąpienia nowotworów i chorób układu krążenia. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **1** (38), 3-11.
- [11] Halliwell B.: Antioxidants: the basics – what they are and how to evaluate them. *Adv. Pharmacol.*, 1997, **38**, 3-20.
- [12] Heo H.J., Kim Y.J., Chung D., Kim D.: Antioxidant capacities of individual and combined phenolics in a model system. *Food Chem.*, 2007, **104**, 87-92.
- [13] Jia C.H., Jukes D.: The national food safety control of China. A systematic review. *Food Control*, 2013, **32** (1), 236-245.
- [14] Khar A., Banerjee K., Jadhav M., Lawandea K.E.: Evaluation of garlic ecotypes for allicin and other allyl thiosulphinates. *Food Chem.*, 2011, **128** (4), 988-996.
- [15] Kopeć A., Piątkowska E., Leszczyńska T., Sikora E. Healthy properties of garlic. *Curr. Nutr. Food Sci.*, 2013, **9** (1), 59-64.
- [16] Kwiecień M., Winiarska-Mieczan A.: Czosnek jako zioło kształtujące właściwości prozdrowotne. *Problem. Hig. Epidemiol.*, 2011, **92** (4), 810-812.
- [17] Lemar K.M., Turner M.P., Lloyd D.: Garlic (*Allium sativum*) as an anti-Candida agent: a comparison of the efficacy of fresh garlic and freeze-dried extracts. *J. Appl. Microbiol.*, 2002, **93** (3), 398-405.
- [18] Miller E., Malinowska K., Gałęcka E., Mrowicka M., Kędziora J.: Rola flawonoidów jako przeciwutleniaczy w organizmie człowieka. *Pol. Merk. Lek.*, 2008, **144** (14), 556-560.
- [19] OLAM: Onion & Garlic Crop Report WSC, Koczin, 2014.
- [20] Ramkissoon J.S., Mahomoodally M.F., Ahmed N., Subratty A.H.: Relationship between total phenolic content, antioxidant potential, and anti-glycation abilities of common culinary herbs and spices. *J. Med. Food.*, 2012, **15** (12), 1116-1123.
- [21] Re R., Pellegrini A., Proteggente A., Pannala M., Yang M., Rice-Evans C.: Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biol. Med.*, 1999, **26** (9-10), 1231-1237.

- [22] Torres-Fuentes C., Alaiz M., Vioque J.: Affinity purification and characterisation of chelating peptides from chickpea protein hydrolysates. *Food Chem.*, 2011, **129** (2), 485-490.
- [23] Vaidya V., Ingold K.U., Pratt D.A.: Garlic – source of the ultimate antioxidants-sulfenic acids. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 2009, **48** (1), 157-160.
- [24] Volk G.: Phenotypic characteristics of ten garlic cultivars grown at different North American locations. *HortScience*, 2009, **44** (5), 1238-1247.

COMPARING SELECTED BIOLOGICAL PROPERTIES OF GARLIC (*ALLIUM SATIVUM* L.) FROM POLAND AND CHINA

S u m m a r y

Although there are numerous scientific publications to confirm health benefits of garlic and its preparations, only few data are available in the reference literature on the country-of-origin depending properties of that species. In this study, there were compared selected properties of aqueous extracts of the garlic from Poland (its variety is 'Harnaś') and from China (unknown variety), because the Chinese garlic is widespread and common in the Polish market. Compared to the aqueous extract of the Polish garlic, the aqueous extract of the Chinese garlic was characterized by a higher DPPH• and ABTS•+ free radical scavenging activity and by a higher ability to chelate Cu(II) ions. On the other hand, the substances contained in the aqueous extract of the Polish garlic chelated the Fe(II) ions more effectively. The assessment of anti-fungal properties of garlic against *Saccharomyces cerevisiae* yeast proved that the aqueous extract of the Chinese garlic stronger inhibited the growth of that yeast than the extract of the Polish variety. In summary, it may be concluded that the samples of garlic studied are characterized by diversified antioxidant and anti-fungal activities.

Key words: garlic, *Saccharomyces cerevisiae*, antioxidants, ion chelating ☒

ANNA TRUSEK-HOŁOWNIA

AKTYWNOŚĆ I STABILNOŚĆ KATALAZY IMMOBILIZOWANEJ W KAPSUŁKACH ALGINIANOWYCH W APLIKACJACH PRZEMYSŁOWYCH

Streszczenie

Efektywną metodą zahamowania rozwoju zanieczyszczeń mikrobiologicznych (bakteryjnych i grzybowych) obecnych w wodzie pitnej, mleku czy w sokach jest dodanie nadtlenu wodoru. Technika ta nie jest w Polsce powszechnie stosowana, jest jednak dopuszczona w wielu krajach pod warunkiem całkowitego usunięcia dodanego nadtlenu wodoru przed dopuszczeniem produktu do spożycia lub do dalszych etapów przetwarzania. Szybką metodą usunięcia nadtlenu wodoru może być zastosowanie enzymu – katalazy.

W celu możliwości wielokrotnego użycia preparatu enzymatycznego, jak i łatwej jego separacji z mieszaniny reakcyjnej, zaproponowano immobilizację katalazy w kapsułkach alginianowych. Przeanalizowano możliwość zastosowania otrzymanego preparatu do usuwania H_2O_2 dodanego do różnych płynów: wody, mleka, soków warzywnych. Określono stabilność preparatu w warunkach procesowych (11 i 24 °C) i w temperaturze przechowywania preparatu (4 °C). Wyznaczone w buforach o danym pH stałe równania kinetycznego zweryfikowano w badaniach wymienionych płynów. Na podstawie parametrów kinetycznych określono warunki do przeprowadzenia procesu o założonej wydajności. Zaproponowano proces okresowy z separacją preparatu na sitach. Podano czas procesu dla poszczególnych szarzy. W przypadku, gdy temperatura procesu zostanie obniżona do 11 °C, czas reakcji musi być znacząco dłuższy, niemniej liczba przeprowadzonych szarzy (z uwagi na zachowaną aktywność preparatu) rekompensuje dłuższy czas procesu. Prowadzenie reakcji w obniżonej temperaturze jest uzasadnione w przypadku, gdy medium oczyszczane jest przetrzymywane w warunkach chłodniczych, co zwykle ma miejsce. Temp. 11 °C jest najniższą wartością, w której stosowany enzym wykazuje aktywność.

Słowa kluczowe: usuwanie nadtlenu wodoru, katalaza, kapsułki alginianowe, warunki procesowe

Wprowadzenie

Regulacje The World Food and Agriculture Organization oraz United Nations Agriculture Organization zezwalają na dodawanie nadtlenu wodoru (H_2O_2) do napo-

*Dr hab. inż. A. Trusek-Hołownia, prof. PWr., Zakład Inżynierii Bioprocusowej i Biomedycznej, Wydz. Chemiczny, Politechnika Wroclawska, ul. Norwida 4/6, 50-373 Wrocław.
Kontakt: anna.trusek-holownia@pwr.edu.pl*

jów, w stężeniu 0,05 ÷ 0,25 % (m/v), w celu zahamowania rozwoju w nich drobnoustrojów. W literaturze przedmiotu proces ten nazywany jest „zimną sterylizacją” [3, 8], choć poprawniej byłoby go nazywać „czasową konserwacją napojów”.

W Polsce technologia ta nie jest rozpowszechniona, w odróżnieniu od wielu krajów, w tym Stanów Zjednoczonych. Stosowane stężenie H_2O_2 zależy od takich czynników, jak: temperatura procesu, liczba i typ mikroorganizmów obecnych w napoju, ich oporność na nadtlenek wodoru [9]. Zastosowana metoda nie ma wpływu na zawartość cennych składników. Dotyczy to m.in. wartości odżywczej mleka, szeroko opisaną w literaturze [1, 2, 6].

Dodawanie H_2O_2 najczęściej jest stosowane do ochrony mleka przy przewożeniu do miejsca przetwarzania. Z dobrą efektywnością nadtlenek wodoru może być dodawany do innych napojów np. soków, wina, piwa czy wody pitnej. Zawartość zanieczyszczeń mikrobiologicznych w tych mediach nie może być jednak duża [10]. Po wstępnych badaniach (redukcyjny posiew bakteryjny), przeprowadzonych na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej, dowiedziono, że po dodaniu 2,5 g H_2O_2 na litr świeżego mleka prawie wszystkie zanieczyszczenia mikrobiologiczne zostały wyeliminowane. Po usunięciu nadtlenu wodoru naturalny szczep mlekowy *Lactobacillus* namnażał się ze specyficzną dla siebie szybkością. Metodę tę można więc traktować jako hamującą rozwój zanieczyszczeń bakteryjnych i grzybiczych, a nie eliminującą komórki w fazie intensywnego wzrostu obecne w danym napoju.

Przed dopuszczeniem napoju do spożycia przez ludzi lub do dalszego przetwarzania zastosowany nadtlenek wodoru musi być całkowicie usunięty [9]. Samoistny rozkład H_2O_2 zachodzi bardzo powoli. W wyżej wspomnianym doświadczeniu przy stężeniu H_2O_2 – 2,5g/l, w środowisku o pH 5,2 i 7,0 po 1 h rozkładowi do wody uległo mniej niż 2 % cząsteczek H_2O_2 obecnych w roztworze. Proces ten można przeprowadzić ze znacznie wyższą efektywnością poprzez zastosowanie enzymu katalazy (H_2O_2 oksydoreduktazy). Z uwagi na koszt preparatu oraz niemożność jego usunięcia w postaci natywnej z oczyszczanego medium, jedyną formą aplikacji są preparaty enzymu immobilizowanego. W metodzie otrzymywania takiego preparatu wykorzystano naturalne substancje (polisacharydy), które mogą mieć styczność z żywnością [7]. Z uwagi na rozmiar cząstki ($\varnothing = 1 \div 5$ mm), uzyskany preparat jest łatwo separowany od oczyszczanego płynu np. poprzez dekantację lub filtrację i może być wielokrotnie stosowany.

Celem pracy była próba aplikacji enzymu immobilizowanego w kapsułkach alginianowych do usuwania nadtlenu wodoru z mleka, wody pitnej i soku warzywnego.

Material i metody badań

Katalaza (E.C. 1.11.1.6.) z trzustki wołowej, 2000 ÷ 5000 U/mg, alginian sodu, i bufor HEPES pochodziły z firmy Sigma Chemical Co. Nadtlenek wodoru i pozostałe

odczynniki zakupiono w firmie POCh (Gliwice). Świeże mleko kozie pochodziło z gospodarstwa Kozia Łąka w Łomnicy k. Jeleniej Góry, sok wielowarzywny – z firmy Tymbark.

Immobilizacja katalazy w kapsułkach alginianowych

W celu wytworzenia kapsułek alginianowych zawierających katalazę przygotowano dwa roztwory. Roztwór (1) zawierał 3-procentowy (m/v) alginian sodu. Roztwór (2) stanowił roztwór enzymu w buforze HEPES (50 mM, pH 6,4 lub 7,0) lub w buforze octanowym (pH 5,5). Stężenie enzymu w roztworze (2) było dwukrotnie wyższe aniżeli planowane w reakcji (tj. 2 lub 4 mg/l). Roztwór powstały ze zmieszania (1) i (2) w stosunku 1 : 1 wkraplano do łaźni sieciującej, zawierającej 10-procentowy (m/v) roztwór chlorku sodu w buforze o danym pH. Zastosowanie odpowiedniego buforu było niezbędne do zachowania aktywności katalitycznej enzymu. Do łaźni sieciującej dodawano również enzym o stężeniu identycznym jak w kapsułkach, w celu uniknięcia dyfuzji cząsteczek enzymu w trakcie procedury immobilizacji. Wykonany bilans masy enzymu (metoda Lowry'ego [4]) z łaźni sieciującej przed procesem i po uzyskaniu kapsułek potwierdził zasadność stosowania takiej procedury. Kapsułki sieciowano w temp. 4 °C przez 1 h. Uzyskane kapsułki były przejrzyste, w temp. 4 °C miały średnicę 3,2 mm, wynikającą z użytego wkraplacza. Z uwagi na naturę hydrożeli, w temp. 24 °C objętość kapsułek zwiększała się do średnicy 3,9 ÷ 4,1 mm (pomiar 20 wybranych losowo kapsułek).

Aktywność i stabilność preparatu enzymatycznego

Aktywność preparatu enzymatycznego określano w reakcji monitorowanej spektrofotometrycznie (spektrofotometr Shimadzu UV-1800) przy $\lambda = 230$ nm. Korzystano z zależności opisującej absorbancję (A) od stężenia nadtlenu wodoru (C_S): $A(230) = 1,97 \times C_S$ [g/l]. Zakres stosowania krzywej – do stężenia H_2O_2 równego 0,8 g/l. Wszystkie pomiary wykonywano w trzech próbkach, obliczano wartości średnie, odrzucając wyniki odbiegające o ± 10 %.

Wpływ temperatury i pH na aktywność i stabilność katalazy immobilizowanej w alginianie określano w termostatowanych reaktorach mieszalnikowych o objętości całkowitej 60 ml. Zastosowano ultratermostat, mieszadło magnetyczne oraz szklane reaktory o podwójnych ściankach, w których cyrkulowano wodę chłodzącą lub grzejącą. Stosunek objętości kapsułek do objętości roztworu substratu wynosił 1 : 10. Początkowe stężenie substratu w roztworze wynosiło 0,6 g/l, stężenie enzymu wewnątrz kapsułek – 1 lub 2 mg/l. Reakcję prowadzono przez 1 h, a próbki, w których oznaczano stężenie H_2O_2 zawracano do układu.

Wpływ pH na szybkość katalizowanej reakcji badano w 0,05 M buforze octanowym (pH 5,5) i w 0,05 M buforze HEPES (pH 6,4 i 7,0) w temp. 24 °C. Wpływ tempe-

ratury na aktywność preparatu określano w 0,05 M buforze HEPES (pH 6,4) w zakresie temp. $11 \div 40$ °C.

Stabilność enzymu immobilizowanego określano poprzez pomiar aktywności (jak opisano wyżej) po inkubacji preparatu w buforze o danym pH, w temperaturze przechowywania (4 °C), w obniżonej temperaturze reakcji (11 °C) i w temperaturze optymalnej (24 °C). Inkubacja poszczególnych preparatów trwała od 15 min do 40 dni. Media, w których inkubowano preparat, były wolne od zanieczyszczeń mikrobiologicznych (dodano H₂O₂ do stężenia 0,6 g/l). W przeciwnym razie preparat mógłby zostać rozłożony przez bakterie.

W celu wyznaczenia stałych równania kinetycznego, dla upewnienia się, że dyfuzja substratu nie miała wpływu na ilość rozkładanego nadtlenku wodoru (obszar kinetyczny procesu), wytworzono preparat alginianowy w postaci struktury płaskiej (stężenia alginianu, jonów wapniowych i enzymu były analogiczne jak w kapsułkach). Przez struktury te cyrkulowano roztwór substratu, mierząc ubytek substratu w czasie, w zbiorniku substratu (kolbie). Objętość preparatu wynosiła 0,8 ml, objętość cyrkulującego roztworu substratu – 20 ml. Stężenie substratu w poszczególnych eksperymentach wynosiło od 0,3 do 3 g/l, zaś stężenie enzymu w warstwie – 1 lub 2 mg/l. Próby (w trzykrotnych powtórzeniach) analizowano spektrofotometrycznie co 20 s przez pierwsze 5 min procesu, następnie przez 25 min, co 2 min. Po pomiarze próbki zwracano do układu.

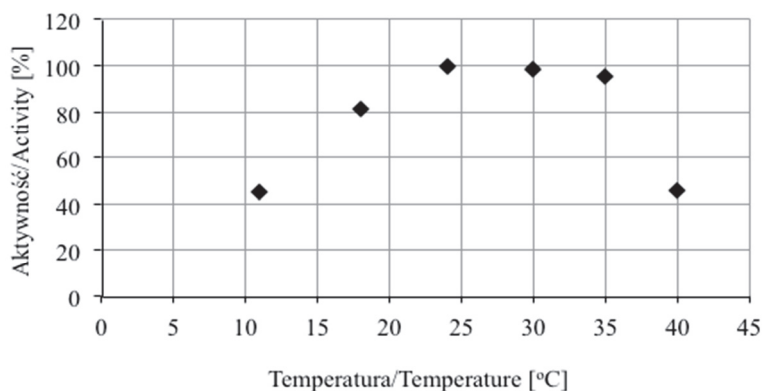
Aplikacja preparatu w naturalnych mediach: woda wodociągowa, sok warzywny, mleko kozie

Analogicznie do badań prowadzonych w buforach, przeprowadzono badania w naturalnych mediach tj. w wodzie wodociągowej (pH 7,0), w soku wielowarzywnym (pH 5,5) i w świeżym mleku kozim (pH 6,4). Z uwagi na barwę mleka i soku nie był możliwy pomiar spektrofotometryczny stężenia H₂O₂. Stąd też postęp reakcji określano na podstawie ilości powstającego produktu – tlenu, wykorzystując do tego celu elektrodę tlenową wbudowaną do reaktora mieszalnikowego BioFloBioreactor (New Brunswick, USA). Ruchy mieszadła były powolne (50 obr./min), aby nie uszkodzić kapsułek, a śmigło mieszadła ustawiono tuż pod powierzchnią cieczy (kapsułki znajdowały się głównie w części dolnej bioreaktora). Proces prowadzono w medium o objętości 1 l. Objętość kapsułek w stosunku do objętości medium wynosiła 1 : 10. Stężenie początkowe H₂O₂ w medium wynosiło 2,5 g/l, a stężenie enzymu wewnątrz kapsułek – 1 mg/l. Czas trwania procesu wynosił 2 h. Układ przy wyłączonym mieszadle pozostawiano na 30 dni, cyrkulując w płaszczu wodnym wodę o temp. 11 °C. Następnie dodawano nową porcję substratu i ponownie monitorowano postęp reakcji. Określano w ten sposób stabilność preparatu po 30 dniach użytkowania.

Wyniki i dyskusja

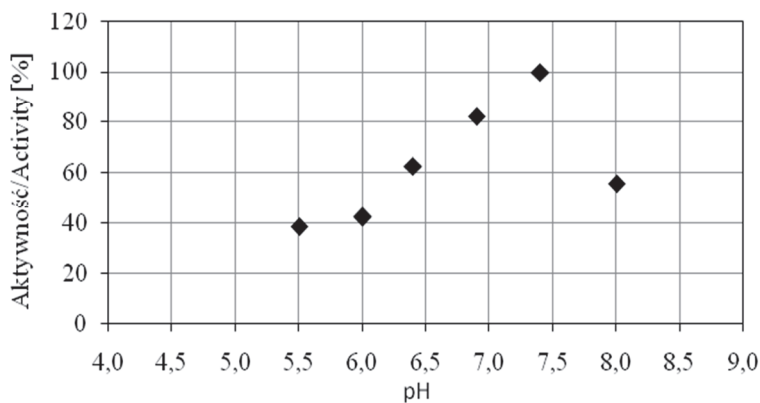
Aktywność i stabilność preparatu enzymatycznego

W celu określenia możliwości aplikacyjnych otrzymanego preparatu zbadano wpływ temperatury i pH na jego aktywność i stabilność enzymatyczną (rys. 1 i 2). Aktywność uzyskaną w temp. 24 °C (rys. 1) i w środowisku o pH 7,4 (rys. 2) przyjęto za 100-procentową.



Rys. 1. Wpływ temperatury na aktywność immobilizowanej katalazy

Fig. 1. Effect of temperature on activity of immobilized catalase



Rys. 2. Wpływ pH na aktywność immobilizowanej katalazy

Fig. 2. Effect of pH on activity of immobilized catalase

Preparat enzymatyczny wykazywał optimum aktywności w zakresie 24 ÷ 35 °C. Należy podkreślić, że w temp. 10 ÷ 11 °C, zbliżonej do temperatury wody wodociągowej i temperatury transportu mleka, ta aktywność była znacząca, co oznacza, że

preparat można stosować bezpośrednio (bez konieczności podgrzewania medium do temperatury otoczenia).

Katalaza immobilizowana w żelu, podobnie jak katalaza natywna [13], była aktywna w środowisku obojętnym. Optimum pH wynosiło ok. 7,4. Nie wykazano aktywności preparatu w reakcji prowadzonej w buforze octanowym poniżej pH 5,5. Ta wartość jest więc najniższym pH, w którym preparat może być stosowany. Zatem nie może być wykorzystywany do usuwania nadtlenu wodoru m.in. z soków owocowych, wina czy piwa.

W dalszych etapach pracy przeanalizowano trzy wartości pH, charakterystyczne dla wybranych grup produktów spożywczych, a mianowicie: pH 5,5 – soki warzywne, i herbaty mrożone wzbogacone sokami, pH 6,4 – napoje mleczne, czarna herbata i pH 7,0 – woda, zielona herbata. Badania prowadzono w temperaturze optymalnej (24 °C), w najniższej, w której preparat wykazywał aktywność w buforze (11 °C) oraz w temperaturze przechowywania preparatu (4 °C). Wyznaczono aktywność preparatu oraz jego stabilność procesową.

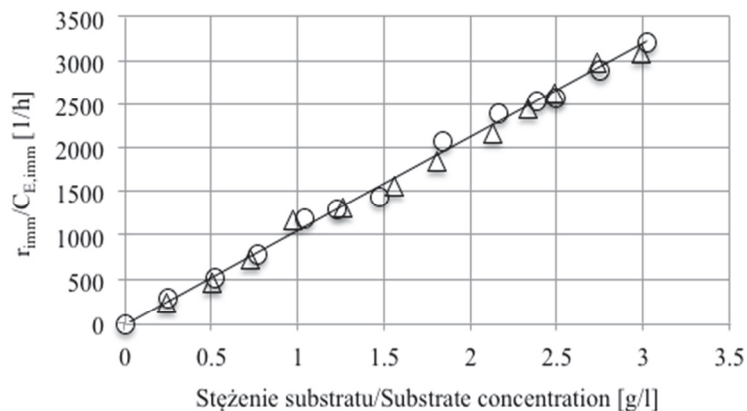
W zakresie stężenia enzymu do 2 mg/l wystąpiła liniowa zależność szybkości reakcji od stężenia enzymu. Powyżej tej wartości, z uwagi na szybkość powstającego produktu (O₂) i jego akumulację w kapsułce, następowało jej rozerwanie. W całym badanym zakresie substratu (do 3 g/l) szybkość reakcji była wprost proporcjonalna do zastosowanego stężenia (rys. 3). Stąd też szybkość reakcji enzymatycznej opisano za pomocą równania kinetycznego pierwszego rzędu względem substratu, o postaci [12]:

$$r_{imm} = -\frac{dC_s}{dt} \cdot \frac{V_{res} + V_{alg}}{V_{alg}} = k_{1,imm} \cdot C_{g,imm} \cdot C_s = k' \cdot C_s$$

gdzie:

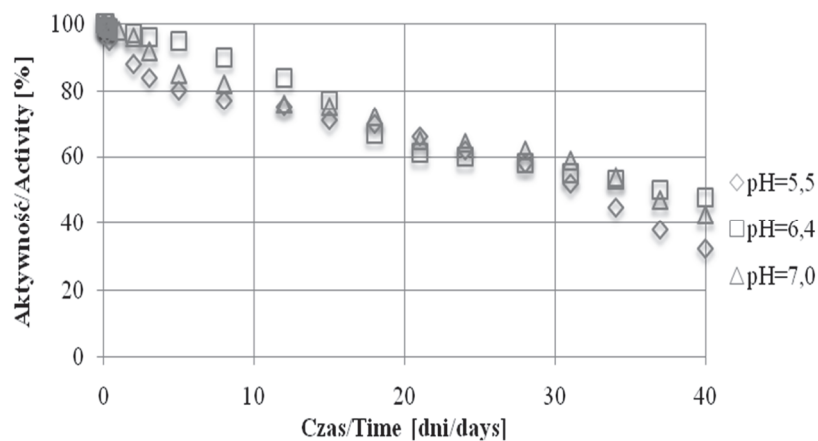
$C_{E,imm}$ – stężenie enzymu wewnątrz kapsułki [g/l], C_s – stężenie substratu [g/l], $k_{1,imm}$ – stała kinetyczna [l/g·h], k' – zmodyfikowana stała kinetyczna [1/h], r_{imm} – szybkość reakcji wewnątrz struktury alginianowej [g/l·h], t – czas [h], V_{alg} – objętość struktury (struktur) alginianowej [l], V_{res} – objętość rezerwuaru substratu [l].

