



ŻYWNOSĆ

Nauka Technologia Jakość

FOOD

Science Technology Quality

Nr 4 (101)

Kraków 2015

Rok 22

ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość

Organ naukowy PTTŻ – dwumiesięcznik

Nr 4 (101)

Kraków 2015

Rok 22

SPIS TREŚCI

Od Redakcji.....	3
DOROTA KOWALSKA, ELIZA GRUCZYŃSKA, MAŁGORZATA KOWALSKA, MARIOLA KOZŁOWSKA, BOLESŁAW KOWALSKI: Chloropropanole, chloropropanodiole i ich estry w żywności	5
HUBERT ANTOLAK, DOROTA KRĘGIEL: Bakterie kwasu octowego – taksonomia, ekologia oraz wykorzystanie przemysłowe.....	21
ALINA ADAMIAK, ALINA GÓRSKA, BARBARA MRÓZ: Bakterie psychrotrofowe w mleku surowym i jego przetworach	36
KRZYSZTOF SIEMIANOWSKI, ELŻBIETA TOŃSKA, JERZY SZPENDOWSKI: Zawartość wybranych makroelementów i mikroelementów w kazeinie kwasowej i kazeinianach.....	49
EWA GORNOWICZ, TOMASZ SZWACZKOWSKI, MARIAN PIETRZAK, MAGDALENA GRACZYK: Wpływ masy tuszki na barwę mięsa kaczek typu pekin.....	60
MAŁGORZATA NATONEK-WIŚNIEWSKA, PIOTR KRZYŚCIN: Opracowanie prostych i skutecznych testów real-time pcr do identyfikacji komponentów bydłych, wieprzowych i owczych w żywności	73
KAROLINA M. WÓJCIAK, KATARZYNA NEFFE-SKOCIŃSKA, EUGENIUSZ GRELA, ZBIGNIEW J. DOLATOWSKI: Zastosowanie mięsa wieprzowego pochodzącego z tuczników skarmianych mieszanką paszową z dodatkiem preparatu białkowo-ksantofilowego z lucerny do produkcji potencjalnie probiotycznej kielbasy dojrzewającej.....	85
ANNA SADOWSKA, FRANCISZEK ŚWIDERSKI, RITA RAKOWSKA, ELIZA KOSTYRA, ANNA PIOTROWSKA: Przydatność metody ilościowej analizy opisowej (QDA) i analizy składowych głównych (PCA) na przykładzie oceny sensorycznej grillowanych steków wołowych	99
JUSTYNA E. BOJARSKA, KATARZYNA M. MAJEWSKA, RYSZARD ZADERNOWSKI: Tekstura owoców wybranych odmian truskawek.....	113
BARBARA SIOŃEK, DANUTA KOŁOŻYŃ-KRAJEWSKA, DANUTA JAWORSKA, MAŁGORZATA BŁAŻEJCZYK: Zastosowanie bakterii kwasu mlekowego do produkcji probiotycznego soku warzywnego	125
ALENA TICHA, ANNA M. SALEJDA, RADOMÍR HYŠPLER, ALES MATEJICEK, FRANTISEK PAPERSTEIN, ZDENEK ZADAK: Skład cukrów w jabłkach różnych odmian i ich wpływ na cechy sensoryczne.....	137
MACIEJ BILEK, AGNIESZKA SIEMBIDA, KINGA STAWARCZYK, EWA CIEŚLIK: Aktywność przeciwnadciśnieniowa soków drzewnych z terenu Podkarpacia.....	151
BEATA KRÓL, ANNA KIEŁTYKA-DADASIEWICZ: Wpływ metody suszenia na cechy sensoryczne oraz skład olejku eterycznego tymianku właściwego (<i>Thymus vulgaris</i> L.).....	162
ROBERT WITKOWICZ, ELŻBIETA PISULEWSKA, TERESA LESZCZYŃSKA, EWA PIĄTKOWSKA, AGNIESZKA KIDACKA: Podstawowy skład chemiczny oraz aktywność przeciwnadciśnieniowa ziela wybranych genotypów owsa siewnego (<i>Avena sativa</i>).....	176
JUSTYNA KIEWLICZ, HENRYK SZYMUSIAK, RYSZARD ZIELIŃSKI: Otrzymywanie, stabilność termiczna i właściwości przeciwutleniające długołańcuchowych estrów kwasu ferulowego	188
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA: Interakcje składników żywności	201
GRAŻYNA MORKIS: Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym	205
MAGDALENA NIEWCZAS: Nowe książki.....	210
XXV Lat Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności	212
XLII Sesja Naukowa Komitetu Nauk o Żywności PAN.....	218
TWÓRCY POLSKIEJ NAUKI O ŻYWNOŚCI.....	222
Technolog Żywności.....	225

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 4 (101)

Kraków 2015

Vol. 22

CONTENTS

From the Editor.....	3
DOROTA KOWALSKA, ELIZA GRUCZYŃSKA, MAŁGORZATA KOWALSKA, MARIOLA KOZŁOWSKA, BOLESŁAW KOWALSKI: Chloropropanols, chloropropandiols and their esters in food – formation, occurrence, determination, reduction of content.....	5
HUBERT ANTOLAK, DOROTA KRĘGIEL: Acetic acid bacteria – taxonomy, ecology, and industrial application.....	21
ALINA ADAMIĄK, ALINA GÓRSKA, BARBARA MRÓZ: Psychrotrophic bacteria in raw milk and dairy products.....	36
KRZYSZTOF SIEMIANOWSKI, ELŻBIETA TOŃSKA, JERZY SZPENDOWSKI: Content of selected macroelements and microelements in acid casein and caseinates.....	49
EWA GORNOWICZ, TOMASZ SZWACZKOWSKI, MARIAN PIETRZAK, MAGDALENA GRACZYK: Effect of carcass weight on meat colour of pekin ducks.....	60
MAŁGORZATA NATONEK-WIŚNIEWSKA, PIOTR KRZYŚCIN: Development of easy and effective real-time pcr tests to identify bovine, porcine, and ovine components in food.....	73
KAROLINA M. WÓJCIAK, KATARZYNA NEFFE-SKOCIŃSKA, EUGENIUSZ GREŁA, ZBIGNIEW J. DOLATOWSKI: Using pork meat from porkers fed pasture blend with added protein-xanthophylls concentrate of alfalfa to produce potentially probiotic dry-fermented sausages.....	85
ANNA SADOWSKA, FRANCISZEK ŚWIDERSKI, RITA RAKOWSKA, ELIZA KOSTYRA, ANNA PIOTROWSKA: Usefulness of quantitative descriptive analysis (QDA) and principal components analysis (PCA) exemplified by sensory evaluation of grilled beef steaks.....	99
JUSTYNA E. BOJARSKA, KATARZYNA M. MAJEWSKA, RYSZARD ZADERNOWSKI: Texture of fruits of selected strawberry varieties.....	113
BARBARA SIOŃEK, DANUTA KOŁOŻYŃ-KRAJEWSKA, DANUTA JAWORSKA, MAŁGORZATA BŁAŻEJCZYK: Application of lactic acid bacteria to produce probiotic vegetable juice.....	125
KAROLINA SIUCIŃSKA, BARBARA DYKI, ALEKSANDRA MURGRABIA, PIOTR M. PIECZYWEK, ALENA TICHÁ, ANNA M. SALEJDA, RADOMÍR HYŠPLER, ALES MATEJICEK, FRANTISEK PAPERSTEIN, ZDENEK ZADAK: Sugar composition of apple cultivars and its relationship to sensory evaluation.....	137
MACIEJ BILEK, AGNIESZKA SIEMBIDA, KINGA STAWARCZYK, EWA CIEŚLIK: Radical scavenging activity of tree saps from the Podkarpacie region.....	151
BEATA KRÓL, ANNA KIEŁTYKA-DADASIEWICZ: Effect of drying method on sensory characteristics and essential oil composition of thyme (<i>Thymus vulgaris</i> L.).....	162
ROBERT WITKOWICZ, ELŻBIETA PISULEWSKA, TERESA LESZCZYŃSKA, EWA PIĄTKOWSKA, AGNIESZKA KIDACKA: Basic chemical composition and antioxidant activity of different genotype of oat (<i>Avena sativa</i>).....	176
JUSTYNA KIEWLICZ, HENRYK SZYMUSIAK, RYSZARD ZIELIŃSKI: Synthesis, thermal stability, and antioxidant activity of long-chain alkyl esters of ferulic acid.....	188
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA: Interactions among food components.....	201
GRAŻYNA MORKIS: Food problems in Polish and EU legislation.....	205
MAGDALENA NIEWCZAS: Book reviews.....	210
25 years of The Polish Society of Food Technologists.....	212
42 nd Scientific Symposium of the Committee on Food Sciences, Polish Academy of Sciences.....	218
Creators of the Polish food science.....	222
The Food Technologist.....	225