Stabilność preparatu monitorowano w czasie, w założonej temperaturze i w buforze o danym pH, a następnie prowadzono reakcję mającą na celu określenie aktywności enzymatycznej. Aktywność tę, liczoną z początkowego przereagowania substratu ($\alpha < 10\%$), porównywano z aktywnością początkową preparatu wykazywaną przy tych warunkach procesowych. Na rys. 4. przedstawiono zależności uzyskane w temp. 11 °C. Czas połowicznego zaniku aktywności wyznaczono przy założeniu szybkości reakcji inaktywacji jako reakcji rzędu pierwszego [11]. Uzyskane wartości przedstawiono w tab. 1.



Rys. 3. Zależność jednostkowej szybkości reakcji ($r_{imm}/C_{E,imm}$) od stężenia substratu (11 °C, pH 6,4) – dane z serii przy $C_{E,imm} = 1$ mg/l (o) i 2 mg/l (Δ)

Fig. 3. Dependence of unit rate of reaction ($r_{imm}/C_{E,imm}$) on concentration of substrate (11 °C, pH 6.4) – data from series with $C_{E,imm} = 1$ mg/l (o) and 2 mg/l (Δ)



Rys. 4. Utrata aktywności enzymatycznej preparatu w czasie, w temp. 11 °C

Fig. 4. Loss of enzymatic activity of preparation over time, at temp. of 11 °C

Natywna katalaza z trzustki wołowej wykazuje bardzo niską stabilność [13]. Otrzymany preparat wykazywał dość dobrą stabilność w temp. 24 °C i bardzo dobrą w niższych temperaturach (czas połowicznego zaniku aktywności powyżej miesiąca). Im wyższe było pH układu, tym stabilność była większa, lecz wpływ pH nie był tak znaczący. Podobnie wysoką stabilność preparatu zawierającego immobilizowany biokatalizator w alginianie uzyskali inni autorzy [5, 8].

Tabela 1. Wartości stałej równania kinetycznego, stałej inaktywacji oraz czasu połowicznego zaniku aktywności, determinowane temperaturą oraz pH

Table 1. Values of kinetic equation constant, inactivation constant, and of half-life of enzymatic activity determined by temperature and pH

pH	Temperatura Temperature [°C]	Stała kinetyczna Kinetic constant $k_{1,imm}$ [l/g h]	Stała inaktywacji Inactivation constant [1/doba / 1/day]	Czas połowicznego zaniku aktywności Half-life of activity [dni / days]
5,5	4	-	0,015	45,9
	11	742,6	0,023	30,4
	24	1770,9	0,381	1,8
6,4	4	-	0,013	52,1
	11	1064,5	0,020	35,5
	24	2656,4	0,339	2,0
7,0	4	-	0,012	56,8
	11	1568,1	0,019	36,7
	24	3630,4	0,318	2,2

Właściwości i aktywność preparatu enzymatycznego w produktach spożywczych

Parametry kinetyczne wyznaczone w buforach o danych wartościach pH posłużyły do sprawdzenia użyteczności preparatu immobilizowanej katalazy w naturalnych mediach – zgodnie z opisem przedstawionym w metodyce – i określenia zgodności wyznaczonych wartości stałych w warunkach rzeczywistych.

W przypadku, gdy medium był sok wielowarzywny (pH 5,5), preparat wykazywał mechaniczną stabilność (nie ulegał rozpuszczeniu, degradacji czy odkształceniu). Na skutek dyfuzji barwników soku do wnętrza kapsulek, ulegały one trwałemu zabarwieniu na czerwono. Wartości oznaczonych stałych kinetycznych różniły się od otrzymanych w buforze octanowym (pH 5,5). Aktywność enzymu zmniejszyła się o 19,8 % ($k_{1,imm} = 595,6$ l/g h), a stała inaktywacji wzrosła do wartości 0,026 1/dzień, stąd czas połowicznego zaniku aktywności był krótszy i wyniósł 26,7 dni.

Drugim medium było świeże mleko kozie (pH 6,4). Preparat enzymatyczny był stabilny mechanicznie. Dodatkowo jony wapnia obecne w mleku stabilizowały preparat, co uwidoczniało się w jego większej twardości. Obecne w mleku białka i tłuszcz nie osadzały się w sposób widoczny na powierzchni kapsulek. Również bilans masy białek mleka (określony metodą Lowry'ego [4]) przed inkubacją kapsulek i po niej potwierdził brak ich istotnej adsorpcji na powierzchni preparatu. Stałe kinetyczne opisujące aktywność i stabilność enzymatyczną w buforze HEPES (pH 6,4) z dużą dokładnością opisywały proces przebiegający w mleku. Zaobserwowane różnice ($\pm 4,8$ %) były w zakresie błędów analitycznych.

W wodzie wodociągowej (pH 7,0) preparat był stabilny mechanicznie. Istniało ryzyko, że w wyniku niskiej siły jonowej, immobilizowany enzym nie będzie wykazywał zadowalającego poziomu aktywności, a jony wapnia będą się stopniowo wymywać, powodując rozluźnienie preparatu. Nie zaobserwowano jednak znaczących różnic pod względem właściwościach fizycznych (twardości, wielkości) preparatu. Aktywność preparatu nie uległa istotnej zmianie ($\pm 6,1$ % różnicy). Stabilność preparatu zmniejszyła się. W wodzie stała inaktywacji wynosiła 0,021 1/dzień, stąd czas połowicznego zaniku aktywności to 32,7 dni.

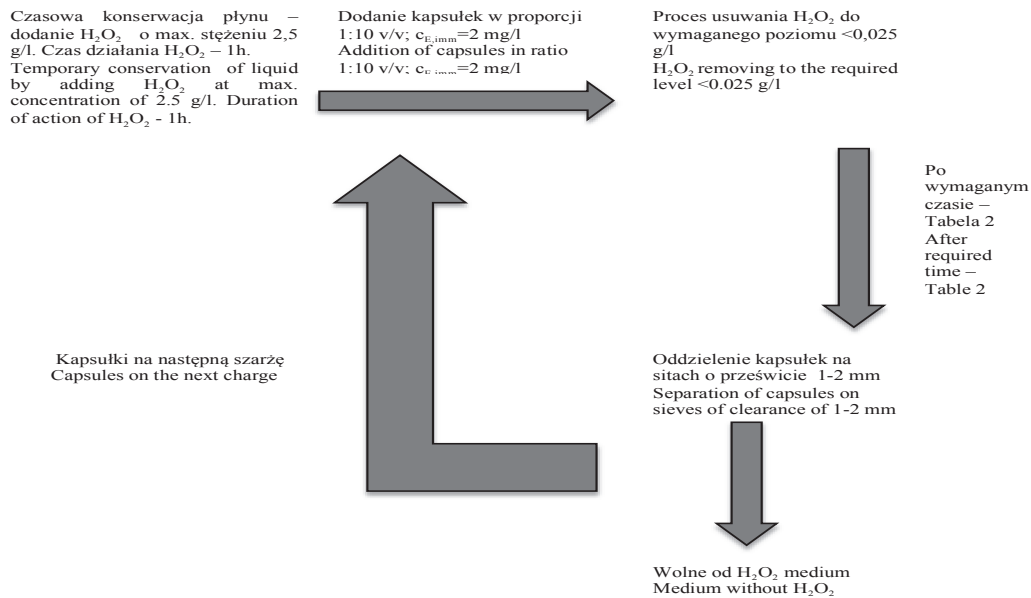
Wykorzystanie preparatu enzymatycznego w warunkach przemysłowych

Z uwagi na średnicę kapsulek (4 mm), ich separacja z mieszaniny reakcyjnej nie stanowiła problemu. Otrzymany preparat może być zastosowany zarówno w systemie okresowym, jak i ciągłym. W doświadczeniach prowadzonych w reaktorze mieszalnikowym wykazano, że niska burzliwość układu i odpowiednia wysokość zamontowania łopatki mieszającej (tuż pod powierzchnią) nie powodowały uszkodzeń mechanicznych preparatu, stąd układ zawierający bioreaktor mieszalnikowy został zaproponowany do przeprowadzenia procesu okresowego (rys. 5). Zaletą takiego reaktora jest wyrównanie stężeń w całej objętości, co wpływa na korzystny profil stężenia substratu wewnątrz kapsulek.

Z uwagi na zmniejszającą się aktywność preparatu enzymatycznego, kolejne szarże, o założeniach podanych na rys. 5, różniły się czasem trwania. Wyliczono czas trwania każdej z nich i przedstawiono w tab. 2.

Wnioski

1. Preparat kapsułkowanej katalazy może zostać wykorzystany do usuwania H_2O_2 z mleka, wody, soków warzywnych i innych płynów o pH z zakresu 5,5 ÷ 7,0.
2. Preparat był aktywny w zakresie temp. 10 ÷ 40 °C. W zależności od pH i stosowanej temperatury preparat immobilizowanej katalazy może być wykorzystany w kilku/kilkunastu szarzach. Czas trwania każdej z nich wydłuża się wraz z czasem użytkowania preparatu. Podwyższenie temp. z 11 do 24 °C z jednej strony znacząco



Rys. 5. Schemat procesu oczyszczania medium z wykorzystaniem kapsułek z katalazą

Fig. 5. Diagram of purification process of medium using capsules with catalase

Tabela 2. Czas trwania poszczególnych szarż. Temperatura – 11 °C, wykorzystanie preparatu do 30 % aktywności początkowej

Table 2. Duration time of particular charges. Temperature – 11 °C, utilization of preparation up to 30 % of initial activity

Szarża Charge	pH 5,5	pH 6,4	pH 7,0
	[h] / [%]	[h] / [%]	[h] / [%]
1	6,75 / 100	4,7 / 100	3,2 / 100
2	7,85 / 85,7	5,15 / 91,2	3,4 / 94,1
3	9,4 / 71,7	5,7 / 82,5	3,6 / 88,3
4	11,7 / 57,85	6,4 / 73,8	3,9 / 82,5
5	15,2 / 44,3	7,2 / 65,2	4,2 / 76,6
6	21,5 / 31,3	8,3 / 56,6	4,5 / 70,7
7	-	9,75 / 48,2	4,9 / 65,0
8	-	11,8 / 39,8	5,4 / 59,2
9	-	14,4 / 31,6	6,0 / 53,5
10	-	-	6,7 / 47,8
11	-	-	7,6 / 42,1
12	-	-	8,75 / 36,4
13	-	-	10,3 / 30,9

skraca czas procesu (przykładowo w środowisku o pH 6,4 – z 4,7 do 1,95 h w pierwszej szarży), ale liczba szarż zmniejsza się istotnie (w rozpatrywanym przypadku z 9 do 2).

3. Z uwagi na rozmiar kapsulek są one z łatwością oddzielane od cieczy, nawet tych o wyższej lepkości i gęstości, co przetestowano w soku warzywnym.

Praca wykonana w ramach działalności statutowej Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej S30110/Z0311.

Literatura

- [1] Barłowska J., Chabuz W., Król J., Sz wajkowska M., Litwińczuk Z.: Wartość odżywcza i przydatność technologiczna mleka produkowanego w systemie intensywnym i tradycyjnym w trzech regionach wschodniej Polski. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **4 (83)**, 122-135.
- [2] Gabryszuk M., Sekowski T., Metera E., Kuczyńska B., Rembiałkowska E.: Wpływ żywienia na zawartość składników bioaktywnych w mleku krów z gospodarstw ekologicznych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, **3 (88)**, 16-26.
- [3] FAO Report on the Meeting of Experts on the Use of Hydrogen Peroxide and Other Preservatives in Milk, FAO:57:11:8655, Interlaken, Switzerland, September 23-27, 1957.
- [4] Lowry O., Rosebrough N., Farr A., Randall R.: Protein measurement with the Folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, 1951, **193**, 265-270.
- [5] Matto M., Husain Q.: Calcium alginate – starch hybrid support for both surface immobilization and entrapment of bitter melon (*Momordica charantia*) peroxidase. *J. Mol. Catal. B: Enzymatic*, 2009, **57**, 164-170.
- [6] Miciński J., Pogorzelska J., Kalicka A., Kowalski I., Szarek J.: Zawartość kwasów tłuszczowych w mleku krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej z uwzględnieniem ich wieku i fazy laktacji. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **4 (83)**, 136-150.
- [7] Park K.: Superporous hydrogels for pharmaceutical & other applications. *Drug. Deliver. Technol.*, 2002, **38**, 40-44.
- [8] Safarik I., Sabatkova Z., Safarikova M.: Hydrogen peroxide removal with magnetically responsive *Saccharomyces cerevisiae* cells. *J. Agric. Food Chem.*, 2008, **56**, 7925-7928.
- [9] Tarhan L.: Use of immobilized catalase to remove H₂O₂ used in sterilization of milk. *Process Biochem.*, 1995, **30**, 623-628.
- [10] Traczykowski A., Szejniuk B., Budzińska K., Bochenek M., Jurek A., Sulewski M.: Effect of aluminum chloride and hydrogen peroxide on the elimination of filamentous bacteria in activated sludge. *Przem. Chem.*, 2014, **4**, 555-558.
- [11] Trusek-Hołownia A., Noworyta A.: Dipeptide enzymatic synthesis in a two-phase membrane reactor. *Chem. Pap.*, 2000, **54**, 442-447.
- [12] Trusek-Hołownia A.: A catalytic membrane for hydrolysis reaction carried out in the two-liquid phase system – Membrane preparation and characterisation, mathematical model of the process. *J. Membrane Sci.*, 2005, **259**, 74-84.
- [13] Tukul S., Alptekin O.: Immobilization and kinetics of catalase on to magnesium silicate. *Process Biochem.*, 2004, **39**, 2149-2155.

**ACTIVITY AND STABILITY OF CATALASE IMMOBILIZED IN ALGINATE CAPSULES
IN INDUSTRIAL APPLICATIONS**

S u m m a r y

The addition of hydrogen peroxide is an efficient method to inhibit the growth of microbial contaminants (bacterial and fungal) present in drinking water, milk, or juice. This technique is not commonly applied in Poland, but it is allowed in many countries provided that the hydrogen peroxide added to the product is completely removed from it prior to its release for consumption or for further processing. A rapid method of removing hydrogen peroxide could be the use of a catalase enzyme.

In order to make it possible to repeatedly use that enzyme preparation and to easily separate it from the reaction mixture, it was suggested to immobilize the catalase in alginate capsules. The potentiality of using the produced preparation for H₂O₂ removal was analyzed through adding it to various liquids: water, milk, and vegetable juices. The stability of the preparation was determined under the process conditions (11 and 24°C) and at a temperature for storing the preparation (4 °C). The values of the kinetic equation constants, determined in the buffers of a given pH value, were verified through the analyses of the above named liquids.

Based on the kinetic parameters, the processing conditions were determined for a planned process efficiency. A batch process including separation on sieves was proposed. The time of individual process charges was given. In the case of decreasing the process temperature to 11°C, the reaction time must be significantly longer; however, the number of performed charges (because of the maintained activity of the preparation) balances the effect of a longer process time. Performing the reaction at a lower temperature is also valid in the case of keeping the medium being purified under the refrigeration conditions, which is usually the case. A temperature of 11°C is the lowest value, at which the enzyme applied is active.

Key words: removal of hydrogen peroxide, catalase, alginate capsules, process conditions ☒

URSZULA BALON, JOANNA DZIADKOWIEC, TADEUSZ SIKORA

RZETELNOŚĆ NARZĘDZIA FRL (FOOD RELATED LIFESTYLES) W POLSKIM ŚRODOWISKU KULTUROWYM

Streszczenie

Polski dorobek naukowy związany z badaniem zwyczajów i preferencji żywieniowych jest obszerny i zróżnicowany, a postępująca globalizacja powoduje coraz większe zainteresowanie międzykulturowymi analizami porównawczymi. W celu uzyskania wiarygodnych wyników takich porównań konieczne jest stosowanie zestandaryzowanych narzędzi, walidowanych międzykulturowo. Jednym z takich narzędzi jest FRL (Food Related Lifestyles) – narzędzie do badania preferencji zwyczajów i preferencji żywieniowych, zaprojektowane w celu dokonywania porównań pomiędzy różnymi kulturami czy krajami. Większość krajów europejskich została przebadana za pomocą FRL. Dowiedziono, że narzędzie jest wystarczająco odporne na różnice kulturowe i może być stosowane do badań porównawczych.

Celem niniejszej pracy było sprawdzenie, czy narzędzie FRL jest rzetelną skalą pomiarową, która może być zastosowana w polskim środowisku kulturowym. Celem dodatkowym było sprawdzenie, czy sposób zbierania danych (wywiad osobisty i ankieta on-line) ma wpływ na rzetelność badania.

Zastosowano dwie metody zbierania danych (wywiad osobisty i ankieta on-line) W przypadku wywiadu osobistego zastosowano schemat dwustopniowego doboru warstwowego. Jednostką doboru pierwszego stopnia było miejsce zamieszkania (województwo), jednostką doboru drugiego stopnia była liczba gospodarstw domowych. Ankieta on-line była dostępna bez ograniczeń i mogły ją wypełniać wszystkie zainteresowane osoby. Uzyskano odpowiedzi od 948 osób z terenu wszystkich województw w Polsce oraz ze wszystkich grup demograficznych. Rzetelność została oceniona za pomocą współczynnika Alpha Cronbacha zgodnie z metodą zaproponowaną przez Grunerta i wsp.

W wyniku analizy stwierdzono, że w przypadku konstruktów dotyczących motywów zakupowych oraz sposobów przygotowywania posiłków rzetelność skali jest stosunkowo mała, jednak rzetelność narzędzia FRL dla Polski oraz jego przydatność do porównań międzykulturowych została potwierdzona.

Słowa kluczowe: rzetelność, porównania międzykulturowe, Food Related Lifestyles (FRL), zwyczaje żywieniowe, zachowania konsumenta

Wprowadzenie

Ogół czynności, działań i sposobów postępowania jednostki, które mają na celu zdobycie środków zaspokojenia potrzeb i ogół sposobów wykorzystania tych środków zostały przez Szczepańskiego [cyt. za 18] określone mianem zachowań konsumenta. Na zachowania konsumentów na rynku żywności wpływ ma wiele czynników, m.in. dostępność artykułów spożywczych, ich cena, sposób przekazywania informacji o produktach a także warunki otoczenia przyrodniczego, społeczno-kulturowego i ekonomicznego. Pod wpływem prowadzonych działań edukacyjnych (kampanie reklamowe, chęć zdrowego odżywiania i in.) konsumenci żywności zmieniają swoje zachowania i preferencje. Coraz częściej cenią produkty, które nie tylko zaspokajają potrzebę głodu, ale wpływają również korzystnie na zdrowie, a także przyczyniają się do odczuwania przyjemności z konsumpcji [18].

Pomiar i badanie zwyczajów żywieniowych od dawna znajdowały się w centrum zainteresowania zarówno badaczy, jak i przedsiębiorstw oferujących produkty i usługi związane z zaspokajaniem potrzeb żywieniowych. Tematyką zajmowano się m.in. w medycynie, marketingu, reklamie, opracowywaniu strategii czy w segmentacji rynku. Literatura przedmiotu obejmuje wiele publikacji dotyczących zachowań konsumentów na rynku żywnościowym. Są to zarówno rozważania teoretyczne, jak i wyniki badań. Badania dotyczące zwyczajów i zachowań żywieniowych w Polsce prowadzone są w różnych aspektach, m.in. analizowane są czynniki ekonomiczne, czynniki socjologiczne, uwarunkowania psychologiczne i działania marketingowe, które stosowane są przez przedsiębiorstwa przemysłu spożywczego i jednostki handlowe [17, 36]. Analizy dotyczą także czynników socjodemograficznych (płeć, wiek, dochody) [24, 26, 27]. Odnoszą się również do okresu dzieciństwa, który ma szczególne znaczenie w kształtowaniu nawyków żywieniowych, a tym samym zdrowia. [20, 22, 33]. Prowadzone są badania dotyczące wpływu nawyków żywieniowych na występowanie i rozwój chorób, m.in. próchnicy [34], cukrzycy [39], chorób układu krążenia [28], anoreksji [25], nadwagi i otyłości zarówno u dorosłych [37, 38], jak i u dzieci i młodzieży [23]. Jak wynika z badań prowadzonych przez CBOS [38] i IPSOS [37], dotyczących nawyków żywieniowych, Polacy najczęściej stołują się w domu, nieliczni – poza domem lub zamawiają gotowe posiłki do domu.

Na podstawie badań dokonywana jest próba segmentacji konsumentów żywności. GfK Polonia [35] wyróżniła 5 typów konsumentów, natomiast na podstawie raportu "Polska Kulinarnie" [4] polskich konsumentów podzielono ze względu na zwyczaje dotyczące przygotowywania i spożywania posiłków, a także stosunku do technologii mobilnych, również na 5 segmentów. W raporcie opracowanym przez IPSOS [29] podano segmentację z uwzględnieniem kryteriów zakupu produktów spożywczych, przyrządzania posiłków oraz stosunku do zdrowia i odżywiania. Po przeanalizowaniu każdego segmentu przedstawiono profil konsumenta. Analizowane są również opinie

konsumentów o żywności prozdrowotnej, ekologicznej, wygodnej, funkcjonalnej, tradycyjnej, innowacyjnej oraz zawierającej organizmy genetycznie zmodyfikowane [1, 19, 40].

Zwyczaje żywieniowe uzależnione są od kultury, religii i przynależności narodowej, a także uwarunkowań ekonomicznych. Dlatego też dokonuje się porównania zwyczajów żywieniowych Polaków (lub wybranych grup) ze zwyczajami żywieniowymi innych narodów [9, 21], np. z krajów Unii [36]. Porównania te dowodzą, że na rynku produktów spożywczych występują symptomy zbliżania się wzorców zachowań nabywców z Polski do nabywców z innych krajów Unii, następuje systematyczne przenikanie europejskich i pozaeuropejskich zachowań i zwyczajów (m.in. promowanie zdrowego żywienia), jednak nadal występują różnice kulturowe [17].

Analiza polskiego dorobku naukowego z omawianego zakresu wskazuje, że każdy z ośrodków badawczych stosuje własne metody i narzędzia, co sprawia, że z jednej strony dorobek w dziedzinie zwyczajów żywieniowych Polaków jest bogaty i zróżnicowany, z drugiej zaś znacznie utrudnione jest wykonywanie badań porównawczych. Postępująca globalizacja gospodarki generuje zainteresowanie skutecznym badaniem preferencji konsumentów różnych narodowości, czy też pochodzących z różnych kręgów kulturowych. Jest to szczególnie istotne dla organizacji, które na tej podstawie mogą w większym stopniu dopasowywać swoje produkty do potrzeb coraz bardziej zróżnicowanych rynków docelowych.

Jednym z narzędzi, które zostało opracowane w celu międzykulturowych porównań w zakresie zwyczajów żywieniowych jest FRL (*Food Related Lifestyles*) – pierwsze narzędzie bazujące na podstawach teoretycznych, w stosunku do którego przeprowadzono walidację potwierdzającą jego użyteczność w badaniach międzykulturowych na różnice kulturowe. FRL było pierwszym narzędziem badania zwyczajów żywieniowych związanym ściśle z teoretycznymi podstawami zachowań konsumenckich. Wynikiem takiego podejścia była przede wszystkim próba nowego zdefiniowania pojęcia „lifestyle” (styl życia), stanowiącego trzon zaproponowanego narzędzia. Jego twórcy stwierdzili, że istotą tego pojęcia jest to, że „styl życia” kształtuje się poprzez połączenie sytuacji percepcyjnych związanych z postrzeganiem poszczególnych produktów z coraz bardziej abstrakcyjnymi kategoriami poznawczymi i w końcowym efekcie z osobistymi wartościami [12]. W wyniku wielostopniowej analizy ww. składowych stylu życia stworzono narzędzie badawcze, stanowiące uporządkowaną strukturę, której podstawą jest 5 obszarów (konstruktów badawczych). Każdy konstrukt składa się z 2 ÷ 6 wymiarów (łącznie 23 wymiary FRL), w skład każdego wymiaru wchodzi natomiast po 3 stwierdzenia (łącznie 69 stwierdzeń) [31]. Głównym celem twórców narzędzia FRL było umożliwienie porównań międzykulturowych w zakresie zwyczajów żywieniowych, dlatego pierwszym, zasadniczym krokiem weryfikacji rzetelności narzędzia, zastosowanym przez jego twórców, była jego walidacja międzykulturowa.