Only reviewed papers are published

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

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

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

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

WYDAWCA: POLSKIE TOWARZYSTWO TECHNOLOGÓW 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

OD REDAKCJI

Szanowni Czytelnicy,

przekazujemy Państwu nr **4 (101)** 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, sierpień 2015 r.

Redaktor Naczelny



Tadeusz Sikora

DOROTA KOWALSKA, ELIZA GRUCZYŃSKA, MAŁGORZATA KOWALSKA,
MARIOLA KOZŁOWSKA, BOLESŁAW KOWALSKI

CHLOROPROPANOLE, CHLOROPROPANODIOLE I ICH ESTRY W ŻYWNOŚCI

Streszczenie

Związki: 3-monochloropropano-1,2-diol (3-MCPD), 2-monochloropropano-1,3-diol (2-MCPD), 1,3- i 2,3-dichloropropanole (1,3-DCP i 2,3-DCP) oraz ich estry należą do grupy tzw. zanieczyszczeń procesowych żywności. 3-MCPD wykryto jako pierwszy, w 1978 roku w produktach kwasowej hydrolizy białek roślinnych, a jego estry zidentyfikowano w 1980 r. W 2006 roku stwierdzono obecność dużych ilości estrów 3-MCPD w rafinowanych olejach roślinnych. Od ponad 35 lat prowadzone są badania nad mechanizmami powstawania wymienionych związków w żywności bogatej w tłuszcz, ogrzewanej do wysokiej temperatury. Do produktów narażonych na zanieczyszczenie związkami 3-MCPD i jego estrami w trakcie procesu technologicznego należą m.in. oleje rafinowane, frytki, chipsy, pieczywo, produkty wędzone. W pracy przedstawiono stan badań dotyczący powstawania 3-MCPD i jego estrów, występowania w żywności, aspektów analitycznych i toksykologicznych oraz uregulowań prawnych. Opisano także sposoby redukcji zawartości 3-MCPD i jego estrów w żywności.

Słowa kluczowe: chloropropanole, chloropropanodiole, 3-MCPD, estry 3-MCPD, zanieczyszczenia procesowe żywności

Wprowadzenie

Produkowane w skali przemysłowej i stosowane w wielu gałęziach gospodarki związki: 3- i 2-chloropropanole (3-CP, 2-CP), 1-chloroizopropanol, 1,3- i 2,3-dichloropropanole (1,3-DCP i 2,3-DCP) oraz 3-chloro-1,2-propanodiol (3-MCPD) i 2-chloro-1,3-propanodiol (2-MCPD) są szkodliwe, a nawet potencjalnie kancerogenne, co wykazano w badaniach z udziałem zwierząt doświadczalnych [72]. Obecność

Dr D. Kowalska, dr hab. inż. E. Gruczyńska, dr M. Kozłowska, prof. dr hab. B. Kowalski, Katedra Chemii, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa, dr inż. M. Kowalska, Katedra Chemii, Wydz. Materiałoznawstwa, Technologii i Wzornictwa, Uniwersytet Technologiczno-Humanistyczny, ul. Chrobrego 27, 26-600 Radom. Kontakt: dorota_kowalska@sggw.pl

3-MCPD wykryto w 1978 roku w kwasowych hydrolizatach białek roślin oleistych (HVP), a obecność 2- i 3-MCPD, 1,3-DCP i 2,3-DCP oraz estrów tych związków z kwasami tłuszczowymi stwierdzono w różnych hydrolizatach i w badaniach modelowych acylogliceroli w roku 1980 [13, 73].

Celem pracy było przedstawienie stanu badań dotyczących obecności w żywności chloropropanoli, chloropropanodioli oraz ich estrów. Szczególną uwagę zwrócono na mechanizmy oraz warunki powstawania tych związków, ich analityczne oznaczenie i możliwości eliminowania z żywności.

Powstawanie chloropropanodioli i dichloropropanoli w żywności

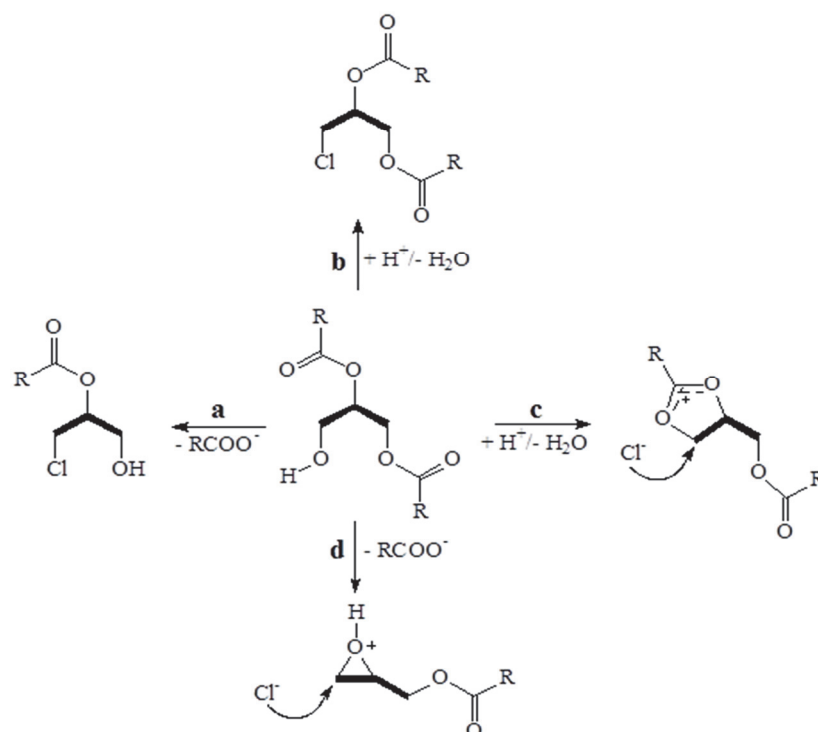
Związki: 3-MCPD, 2-MCPD, 1,3-DCP i 2,3-DCP należą do grupy tzw. zanieczyszczeń procesowych żywności [77]. Powstają w procesach produkcyjnych niektórych typów żywności, zwłaszcza w technologiach, w których stosuje się ogrzewanie, takich jak: hydroliza, odwanianie olejów, smażenie, pieczenie itp. Temperatura tych procesów zwykle przekracza 150 °C, przy jednocześnie niskiej aktywności wody ($0,15 \leq a_w \leq 0,30$). Oprócz przypadków stwierdzenia obecności estrów 3-MCPD w mleku kóz [6] i w mleku kobiet [81], wynikających z akumulacji tych związków, które pochodziły z paszy czy diety, uważa się, że obecność 3- i 2-MCPD oraz 1,3 i 2,3-DCP w żywności jest wynikiem reakcji anionów chlorkowych z acyloglicerolami. Główne chloroorganiczne zanieczyszczenia żywności to 3-MCPD i jego estry, natomiast 2-MCPD, 1,3- i 1,2-DCP występują w znacząco mniejszych ilościach lub są nieobecne [44, 66]. Z tego względu większość analityków koncentruje się na badaniu i oznaczaniu 3-MCPD. Obecnie przyjmuje się, że istnieją cztery podstawowe mechanizmy powstawania estrów 3-MCPD, głównie w schemacie: diacyloglicerol + jon chlorkowy \rightarrow ester 3-MCPD. Mechanizmy te polegają na substytucji nukleofilowej SN2 anionu chlorkowego w cząsteczkach acylogliceroli [34, 59]. Dwa z proponowanych mechanizmów polegają na bezpośrednim nukleofilowym oddziaływaniu Cl^- na glicerolowy atom węgla w acyloglicerolu, połączony z grupą estrową albo z grupą hydroksylową (rys. 1a i 1b).