W chwili obecnej narzędzie może być zatem skutecznie stosowane w przypadku krajów, dla których wykazano jego skuteczność, m.in. w Wielkiej Brytanii [5,13, 30], w Danii [5, 7, 15], we Francji [5, 16], w Niemczech [5, 14, 16] czy w Hiszpanii [6], można więc przypuszczać, że będzie także adekwatne w polskich warunkach kulturowych.

Ze względu na podstawy teoretyczne, potwierdzone wynikami badań empirycznych, wielu badaczy pomija etap weryfikacji rzetelności narzędzia, zakładając, że dotychczas przeprowadzone analizy są wystarczającym dowodem na adekwatność narzędzia. Należy jednak pamiętać, że pomimo współpracy międzynarodowej przy tworzeniu narzędzia FRL, powstało ono jednak w określonym kręgu kulturowym, przy użyciu pojęć, znaczeń i symboli charakterystycznych dla języka, w którym zostało opracowane. Dlatego, pomimo wielokrotnej weryfikacji narzędzia w różnych środowiskach kulturowych, zastosowanie skali pomiarowej w innym środowisku może spowodować zafałszowanie wyników, których źródłem mogą być np. różne wskaźniki używane do oceny tych samych zjawisk, różne znaczenia tych samych symboli i wartości czy też różnice zdeterminowane sposobem opisywania zjawisk charakterystycznych dla różnych języków. W związku z tym, określenie przydatności narzędzia pomiarowego w nowych warunkach wymaga zbadania jego rzetelności. Rzetelność jest miarą tego, w jakim stopniu wynik testu oddaje rzeczywistą wartość badanej cechy, a w jakim pomiar ten jest zakłócony przez błąd pomiaru pochodzący z różnych źródeł [8].

Pozytywna walidacja narzędzia FRL dla populacji polskiej przyczyniłaby się do osiągnięcia dwóch korzyści:

- zastosowania zestandaryzowanego narzędzia,
- systemowej analizy zwyczajów żywieniowych w obrębie populacji polskiej, a w dalszej kolejności do dokonania porównań międzykulturowych na bazie wyników uzyskanych w innych krajach.

Celem pracy było:

1. Sprawdzenie, czy narzędzie FRL jest rzetelną skalą pomiarową, która może być zastosowana w polskim środowisku kulturowym.
2. Sprawdzenie, czy sposób zbierania danych (wywiad osobisty i ankieta on-line) ma wpływ na rzetelność badania.

Material i metody badań

Na podstawie studiów literaturowych oraz wyników badań przeprowadzonych w innych krajach, sformułowano hipotezy:

- H1: Rzetelność narzędzia FRL dla nowego środowiska kulturowego, jakim jest populacja polska, będzie wysoka; współczynnik Alpha Cronbacha nie będzie mniejszy niż 0,7.

- H2: Rzetelność cząstkowa narzędzia FRL dla nowego środowiska kulturowego, jakim jest populacja polska, będzie wystarczająca [7, 12, 30], co oznacza, że:
 - a) dla przynajmniej trzech z pięciu konstruktów badawczych współczynnik Alfa Cronbacha nie będzie mniejszy niż 0,5;
 - b) w pozostałych konstruktach badawczych współczynnik Alfa Cronbacha może być nieznacznie niższy, jednak nie mniejszy niż 0,4;
- H3: Sposób zbierania danych nie ma wpływu na rzetelność narzędzia FRL: różnice pomiędzy współczynnikami Alfa Cronbacha dla wszystkich danych zebranych w trakcie a danymi zebranymi za pomocą wywiadu osobistego oraz zebranymi z wykorzystaniem ankiety on-line będą mniejsze niż 0,1 (zarówno dla całego narzędzia, jak i dla poszczególnych konstruktów badawczych).

Polska wersja narzędzia badawczego została utworzona na podstawie angielskojęzycznej wersji kwestionariusza zaproponowanej przez twórców metody [12] i stosowanej we wszystkich dotychczasowych badaniach przeprowadzonych z wykorzystaniem narzędzia FRL. Tłumaczenie i testowanie kwestionariusza odbywało się w kilku etapach. Pierwsza polska wersja [11] została przedstawiona do dyskusji specjalistom z branży. Następnym krokiem była analiza językowa przeprowadzona przez osoby, które posługują się biegle zarówno językiem polskim, jak i angielskim. W wyniku konsultacji powstała wersja kwestionariusza, która była testowana w trakcie badań pilotażowych. Po analizie wyników badań pilotażowych wprowadzono w kwestionariuszu szereg zmian dotyczących strony językowej pytań, a także jedną zmianę merytoryczną, polegającą na dodaniu jednego pytania [2]. Ostatnim etapem tworzenia narzędzia badawczego było przetestowanie zaadaptowanego kwestionariusza na zróżnicowanej grupie respondentów – w wyniku tego badania nie dokonano dalszych zmian w formularzu badawczym [3]. Ostateczna wersja kwestionariusza FRL w polskiej wersji językowej składała się więc z 70 stwierdzeń definiujących zwyczaje żywieniowe, które opisują 23 wymiary związane ze zwyczajami żywieniowymi zgrupowanymi w 5 obszarach. Respondenci odpowiadali na pytania i wyrażali stopień swojej akceptacji dla każdego z 70 stwierdzeń w skali 1 ÷ 5 (1 – całkowicie się nie zgadzam, 5 – całkowicie się zgadzam) [2].

W badaniach zastosowano dwie metody zbierania danych – wywiady osobiste oraz ankietę internetową. W celu dobrania próby do badania za pomocą wywiadu osobistego zastosowano schemat dwustopniowego doboru warstwowego. Jednostką doboru pierwszego stopnia było miejsce zamieszkania (województwo), jednostką doboru drugiego stopnia była liczba gospodarstw domowych. Wywiady prowadzono w miesiącach lipiec - wrzesień 2013 r., badania ankietowane prowadzono w miejscach, gdzie dokonywane są zakupy artykułów żywnościowych (sklepy spożywcze różnej wielkości). Badania były prowadzone jednocześnie na terenie wszystkich województw, metodą wywiadu bezpośredniego.

Ankieta w wersji elektronicznej została zamieszczona na stronie Katedry Zarządzania Jakością Uniwersytetu Ekonomicznego w Krakowie i była dostępna dla respondentów po zakończeniu badań w terenie, tj. w miesiącach październik - grudzień 2013 r.

W trakcie pierwszej części badań (wywiad bezpośredni) zebrano 432 ankiety. Wszystkie ankiety były kompletne i kwalifikowały się do dalszej analizy. W badaniu za pomocą ankiety elektronicznej wzięły udział 552 osoby. W tym przypadku nie wszystkie kwestionariusze zostały prawidłowo wypełnione, stąd do dalszej analizy wykorzystano 516 ankiet wypełnionych poprawnie [2]. Łącznie wykorzystano 948 ankiet zawierających informacje od wszystkich założonych grup demograficznych.

Wyniki i analiza

W celu weryfikacji hipotezy badawczej H1 przeprowadzono analizę rzetelności pozycji dla wszystkich pytań wchodzących w skład narzędzia badawczego FRL. Współczynnik Alpha Crombacha dla całej skali wyniósł 0,75 (Alpha standaryzowana 0,78). Szczegółowe wyniki przedstawiono w tab. 1.

Tabela 1. Ocena rzetelności narzędzia FRL

Table 1. Reliability assessment of FRL instrument

Nr pyt. Question No.	Treść pytania / Content of question	Alpha gdy usunięte Alpha if deleted
Z1	Informacje o produkcie są dla mnie bardzo ważne. Muszę wiedzieć, jaki jest skład kupowanych przeze mnie produktów	0,75
Z2	Czytam informacje zamieszczone na etykietach różnych produktów i na tej podstawie decyduję, który wybrać	0,75
Z3	Czytam etykiety różnych produktów, żeby wybrać produkt najlepszy dla zdrowia	0,75
Z4	Mam więcej zaufania do produktów reklamowanych niż do tych, których reklam nie widziałem(łam)	0,75
Z5	Przy zakupie produktów żywnościowych biorę pod uwagę opinie innych osób	0,75
Z6	Informacje zawarte w reklamach pozwalają mi na podejmowanie lepszych decyzji zakupowych	0,75
Z7	Nie przywiązuję zbyt dużej wagi do kupowania produktów żywnościowych, kupuję to co jest „pod ręką”	0,76
Z8	Zakupy produktów spożywczych traktuję jak rozrywkę	0,75
Z9	Robienie zakupów spożywczych sprawia mi dużą przyjemność	0,75
Z10	Lubię kupować produkty w sklepach ze „zdrową” żywnością, gdzie mogę uzyskać fachową poradę	0,75
Z11	Nie widzę sensu robienia zakupów w sklepach ze „zdrową” żywnością	0,77

Z12	Lubię wiedzieć, co kupuję, więc często zadaję pytania sprzedawcom w sklepach spożywczych	0,75
Z13	Gdy ceny produktów, które kupuję regularnie, zmieniają się, zauważam to od razu	0,75
Z14	Przeglądam gazetki reklamowe w poszukiwaniu najkorzystniejszych ofert	0,75
Z15	Zawsze sprawdzam ceny, nawet gdy robię drobne zakupy	0,75
Z16	Z reguły ostateczną decyzję, co kupić, podejmuję dopiero w sklepie	0,76
Z17	Zawsze robię listę zakupów przed pójściem do sklepu spożywczego	0,75
Z18	Robię listę zakupów, bo to dobry sposób na uporządkowanie i ukierunkowanie zakupów	0,75
G1	Nie lubię spędzać zbyt dużo czasu na gotowaniu	0,77
G2	Lubię przygotowywać posiłki bez pośpiechu	0,75
G3	Nie przepadam za gotowaniem, cieszę się, gdy mam to za sobą	0,77
G4	Szukam sposobów, jak przyrządzić posiłki w mniej tradycyjny sposób	0,75
G5	Potrawy z kuchni innych narodów inspirują mnie do eksperymentowania w przygotowywaniu posiłków	0,75
G6	Lubię wypróbować nowe przepisy kulinarne	0,75
G7	W naszym domu często zamiast gotować, wykorzystujemy gotowe dania (pierogi, panierowane kotlety, bigos, fasolka, gotowe sosy, zupy itp.)	0,76
G8	Używam dużej ilości mrożonek	0,76
G9	Używam wielu produktów instant np. gotowych mieszanek do pieczenia ciast, zup, sosów w proszku	0,76
G10	Moja rodzina zawsze pomaga w kuchni np. przy obieraniu ziemniaków, krojeniu warzyw itp.	0,75
G11	Moja rodzina pomaga w nakrywaniu stołu, podawaniu posiłków itp.	0,75
G12	Kiedy nie chce mi się gotować, zawsze robi to ktoś z rodziny	0,75
G13	Zawsze sporządzam jadłospis na kilka najbliższych dni	0,75
G14	Zwykle nie planuję, co będziemy jeść na kolację	0,76
G15	Posiłki powinno się planować z wyprzedzeniem	0,75
G16	Zapewnienie rodzinie zdrowych posiłków jest obowiązkiem (rolą) kobiety	0,76
G17	W dzisiejszych czasach, odpowiedzialność za zakupy i gotowanie powinna być dzielona równo pomiędzy kobietę i mężczyznę.	0,75
G18	Uważam, że gotowanie to domena kobiet	0,76
S1	Czuję się dowartościowany(a), gdy inni chwalą przygotowane przez mnie posiłki	0,75
S2	Umiem gotować, jestem w tym naprawdę dobry(a)	0,75
S3	Jedzenie to ogromna przyjemność, w którą zaangażowane są wszystkie zmysły	0,75
S4	Kupuję i jem tylko te produkty, które znam	0,75
S5	Nie lubię niczego, co mogłoby zmienić mój sposób żywienia	0,76
S6	Jedząc potrawy, które znam, czuję się pewniej	0,76
S7	Jedzenie z przyjaciółmi to ważna część mojego życia towarzyskiego	0,75

S8	Posiłki są dobrą okazją do miłej, niezobowiązującej rozmowy	0,75
S9	Kiedy zapraszam znajomych na obiad/kolację, najważniejsze dla mnie jest wspólne spędzenie czasu	0,75
Q1	Zwracam dużą uwagę na to, aby produkty które kupuję były „naturalne”	0,74
Q2	Próbuję unikać produktów ze sztucznymi dodatkami	0,75
Q3	Wolę kupować „naturalne” produkty np. bez konserwantów	0,74
Q4	Jest dla mnie istotne, żeby jakość była odpowiednia do ceny	0,75
Q5	Porównuję ceny podobnych produktów (np. różnych marek), żeby wybrać ten o najlepszej jakości w stosunku do ceny	0,75
Q6	Zawsze dążę do tego, żeby uzyskać najlepszą jakość za najlepszą cenę	0,74
Q7	Znane, sprawdzone przepisy są wg mnie najlepsze	0,76
Q8	Uwielbiam testować przepisy z innych krajów	0,74
Q9	Lubię próbować nowych potraw, których nie jadłem(łam) nigdy wcześniej	0,75
Q10	Kładę nacisk na to, żeby stosować produkty ekologiczne	0,74
Q11	Kiedy tylko mam okazję, kupuję produkty pochodzące z upraw ekologicznych	0,74
Q12	Jestem gotowy(a) zapłacić więcej za produkty ekologiczne	0,75
Q13	Ważne jest dla mnie, aby delektować się posiłkiem	0,74
Q14	Dobre jedzenie jest dla mnie ważne zarówno na co dzień, jak i od święta	0,74
Q15	Lubię smacznie zjeść	0,75
Q16	Wolę świeże produkty od mrożonych i konserwowych	0,75
Q17	Jest dla mnie bardzo ważne, aby żywność była jak najmniej przetworzona	0,74
Q18	Wolę kupować mięso i warzywa świeże niż mrożone	0,75
Q19	Wolę kupować mięso i warzywa świeże niż w puszkach	0,75
K1	Podjadam, nawet gdy nie czuję głodu, dlatego nie jestem głodny(a) w porach posiłków	0,76
K2	W naszym domu podjadanie zastąpiło stałe pory posiłków	0,76
K3	Jem zawsze, gdy tylko poczuje głód, nie czekam na pory posiłków	0,76
K4	Jedzenie poza domem jest stałym elementem naszych zwyczajów żywieniowych	0,75
K5	Lubię wspólne wyjścia na obiad z moją rodziną i przyjaciółmi	0,75
K6	Często spotykam się z przyjaciółmi, żeby zjeść zwyczajny, łatwy w przygotowaniu obiad	0,75

Źródło: opracowanie własne / Source: The authors' own study

Z przeprowadzonej analizy wynika, że rzetelność skali zastosowanej w ramach narzędzie FRL została zweryfikowana pozytywnie. Ponadto stwierdzono, że zaproponowana skala jest spójna wewnętrznie i wszystkie zastosowane pytania są skorelowane ze skalą w podobnym stopniu, a usunięcie któregośkolwiek z pytań nie wpłynęłoby znacząco na zwiększenie wartości współczynnika Alpha Cronbacha. W związku z tym

można uznać, że hipoteza H1, dotycząca rzetelności zastosowanej skali FRL dla środowiska kulturowego, jakim jest populacja polska, została zweryfikowana pozytywnie.

Można jednak zaobserwować, że ze skalą w najmniejszym stopniu są skorelowane pytania wchodzące w skład konstruktów „Sposoby przyrządzania posiłków” – po usunięciu pytania G1 lub G3 analizowany współczynnik wzrósłby do 0,77, natomiast po usunięciu jednego z pytań G7, G8, G9, G14, G16 lub G18 – do 0,76. Podobny skutek można byłoby osiągnąć w przypadku pytań wchodzących w skład konstruktów: „Sytuacje konsumpcyjne” (trzy pytania – K1, K2, K3), „Sposoby robienia zakupów” (trzy pytania – Z7, Z11, Z16), „Motywy zakupowe” (dwa pytania – S5, S6) i „Aspekty jakościowe” (jedno pytanie – Q7). Na podstawie powyższych analiz można zatem uzupełnić hipotezę H2b o założenie, że konstrukt badawczy, w którym współczynnik Alpha Cronbacha osiągnie najniższą wartość, będzie prawdopodobnie konstrukt „Sposoby przyrządzanie posiłków”, potencjalnie problematyczna może być też rzetelność częściowa obliczona dla konstruktów „Sytuacje konsumpcyjne” i „Motywy zakupowe”. W celu weryfikacji hipotezy badawczej H2 przeprowadzona została analiza rzetelności pozycji osobno dla każdego z pięciu konstruktów badawczych metody FRL. Wyniki analizy przedstawiono w tab. 2.

Tabela 2. Współczynniki Alpha Cronbacha dla konstruktów badawczych FRL

Table 2. Cronbach's Alpha indices for research constructs of FRL

Konstrukt badawczy FRL FRL constructs	Nr pytania Question No.	Współczynnik Alpha Cronbacha Cronbach's Alpha Index
I. Sposób robienia zakupów Ways of shopping	Z1-Z18	0,60
II. Sposób przyrządzania posiłków Cooking methods	G1-G18	0,43
III. Motywy zakupowe Purchasing motives	S1-S9	0,48
IV. Aspekty jakościowe Quality aspects	Q1-Q19	0,85
V. Sytuacje konsumpcyjne Consumption situations	K1-K6	0,56

Źródło: opracowanie własne / Source: The authors' own study

Z danych zamieszczonych w tab. 2. wynika, że rzetelność częściowa wyliczona dla poszczególnych konstruktów jest różna. Zdecydowanie największa spójność wewnętrzna występuje w przypadku konstruktów, w ramach którego dokonywany jest pomiar aspektów jakościowych, współczynnik Alpha Cronbacha na poziomie 0,85 wskazuje, że zastosowana skala pomiarowa jest wysoce adekwatna także do warunków kulturowych charakterystycznych dla populacji polskiej. Warunek założony w hipote-

zie H2a (współczynnik Alpha Cronbacha $> 0,5$) został również spełniony w przypadku konstruktów badawczych grupujących pytania dotyczące sposobu robienia zakupów (0,60) oraz sytuacji konsumpcyjnych (0,56). Natomiast w przypadku dwóch pozostałych konstruktów został spełniony warunek założony w hipotezie H2b (współczynnik Alpha Cronbacha $> 0,4$), współczynnik wyniósł odpowiednio: dla sposobu przyrządzania posiłków – 0,43 i dla motywów zakupowych – 0,48. Należy również zauważyć, że potwierdzone zostało także dodatkowe założenie wynikające z całościowej analizy narzędzia FRL – najmniej spójnym elementem narzędzia FRL dla populacji polskiej jest konstrukt dotyczący sposobu przyrządzania posiłków oraz, zidentyfikowany jako potencjalnie problematyczny konstrukt dotyczący motywów zakupowych (współczynnik Alpha Cronbacha $< 0,5$). Wyniki uzyskane w Polsce są więc zgodne z założeniami autorów metody oraz z rezultatami analiz w innych krajach – pomimo że w ramach poszczególnych konstruktów badawczych porównywalność międzykulturowa może być mniejsza, rzetelność całego narzędzia zawsze pozostaje wysoka [12].

Podsumowując analizę można zatem stwierdzić, że hipoteza H2 została zweryfikowana pozytywnie. Narzędzie FRL może być stosowane w polskich warunkach kulturowych z takim samym skutkiem, jak w innych krajach, zweryfikowanych w poprzednich badaniach. Uzyskane wyniki mogą być także użyte do porównań międzykulturowych, co jest głównym i zasadniczym celem stosowania badań za pomocą narzędzia FRL.

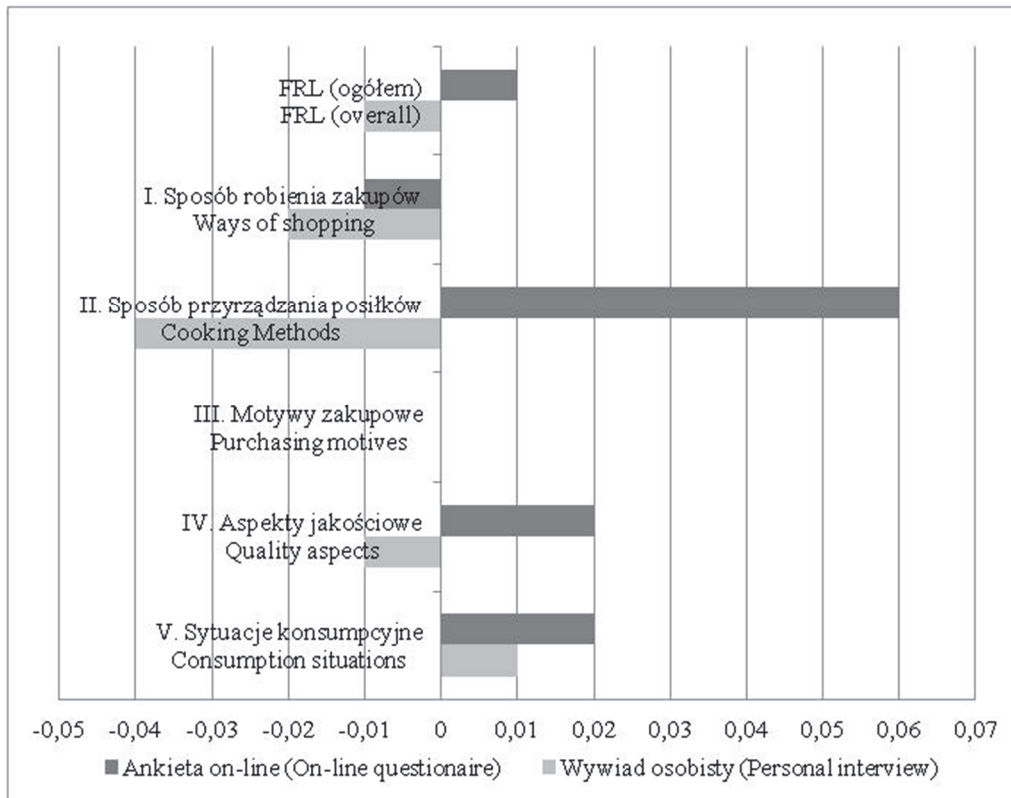
Ostatnią testowaną hipotezą była hipoteza o braku związku rzetelności narzędzia FRL ze sposobem przeprowadzania badań. Motywem podjęcia tematu był fakt, że twórcy narzędzia przeprowadzali badania wyłącznie w formie tradycyjnej [12], nie zakładali wykorzystania wywiadu on-line do przeprowadzania badania i dotychczas takie porównania nie były prowadzone. Biorąc jednak pod uwagę, że obecnie badania prowadzone tą drogą są powszechnie stosowane, a dla niektórych grup demograficznych Internet jest podstawowym kanałem komunikacyjnym, za słuszne uznano sprawdzenie, czy badania z wykorzystaniem narzędzia FRL mogą być przeprowadzone również w tej formie.

W celu weryfikacji hipotezy H3 została przeprowadzona analiza rzetelności w analogiczny sposób, jak w przypadku testowania hipotez H1 i H2 (tab. 1 i tab. 2), z tą różnicą, że współczynniki Alpha Cronbacha zostały wyliczone oddzielnie dla danych zebranych metodą wywiadu osobistego i oddzielnie dla danych zebranych za pomocą ankiety on-line. W celu sprawdzenia, jakie są różnice pomiędzy otrzymanymi miarami rzetelności skal, obliczono różnice pomiędzy:

- współczynnikami rzetelności dla wszystkich danych uzyskanych w trakcie badania a współczynnikami rzetelności dla danych uzyskanych metodą wywiadu osobistego,

- współczynnikami rzetelności dla wszystkich danych uzyskanych w trakcie badania a współczynnikami rzetelności dla danych uzyskanym metodą ankiety on-line.

Analizy wykonano, analogicznie jak w przypadku testowania dwóch pierwszych hipotez, zbiorczo dla całego narzędzia FRL oraz dla każdego z pięciu konstruktów badawczych oddzielnie. Wyniki przedstawiono na rys. 1.



Rys. 1. Różnice pomiędzy współczynnikami Alpha Cronbacha – wywiad osobisty i badania on-line

Fig. 1. Differences between Cronbach's Alpha indices - personal interview and on-line survey

Źródło: / Source: Opracowanie własne autorów / The authors' own study

Stwierdzono, że sposób zbierania danych nie miał wpływu na rzetelność skali i spójność zastosowanego narzędzia (rys. 1). Największe różnice wystąpiły w odniesieniu do konstruktów badawczych grupujących zagadnienia związane ze sposobami przyrządzania posiłków (-0,04 w przypadku wywiadu osobistego i 0,06 w przypadku ankiety on-line), w przypadku pozostałych konstruktów oraz całej skali FRL różnice były minimalne i w żadnym przypadku nie przekroczyły $\pm 0,03$.

Podsumowując, można stwierdzić, że różnice w żadnym z ww. analizowanych przypadków nie przekroczyły 0,1, w związku z tym hipoteza o braku wpływu sposobu zbierania danych na rzetelność badania za pomocą narzędzia FRL również została zweryfikowana pozytywnie.

Należy jednak zwrócić uwagę, że pomimo wykazania rzetelności narzędzia FRL w przypadku gromadzenia danych drogą elektroniczną, dużym ograniczeniem tego sposobu zbierania danych jest brak możliwości zastosowania celowego doboru próby i dotarcia do respondentów ze ściśle określonych grup demograficznych. W związku z tym można stwierdzić, że pomimo niewątpliwych zalet badań on-line, można przyjąć hipotezę, że bardziej prawidłowe jest podejście polegające na stosowaniu dwóch równoległych sposobów dotarcia do badanych; hipoteza ta będzie testowana statystycznie podczas kolejnych etapów analiz zwyczajów żywieniowych Polaków wykonanych za pomocą narzędzia FRL.

Podsumowanie

Po ponad 10 latach od opublikowania pierwszej koncepcji FRL pozostaje ona najczęściej stosowanym narzędziem do badań konsumenckich we wszystkich obszarach związanych z żywnością i żywieniem. W bazie Science Direct w chwili obecnej znajduje się ponad 50 tys. publikacji, w których narzędzie FRL było wykorzystywane przynajmniej jako jeden z elementów prowadzonych badań, w tym ponad 200 razy do badań użyte zostało narzędzie w postaci zaproponowanej przez jej twórców. O popularności narzędzia świadczy także liczba cytowań – z analizy danych zamieszczonych w bazie Publish or Perish wynika, że artykuły, w których zostały opisane podstawy teoretyczne badania zwyczajów żywieniowych za pomocą narzędzia FRL były cytowane łącznie 289 razy [10].

W wyniku przeprowadzonych analiz pozytywnie zweryfikowano wszystkie hipotezy badawcze, można więc stwierdzić, że:

1. Narzędzie FRL jest rzetelną skalą pomiarową, która może być używana w polskich warunkach kulturowych.
2. Rzetelność cząstkowa narzędzia FRL liczona dla poszczególnych konstruktów badawczych jest mniejsza, jednak wystarczająca z punktu widzenia metodologii zaproponowanej przez autorów metody.
3. Rzetelność skali nie jest zależna od sposobu zbierania danych, w związku z czym możliwe jest użycie ankiety on-line w celu przeprowadzenia badań FRL.

Dowiedziano zatem, że zastosowanie w Polsce zestandaryzowanego narzędzia, bazującego na podstawach teoretycznych, umożliwiającego uzyskanie rzetelnych wyników, jakim jest FRL, jest możliwe i zasadne. Zastosowanie ww. narzędzia umożliwi systemową analizę zwyczajów żywieniowych w obrębie populacji polskiej, a w dalszej kolejności dokonanie porównań międzykulturowych na bazie wyników uzyskanych

w innych krajach. W ponad 20-letnim okresie stosowania FRL rzetelność narzędzia była wielokrotnie weryfikowana, a badania i analizy potwierdzały możliwość jej skutecznego stosowania w kolejnych krajach. W przypadku Polski, ze względu na pierwotny charakter niniejszych badań, wskazane jest weryfikowanie rzetelności narzędzia przy jego każdorazowym zastosowaniu. Biorąc jednak pod uwagę długoletnie doświadczenia międzynarodowe w zakresie stosowania narzędzia FRL można założyć, że weryfikacja rzetelności będzie miała każdorazowo pozytywny skutek.

Literatura

- [1] Babicz-Zielińska E.: Postawy konsumentów wobec nowej żywności. Zesz. Nauk. Akademii Morskiej w Gdyni, 2010, **65**, 16-22.
- [2] Balon U., Dziadkowiec J., Sikora T.: Badanie zwyczajów żywieniowych Polaków – wybrane wnioski z badań FRL 2013, Uniwersytet Ekonomiczny w Krakowie, Kraków 2013 [online]. Dostęp w Internecie [26.06.2014]: <http://nowa.uek.krakow.pl/files/common/wydzial-towaroznawstwa/katedra-zarzadzania-jakoscia/Wybrane%20wnioski%20z%20badan%20FRL%202013.pdf>
- [3] Balon U., Dziadkowiec J., Czarnacka E., Kołodziejczyk P., Sikora M.: Badanie zwyczajów żywieniowych Polaków – adaptacja i testowanie narzędzia FRL. W: Wybrane aspekty zarządzania jakością. Red. M. Salerno-Kochan. Wyd. Nauk. PTTŻ, Kraków 2014, ss. 54-61.
- [4] Baranowska-Skimina A.: Polacy a zwyczaje żywieniowe, 2013 [online]. Dostęp w Internecie [26.06.2014]: www.egospodarka.pl/94417,Polacy-a-zwyczaje-zywieniowe,2,39,1.html
- [5] Bredahl L., Grunert K.G.: An analysis of national and cross-national consumer segments using the food-related lifestyle instrument in Denmark, France, Germany and the United Kingdom. In: Advances in Asian-Pacific consumer research. R. Belle, R. Groves (Eds.). Association of Consumer Research, Provo, UT, 1997, pp. 64-65.
- [6] Bredahl L., Brunso K., Grunert K.G., Beckmann S.C.: Food-related lifestyle in Spain (MAPP project paper). The Aarhus School of Business, Aarhus 1996.
- [7] Brunso K., Grunert K.G.: Development and Testing of a Cross-Culturally Valid Instrument: Food-Related Life Style. Adv. Cons. Res., 1995, **22**, 475-480.
- [8] Brzeziński Z.: Metodologia badań psychologicznych. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2002.
- [9] Dorosh N., Boyko O., Kleszczewska E., Łogwiniuk K., Andryszczyk M.: Porównanie nawyków żywieniowych studentów na Ukrainie i w Polsce. Cz. I. Badania ankietowe. Hygeia Public Health, 2013, **48** (4), 526-531.
- [10] Dziadkowiec J.: Food Related Lifestyles (FRL). Problemy Jakości, 2014, **6**, 9-14.
- [11] Dziadkowiec J.: FRL – narzędzie do badania zwyczajów żywieniowych W: Wybrane aspekty zarządzania jakością. Red. M. Salerno-Kochan. Wyd. Nauk. PTTŻ, Kraków 2013, ss. 116-121.
- [12] Grunert K.G., Brunso K., Bisp S.: Food-related life style: Development of a cross-culturally valid instrument for market surveillance. MAPP working paper No 14. The Aarhus School of Business, Aarhus 1993.
- [13] Grunert K.G., Brunso K., Bisp S.: Food-related lifestyle in Great Britain (MAPP project paper)., The Aarhus School of Business, Aarhus 1995.
- [14] Grunert K.G., Brunso K., Bisp, S.: Food-related lifestyle in Germany (MAPP project paper). The Aarhus School of Business, Aarhus 1995.

- [15] Grunert K.G., Brunso K., Bisp S.: Food-related lifestyle: Development of a cross-culturally valid instrument for market surveillance. In: Values, lifestyles, and psychographics. L. Kahle, C. Chiagouris (Eds.). Erlbaum, Mahwah, NJ, 1997.
- [16] Grunert K.G., Brunso K., Bredahl L.: Food-related lifestyle in France and Germany. In: New developments and approaches in consumer behavior research (pp. 1-14). I. Balderjahn, C. Mennicken, E. Vermette (Eds.). Schäffer Poeschl-MacMillan, Stuttgart 1998.
- [17] Gulbicka B., Kwasek M.: Wpływ globalizacji na żywienia ludności w Polsce. IERiGŻ PIB, Warszawa 2007.
- [18] Gutkowska K., Ozimek I.: Wybrane aspekty zachowań konsumentów na rynku żywności – kryteria różnicowania. Wyd. SGGW, Warszawa 2005.
- [19] Jeżewska-Zychowicz M., Babicz-Zielińska E., Laskowski W.: Konsument na rynku nowej żywności: wybrane uwarunkowania spożycia. Wyd. SGGW, Warszawa 2009.
- [20] Kolarzyk E., Janik A., Kwiatkowski J.: Zwyczaje żywieniowe dzieci w wieku przedszkolnym. Problemy Higieny Epidemiol., 2008, **89** (4), 527-532.
- [21] Kolarzyk E., Szpakow A., Skop A.: Porównanie częstości spożycia wybranych grup produktów spożywczych przez studentów z Krakowa i Grodna. Problemy Higieny Epidemiol., 2005, **86** (1), 36-40.
- [22] Kołajtis-Dołowy A., Matysiuk E., Boniecka I.: Zwyczaje żywieniowe wybranej grupy dzieci 11-12-letnich z Białegostoku. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2007, **6** (55), 335-342.
- [23] Kozirok W., Baumgart A., Babicz-Zielińska E.: Postawy i zachowania konsumentów wobec żywności prozdrowotnej. Bromat. Chem. Toksykol., 2012, **3** (XLV), 1030-1034.
- [24] Lipowski M., Angowski M.: Zachowania rynkowe nabywców produktów żywnościowych w sklepach dyskontowych. Handel Wewnętrzny, 2014, **2** (349), 125-137.
- [25] Nowakowska K., Borkowska A.: Zwyczaje żywieniowe dziewcząt z rozpoznaniem anoreksji i ich matek. Psychiatria, 2006, **3** (3), 133-137.
- [26] Nowicki P., Sikora T.: Opinie klientów sieci barów bistro na temat higieny i jakości serwowanych potraw. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2012, **2** (81), 198-214.
- [27] Nowicki P., Sikora T.: Customer satisfaction of food quality and safety based on the example of bistro bars in Poland. Center for Quality, Faculty of Engineering, University of Kragujevac, Kragujevac 2011, pp. 619-623.
- [28] Poręba R., Gać P., Zawadzki M., Poręba M., Derkacz A., Pawlas K., Pilecki W., Andrzejak R.: Styl życia i czynniki ryzyka chorób układu krążenia u studentów uczelni Wrocławia. Pol. Arch. Med. Wew. 2008, **118** (3), 1-9.
- [29] Raport „Trendy w zwyczajach żywieniowych Polaków. Edycja 2012”, IPSOS, Warszawa 2012.
- [30] Scholderer J., Brunso K., Grunert K.G.: Means-end theory of lifestyle: A replication in the UK. Adv. Cons. Res., 2002, **29**, 551-557.
- [31] Sholderer J., Brunso K., Bredahl L., Grunert K.G.: Cross-cultural validity of the food-related lifestyle instrument (FRL) within Western Europe. Appetite, 2004, **42**, 197-211.
- [32] Sikorska-Wiśniewska G.: Nadwaga i otyłość u dzieci i młodzieży. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2007, **6** (55), 71-80.
- [33] Stefańska M.: Preferencje konsumentów w zakresie wyboru miejsca nabywania żywności ekologicznej. Zesz. Nauk. Uniwersytetu Szczecińskiego. Problemy Zarządzania, Finansów i Marketingu, 2010, **609** (16), 215-226.
- [34] Szczepańska J., Lubowiedzka B., Szydłowska B., Pawłowska E.: Wpływ zwyczajów żywieniowych na występowanie próchnicy wczesnego dzieciństwa. Czas. Stomatol., 2007, **4** (LX), 249-256.
- [35] Szkodzin B.: Zwyczaje żywieniowe Polaków 2005. GFK Polonia [online]. Dostęp w Internecie [26.06.2014]: www.egospodarka.pl/10504,Zwyczaje-zywieniowe-Polakow-2005,1,39,1.html

- [36] Szwacka J.: Kierunki zmian na rynku żywnościowym w Polsce. Zesz. Nauk. SGGW – Ekonomika i Org. Gosp. Żywnościowej, 2007, **62**, 81-95.
- [37] Urbańska K.: Polacy a zdrowe odżywianie. IPSOS, 2011 [online]. Dostęp w Internecie [26.06.2014]: www.egospodarka.pl/72007,Polacy-a-zdrowe-odzywianie,1,39,1.html
- [38] Wądołowska K.: Zachowania i nawyki żywieniowe Polaków. Komunikat z badań nr BS/150/2010, CBOS, Warszawa 2010.
- [39] Włodarek D., Głąbska D.: Zwyczaje żywieniowe osób chorych na cukrzycę typu 2. Diabetologia Praktyczna, 2010, **1 (11)**, 17-23.
- [40] Żakowska-Biemans S., Gutkowska K., Sajdakowska M.: Segmentacja konsumentów z uwzględnieniem skłonności do zaakceptowania innowacji w produktach żywnościowych pochodzenia zwierzęcego. Handel Wewnętrzny, 2013, **4 (345)**, 141-154.

RELIABILITY OF FRL (FOOD RELATED LIFESTYLES) INSTRUMENT IN POLISH CULTURAL ENVIRONMENT

S u m m a r y


The Polish scientific achievements linked with habits and food preferences surveys are wide-ranging and varied, and the progressing globalization causes the interest in cross-cultural comparative analyzes to more and more increase. In order to obtain reliable results of such comparisons, it is necessary to apply standardized, cross-culturally validated tools.

One such tool is FRL (Food Related Lifestyles), an instrument used in research studies on dietary habits and preferences and designed, specifically, to make comparisons among different cultures or countries. The majority of European countries were surveyed using the FRL instrument. It was proved that the FRL instrument is capable of sufficiently withstanding cultural differences and can be applied in comparative studies.

The objective of this research study was to verify whether or not the FRL instrument is an accurate measuring scale and can be utilized in the Polish cultural environment. An additional objective was to check whether or not the method of collecting data (personal interview and on-line survey) impact the reliability of the FRL instrument.

Two data collection methods were applied (personal interview and on-line interview). In the case of personal interview, a two-stage stratified sampling scheme was applied. The place of residence (region) was a first-stage sampling unit (region), and the number of households was a second-stage sampling unit. The on-line questionnaire was freely available and all interested persons could fill it in. 948 respondents from all provinces in Poland and in all demographic groups provided their responses. The reliability was assessed using a Cronbach's alpha index pursuant to the methodology as proposed by Grunert et al.

Based on the analysis results, it was found that in the case of constructs relating to buying motives and methods for preparing meals, the accuracy of measuring scale was relatively low; however, it was confirmed that the FRL instrument was reliable with regard to Poland and suitable for cross-cultural comparisons.

Key words: reliability, cross-cultural comparison, Food Related Lifestyles (FRL), eating habits, consumer behaviour 

MAŁGORZATA WIŚNIEWSKA, ANNA ZAMOJSKA

FOOD SAFETY CULTURE ASSESSMENT EXAMPLIFIED BY TWO COMPANIES

Streszczenie

Food safety is the most significant issue for any entity that operates in the food chain; it is also a prerequisite for entering the market and, in most of the countries, it is guaranteed by law. Advanced solutions in medicine, food science, technology and production processes, implementing the HACCP system and good practices are very useful, though they are not able to prevent food safety hazards, in particular the human factor-dependent risks. Such factors as inappropriate behaviour of employees, failure to follow set practices, procedures, norms or values are deemed to be proof of lacking food safety culture. The objective of the article is to present a methodology to measure and assess food safety culture and to explain it using the example of two medium-sized food manufacturing companies in Poland. The methodology applied includes 15 aspects of food safety culture that were categorized into 6 elements. That methodology made it possible to identify both the level of particular elements of food safety culture and the its overall level that was rated as excelling on the basis of the survey performed. The methodology at issue can be recommended for applications by other organizations in the food industry.

Słowa kluczowe: food manufacturing companies, food safety, food safety culture, assessment

Introduction

Food safety is a non-negotiable requirement; it is essential for any entity that operates in the food chain [16]. In most of the countries throughout the world, it is guaranteed by law and it is a prerequisite for entering a market. Even though there the advances in medicine, food science, technology, production methods, and the implementation of the HACCP system supported by good practices [3], food safety hazards do not decline. Referring to the reasons of that phenomenon, researcher increasingly emphasize that it is the human factor to play a key role in the food chain and

*Dr hab. M. Wiśniewska, prof. UG, Zakład Zarządzania Jakością, Katedra Ekonomiki Przedsiębiorstw,
dr hab. A. Zamojska, prof. UG, Katedra Ekonometrii, Wydz. Zarządzania, Uniwersytet Gdański,
ul. Armii Krajowej 101, 81-824 Sopot. Kontakt: m.wisniewska@ug.edu.pl*

this factor seems to be the weakest link in every system [13]. The next reason are behaviours of employees and the tolerance thereof, their failure to follow practices, procedures, norms, and values; all this is deemed to be proof of lacking food safety culture and emerging new food safety risks [4, 5, 9, 15].

Food safety culture can be understood as a way, in which an organization or a group of people reaches the level of food safety in their minds and behaviours [10]. It is a set of commonly shared values, beliefs, and behaviours relating to food safety [9]. It is the right attitude in terms of food safety [6], and it reflects how and what employees think about food safety [14]. In the reference literature, there is a fairly extensive collection of publications on food safety culture and its elements. Based on the review of reference literature and assumptions therein [1, 2, 5, 7, 12, 14, 15], the following six elements of food safety culture are to be specified: priorities and attitudes of employees (1); awareness and knowledge about the occurrence of food safety hazards (2); confidence in the food safety management system implemented in the organization (3); employees' responsibility and commitment (4); competence and training on food safety (5); and management involvement and its role (6).

It should be added that in the reference literature there is considerably less information about methods and examples of food safety culture measurement and assessment. So far, there are only two scientific papers dealing with that subject. The first one is a paper of 2012 by Seward et al. [11], which describes a food safety culture measurement method that is used a year later by Ijabadeniyi [6] in the next survey carried out in 2013. However, the author does not identify the overall food safety culture level in the companies polled. The lack of reference articles and the importance of the issue encouraged the authors of this study to take up the subject and to look into how the Polish food industry organizations approach it. Therefore, the objective of the article is to suggest a methodology to measure and assess food safety culture, and, next, to present the results obtained with this methodology in two medium-sized food manufacturing companies in Poland.

Material and survey method

The survey was carried out in January 2014, in two medium-sized companies: A and B. For the good of the organizations surveyed, the authors described only roughly the profile and other details thereof. The two companies are located in the Province of West Pomerania; the variety of products they manufacture is similar, they function in the similar market, and their supplier-customer relationships are comparable. The two companies implemented the HACCP system and the hygienic and good manufacturing practices; thus, they comply with the EC Regulation No. 852/2004 of The European Parliament and of the European Council of 29 April 2004 on the hygiene of

foodstuffs (OJ L139/1, 30.04.2004). Additionally, based on the pertinent certificates, the company A complies with the requirements of ISO 22000 and ISO 9001 systems.

To measure and, then, to assess the level of food safety culture, a modified questionnaire was applied as suggested by Seward et al. [11]. The questionnaire was modified, because it was necessary to complement the assessment scale used in the original questionnaire based on a 4-point scale only. The final (modified) questionnaire consisted of three parts. The first part included demographic information; based thereon, it was possible to characterize the profile of the respondents polled who were the employees surveyed; in the second part, the respondents were asked to explain their responses. The third part consisted of a set of fifteen statements/aspects about attitudes, beliefs, and values represented by the employees (S1 - S15) as well as of a Likert scale from 1-5 where: 1 - strongly disagree; 2 - disagree; 3 - neither agree nor disagree; 4 - agree; 5 - strongly agree (see Table 2). To better analyse and illustrate the results of the survey, the authors assigned individual names to the six core elements of the organizational culture (see Table 3). This modification by the authors helped introduce specific indicators, W1-W6, useful for the identification of the weakest and strongest areas of food safety culture in a given organization.

During the visits to the companies, anonymous questionnaires were distributed among all the employees, called food operators, who were directly involved in the production process. The surveyors accepted as true that the learned attitudes, beliefs, and behaviours of them were evidences of the existence or lack of food safety culture [4, 5, 9]. Employees were instructed how to fill in the questionnaire they received. In the two companies polled, 100% of questionnaires were returned to the surveyors.

The results were analyzed using a Statistica software 10 PL. To test the hypotheses regarding the comparison of the results obtained in the two companies surveyed, a non-parametric Mann-Whitney U test was applied, and a t-test was applied to make comparisons within one group. For all the tests, the level of $p = 0.05$.

To interpret the final results referring to the level of food safety culture in total, and then, in particular, with regard to general elements of food safety, a Kolman's assessment scale was used [7].

Results and discussion

The questionnaires were distributed among all the employees, called food operators, directly involved in the production process. In the company A, 60 respondents were polled (83% of all the employees in A) and in the company B: 24 people (80% of all the employees in B). The characteristics of the profile of respondents are presented in Table 1.

Table 1. Structure of respondents.

Tabela 1. Struktura respondentów.

Item Wyszczególnienie	Company A Zakład A		Company B Zakład B	
	Number of respondents Liczba respondentów	[%]	Number of respondents Liczba respondentów	[%]
Gender-based structure Struktura ze względu na płeć				
Women / Kobiety	53	88	0	0
Men / Mężczyźni	7	12	24	100
Structure based on years of employment Struktura ze względu na staż pracy				
to 5 years / do 5 lat	56	93	14	58,33
6-10 years / 6-10 lat	4	7	3	12,5
11-15 years 11-15 lat	-	-	2	8,33
16-20 years 16-20 lat	-	-	3	12,5
21-25 years 21-25 lat	-	-	2	8,33

Table 2 shows the structure of the respondents based on their responses reflecting their opinions on attitudes, beliefs, and values as regards food safety culture.