Pozostałe dwa mechanizmy zakładają powstanie jonu acylooksoniowego albo pierścienia epoksydowego przed działaniem jonu Cl^- (rys. 1c i 1d). Glicydol (2,3-epoksy-propan-1-ol) w obecności HCl i pod wpływem ciepła może ulegać interkonwersji pomiędzy 3-MCPD i 2-MCPD. Mechanizmy powstawania MCPD i DCP oraz ich estrów zostały przedstawione w wielu publikacjach [9, 14, 34, 59, 60, 67, 71]. Analizowana jest także możliwość udziału związków chloroorganicznych rozpuszczalnych w fazie olejowej w powstawaniu 3-MCPD i jego estrów [53, 58]. Nagy i wsp. [55] stwierdzili, że związki chloroorganiczne występujące w palmie oleistej ulegają rozkładowi w procesie otrzymywania oleju palmowego z wydzieleniem HCl, co zwiększa stężenie jonów chlorkowych. W 2006 roku oznaczono znaczące zawartości 3-MCPD

(> 0,02 mg/kg) w wędzonych kiełbasach, szynkach, rybach i innych wędzonkach. Uznano, że w przeciwieństwie do HVP, pieczywa czy olejów rafinowanych, powstawanie 3-MCPD w wędzonkach wynika z obecności 3-hydroksyacetonu w dymie wędzarniczym [45].

Estry chloropropanoli i chloropropanodioli

Wcześniejsze (do 2004 roku) prace badawcze i monitoring produktów spożywczych koncentrowały się na problemach powstawania i oznaczania głównie 3-MCPD, w mniejszym zaś stopniu na 2-MCPD oraz 1,3- i 2,3-DCP. W pracach prowadzonych od 2004 roku podkreśla się, że związki te, zwłaszcza 3-MCPD i 2-MCPD, występują w niektórych typach żywności (oleje rafinowane, frytki, chipsy, pieczywo, pączki itp.) w postaci mono- lub diestrów kwasów tłuszczowych. Podawane są przykłady żywności, w której estry 3-MCPD z kwasami tłuszczowymi występują w stężeniu kilku lub nawet kilkuset razy większym niż wolny 3-MCPD [70]. Wprowadzono termin "chloropropanodiole związane" [70], np. 3-MCPD związany, oznaczany jako 3-MCPD-E (E – od ester) czy 3-MCPD-PP lub 3-MCPD-O, co oznacza odpowiednio: dipalmitynian lub oleinian 3-MCPD. Seefelder i wsp. [65] oraz Schilter i wsp. [64] wykazali, że ze względu na analogie strukturalne acylogliceroli oraz estrów kwasów tłuszczowych z 3-MCPD, estry te są hydrolizowane lipazami jelitowymi w układzie *in vitro*. Z lipolizy przeprowadzonej w układzie modelowym wynika, że wydajność powstającego 3-MCPD z jego monoestrów wynosi powyżej 95 % po 1 min procesu. Diestry 3-MCPD hydrolizują oporniej, osiągając wydajność 3-MCPD: 45, 65 i 95 % po inkubacji w ciągu odpowiednio: 1, 5 i 90 min. Burke i wsp. [5], wykorzystując badania z linią komórkową Caco-2, wskazują także na różnice w hydrolizie, przyswajaniu i dalszym metabolizmie mono- i diestrów 3-MCPD. W badaniach zawartości estrów 3-MCPD w typowych tłuszczach spożywczych stwierdzono, że zawierają one 7 ÷ 15 % monoestrów, resztę stanowią diestry. Stwierdzono również, że w warunkach rzeczywistej lipolizy w organizmie człowieka nie można oczekiwać 100-procentowej hydrolizy diestrów 3-MCPD. Założenie o całkowitej hydrolizie estrów 3-MCPD przez lipazy jelitowe jest jednak nadal formułowane w różnych projektach. Karasek i wsp. [40] oraz Matthäus i wsp. [52] podają przyjmowanie 100-procentowej hydrolizy estrów 3-MCPD przez Niemiecki Instytut Oceny Ryzyka oraz przez Europejski Urząd Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) w obliczaniu potencjalnej zawartości 3-MCPD w żywności. W miarę rozwoju metod badań i aparatury zagadnienie zanieczyszczeń żywności przez estry MCPD i DCP jest opisywane bardziej szczegółowo [40, 65, 76].