Table 2. Structure of respondents based on their opinions illustrating food safety culture in their workplace

Tabela 2. Struktura badanych na podstawie ich opinii ilustrujących kulturę bezpieczeństwa żywności w ich zakładzie pracy

	Statement/aspect (S) Stwierdzenie/aspekt (S)	Company A [%] of indications Zakład A [%] wskazań					Company B [%] of indications Zakład B [%] wskazań					UM Test UM
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	
1	New employees are given training on food safety before they are allowed to start their work Nowi pracownicy, zanim podejmą pracę, przechodzą szkolenie z zakresu bezpieczeństwa żywności	0	0	0	3	97	0	0	8	67	25	5,12*
2	I appreciate a co-worker drawing my attention to my doing something that could affect the food safety in a bad way / Doceniam, gdy współpracownik zwraca mi uwagę, gdy robię coś, co mogłoby mieć zły wpływ na bezpieczeństwo żywności	0	0	2	85	13	0	0	8	46	46	-1,86
3	I am convinced that, for my boss, food safety is more important than production yield Jestem przekonany, że mój zwierzchnik zawsze stawia bezpieczeństwo żywności przed wydajnością produkcji	0	0	0	8	92	4	4	8	46	38	3,97*

4	It is possible for me to stop a production line or discontinue a process when I see something that might negatively impact the quality and safety of the food Mam możliwość zatrzymywania linii, przerywania procesu, gdy widzę coś, co może negatywnie wpłynąć na jakość i bezpieczeństwo żywności	0	0	0	88	12	0	4	13	42	42	-1,08
5	I am aware of how the food can be contaminated with bacteria or with other agents that make consumers sick Zdaję sobie sprawę, w jaki sposób może dojść do zanieczyszczenia żywności bakteriami lub innymi czynnikami powodującymi chorobę konsumenta	0	0	0	12	88	0	0	4	46	50	2,76*
6	Our decisions, actions, and behaviours do not change when we are audited, controlled, or supervised by our bosses Nasze decyzje, działania i zachowania nie zmieniają się wówczas, gdy prowadzony jest audit, kontrola lub gdy obserwuje nas przełożony	0	0	0	8	92	0	0	17	50	33	4,25*
7	I know how the level of food safety is measured in our plant and how the measurement is taken Zdaję sobie sprawę w jaki sposób w zakładzie prowadzi się pomiar poziomu bezpieczeństwa żywności i jak jest to wykonywane	0	0	0	88	12	0	0	17	33	50	-1,68
8	In our plant, food safety rules and procedures are verified and updated on a regular basis Zasady i procedury dotyczące bezpieczeństwa żywności są w zakładzie na bieżąco weryfikowane	0	0	0	92	8	0	4	29	29	38	0,09
9	I know that the solutions suggested by me in order to improve the food safety will be taken seriously Wiem, że jeśli zaproponuję jakieś rozwiązania dotyczące poprawy bezpieczeństwa żywności, to będą one traktowane poważnie	0	0	0	92	8	0	4	25	33	38	-0,17
10	During my shift, everyone always follows food safety rules and procedures Každy na mojej zmianie przestrzega zasad i procedur dotyczących bezpieczeństwa żywności.	0	0	0	93	7	0	0	8	54	38	-1,64
11	In the case any incident occurs and threatens food safety, intense actions are taken in order to identify its causes and to make sure it will never occur Jeśli dojdzie do incydentu, który zagraża bezpieczeństwu żywności, to w zakładzie są podejmowane intensywne działania pozwalające rozpoznać jego przyczyny i upewnić się, że takie zdarzenie więcej nie nastąpi	0	0	0	95	5	0	4	13	50	33	-0,89
12	I am convinced that the safety of employees and food are the highest priority in this plant Jestem przekonany(a), że bezpieczeństwo pracowników i żywności stanowi najwyższy priorytet w tym zakładzie	0	0	0	13	87	0	0	8	42	50	2,69*

13	When I start my work shift, the equipment and working surfaces, walls, and floors are properly prepared in terms of their sanitary and hygienic conditions Kiedy rozpoczynam pracę na mojej zmianie, to sprzęt, wszystkie powierzchnie robocze, ściany, podłogi są wcześniej przygotowane pod względem sanitarno-higienicznym	0	0	0	12	88	0	13	4	38	46	3,16*
14	Our employees are aware of their contribution to the manufacturing of foodstuffs that are safe for consumers Pracownicy są świadomi swojego udziału w produkcji żywności bezpiecznej dla konsumenta.	0	0	0	83	17	0	0	0	54	46	-2,07*
15	I do believe my family and I can consume, without question, the food products manufactured in this plant Jestem przekonany(a), że żywność, którą produkujemy możemy ja i moja rodzina spożyć bez zastrzeżeń	0	0	0	83	17	0	0	0	29	71	-3,86*
	(%) of indications / (%) wskazań	0	0	0	57	43	0	2	11	44	43	x
	Food safety culture level in total (%) / Całkowity poziom kultury bezpieczeństwa (%)	88,53					85,33					x

Explanatory note: / Objasnienie:

* Statistically significant differences in the responses of respondents in company A and B in terms ($p = 0.05$). / Statystycznie istotne różnice w odpowiedziach respondentów z zakładu A i B ($p = 0,05$).

Table 3 shows a construction description of food safety culture elements in the form of indicators (W1-W6) and average values of those indicators referring to the two companies surveyed. To better illustrate the difference between A and B, the same values are also presented in the radar graph (see Figure 1).

The analysis of the data in Table 2 shows that in the two companies surveyed, the difference between the quantity of indications was significant for almost all of the statements/aspects compared to the benchmark (“strongly agree”). The employees polled indicated level 4 (“agree”) regarding every aspect of the food safety culture except for one statement only: “New employees are given training on food safety before they are allowed to start their work” in the company A, where all the respondents strongly agreed with it. The assessment of the food culture safety was significantly higher in the company A with regard to the following statements: S1, S3, S5, S6, S12, S13. This means that the company A better cares for the safety in the above mentioned domains. For the employees in the company B, the aspects S14 and S15 were significantly more important than for the employees in the company A. This means that the employees in the company B have more confidence in their products; however, there are no differences between the companies A and B in their roles, beliefs, and behaviours with reference to such aspects of the food safety culture as: S2, S4, S7, S8, S9, S10, and S11. Moreover, the values of all the indications range between the “agree” and “strongly agree” responses. Regardless of the company surveyed, and taking into

account the number of indications, it turned out that, for the most part, the respondents agreed with the individual statements. However, the difference in the total agreement with a given statement/aspect in terms of food safety culture is significant.

Table 3. Mean values of W indicators of food safety culture in two companies and S-statements/aspects relating to them.

Tabela 3. Wartości średnie wskaźników kultury bezpieczeństwa żywności W w obu zakładach i związane z nimi stwierdzenia/aspekty S.

Food safety culture elements: W Elementy kultury bezpieczeństwa żywności - W		Number of S-statement/aspect in questionnaire Nr stwierdzenia/aspektu S w kwestionariuszu	Mean values of W in company A Wartości średnie W w zakładzie A	Mean values of W in company B Wartości średnie W w zakładzie B	UM Test Test UM
W1	Priorities and attitudes of employees Priorytety i postawy pracowników	6, 10, 12, 13	4,68	4,26	3,51*
W2	Awareness and knowledge of food safety hazards Świadomość i wiedza na temat wystąpienia zagrożenia bezpieczeństwa żywności	2, 5	4,50	4,42	0,32
W3	Confidence in the food safety management system implemented in the organization Zaufanie wobec wprowadzonego w organizacji systemu zarządzania bezpieczeństwem żywności	8, 11, 15	4,10	4,28	-2,13*
W4	Responsibility and commitment of the employees Odpowiedzialność i zaangażowanie pracowników	4, 14	4,14	4,33	-1,63
W5	Food safety competencies and training on food safety Kompetencje i szkolenia w zakresie bezpieczeństwa żywności	1, 7	4,54	4,25	2,09*
W6	Involvement and role of managing staff Zaangażowanie i rola kierownictwa	3, 9	4,50	4,06	1,80

Explanatory note: / Objasnienie:

*Statistically significant differences in values of indicators in companies A and B in terms ($p = 0.05$). / Statystycznie istotne różnice w wartościach wskaźników dla zakładów A i B ($p = 0,05$).

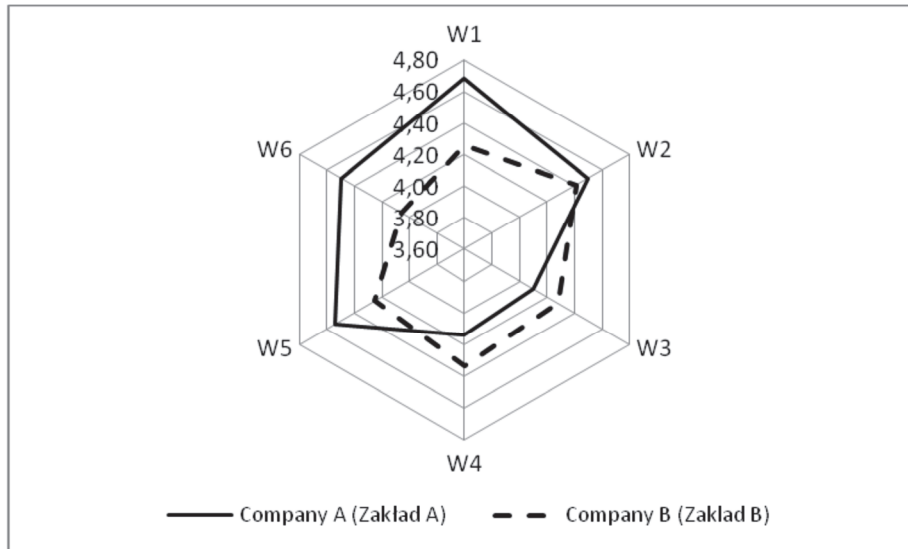


Fig. 1. Mean values of food safety culture indicators, W1-W6, in two companies surveyed

Rys. 1. Średnie wartości wskaźników kultury bezpieczeństwa żywności – W1 - W6 w obu zakładach

The analysis of the data in Table 3 and Fig. 1 that refer to the W1-W6 values and their ranges, the evaluation ratings of general elements of food safety culture were significantly higher in the company A in two cases, namely: "Employees priorities and attitudes" (W1) and "Competence and training on food safety" (W5). This means that those elements are more important for the employees. On the other hand, "Confidence in the safety management system implemented in the organization" (W3) was rated higher by the employees in the company B. It means they have greater confidence in their food safety management system. No significant differences were found between respondents' responses with regard to the following elements of food safety culture: "Awareness and knowledge of food safety hazards" (W2), "Responsibility and commitment of Employees" (W4), "Involvement and role of managing staff" (W6); this means that in the two companies the levels of food safety culture levels in respective domains are perceived in a similar way.

In the companies surveyed, the food safety culture levels in total are similar: 88.53% as for the company A and 85.33% as for the company B. According to the indications of the respondents, in the two companies the individual aspects of food safety culture referring to the statements/aspects S1-S15 are fulfilled.

In the company A, the strongest aspects of food safety culture are: training of the employees on food safety; the employees believe that the managing staff deems food safety to be more important than the production yield; everyday decisions, activities, and behaviors linked with the food safety assurance do not change when the employees

are audited, controlled, or supervised by their bosses. As regards the company B, the strongest aspects of food safety culture herein are: the employees are confident in the safety of food produced; the employees are aware of their role in producing safe foods for consumers; the employees are aware of the possibility that foods might be contaminated with bacteria or other agents and the health of consumers could be jeopardized.

In the company A, the following aspects of the food safety culture are reported to be the weakest: the employees know and believe that the safety rules and procedures are verified and updated on a regular basis; the employees believe they can contribute to improving the food safety through the solutions suggested by them; the employees believe that every staff member follows the food safety principles and procedures; the employees are sure that in the case when an incident occurs and jeopardizes the food safety, their company takes intense actions in order to identify its causes and to make sure they will never occur. The weakest aspects of food safety culture in the company B are: the employees know and believe that safety rules and procedures are verified and updated on a regular basis; the employees are sure that in the case when an incident occurs and jeopardizes the food safety, their company takes intense actions in order to identify its causes and to make sure they will never occur; the employees believe that the food safety is the priority in the company and more important than the production yield.

The attitudes, competence, and training of the employees in the company A are more visible than in B; however, the employees in the company B have greater confidence in the implemented food safety management rules and principles including the product safety, but no significant differences between the two companies are found in the following aspects: the employees are aware of and know the food safety hazards, their responsibilities and commitment as well as the involvement and role of their managing staff.

Based on the above findings and having in mind the Kolman's evaluation scale, in the two cases the studied companies represent Class "1" and the levels of food safety culture, in total and in individual elements, are identified as to be 'distinctive'. This fact is confirmed by the mean values of the W1-W6 indicators. This situation creates an environment where positive and based on deep cooperation outcomes are possible for the companies and their final customers.

Conclusions

1. The methodology described is based on fifteen aspects categorized into six suggested food safety culture elements; it was applied to measure and assess food safety culture and it helped recognize the overall food safety culture level in the companies surveyed. It proved very useful for the purpose of identifying the weakest and strongest areas of food safety culture in individual organizations.

2. The methodology as presented above was positively verified; thus, it is recommended for implementation in other food companies including their suppliers; also, it can be used as a tool of self-assessment in a company as well as a benchmarking tool when comparing levels of food safety culture in several companies.
3. The comparison of the methodology presented above with the original methodology as suggested by Seward et al. proves that the first one is more detailed and comprehensive, and the use of it makes it possible to assess the individual levels of the core elements of food safety culture.

Literature

- [1] Abidin U.Z., Fatimah U.: Measuring food safety culture: Insights from onsite foodservice operations. Iowa State University, Ames 2013, p. 54.
- [2] Ball B., Wilcock A., Colwell S.: Tool for measuring food safety climate. *J. Food Prot.*, 2010, **73** (Supl. A), 84.
- [3] Crossley S., Motarjemi Y.: Food Safety Management Tools. Report of an ILSI Europe Expert Group. ILSI, Brussels 2011, p. 5.
- [4] Griffith C.J., Livesey K.M., Clayton D.: Food safety culture: the evolution of an emerging risk factor? *Brit. Food J.*, 2010, **112** (4), 426-438.
- [5] Griffith C.J., Livesey K.M., Clayton D.: The assessment of food safety culture. *Brit. Food J.*, 2010, **112** (4), 439-456.
- [6] Ijabadeniyi O.A.: Food safety culture paramount than traditional food safety system and food safety culture in South African food industries. *World Academy of Science. Eng. Technol.*, 2013, **76**, 679-683.
- [7] Kolman R.: *Kwalitologia. Wiedza o różnych dziedzinach jakości.* Wyd. Placet, Warszawa 2009, p. 38.
- [8] Neal J.A., Binkley M., Henroid D.: Assessing factors contributing to food safety culture in retail food establishments. *Food Prot. Trends*, 2012, **32**, 468-476.
- [9] Powell D.A., Jacob C.J., Chapman B.J.: Enhancing food safety culture to reduce rates of foodborne illness. *Food Control*, 2011, **22**(6), 817-822.
- [10] Sarter S., Sarter G., Gilabert P.: A SWOT analysis of HACCP implementation in Madagascar. *Food Control*, 2010, **21**, 253-259.
- [11] Seward S., Dobmeier N., Baron M.: Assessing the food safety culture of a manufacturing facility. *Food Technology Magazine*, 2012, **66** (1), 1-9.
- [12] Taylor J.: An exploration of food safety culture in a multi-cultural environment: Next steps? *Worldwide Hospitality and Tourism Themes*, 2011, **3**, 455-466.
- [13] Trafiałek J., Pawłowska J.: Analiza efektów szkolenia pracowników firmy cateringowej z wdrożonym systemem zarządzania bezpieczeństwem żywności, zgodnym z normą ISO serii 22000. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, **1** (86), 217-229.
- [14] Wright M., Leach P., Palmer G.: A Tool to Diagnose Culture in Food Business Operators. Report from Greenstreet Berman Ltd for the FSA. GSB Ref: CL2567. October 2012. [online]. Dostęp w Internecie [15.03.2014]: http://www.foodbase.org.uk/admin/tools/reportdocuments/803-1-1430_FS245020.pdf
- [15] Yiannas F.: Food safety culture: Creating a behavior-based food safety management system. Springer, New York 2009, pp. 11-14.

- [16] Zielona Księga w sprawie jakości produktów rolnych: normy jakości produktów, wymogi w zakresie produkcji rolnej, systemy jakości. Komisja Wspólnot Europejskich, 2008, KOM (2008) 641, wersja ostateczna, Bruksela 15.10.2008, s. 4.

OCENA KULTURY BEZPIECZEŃSTWA ŻYWNOŚCI NA PRZYKŁADZIE DWÓCH ZAKŁADÓW

S u m m a r y

Bezpieczeństwo żywności jest cechą najistotniejszą dla każdego podmiotu funkcjonującego w łańcuchu żywnościowym, jest też warunkiem wstępu na rynek i w większości krajów jest prawnie gwarantowane. Zaawansowane rozwiązania w zakresie medycyny, nauk o żywności, technologii i w systemach produkcji, wdrażanie systemu HACCP oraz dobrych praktyk, mimo że bardzo użyteczne, nie jest w stanie zapobiec zagrożeniom bezpieczeństwa żywności, szczególnie tym, które zależą od czynnika ludzkiego. Nieodpowiednie zachowanie pracowników, nieprzestrzeganie określonych praktyk, procedur standardów czy wartości jest postrzegane jako dowód braku kultury bezpieczeństwa żywności. Celem artykułu jest przedstawienie propozycji metodyki pomiaru i oceny kultury bezpieczeństwa żywności na przykładzie dwóch spożywczych przedsiębiorstw produkcyjnych, funkcjonujących w Polsce. Zastosowana metoda polegała na 15 aspektach kultury bezpieczeństwa, skategoryzowanych według 6 elementów. Metoda umożliwiła zidentyfikowanie poziomu kultury bezpieczeństwa w poszczególnych jej elementach, jak i poziomu ogólnego, ocenionego w wyniku badania jako wyróżniający. Metoda może być rekomendowana do zastosowania przez inne organizacje przemysłu spożywczego.

Key words: bezpieczeństwo żywności, kultura bezpieczeństwa żywności, ocena 

JOANNA TRAFIAŁEK, EWA CZARNIECKA-SKUBINA,
DANUTA KOŁOŻYŃ-KRAJEWSKA, BARTŁOMIEJ PAŁUBICKI,
KAMILA MAKUSZEWSKA

HIGIENA W ZAKŁADACH GASTRONOMICZNYCH WYTWARZAJĄCYCH ŻYWNOŚĆ W OBECNOŚCI KONSUMENTA

Streszczenie

Celem badań była ocena przestrzegania zasad higieny w zakładach gastronomicznych wytwarzających żywność w obecności konsumenta, w wybranych krajach. Jako metodę badań zastosowano audyty procesów wykonywane przez przeszkolonych audytorów na podstawie formularza pytań. Formularz audytu zawierał 4 grupy pytań dotyczących higieny: personelu, pomieszczeń produkcyjnych, procesu produkcji i dystrybucji żywności. Wykonano 30 audytów w różnych zakładach gastronomicznych zlokalizowanych w 5 krajach. Były to: Polska (Warszawa), Austria (Salzburg), Niemcy (Hesja i Bawaria), Republika Chińska (Tajwan), USA (Nowy Jork)

Na podstawie przeprowadzonych audytów stwierdzono liczne niezgodności we wszystkich ocenianych zakładach gastronomicznych, niezależnie od różnic kulturowych i przepisów obowiązujących w danym kraju. Dotyczyły one zarówno obszaru higieny personelu (rąk, głowy), jak i higieny pomieszczeń produkcyjnych i produkcji żywności. Były to: nieprawidłowy układ funkcjonalny pomieszczeń oraz brak rozdzielności pomiędzy czystymi i brudnymi strefami pracy. Wykazano wiele błędów w zakresie higieny personelu, takich jak: dotykanie twarzy, nosa, uszu, włosów podczas produkcji i serwowania żywności. Najwięcej niezgodności stwierdzono w lokalach gastronomicznych na Tajwanie, a najmniej – w Niemczech. W polskich zakładach zaobserwowano nieznacznie więcej niezgodności niż w Bawarii i znacznie mniej niż w USA.

Brak przestrzegania zasad higieny w zakładach gastronomicznych wytwarzających żywność w obecności klienta jest zjawiskiem powszechnym na świecie i występuje mimo różnic kulturowych oraz warunkowań prawnych.

Słowa kluczowe: gastronomia uliczna, żywność, higiena, audyt zakładów gastronomicznych

Dr inż. J. Trafiałek, dr hab. E. Czarniecka-Skubina, prof. dr hab. D. Kołożyn-Krajewska, mgr inż. B. Pałubicki, mgr inż. K. Makuszevska, 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: joanna_trafialek@sggw.pl

Wprowadzenie

W krajach rozwijających się gastronomia uliczna (z ang. *street food*) pełni ważną społeczno-ekonomiczną funkcję w zakresie zatrudniania i dochodów dla osób zaangażowanych w produkcję i sprzedaż, wzmacniania lokalnej gospodarki oraz zachowywania lokalnej kultury żywieniowej [24, 39]. Gastronomia uliczna zapewnia łatwą dostępność, wybór i różnorodność potraw oraz niskie ceny. Mimo licznych zalet sprzedaży żywności na ulicy, nie można pominąć ryzyka wynikającego z braku zapewnienia właściwych warunków higienicznych produkowanej żywności i z możliwości jej zanieczyszczenia patogenami. Stoiska, bary, samochody (*food trucks*), gastronomia mobilna (wózki) i inne tego typu punkty gastronomiczne często nie są zaopatrzone w czystą wodę, brakuje w nich miejsca do przechowywania żywności, cechuje je nieumiejętne postępowanie z odpadami, a personel nie spełnia podstawowych wymagań higienicznych. Stwarza to zagrożenia bezpieczeństwa zdrowotnego konsumentów, na co wskazują badania przeprowadzone głównie w Indiach i w krajach Afryki oraz nieliczne: w Chinach, Brazylii, Bangladeszu, Turcji i USA [1, 3, 5, 6, 19, 23, 33, 42]. W Europie, w tym również w Polsce, gastronomia uliczna staje się coraz bardziej popularna [22, 25, 31].

W punktach gastronomii ulicznej odbywa się zazwyczaj sprzedaż gotowych wyrobów lub żywność jest wytwarzana w obecności konsumenta. Zakłady gastronomiczne tego typu zlokalizowane są w miejscowościach turystycznych, wzdłuż spacerowych ulic lub w galeriach handlowych. Zwykle działają na niewielkich przestrzeniach, ale muszą spełniać określone wymagania higieniczno-sanitarne, obowiązujące w danym kraju. W krajach Unii Europejskiej i USA w celu zagwarantowania zdrowia konsumenta i bezpieczeństwa żywności obligatoryjnie stosuje się zasady HACCP [30, 35], zaś w innych regionach świata, np. w Azji, nie są one obowiązkowe i wdraża się je tylko w nielicznych zakładach [2, 16].

Celem pracy była ocena przestrzegania zasad higieny w zakładach gastronomicznych wytwarzających żywność w obecności klienta w Polsce i w wybranych krajach świata oraz wykazanie, w jakich obszarach funkcjonowania zakładu gastronomicznego nie są przestrzegane zasady higieny.

Material i metody badań

W pracy zastosowano metodę audytu. Audyty przeprowadzono w 5 różnych krajach, w 30 zakładach gastronomicznych (po 5 audytów w każdym miejscu). Były to: Polska (Warszawa), Austria (Salzburg), Niemcy (Hesja i Bawaria), Republika Chińska (Tajwan), USA (Nowy Jork).

Wybór krajów był zamierzony. USA uwzględniono z uwagi na miejsce powstania systemu HACCP, Polska jest rodzinnym krajem autorów, Niemcy i Austria – bliskimi

sąsiadami Polski, a Tajwan to obszar o zupełnie odmiernej kulturze i obyczajach, w którym nie ma obowiązku stosowania zasad systemu HACCP.

Audyty miały na celu ocenę przestrzegania zasad higieny w zakładach gastronomicznych wytwarzających środki spożywcze w obecności konsumenta. Badania przeprowadzało 3 audytorów. Mieli oni udokumentowane kwalifikacje, wiedzę i umiejętności z zakresu przeprowadzenia audytów, co zweryfikowano na podstawie zaświadczeń z odbytej edukacji oraz przebiegu pracy zawodowej.

Tabela 1. Charakterystyka zakładów gastronomicznych produkujących żywność w obecności klienta

Table 1. Profile of catering establishments that produce food in front of customer

Kraj Country	Charakterystyka Profile	Nr zakładu gastronomicznego / Catering establishment No.				
		1	2	3	4	5
Niemcy Bawaria Germany Bavaria (I)	Zakład Establishment	Restauracja / Restaurant			Fast-food restaurant	
	Posiłki / Meals	obiady, kolacje	obiady, kolacje	obiady, przekąski	kiełbaski z grilla	dania regionalne
Niemcy Hesja Germany Hessen (II)	Zakład Establishment	Restauracja Restaurant	Kawiarnia Café	Fast food	Stoisko Stall	Cukiernia Patisserie
	Posiłki / Dishes	różne, dania z grilla	lody, desery, frytki, kiełbaski	kebab, frytki	regionalne, golonka, frytki, kiełba- ski	lody, desery, napoje
USA Nowy Jork USA New York (III)	Zakład Establishment	Punkt gastronomiczny Catering outlet		Fast-food restaurant		
	Posiłki / Meals	śniadania, obiady, napoje	śniadania, kawa, obiady, drinki	dania meksykańskie	dania afrykańskie	dania chińskie
Austria Salzburg Austria Salzburg (IV)	Zakład Establishment	Stoisko / Food Kiosk			Fast-food restaurant	Lodziarnia Ice-cream shop
	Posiłki / Meals	dania regionalne, obiady, desery	dania regionalne	regionalne, kiełbaski z grilla, precle	parówki, kiełbaski	lody, desery, kawa, napoje
Tajwan Tajpej Taiwan Taipei (V)	Zakład Establishment	Restauracja Restaurant	Stoisko Kiosk	Samochód z żywnością / Mobile food vendor		
	Posiłki / Meals	dania tajskie, pierogi, noodle, dania z ryżem	przepiórcze jaja na patyku	regionalne, Onigiri	regionalne, omlety z ostrzygami	regionalne, Teppanyaki
Polska Warszawa Poland Warsaw (VI)	Zakład Establishment	Bar	Stoisko/Kiosk	Restauracja/ Restaurant		Fast-food restaurant
	Posiłki / Meals	obiady, dania rybne	świeże soki wyciskane	dania tajskie	dania włoskie	kanapki na gorąco

Audyty prowadzono na podstawie listy pytań audytowych, zawierającej cztery grupy pytań dotyczące: higieny obszaru produkcyjnego (grupa 1), higieny produkcji i dystrybucji żywności (grupa 2), higieny głowy (grupa 3) i rąk pracowników (grupa 4). W pierwszej grupie było 13 pytań na temat czystości i funkcjonalności pomieszczeń produkcyjnych. Druga grupa obejmowała 16 pytań dotyczących higieny i organizacji stanowiska pracy, odzieży pracowników, czystości naczyń i urządzeń. W trzeciej grupie było 10 pytań na temat postępowania w zakresie zabezpieczenia włosów i twarzy w trakcie produkcji, a w grupie czwartej – 10 pytań odnośnie do zapewnienia higieny rąk.

Audyty nie były zapowiadane, a pracownicy lokali gastronomicznych nie wiedzieli o ich terminie oraz zakresie. Oceniane zakłady prowadziły produkcję i sprzedaż różnych dań specyficznych dla krajów, w których były zlokalizowane. Elementem wspólnym lokali była produkcja żywności w obecności konsumenta – audytor mógł obserwować procesy produkcyjne i dystrybucyjne. Charakterystykę zakładów przedstawiono w tab. 1.

Wyniki i dyskusja

W wyniku przeprowadzonych audytów zakładów gastronomicznych zidentyfikowano ogółem 408 niezgodności. Dotyczyły one wszystkich obszarów: higieny produkcji żywności (112), higieny rąk (107), higieny głowy (99) i higieny obszarów produkcyjnych (90).

Niezgodności stwierdzone w zakresie higieny obszaru produkcyjnego

Z analizy rodzajów niezgodności w zakresie higieny obszarów produkcyjnych najwięcej uwag dotyczyło: niemożności realizacji zasad GHP ($n = 12$), stanu ścian w części produkcyjnej ($n = 12$) oraz przechowywania w tej części przedmiotów obcych, niezwiązanych z produkcją, np. telefonów, ulotek informacyjnych, toreb, oświetlenia sezonowego itp. ($n = 12$), co stanowiło po 13,3 % niezgodności stwierdzonych w tym obszarze (tab. 2).

Niezgodności stwierdzone w zakresie higieny produkcji żywności i dystrybucji

Niezgodności z zakresu higieny produkcji i dystrybucji przedstawiono w tab. 3. Jako najczęstsze stwierdzono spożywanie posiłków i napojów oraz żucie gumy przez pracowników w trakcie pracy ($n = 11$, tj. 9,8 % wszystkich niezgodności z tego zakresu), co należy do niewłaściwych praktyk pracowników gastronomii [13]. Zaobserwowano brak odzieży ochronnej i niehigieniczne pobieranie talerzy lub opakowań jednorazowych ($n = 9,8$ %). W wielu przypadkach odzież ochronna nie w pełni zakrywała odzież prywatną, a opakowania lub talerze przechowywano w miejscu umożliwiającym

cym ich zanieczyszczenie. Używano też naczyń brudnych lub w złym stanie, a w obszarze produkcji żywności znajdowały się osoby postronne (n = 9, tj. po 7 %). Stwierdzone niezgodności są istotne dla bezpieczeństwa żywności i mogą przyczynić się do zanieczyszczenia wtórnego produkowanych posiłków. Obowiązują ściśle wytyczne na temat zachowania higienicznego na stanowiskach pracy, np. nie wolno żuć gumy, spożywać posiłków i pić płynów – czynności muszą odbywać się w wyznaczonym czasie i miejscu [27].

Tabela 2. Niezgodności w zakresie higieny obszarów produkcyjnych w wybranych zakładach gastronomicznych produkujących żywność w obecności klienta

Table 2. Incompatibilities as regards hygiene of production areas in some selected catering establishments that produce food in front of customer

Rodzaj niezgodności / Type of incompatibilities 13 pytań w ankiecie (13 questions in questionnaire)	Liczba niezgodności Number of incompatibilities						
	Razem Total	I	II	III	IV	V	VI
Brak realizacji GHP / GHPractices are not carried out	12	-	-	4	-	5	3
Nieodpowiedni stan ścian pomieszczeń Improper condition of walls in premises	12	2	1	5	2	1	1
Przedmioty obce w obszarze produkcji Foreign objects in production area	12	2	1	5	1	3	-
Nieodpowiedni stan podłóg Improper condition of floors	10	2	1	3	1	3	-
Brudne pomieszczenia produkcyjne Soiled areas of production	9	-	-	2	3	4	-
Przepelniony kosz na odpadki / Overflowing waste bin	8	-	-	3	-	3	2
Brak funkcjonalności procesów produkcyjnych Non-functionality of production processes	7	-	1	1	3	2	-
Naganny stan blatów produkcyjnych Objectionable condition of production tops	7	-	1	3	-	3	-
Brak kratki wentylacyjnych lub ich niedrożność No (or clogged) vent grates covering air ducts	3	-	-	1	2	-	-
Naganny stan blatów konsumenckich Objectionable condition of tabletops for consumers	3	1	1	-	1	-	-
Szkodniki / Food pests	3	-	-	-	3	-	-
Brak możliwości czyszczenia sprzętu No possibilities to clean restaurant equipment	3	-	-	-	-	3	-
Bliskość toalet / Nearness of restrooms	1	-	-	1	-	-	-
Razem / Total	90	7	6	28	16	27	6

I – Bawaria / Bavaria; II – Hesja / Hessen; III – Nowy Jork / New York; IV – Salzburg; V – Tajwan / Taiwan; VI – Warszawa / Warsaw; n = 30

Tabela 3. Niezgodności w zakresie higieny produkcji i dystrybucji żywności stwierdzone w zakładach gastronomicznych produkujących żywność w obecności klienta

Table 3. Incompatibilities in hygiene of food production and food distribution as identified in catering establishments preparing and cooking food in front of customer

Rodzaj niezgodności / Type of incompatibilities 16 pytań w ankiecie (16 questions in questionnaire)	Liczba niezgodności Number of incompatibilities						
	Razem Total	I	II	III	IV	V	VI
Jedzenie, picie, żucie gumy / Eating, drinking, chewing gum	11	2	3	3	1	-	2
Niehygieniczne pobieranie opakowań i talerzy Unhygienic handling with packaging and plates	9	-	1	3	1	3	1
Niewłaściwa odzież robocza / Improper working clothes	9	2	1	2	1	2	1
Niezakrywanie ubrań osobistych Personal clothes are not covered	8	3	4	-	-	1	-
Możliwość zanieczyszczenia opakowań i talerzy Potentiality that packages and plates become contaminated	8	-	2	-	3	3	-
Osoby postronne w części produkcyjnej Unauthorized persons in production areas	8	-	1	4	-	1	2
Kontakt surowców i produktów gotowych Raw materials may contact ready-to-eat products	7	-	-	2	1	2	2
Nieoddzielenie produktów od konsumenta Products are not separated from consumer	7	-	-	1	2	3	1
Kontakt posiłków z odpadkami Meal dishes and wastes may contact one another	7	-	1	2	2	2	-
Krzyżowanie czynności produkcyjnych Production activities may cross one another	7	-	1	-	1	4	1
Zły stan urządzeń / Poor condition of appliances	7	1	-	3	-	2	1
Nieoddzielenie sprzętu / Equipment items are not separated	6	-	-	1	1	4	-
Nieświeżość półproduktów i produktów gotowych Semi-finished and ready-to-eat products are not fresh	6	-	-	3	1	2	-
Brud na stanowiskach / Dirt in working spaces	5	-	-	1	1	3	-
Złe warunki przechowywania surowców Improper storage conditions for raw materials	4	-	-	-	1	2	1
Niewłaściwy zwrot naczyń - brak pojemnika na naczynia jednorazowe / Improper return of tableware – no container for disposable tableware	3	-	-	-	1	2	-
Razem / Total	112	8	14	25	17	36	12

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

Wskazówki dotyczące odzieży ochronnej podane są w rozporządzeniu 852/2004 [30], ale należy podkreślić, że obowiązuje ono członków UE, natomiast nie dotyczy Tajwanu. Krzyżowe zanieczyszczenia żywności za pośrednictwem naczyń, rąk i powierzchni roboczych są głównymi czynnikami ryzyka w branży gastronomicznej [12,

28]. Niektóre mikroorganizmy chorobotwórcze mogą przetrwać poza ciałem ludzkim przez dłuższy czas, a przenoszone na rękach personelu i konsumentów mogą zanieczyszczać żywność. Niewłaściwie myte i dezynfekowane lub pobierane naczynia mogą być zatem bezpośrednim lub pośrednim źródłem zatruc pokarmowych [10, 15].

Niezgodności stwierdzone w zakresie higieny pracowników

Tematyka zapewnienia higieny rąk podczas produkcji żywności jest szeroko omawiana w literaturze [11, 12, 43], a stwierdzone niezgodności w tym zakresie mogą świadczyć o braku obligatoryjnych szkoleń [30] lub też za małej ich częstotliwości. W zakresie higieny rąk zidentyfikowano najwięcej niezgodności dotyczących częstotliwości ich mycia i dezynfekcji ($n = 21$), co stanowi 19,6 % niezgodności stwierdzonych w tym obszarze. Zauważono również noszenie biżuterii przez pracowników w trakcie pracy ($n = 16$, 15 %) oraz niewłaściwe suszenie rąk ($n = 15$, 14 %). Pozostałe stwierdzone nieprawidłowości przedstawiono w tab. 4.

Niedostateczne przestrzeganie higieny rąk może prowadzić do wtórnego zanieczyszczenia serwowanych posiłków [8, 32, 38]. Niezbędny jest wzrost świadomości personelu zatrudnionego w lokalach gastronomicznych w tym zakresie. Pragle i wsp. [26] wskazują na duże znaczenie edukowania personelu na temat właściwego mycia rąk.

W przypadku higieny głowy najczęściej stwierdzano niezgodności dotyczące dotyknięcia twarzy, nosa, uszu i włosów podczas produkcji żywności ($n = 20$), co stanowi ok. 20 % niezgodności z tego obszaru. Pracownicy nie stosowali się do zasad higieny i nosili biżuterię lub elementy prywatnej garderoby na głowie lub szyi ($n = 17$) oraz w uszach i na twarzy ($n = 16$). Inne niezgodności z tego obszaru przedstawiono w tab. 4.

Stwierdzone nieprawidłowości postępowania personelu wynikają z niestosowania typowych praktyk higienicznych, które były szeroko opisywane w literaturze fachowej i ustawodawstwie żywnościowym [4, 7, 18, 30, 36].

Tabela 4. Niezgodności stwierdzone w zakresie higieny personelu w wybranych zakładach gastronomicznych produkujących żywność w obecności klienta

Table 4. Incompatibilities identified in hygiene of staff in selected catering establishments preparing and cooking food in front of customer

Rodzaj niezgodności Type of incompatibilities	Liczba niezgodności Number of incompatibilities						
	Razem Total	I	II	III	IV	V	VI
Higiena rąk personelu (10 pytań w ankiecie) / Hygiene of staff's hands (10 questions in questionnaire)							
Niewłaściwe (lub zbyt rzadkie) mycie rąk Hands are washed improperly (or too rarely)	21	-	5	3	4	4	5

Noszenie biżuterii w trakcie pracy Staff wears jewellery while working	16	5	4	1	1	2	3
Niewłaściwe suszenie rąk / Hands are improperly dried	15	-	2	1	3	4	5
Brak umywalki do mycia rąk i brak instrukcji No sink to wash hands, no relevant instructions	12	-	1	2	3	3	3
Rzadko zmieniane rękawiczki jednorazowe Disposable gloves are infrequently changed	12	-	2	1	2	4	3
Długie, brudne lub pomalowane paznokcie Long, unclean, or painted nails	11	1	1	4	1	2	2
Nieoddzielenie miejsca produkcji od miejsca przyjmowania opłat Production area is not separated from area where payment is made	10	1	-	2	2	4	1
Niewłaściwe wyposażenie umywalki Sink is equipped with improper accessories	7	-	-	1	1	3	2
Brudne ręce / Unclean hands	2	-	-	-	-	2	-
Niewłaściwe postępowanie ze skaleczeniami rąk Hand injuries are improperly treated	1	-	-	-	-	1	-
Razem / Total	107	7	15	15	17	29	24
Higiena głowy personelu (10 pytań w ankiecie) / Hygiene of staff 's heads (10 questions in questionnaire)							
Dotykanie twarzy, nosa, uszu, włosów podczas produkcji Staff touches their faces, noses, ears, and hair during production	20	-	4	5	3	3	5
Elementy prywatnej garderoby na głowie i szyi Staff wears their personal clothing items around neck or on heads	17	5	3	3	2	2	2
Ozdoby we włosach, w uszach i na głowie Jewellery in hair, ears, and on head	16	1	2	4	3	3	3
Brak nakrycia głowy / No headwear	12	5	1	2	1	2	1
Nieprawidłowe nakrycie włosów Hair is improperly covered	11	2	3	1	2	2	1
Niezakrywanie długich włosów / Long hair is not covered	9	-	2	1	3	3	-
Niezachowanie higieny przy kaszlu, kichaniu, siewaniu Failure to follow hygiene procedures while coughing, sneezing	5	-	-	2	-	1	2
Brudne włosy / Unclean hair	5	3	-	2	-	-	-
Problemy skórne głowy / Head scalp skin problems	2	-	1	1	-	-	-
Nadmierny makijaż / Excessive make-up	2	1	-	1	-	-	-
Razem / Total	99	17	16	22	14	16	14

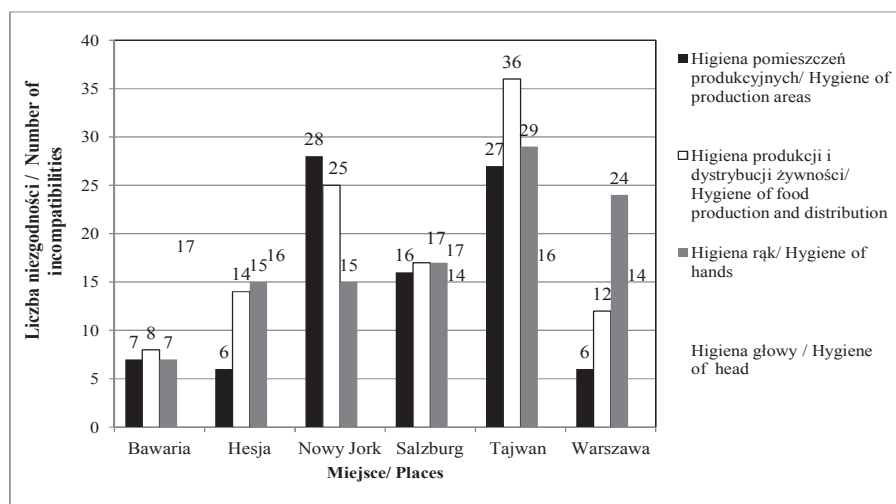
Objaśnienia jak pod tab. 2. / Explanatory notes as in Tab. 2

Nieprzestrzeganie zasad higieny głowy może powodować zanieczyszczenie mikrobiologiczne produktów, gdyż we włosach, w uszach i na twarzy mogą bytować

drobnoustroje chorobotwórcze [3], a kichanie i kaszel oraz praktyki, takie jak oblizywanie palców czy dotykanie zębów i nosa są niewłaściwe w produkcji żywności [13].

Analiza niezgodności stwierdzonych w polskich i zagranicznych lokalach gastronomicznych

Dokonując omówienia stwierdzonych niezgodności należy podkreślić, że w poszczególnych krajach ich liczba była zróżnicowana. Najwięcej niezgodności ogółem zidentyfikowano na Tajwanie – 108 i w Nowym Jorku – 90, mniej w Austrii – 64, w Polsce – 56 i w Niemczech: w Hesji – 51, a w Bawarii najmniej – 39. Szczegółowe dane dotyczące liczby niezgodności przedstawiono na rys. 1.



Rys. 1. Liczba niezgodności stwierdzonych w trakcie audytów w wybranych krajach
Fig. 1. Number of incompatibilities identified during audits in selected countries

W wielu zakładach stan higieniczny pomieszczeń produkcyjnych był nieodpowiedni. Stwierdzone niezgodności z tego zakresu to: niewłaściwy stan podłogi (podłoga drewniana lub znaczące braki płytek), przepełnione kosze na odpadki lub ich brak, brudne pomieszczenia produkcyjne i blaty robocze, obecność na stanowiskach pracy dużej ilości sprzętów i urządzeń niezwiązanych z produkcją, krzyżowanie się dróg technologicznych wykluczające realizację zasad GHP. W jednym z lokali klienci przechodzili do toalety przez pomieszczenie produkcyjne.

W zakresie higieny obszarów produkcyjnych w Polsce i w Hesji odnotowano taką samą liczbę niezgodności (6, tab. 2). Dotyczyły one przepełniania kosza na odpadki poprodukcyjne, brudnych ścian i podłóg, braku możliwości realizacji GHP. Warto zauważyć, że liczba niezgodności w zakresie higieny obszarów produkcyjnych na

Tajwanie była porównywalna z liczbą niezgodności stwierdzonych w USA – kraju, który był prekursorem wdrażania HACCP [35]. Z badań wynika, że brak stosowania dobrych praktyk i systemu HACCP był w przeszłości najistotniejszym czynnikiem odpowiedzialnym za wiele chorób pochodzenia żywnościowego w USA [9] i wydaje się, że lokale gastronomiczne w tym kraju już od dawna powinny być przygotowane do realizacji dobrych praktyk. Burt i wsp. [5] ocenili praktyki wytwarzania żywności w gastronomii ulicznej (10 punktów) w Nowym Jorku i stwierdzili wiele niezgodności. Były to: niestosowanie się do zasad GHP, przechowywanie żywności w nieodpowiedniej temperaturze, możliwość zanieczyszczenia żywności przez surowe mięso, kontakt potraw z gołymi rękami – brudnymi bądź w brudnych rękawiczkach jednorazowych.

W przypadku niezgodności z zakresu higieny produkcji i dystrybucji żywności najmniej, tj. 8 niezgodności stwierdzono w Bawarii. W Polsce zaobserwowano 12, a na Tajwanie – 36. Nieprawidłowości w Bawarii dotyczyły spożywania posiłków w trakcie pracy oraz stosowania niewłaściwej odzieży roboczej. W Polsce i na Tajwanie również je obserwowano, ale audytorzy stwierdzili także przechowywanie surowców w bliskim kontakcie z produktami gotowymi oraz wejścia do pomieszczeń produkcyjnych osób postronnych. Na Tajwanie były to także: nieoddzielenie surowców i produktów gotowych od konsumenta, brak rozdzielności sprzętów i urządzeń gastronomicznych, krzyżowanie się czynności produkcyjnych brudnych z czystymi oraz brak dbałości o talerze lub opakowania jednorazowe. Do niebezpiecznych niezgodności z tego zakresu na Tajwanie należała niewłaściwa praktyka serwowania dań na talerzach owiniętych folią, w restauracji serwującej omlety z ostrygami. Pracownik serwując danie owijał talerz folią, nakładał danie, a po spożyciu go przez konsumenta zdejmował zużytą folię i nakładał nową. Na niewłaściwe praktyki produkcyjne i higieniczne, będące przyczyną zatruć pokarmowych na Tajwanie, wskazuje wielu autorów [20, 37, 41]. Poprawny stan higieniczny produkcji żywności wiąże się z wdrożeniem zasad GMP, GHP i HACCP, co w Republice Chińskiej, na Tajwanie i przynależnych wyspach, zrealizowano tylko w 71 % zagranicznych sklepów [16], w lokalach regionalnych zasad tych nie przestrzega się.

Dane literaturowe wskazują na inne błędy z zakresu higieny produkcji żywności. W zakładach cateringowych w Hiszpanii wykazano, że pracownicy nie znali temperatury obróbki cieplnej niezbędnej do inaktywacji drobnoustrojów [29], a w Portugalii nie zapewniono właściwej temperatury obróbki cieplnej i nieprawidłowo postępowano z mięsem po tej obróbce [44].

Analiza przestrzegania zasad higieny rąk dowodzi dużych rozbieżności w liczbie stwierdzonych niezgodności w poszczególnych krajach. Dotyczyły one głównie noszenia na rękach biżuterii w czasie pracy z żywnością, występowania u pracowników paznokci długich, brudnych lub polakierowanych. W Polsce i na Tajwanie pracownicy nie stosowali się do instrukcji mycia rąk. We wszystkich polskich lokalach w trakcie

trwania audytu (tj. ok. 60 min) większość pracowników nie myła rąk w ogóle lub myła pobieżnie, tylko wodą, a suszyła je, wycierając najczęściej w fartuch lub w odzież. W 2 (z 5) polskich lokalach oraz w 3 (z 5) tajwańskich nie było przy umywalce mydła, papieru do higienicznego suszenia rąk oraz kosza na zużyte ręczniki papierowe. W tajwańskich lokalach nie stosowano rękawiczek ani nie zabezpieczano skałeczeń, a produkcja posiłków odbywała się zawsze przez osobę przyjmującą pieniądze.

W Polsce, w Bawarii i na Tajwanie wystąpiła podobna liczba niezgodności w zakresie higieny głowy (odpowiednio: 14, 17 i 16; tab. 4). Dotyczyły one głównie brudnych włosów, braku nakrycia głowy, noszenia biżuterii w uszach i na twarzy, stosowania różnych elementów prywatnej garderoby na głowie i szyi. Jednak w Bawarii pracownicy nie dotykali twarzy, nosa, uszu i włosów w ogóle, natomiast w polskich i tajwańskich lokalach wykonywali to z dużą częstotliwością. W jednym z zakładów zaobserwowano wykonywanie czynności produkcyjnych przez pracownicę po kichnięciu, bez uprzedniego umycia rąk.

Zakażenia i zatrucia pokarmowe, w tym spowodowane spożyciem posiłków zakupionych w lokalach gastronomicznych, są poważnym problemem w skali światowej [14]. Szczególną rolę w zanieczyszczeniu żywności odgrywa pracownik biorący udział w produkcji lub dystrybucji żywności. W gastronomii ważnym aspektem jest właściwa organizacja pracy w celu zapobieżenia zanieczyszczeniom krzyżowym i dla uniknięcia zatruc pokarmowych. Spełnienie wymagań higienicznych i wdrożenie HACCP skutkuje poprawą jakości mikrobiologicznej posiłków serwowanych w zakładach gastronomicznych [17, 34]. Można przypuszczać, że główną przyczyną zaobserwowanych niezgodności jest brak rozważań pracowników i brak ich świadomości na temat bezpieczeństwa żywności. Liczni autorzy [21, 34, 40] wskazują, że szkolenia personelu i wdrażanie HACCP są skutecznymi narzędziami w procesie poprawy bezpieczeństwa żywności.

Wykazany brak przestrzegania zasad higieny w zakładach gastronomicznych wytwarzających środki spożywcze w obecności klienta jest zjawiskiem powszechnym na świecie i występuje mimo różnic kulturowych oraz uwarunkowań prawnych.

Wnioski

1. Po przeanalizowaniu audytów przeprowadzonych w lokalach gastronomicznych produkujących żywność w obecności klienta, w wybranych krajach, wykazano liczne niezgodności. Najwięcej niezgodności stwierdzono w obszarach produkcji żywności, higieny rąk, a w dalszej kolejności w obszarach higieny głowy i pomieszczeń produkcyjnych.
2. Najwięcej niezgodności stwierdzono w lokalach gastronomicznych w Republice Chińskiej na Tajwanie. W polskich zakładach wykazano nieznacznie więcej nie-

zgodności niż w Bawarii i mniej niż w USA, co oznacza, że należy podjąć działania naprawcze w tym zakresie.

3. Podniesienie świadomości pracowników oraz konsumentów w zakresie wymagań higienicznych, jakie powinny spełniać zakłady gastronomiczne, w tym produkujące żywność w obecności konsumenta, stanowi podstawę do poprawy stanu higienicznego lokali gastronomicznych i bezpieczeństwa zdrowotnego serwowanych potraw.

Literatura

- [1] Al Mamun M., Rahman S.M.M., Turin T.Ch.: Microbiological quality of selected street food items vended by school-based street food vendors in Dhaka, Bangladesz. *Inter. J. Microb.*, 2013, **166**, 413-418.
- [2] Azanza Ma P.V., Zamora-Luna M.B.V.: Barriers of HACCP team members to guideline adherence. *Food Control*, 2005, **16** (1), 15-22.
- [3] Baş M., Ersun A.S., Kivanç G.: The evaluation of food hygiene knowledge, attitudes, and practices of food handlers' in food businesses in Turkey. *Food Control*, 2006, **17**, 317-322.
- [4] Bolton D.J., Meally A., Blair I.S., McDowell D.A., Cowan C.: Food safety knowledge of head chefs and catering managers in Ireland. *Food Control*, 2008, **19**, 291-300.
- [5] Burt B.M., Volel C., Finkel M.: Safety of vendor-prepared foods: Evaluation of 10 processing mobile food vendors in Manhattan. *Public Health Reports*, 2003, **118**, 470-476.
- [6] Choudhury M., Mahanta L.B., Goswami J.S., Mazumder M.D.: Will capacity building training interventions given to street food vendors give us safer food?: A cross-sectional study from India. *Food Control*, 2011, **22**, 1233-1239.
- [7] Cieślak E., Pokrzywa P., Topolska K.: Stopień wdrożenia zasad GHP, GMP oraz HACCP w stołówkach przedszkolnych i szkolnych województwa małopolskiego. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2007, **3** (XL), 307-311.
- [8] Czarniecka-Skubina E.: Ocena ryzyka zdrowotnego w zakładach gastronomicznych na wybranych przykładach. *Wyd. SGGW, Rozprawy naukowe i monografie*, Warszawa 2013, nr 415.
- [9] Ehiri J.E., Morris G.P.: Hygiene training and education of food handlers: Does it work? *Ecology of Food and Nutrition*, 1996, **35**, 243-251.
- [10] FDA: Food Code 2009, Equipment, utensils and linens in US public health service – Food and Drug Administration, US Department of Health and Human Services, Washington, DC, 2009, pp. 101-143.
- [11] Griffith C., Malik R., Cooper R.A., Looker N., Michaels B.: Environmental surface cleanliness and the potential for contamination during hand washing. *Am. J. Infect. Control*, 2003, **31** (2), 93-96.
- [12] Harrison W.A., Griffith C.J., Ayers T., Michaels B.: Bacterial transfer and cross-contamination potential associated with paper-towel dispensing. *Am. J. Infect. Control*, 2003, **31** (7), 387-391.
- [13] Hayes P.R.: *Food microbiology and hygiene*. Elsevier Applied Science Publishers, 1992, 344-348.
- [14] Hester R.M., Harrison R.: Food safety and food quality. *Issues: in Environmental Science and Technology*. Ed. The Royal Society of Chemistry, Cambridge 2001.
- [15] Holtby L., Tebbutt G.M., Grunert E., Lyle H.J., Stenson M.P.: Outbreak of *Salmonella enteritidis* phage type 6 infection associated with food items provided at a buffet meal. *Communicable Disease Report CDR Review*, 1997, **6**, 87-90.

- [16] Jin S., Zhou J., Ye J.: Adoption of HACCP system in the Chinese food industry: A comparative analysis. *Food Control*, 2008, **19** (8), 823-828.
- [17] Kokkinakis E., Kokkinaki A., Kyriakidis G., Markaki A.M., Fragkiadakis F.: HACCP implementation in local food industry: A survey in Crete, Greece. *Procedia Food Science*, 2011, **1**, 1079-1083.
- [18] Legnani P., Leoni E., Berveglieri M., Mirolo G., Alvaro N.: Hygienic control of mass catering establishments, microbiological monitoring of food and equipment. *Food Control*, 2004, **15**, 205-211.
- [19] Liu Z., Zhang G., Zhang X.: Urban street foods in Shijiazhuang city, China: Current, status, safety practices and risk mitigating strategies. *Food Control*, 2014, **41**, 212-218.
- [20] Lo Chi-Hao J.: 36 Taiwanese get food poisoning in Seoul. *The China Post*, 2013, December 27, Dostęp w Internecie: [14.07.14] <http://www.chinapost.com.tw/taiwan/foreign-affairs/2013/12/27/396913/36-Taiwanese.htm>.
- [21] Martínez-Tomé M., Vera A.M., Murcia M.A.: Improving the control of food production in catering establishments with particular reference to the safety of salads. *Food Control*, 2000, **11**, 437-445.
- [22] Minta M.: Chateaubriand z furgonetki. *Food Service*, 2011-2012, **12/1 (113)**, 52-54.
- [23] Muyanja Ch., Nayiga L., Brenda N., Nasinyama G.: Practices, knowledge and risk factors of street food vendors in Uganda. *Food Control*, 2011, **22**, 1551-1558.
- [24] Ohiokpehai O.: Nutritional aspects of street foods in Botswana. *Pak. J. Nutr.* 2003, **2** (2), 76-81.
- [25] Owczarek K.: Fast food w kryzysie widzi swoją szansę. Raport 2012. *Rynek Gastronomiczny w Polsce 2012*, **1** (sierpień), 31-31.
- [26] Prangle A.S., Harding A.K., Mack J.C.: Food workers' perspectives on hand washing behaviors and barriers in the restaurant environment. *J. Environ. Health*, 2007, **69(10)**, 27-32.
- [27] Puckett R.: *Food service manual for health care institutions*. Jossey-Bass, USA, 2013, pp. 298-302.
- [28] Redmond E.C., Griffith C.J.: Microbiological and observational analysis of cross-contamination risks during domestic food preparation. *Brit. Food J.*, 2004, **106**, 581-597.
- [29] Roncesvalles G., Vitas A.I., Díez-Leturia M., García-Jalón I.: Food safety and the contract catering companies: Food handlers, facilities and HACCP evaluation. *Food Control*, 2011, **22**, 2006-2012.
- [30] Rozporządzenie nr 852/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 roku w sprawie higieny środków spożywczych. *Dz. Urz. L* **139/1**.
- [31] Sala J.: *Marketing w gastronomii*. PWE, Warszawa 2011.
- [32] Shojaei H., Sooshtaripoor J., Amiri M.: Efficacy of simple hand-washing in reduction of microbial hand contamination of Iranian food handlers. *Food Res. Inter.*, 2006, **39(5)**, 525-529.
- [33] Da Silva S.A., Cardoso R.C.V., Góes J.A.W., Santos J.N., Ramos F.P., de Jesus R.B., de Vale R.S., da Silva P.S.T.: Street food on the coast of Salvador, Bahia, Brazil: A study from the socioeconomic and food safety perspectives. *Food Control*, 2014, **40**, 78-84.
- [34] Soranio J.M., Rico H., Molto J.C., Manes J.: Effect of HACCP on the microbiological quality of some restaurant meals. *Food Control*, 2002, **13**, 253-261.
- [35] Sperber W.H.: HACCP does not work from farm to table. *Food Control*, 2005, **16**, 511-514.
- [36] Stranks W.J.: *The A-Z of food safety*. Ed. Thorogood, London 2007, p. 300.
- [37] Sun Yi-M., Wang S.-T., Huang K.-W.: Hygiene knowledge and practices of night market food vendors in Tainan City, Taiwan. *Food Control*, 2012, **23**, 159-164.
- [38] Tebbutt G., Bell V., Aislabie J.: Verification of cleaning efficiency and its possible role in programmed hygiene inspections of food businesses undertaken by local authority officers. *J. Applied Microbiol.*, 2007, **102**, 1010-1017.
- [39] Tinker I.: Street Foods: Traditional Microenterprise in a Modernizing World. *Int. J. Politics, Culture Society*, 2003, **3** (16), 331-349.
- [40] Trafiałek J., Pawłowska J.: Analiza efektów szkolenia pracowników firmy cateringowej z wdrożonym systemem zarządzania bezpieczeństwem żywności, zgodnym z normą ISO serii 22000. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, **1** (86), 217-229.

- [41] Turton M.A.: Living in Taiwan. Food in Taiwan, 2014 Dostęp w Internecie [14.07.2014]: <http://www.michaelturton.com/Taiwan/food.html>
- [42] Umoh V.J., Odoba M.B.: Safety and quality evaluation of street foods sold in Zaria, Nigeria. Food Control, 1999, **10**, 9-14.
- [43] Wilks S.A., Michels H., Keevil C.W.: The survival of *Escherichia coli* 0157 on a range of metal surfaces. Int. J. Food Microbiol., 2005, **105** (3), 445-454.
- [44] Veiros M.B., Proença R.P.C., Santos M.C.T., Kent-Smith L., Rocha A.: Food safety practices in a Portuguese canteen. Food Control, 2009, **20**, 936-941.

HYGIENE IN CATERING ESTABLISHMENTS WHERE FOOD IS PRODUCED IN FRONT OF CONSUMER

S u m m a r y

The objective of the research study was to assess the compliance with hygiene rules in catering establishments, which produce food in front of their consumers, in some selected countries. The audit research method applied consisted in that the trained auditors audited the processes on the basis of a questionnaire. The questionnaire comprised 4 groups of questions referring to the hygiene of: employees, production premises, production process, and food distribution. 30 audits were performed in various catering establishments situated in 5 countries. Those countries included: Poland (Warsaw), Austria (Salzburg), Germany (Hessen and Bavaria), The Republic of China (Taiwan), and USA (New York).

Based on the results of the audits performed, numerous incompatibilities were found in all the catering establishments audited regardless of the cultural differences and rules in force in a given country. The incompatibilities reported involved the hygiene of employees (hands, head), the production premises hygiene, and the food production hygiene. These were: incorrect functional layout of premises and no separation between the soiled and clean working areas. Many errors were reported as regards the hygiene of staff, such as touching face, nose, and hair while making and serving food. The most incompatibilities were accounted for the catering establishments in Taiwan and the least for German establishments. In the Polish catering establishments, a little bit more incompatibilities were found than in Bavaria and significantly less than in the U.S.

The non-compliance with the hygiene rules in the catering establishments that produce food in front of the customer is a common phenomenon throughout the world, and it occurs notwithstanding the cultural differences or legal requirements.

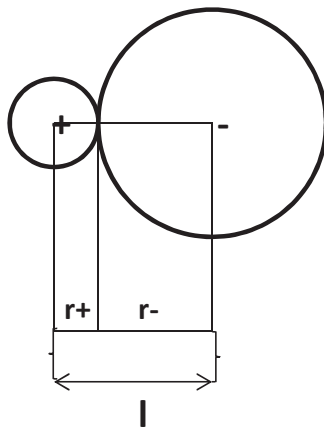
Key words: street food business, food, hygiene, catering establishments audit ☒

HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA

INTERAKCJE SKŁADNIKÓW ŻYWNOŚCI

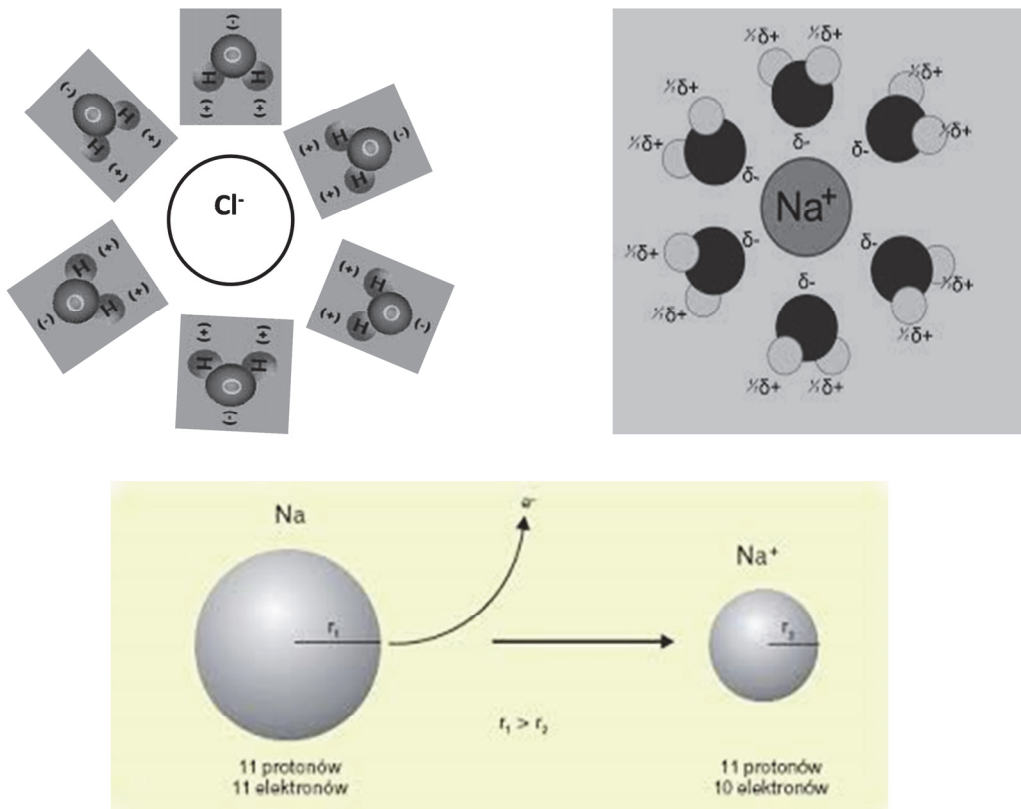
Prezentujemy 26. część cyklu nt.: „Interakcje składników żywności”. Druk materiałów z tego cyklu rozpoczęliśmy w Żywności nr 1 (74), 2011.

Pod względem żywieniowym większość makro- i mikroelementów występuje w związkach o budowie jonowej. Z tego powodu ten odcinek poświęcamy temu zagadnieniu. Oczywiście jest, że wiązanie jonowe nie może łączyć dwóch jonów o jednakowym ładunku, a więc nie można otrzymać wartości promienia jonowego przez podzielenie odległości międzyjądrowej przez dwa. Odległość jąder dwóch przeciwnie naładowanych jonów jest sumą promieni kationu i anionu (rys. 1). Wielkość jonu należy więc wyznaczyć na podstawie znanej wartości określonego jonu „porównawczego”. Pauling dokonał tego np. na drodze teoretycznej, używając jako wzorca swej skali promień kationu potasu równy wartości 0,133 nm. Ostatnim razem stwierdziliśmy, że



Rys. 1. Międzyjądrowa odległość kationu i anionu

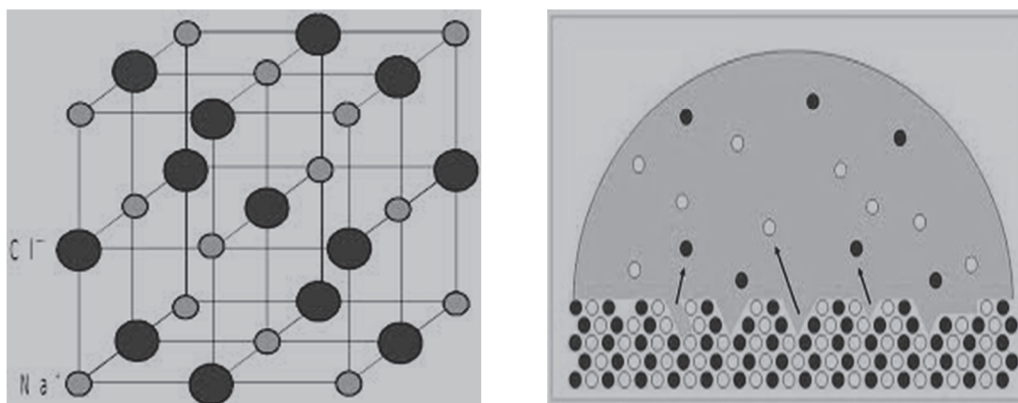
potwierdzeniem zmian wielkości atomów są zmiany względnej wielkości sił przyciągania występujących między jądrem atomowym a orbitalami zewnętrznymi. Natomiast w przypadku jonów, siły przyciągania między jądrem a zewnętrznymi elektronami zależą głównie od polarności i wielkości ładunków jonów. Związek jonowy składa się z kationów i anionów naładowanych dodatnio i ujemnie w takich stosunkach, że związek jest elektrycznie obojętny.



Rys. 2. Modele jonowe oddziaływania między cząsteczkami wody oraz kationem sodu i anionem chloru w roztworze

Nasz świat jest w zasadzie światem wodnym. Woda w organizmie człowieka stanowi aż 75 % masy ciała noworodka. Z wiekiem ten stan ulega zmianie i u osób po 60. roku życia zmniejsza się do 54 % u mężczyzn i 46 % u kobiet. Woda w organizmie człowieka znajduje się w komórkach, naczyniach krwionośnych, płynach tkankowych, limfie, płynach przewodu pokarmowego i innych. Głównymi jonami w tych przestrzeniach wodnych organizmu człowieka są kationy K^+ , Na^+ , Mg^{2+} oraz aniony PO_4^{3-} , HCO_3^- i jony białczanowe. Warto zaznaczyć, że płyny ustrojowe są elektrycznie obo-

jętne, tzn. że suma stężeń kationów jest równa stężeniom anionów. Uogólniając to zagadnienie należy mieć świadomość, że adsorpcja wody i jej uwalnianie są bardzo ważne dla naturalnego jej obiegu w przyrodzie. Ten fakt skłania do zadania pytania o mechanizm hydratacji i dehydratacji związków o budowie jonowej. Częsteczka wody jest dipolem składającym się z atomu tlenu i dwóch atomów wodoru o różnym powinowactwie do elektronów. Atom tlenu w cząsteczce wody ma ładunek cząsteczkowy (δ^-), a atomy wodoru ładunek cząsteczkowy (δ^+). Dodatnio naładowany kation soli wytwarza w roztworze dodatnie pole elektryczne, co powoduje że wokół niego ustawiają się atomy dipola wody o ujemnym ładunku elektrycznym. Wokół anionu soli powstaje ujemne pole elektryczne, które orientuje dipole wody protonami (δ^+) w jego kierunku. Częsteczki wody mogą być luźno połączone z następnymi cząsteczkami wody za pomocą wiązań wodorowych. Tworzą one zewnętrzną osłonę kationu i anionu soli, która stale rozpada się i odnawia. Oddziaływania te są energetycznie korzystne i powodują stabilizację jonów w roztworze. Ten proces nazywa się hydratacją – ogólnie solwatacją (gdy dotyczy innego rozpuszczalnika niż woda). Hydratacja przebiega odmiennie w przypadku kationów i anionów. Hydratacja anionów wywołuje powstanie bardziej stałych wiązań wodorowych niż oddziaływania elektrostatyczne, co jest powodem, że są one mniej skłonne do uwodnienia niż kationy. Ilustruje to hydratacja anionu siarczanowego (rys. 2). Zjawisko to jest spowodowane rezonansem aż 12 struktur jonu siarczanowego. Jak to zjawisko wpływa na rozpuszczalność soli wyjaśnimy w następnym odcinku.



Rys. 3. Struktura kryształu NaCl oraz proces jego rozpuszczania w wodzie ☒

GRAŻYNA MORKIS

PROBLEMATYKA ŻYWNOŚCIOWA W USTAWODAWSTWIE POLSKIM I UNIJNYM

Publikujemy kolejny przegląd aktów prawnych, które ukazały się w Dzienniku Ustaw RP oraz Dzienniku Urzędowym UE. Poniższe zestawienie zawiera akty prawne dotyczące szeroko omawianej problematyki żywnościowej wg stanu na dzień 31 marca 2015 r.

Polskie akty prawne

1. Ustawa z dn. 28 listopada 2014 r. o zmianie ustawy o bezpieczeństwie żywności i żywienia (Dz. U. 2015 r., poz. 35).

Wprowadzone zmiany w ustawie z dn. 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia (Dz. U. z 2010 r. Nr 136, poz. 914, z późn. zm.) dotyczą środków spożywczych oraz żywienia dzieci i młodzieży w jednostkach systemu oświaty.

Od 1 września 2015 r. w jednostkach systemu oświaty:

- sprzedawane mogą być wyłącznie środki spożywcze objęte grupami środków spożywczych przeznaczonych do sprzedaży dzieciom i młodzieży w tych jednostkach określonych w przepisach wydanych na podstawie ust. 6 pkt 1,
- w ramach żywienia zbiorowego dzieciom i młodzieży stosowane mogą być wyłącznie środki spożywcze, które spełniają wymagania określone w przepisach wydanych na podstawie ust. 6 pkt 2.

W jednostkach systemu oświaty zabrania się reklamy oraz promocji polegającej na prowadzeniu działalności zachęcającej do nabywania środków spożywczych innych niż objęte grupami środków spożywczych przeznaczonych do sprzedaży dzieciom i młodzieży w tych jednostkach określonych w przepisach wydanych na podstawie ust. 6 pkt 1 oraz niespełniających wymagań określonych w przepisach wydanych na podstawie ust. 6 pkt 2.

2. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 23 grudnia 2014 r. w sprawie znakowania poszczególnych rodzajów środków spożywczych (Dz. U. 2015 r., poz. 29).
Zgodnie z rozporządzeniem w oznakowaniu środka spożywczego mogą być podane następujące informacje:
 - "wyprodukowano zgodnie z zasadami integrowanej produkcji roślin" lub skrót "IP" (integrowana produkcja), lub znak integrowanej produkcji roślin – pod warunkiem, że produkcja tego środka była prowadzona zgodnie z przepisami w sprawie integrowanej produkcji roślin,
 - „produkt może być spożywany przez wegetarian” albo "odpowiedni dla wegetarian" – pod warunkiem że środek ten nie zawiera składników pozyskanych ze zwierząt lub że produkty pozyskane ze zwierząt nie były używane w procesie jego produkcji,
 - "produkt może być spożywany przez wegan" albo "odpowiedni dla wegan" – pod warunkiem że środek ten nie zawiera żadnych składników pochodzenia zwierzęcego lub że produkty pochodzenia zwierzęcego nie były używane w procesie jego produkcji.
3. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 22 grudnia 2014 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie ogólnych odstępstw od wymagań higienicznych w zakładach produkujących żywność tradycyjną pochodzenia zwierzęcego (Dz. U. 2015 r., poz. 60).
Wprowadzono zmiany w rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 27 lipca 2007 r. w sprawie ogólnych odstępstw od wymagań higienicznych w zakładach produkujących żywność tradycyjną pochodzenia zwierzęcego (Dz. U. Nr 146, poz. 1024) w § 1 pkt 2, który otrzymuje brzmienie: "2) w specyfikacji produktu, o której mowa w art. 7 lub art. 19 rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1151/2012 z dnia 21 listopada 2012 r. w sprawie systemów jakości produktów rolnych i środków spożywczych (Dz. Urz. UE L 343 z 14.12.2012, str. 1)".
4. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 6 lutego 2015 r. w sprawie wprowadzenia "Krajowego programu zwalczania niektórych serotypów Salmonella w stadach indyków hodowlanych" na 2015 r. (Dz. U. 2015 r., poz. 221).
Wprowadzono "Krajowy program zwalczania niektórych serotypów Salmonella w stadach indyków hodowlanych". Zasady tego programu zostały zawarte w załączniku do rozporządzenia.
5. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 6 lutego 2015 r. w sprawie wprowadzenia "Krajowego programu zwalczania niektórych serotypów Salmonella w stadach indyków rzeźnych" na 2015 r. (Dz. U. 2015 r., poz. 228).

Wprowadzono "Krajowy program zwalczania niektórych serotypów Salmonella w stadach indyków rzeźnych", który jest określony w załączniku do rozporządzenia.

6. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 16 lutego 2015 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie wprowadzenia "Krajowego programu zwalczania niektórych serotypów Salmonella w stadach brojlerów gatunku kura (Gallus gallus)" na lata 2014 – 2016 (Dz. U. 2015 r., poz. 310).

Zmiany w rozporządzeniu Rady Ministrów z dn. 13 stycznia 2014 r. w sprawie wprowadzenia "Krajowego programu zwalczania niektórych serotypów Salmonella w stadach brojlerów gatunku kura (Gallus gallus)" na lata 2014 - 2016 (Dz. U. poz. 92) dotyczą załącznika do rozporządzenia, który otrzymał nowe brzmienie określone w załączniku do niniejszego rozporządzenia.

Unijne akty prawne

1. Rozporządzenie Komisji (UE) 2015/174 z dn. 5 lutego 2015 r. w sprawie zmiany i sprostowania rozporządzenia (UE) nr 10/2011 w sprawie materiałów i wyrobów z tworzyw sztucznych przeznaczonych do kontaktu z żywnością (Tekst mający znaczenie dla EOG) (Dz. Urz. UE L, 2015 r. nr 30, s. 2).

Wprowadzono zmiany w załączniku I do rozporządzenia (UE) nr 10/2011.

Materiały i wyroby z tworzyw sztucznych spełniające wymogi rozporządzenia (UE) nr 10/2011 mające zastosowanie przed dn. 26 lutego 2015 r. mogą być wprowadzane do obrotu do dnia 26 lutego 2016 r. Rzeczony materiały i wyroby z tworzyw sztucznych mogą pozostawać w obrocie po upływie tego terminu do wyczerpania zapasów.

2. Rozporządzenie Wykonawcze Komisji (UE) 2015/257 z dn. 13 lutego 2015 r. zatwierdzające inną niż nieznaczna zmianę specyfikacji zarejestrowanej w rejestrze chronionych nazw pochodzenia i chronionych oznaczeń geograficznych nazwy [Fasola Piękny Jaś z Doliny Dunajca/Fasola z Doliny Dunajca (ChNP)] (Dz. Urz. UE L, 2015 r. nr 43, s. 10)

Komisja rozpatrzyła wniosek Polski o zatwierdzenie zmiany specyfikacji chronionej nazwy pochodzenia „Fasola Piękny Jaś z Doliny Dunajca”/„Fasola z Doliny Dunajca” zarejestrowanej na podstawie rozporządzenia Komisji (UE) nr 1073/2011.

Zatwierdzoną zmianę specyfikacji opublikowano w Dzienniku Urzędowym Unii Europejskiej dotyczącą nazwy „Fasola Piękny Jaś z Doliny Dunajca”/„Fasola z Doliny Dunajca” (ChNP). ☒

NOWE KSIĄŻKI

Listeria monocytogenes in the Food Processing Environment

[Listeria monocytogenes w przetwórstwie żywności]

Jordan K., Leong D., Álvarez Ordóñez A.

Wydawnictwo: Springer, 2015, stron 96, ISBN 978-3-319-16286-7, cena 53,46 €

Zamówienia: www.springer.com

W książce podjęto tematykę obecności bakterii *Listeria monocytogenes* w przetwórstwie żywności, ponieważ powodują one chorobę zwaną listeriozą. Jest ona jednym z głównych zagrożeń dla zdrowia publicznego. Autorzy przedstawili charakterystykę *L. monocytogenes*, następnie objawy i leczenie listeriozy, występowanie w żywności przetworzonej, w dystrybucji żywności oraz koszty społeczne. W kolejnych rozdziałach autorzy opisali metody analizy laboratoryjnej. Rozdział poświęcono również metodom i działaniom w zakresie zmniejszenia występowania skażenia żywności *L. monocytogenes*. Dokonano również przeglądu narodowych programów prewencyjnych. Książka polecana jest dla: technologów żywności, mikrobiologów oraz osób zajmujących się zdrowiem publicznym.

Food Security and Food Safety for the Twenty First Century

[Bezpieczeństwo żywnościowe i bezpieczeństwo żywności na miarę XXI w.]

Hongladarom S. (red.)

Wydawnictwo: Springer, 2015, stron 333, ISBN 978-981-287-417-7, cena 149,79 €

Zamówienia: www.springer.com

Publikacja stanowi zbiór wybranych artykułów prezentowanych podczas I Międzynarodowej Konferencji Asia-Pacific Society for Agricultural and Food Ethics (APSAFE 2013). Artykuły mają charakter interdyscyplinarny, w których problematyka bezpieczeństwa żywności i etyki w żywności została ujęta z różnych perspektyw (filozofii, prawa, socjologii, ekonomii). Opracowano m.in. takie tematy jak: etyczne aspekty bezpieczeństwa żywności, zależności pomiędzy bezpieczeństwem żywnościowym a „suwerennością żywnościową”, przyszłość hodowli bydła, przetwórstwo żywności. Postęp nauki, technologii i zwiększająca się liczba ludności stawiają nowe wyzwania w zakresie zapewnienia bezpieczeństwa żywności.

Health Benefits of Fermented Foods and Beverages
[Zalety spożywania fermentowanej żywności i napojów]

Jyoti Prakash Tamang (red.)

Wydawnictwo: CRC Press, 2015, stron 638, ISBN 9781466588097, cena 108,00 £

Zamówienia: www.crcpress.com

W książce scharakteryzowano korzyści dla zdrowia ze spożywania żywności i napojów fermentowanych. Należy zwrócić uwagę na różnorodność mikroorganizmów obecnych w napojach i żywności fermentowanej. Do dobroczynnego wpływu na zdrowie napojów i żywności fermentowanej można zaliczyć: zapobieganie chorobom układu sercowo-naczyniowego, chorobom nowotworowym, chorobom wątroby, zaburzeniom żołądkowo-jelitowym, nadciśnieniu, zakrzepicy, osteoporozы, reakcjom alergicznym i cukrzycy. W opracowaniu podjęto również aspekty produkcji na dużą skalę w taki sposób, aby napoje i żywność fermentowana nie straciły smaku oraz swoich dobroczynnych właściwości.

Superżywność. Jedzenie i medycyna przyszłości

Wolfe D.

Wydawnictwo: Illuminatio, 2015, stron 376, ISBN 9788364645549, cena 40,06 zł

Zamówienia: czytam.pl

Książka stanowi przegląd smacznych i pożywnych produktów spożywczych, które wzmacniają zdrowie i przedłużają życie. Autor zwraca uwagę na cenne źródła protein, witamin, minerałów, przeciwutleniaczy, enzymów. W tym zestawieniu jest również „superżywność” – żywność, która wpływa np. na poprawę wzroku, samopoczucia, odporności itp. W książce został zawarty obszerny opis właściwości produktów pochodzenia pszczelego: miodu, pyłku kwiatowego, pierzgi i propolisu. W kolejnych rozdziałach zawarto przepisy zawierające „superżywność”.

Opracowała: Magdalena Niewczas

TWÓRCY POLSKIEJ NAUKI O ŻYWNOŚCI

POLSCY UCZENI PO II WOJNIE ŚWIATOWEJ PROF. DR STANISŁAW LECH JANKOWSKI (1914 – 2006)



Stanisław Lech Jankowski urodził się 26 czerwca 1914 roku w Grodzisku Wlkp. W roku 1932 ukończył gimnazjum w Kościanie. Po maturze pracował w zakładach przemysłu rolnego, m.in. w cukrownictwie, mleczarstwie, gorzelnictwie i w krochmalnictwie.

W 1937 roku rozpoczął wyższe studia na Wydziale Rolniczo-Leśnym Uniwersytetu Poznańskiego, przerwane wybuchem drugiej wojny światowej. Kampanię wrześniową 1939 r. odbył w 58. Pułku Piechoty Wielkopolskiej. Po powrocie do Szamotuł pracował w gospodarstwie rolnym, w Tierzuchtamt w Szamotułach i w Poznaniu, a od 1943 r. w Landesbauernschaft Wartheland, okupacyjnej instytucji nadzorującej zakłady przetwórstwa rolno-spożywczego, co umożliwiło Mu swobodne przemieszczanie się po terenie zachodniej Wielkopolski. W latach okupacji organizował grupy konspiracyjne w okręgu szamotulskim. W 1944 r. został aresztowany przez Gestapo i osadzony w obozie w Żabikowie, a następnie zesłany do obozu koncentracyjnego w Gross Rosen, a następnie do obozu Flossenbürg – kommando Leitmeritz. Po zwolnieniu z obozu przebywał na leczeniu w sanatorium UNRRA w Ambergu.

Po powrocie do Polski w październiku 1946 r. podjął przerwane studia na Uniwersytecie Poznańskim i ukończył je w 1948 r. Już w czasie studiów rozpoczął pracę jako asystent wolontariusz, a po ich ukończeniu jako starszy asystent w Katedrze Technologii Rolniczej Wydziału Rolniczo-Leśnego, kierowanej przez doc. dr Józefa Janickiego. W tym okresie brał udział w odbudowie spalonego budynku Katedry, razem z ówczesnymi asystentami i studentami, wśród których byli: Antoni Rutkowski, Kazimierz Szebiotko, Henryk Gąsiorowski, Adama Niewiarowicz i Eugenia Prejzner

(po mężu Sobkowska), późniejszych profesorów Wyższej Szkoły Rolniczej w Poznaniu i innych uczelni.

W 1951 r., na podstawie pracy wykonanej pod kierunkiem prof. dr Józefa Janickiego pt. „Fosfor fitynowy w mąkach chlebowych i w chlebie” uzyskał stopień doktora nauk rolniczych.

W powołanej w 1951 r. Wyższej Szkole Rolniczej, dr inż. Stanisław Jankowski rozpoczął organizowanie pierwszej w kraju specjalizacji – technologii zbóż. Po uzyskaniu w 1954 r. stopnia docenta i powołaniu na Wydziale Rolniczym Katedry Technologii Zbóż, objął jej kierownictwo. W tym samym roku doc. dr Stanisław Jankowski utworzył doświadczalną piekarnię w Poznaniu, której działalność wywarła duży wpływ na polskie piekarstwo. W doświadczalnej piekarni studenci, specjalizujący się w technologii zbóż, przechodzili podstawowy kurs praktycznej pracy piekarza. Pierwszym i wieloletnim kierownikiem piekarni był doskonały fachowiec, inż. Alfons Kitzerman.

W 1960 r., na podstawie uchwały Rady Państwa, doc. dr Stanisław Jankowski uzyskał tytuł profesora nadzwyczajnego, a w 1969 r. profesora zwyczajnego nauk technicznych.

Pod kierunkiem profesora Jankowskiego na uczelni rozpoczęło pracę kilku młodych ludzi, którzy przez wiele lat zdobywali szlify w działalności dydaktycznej i naukowej z zakresu technologii zbóż. Doktorantami Profesora, a następnie kontynuatorami nauki z zakresu chemii i technologii zbóż w Wyższej Szkole Rolniczej, później w Akademii Rolniczej w Poznaniu, byli: prof. dr hab. Henryk Gąsiorowski, prof. dr hab. Mieczysław Jankiewicz i prof. dr hab. Kazimierz Bogaczyński.

Współpracownicy z czasów kształtowania się Katedry Technologii Zbóż podkreślają dalekowzroczność i ogromną wyobraźnię Profesora w przewidywaniu potrzeb rozwijającego się przemysłu zbożowo-młynarskiego, a zwłaszcza Jego właściwą politykę zatrudniania młodych pracowników nauki. Zespół współpracowników profesora Jankowskiego tworzyli naukowcy różnych specjalności, m.in. Mieczysław Jankiewicz – chemik, Henryk Gąsiorowski – technolog, Wiesław Nowicki – fizyk, Anna Skuratowicz – biolog, Kazimierz Bogaczyński – inżynier oraz ludzie praktyki. Większość współpracowników Profesora odbyła staże doktorskie w ośrodkach zagranicznych związanych z nauką o zbożu i była bardzo dobrze przygotowana do pracy dydaktycznej.

Zaangażowanie zespołu profesora Jankowskiego w badania naukowe i prace na rzecz przemysłu spowodowały, że Katedra Technologii Zbóż stała się wiodącą jednostką naukowo-badawczą i dydaktyczną w Polsce. W rezultacie pod kierunkiem prof. dr Stanisława Jankowskiego powstała poznańska szkoła nauki o zbożu, technologii młynarstwa i piekarstwa. Szkołę cechowała, niespotykana ówczesnie w kraju, różnorodność specjalności naukowych pracowników i uniwersalny charakter nauki o zbożu w różnych jej aspektach, począwszy od badania właściwości biologicznych i technolo-

gicznych ziarna zbóż, poprzez analitykę chemiczną i biochemiczną, zagadnienie przechowywania i przemiału ziarna, kształtowanie jakości pieczywa, ocenę wartości żywieniowej zbóż, wytwarzanie nowych preparatów zbożowych aż do opracowywania nowych i ulepszania istniejących maszyn i urządzeń przemysłu zbożowo-młynarskiego. Szkoła ta rozwiązywała ważne dla gospodarki problemy badawcze, przyczyniła się do wprowadzenia nowoczesnej techniki oraz technologii w praktyce.

Profesor Stanisław Jankowski przez długie lata utrzymywał ścisłe kontakty z naukowo-badawczym zapleczem przemysłu zbożowo-młynarskiego. Był jednym z inicjatorów i realizatorów powołanego w 1955 r. Instytutu Zbożowego w Warszawie, przemianowanego w 1958 r. w Centralne Laboratorium Technologii Przetwórstwa i Przechowalnictwa Zbóż. Wielu specjalistów zaplecza naukowo-badawczego przemysłu zbożowo-młynarskiego zdobyło pod kierunkiem Profesora stopnie naukowe. Stopnie doktorskie uzyskali znani specjaliści z branży, jak: dr inż. Kazimierz Nowakowski (1960 r.), późniejszy dyrektor młynów w Bydgoszczy, a następnie kierownik laboratorium w Centralnym Laboratorium Technologii Przetwórstwa i Przechowalnictwa Zbóż w Warszawie, dr inż. Tadeusz Hałasowski (1967 r.), późniejszy dyrektor ds. produkcji w Centrali Przemysłu Zbożowo-Młynarskiego PZZ w Warszawie, dr inż. Kazimierz Sadkiewicz (1970 r.) z Zakładu Badawczego Przemysłu Piekarniczego, Oddział w Bydgoszczy, późniejszy profesor AR-T w Bydgoszczy, dr inż. Roman Jurga (1970 r.) z Zakładów Zbożowo-Młynarskich w Lesznie, późniejszy dyrektor Centralnego Laboratorium Technologii Przetwórstwa i Przechowalnictwa Zbóż oraz Redaktor Naczelny „Przeglądu Zbożowo-Młynarskiego”, dr inż. Eugeniusz Makowski (1978 r.) z Kombinatu Budowy Domów w Bydgoszczy – budowniczy obiektów przemysłowych, w tym piekarń i dr inż. Wiesław Kowalewski (1979 r.) z Centralnego Laboratorium Technologii Przetwórstwa i Przechowalnictwa Zbóż w Warszawie, Oddział w Poznaniu. Doktorantami Profesora byli także dr inż. Jacek Ciszak, (1973 r.) i dr inż. Zygmunt Wągrowski (1977 r.), nieżyjący już nauczyciele akademicki w Wyższej Szkole Rolniczej i Akademii Rolniczej w Poznaniu.

Studia doktoranckie pod kierunkiem profesora Jankowskiego odbyli także specjaliści z branży zbożowej z Syrii: dr Sulejman El-Masri (1969 r.), późniejszy docent na Wydziale Rolniczym Uniwersytetu w Damaszku i dr Ahmed Daoud (1977 r.), późniejszy dyrektor techniczny młynów syryjskich w Damaszku.

Praca naukowo-badawcza profesora Jankowskiego obejmowała wiele grup tematycznych. Wśród najważniejszych zagadnień badawczych, charakteryzujących dorobek naukowy profesora Jankowskiego, można wymienić: cechy biologiczne ziarna zbóż w kształtowaniu ich wartości użytkowej w przetwórstwie, doskonalenie procesów technologicznych w młynie (przygotowanie ziarna do przemiału, procesy separacji frakcji przemiałowych, odpylanie, modelowanie właściwości wypiekowych w procesie przemiału mąki), biochemiczne i fizykochemiczne podstawy modelowania właściwości

reologicznych ciasta, suszarnictwo i przechowalność ziarna zbóż, technologia produkcji wyrobów piekarskich o zaprogramowanych wartościach żywieniowych i dietetycznych, rozwój technologii wytwarzania preparatów zbożowych (wyroby śniadaniowe i makarony).

W ostatnich latach pracy na uczelni Profesor propagował w kraju szeroko pojęte badania charakterystyk właściwości fizycznych surowców i produktów spożywczych. W tym okresie współpracował naukowo z Instytutem Agrofizyki PAN w Lublinie, a szczególnie z profesorami Bohdanem Dobrzańskim i Bogusławem Szotem.

Do szczególnie wartościowych osiągnięć profesora Jankowskiego należy zaliczyć Jego wkład w nauczanie w postaci podręczników, skryptów i przewodników do ćwiczeń. W 1958 r. powstał pierwszy skrypt „Ćwiczenia z technologii zbóż”, PWN, Łódź (współautorzy: H. Gąsiorowski, K. Nowakowski) oraz seria unikatowych podręczników obejmujących wszystkie działy przetwórstwa zbóż i pokrewnych. Seria obejmowała następujące części:

- Jankowski S.: „Zarys technologii zbóż”. Cz. 1. „Towaroznawstwo i przechowalność”, PWN, Łódź 1958;
- Jankowski S.: „Zarys technologii zbóż”. Cz. 2. „Technologia młynarstwa i kaszarstwa”, PWN, Warszawa 1962;
- Jankowski S., Gąsiorowski H., Jankiewicz M., Nowicki W.: „Zarys technologii zbóż i strączkowych jadalnych”. Cz. 3. „Technologia piekarstwa, makaronu, preparatów zbożowych i pasz”, PWN, Poznań 1969.

Książki te są nadal podstawowym źródłem wiedzy dla studentów i pracowników przemysłu. Kolejne, cenne podręczniki Profesora to: „Zarys technologii młynarstwa i kaszarstwa” (WNT, Warszawa 1981) i „Surowce mączne i kaszowe” (WNT, Warszawa 1988). W 1994 r. Profesor napisał rozdział „Przemiał żyta” w monografii zredagowanej przez profesora H. Gąsiorowskiego „Żyto – chemia i technologia” (PWRiL, Poznań).

Poza zajęciami dydaktycznymi z technologii zbóż, którą stworzył i rozwijał w macierzystej uczelni, przez wiele lat prowadził wykłady z ważnego dla kierunku studiów przedmiotu „Ogólna technologia żywności” oraz zajęcia z podstaw technologii żywności na Politechnice Poznańskiej.

Za ogromny wkład do nauki polskiej Profesor Stanisław Jankowski był wielokrotnie wyróżniany nagrodami państwowymi Ministra Szkolnictwa Wyższego i Techniki (1964, 1973 i 1979) i Ministra Edukacji Narodowej (1990), a także Nagrodą miasta Poznania i woj. poznańskiego (1973). Wyrazem uznania Jego zasług w nauce i działalności społecznej są także wysokie odznaczenia państwowe, wojskowe i branżowe, jak: Order Odrodzenia Polski IV klasy (1973), Srebrny Medal „Za zasługi dla obronności kraju” (1978), Krzyż Oświęcimski (1986), Odznaka Honorowa Miasta

Poznania (1978), Medal „Zasłużony dla Akademii Rolniczej w Poznaniu” (1978), Medal pamiątkowy „30-lecia Polskich Zakładów Zbożowych” (1978) i szereg innych.

W 1978 r., ze względu na pogarszający się stan zdrowia, profesor Stanisław Jankowski przeszedł na wcześniejszą emeryturę, choć jeszcze przez kilka lat zachował kontakty z Uczelnią, kierując badaniami naukowymi i opracowując swoje ostatnie podręczniki.

Sylwetkę Profesora jako człowieka scharakteryzował profesor Henryk Gąsiorowski, wychowanek i wieloletni Jego przyjaciel następującymi słowami. *„Był bardzo wymagający przede wszystkim od siebie, a dopiero później od współpracowników. Stawiał też wysokie wymagania, co do prawideł postępowania w życiu, uznawanych za właściwe. Zawsze był skromny, nie szukał zaszczytów, życzliwy w odniesieniu do innych”*.

Profesor Stanisław Jankowski zmarł 14 stycznia 2006 r. w Poznaniu. Został pochowany w rodzinnym grobie na poznańskim Cmentarzu Junikowskim.

Tomasz Jankowski

Biogram był opublikowany w wydawnictwie jubileuszowym "50 lat Wydziału Nauk o Żywności i Żywieniu 1962-2012" pod red. Tomasza Jankowskiego, Wyd. Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, Poznań 2012.

TECHNOLOG ŻYWNOŚCI

INFORMATOR POLSKIEGO TOWARZYSTWA TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI

Rok 25 Nr 2

kwiecień 2015

DZIAŁALNOŚĆ TOWARZYSTWA

Zarząd Główny

W dniu 21 kwietnia 2015 r. w Warszawie odbyło się zebranie Zarządu Głównego PTTŻ, na którym między innymi przyjęto sprawozdanie merytoryczne i finansowe z działalności Towarzystwa w 2014 r.

Zarząd Główny powołał na stanowiska zastępcy prezesa Oddziału Wydawnictwo Naukowe PTTŻ i zastępcy redaktora naczelnego dwumiesięcznika Żywność. Nauka. Technologia. Jakość prof. UR dr hab. Lesława Juszcza.

Zarząd Główny omówił stan przygotowań do obchodów jubileuszu 25-lecia PTTŻ, który odbędzie się w Lublinie podczas Sesji KNoŻ PAN.

Zarząd Główny przyjął Regulamin Konkursu PTTŻ na najlepszą pracę doktorską z zakresu nauk o żywności.

Sekcja Młodej Kadry Naukowej

W dniach 14 - 15 maja w Rzeszowie odbędzie się XX Sesja Młodej Kadry Naukowej i IVth International Session „FOOD – QUALITY AND PERSPECTIVES”.

WAŻNIEJSZE MIĘDZYKRAJOWE I KRAJOWE KONFERENCJE NAUKOWE W 2015 r.

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 współdziałaniu European Organization for Quality.

Informacje: www.quality.uek.krakow.pl

Kontakt: quality@uek.krakow.pl

25 - 26 LUBLIN = XLII Sesja Naukowa Komitetu Nauk o Żywności Polskiej Akademii Nauk „Żywność – zdrowie – przyszłość”.

Organizatorzy: KNoŻ PAN, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, Polskie Towarzystwo Technologów Żywności

Informacje: www.sesjapan.up.lublin.pl

Kontakt: sesjapan@up.lublin.pl

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: marketingijakosc@interia.pl

Kontakt: Tel.: +48 12 293 51 67; +48 12 293

Październik

15 - 16 ŁÓDŹ = Międzynarodowa Konferencja nt. „Związki biologicznie aktywne w żywności”

Organizatorzy: Oddział Łódzki PTTŻ, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechniki Łódzkiej.

Informacje: www.bacif.p.lodz.pl

Kontakt: bacif@info.p.lodz.pl

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 2 (99)/2015 Biuletynu podano według stanu informacji do 15 kwietnia 2015 r. Materiały do Nr 3 (100)/2015 prosimy nadsyłać do 1 czerwca 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	Politechnika Koszalińska, ul. Kwiatkowskiego 6e, 75-343 KOSZALIN Tel.: 609 807 618; e-mail: janjasiencyk@poczta.onet.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. Antoni Golachowski Technologii Węglowodanów	UP, ul. Chełmońskiego 37/41, 51-630 WROCŁAW Tel.: 71 320 77 68; e-mail: antoni.golachowski@up.wroc.pl
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. Monika Przeor p.o. Młodej Kadry Naukowej	UP, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ e-mail: m.przeor@au.poznan.pl