Rys. 1. Schemat powstawania estrów 3-MCPD. Bezpośredni atak nukleofilowy anionu chlorkowego na: a) glicerolowy atom węgla połączony z grupą estrową, b) glicerolowy atom węgla połączony z grupą hydroksylową, c) powstały jon acylooksoniowy, d) powstały pierścień epoksydowy (szkielet glicerolowy pogrubiono)

Fig. 1. Pathways of 3-MCPD esters formation. Direct nucleophilic attack of chloride anion on: a) glycerol carbon atom bonded with ester group, b) glycerol carbon atom bonded with hydroxyl group, c) acyloxonium ion d) epoxide ring (glycerol backbone bolded)

Opracowano na podstawie: / Based on: [59]

Regulacje prawne

Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (IARC) klasyfikuje wolny 3-MCPD i glicydol odpowiednio jako “możliwe, że kancerogeny – Grupa 2B” i “prawdopodobnie kancerogeny – Grupa 2A” [37]. Podkreślana jest waga problemu ze względu na powszechność, częstotliwość i ilość spożywanych produktów, jeżeli nawet jednostkowa zawartość 3-MCPD, 2-MCPD, 1,3-DCP czy 2,3-DCP w danym produkcie nie jest zbyt duża. Szczególne znaczenie mają takie produkty, jak: rafinowane oleje roślinne, pieczywo, sosy, chipsy i frytki. Dotychczas określono wymagania odnoszące się do hydrolizowanych roślinnych preparatów białkowych oraz sosów so-

jowych i produktów pochodnych. Nadal brak jest regulacji dotyczących estrów chloropropanoli, chloropropanodioli i glicydołu.

Związek 3-MCPD metabolizowany jest albo przez aldehyd β -chlorooctowy i utlenienie grupy aldehydowej do kwasu szczawiowego, albo przez glicydol do glicerolu lub do N-acetylo-S-(2,3-dihydroksypropylo)-cysteiny [72]. Schilter i wsp. [64] oraz Burke i wsp. [5] zwracają uwagę na to, że mimo braku bezpośrednich badań dotyczących ludzi, możliwość hydrolizy estrów 3-MCPD i związków pokrewnych w układzie jelitowym nie może być rozpatrywana bez uwzględnienia problemów toksykologicznych. Z uwagi na opinie ekspertów i organizacji legislacyjnych, że 3-MCPD jest genotoksyczny *in vitro*, chociaż brak jest dowodów jego genotoksyczności *in vivo*, w marcu 2001 roku Komisja Europejska przyjęła rozporządzenie nr 466/201 zmodyfikowane w 2006 r. [63], w którym określono limit dopuszczalnej zawartości 3-MCPD w kwasowych hydrolizatach białek roślin oleistych (HVP) i w sosie sojowym. W rozporządzeniu nr 1881/2006 z 19 grudnia 2006 roku [63] ustanowiono tzw. dopuszczalne dzienne spożycie 3-MCPD z HVP lub z sosu sojowego na poziomie 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ masy ciała konsumenta. Maksymalna dopuszczalna zawartość 3-MCPD w HVP i w sosie sojowym może wynosić do 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Limit zawartości 3-MCPD został wyznaczony przy założeniu, że ciekły produkt zawiera 40 % suchej masy, co odpowiada zawartości w niej 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 3-MCPD. W przepisach krajowych dopuszczalną zawartość 3-MCPD w HVP i w sosie sojowym reguluje rozporządzenie Ministra Zdrowia z 13 stycznia 2003 roku [62]. Zgodnie z nim maksymalny poziom zanieczyszczenia 3-MCPD w hydrolizowanym białku roślinnym i w sosie sojowym może wynosić do 0,02 mg/kg, co odpowiada 0,05 mg/kg produktu o 40-procentowej zawartości suchej masy. Nie ustalono ani unijnych, ani krajowych regulacji dotyczących zawartości 3-MCPD w innych produktach spożywczych. Nie ma też uregulowań dotyczących innych niż 3-MCPD chloropochodnych propanoli i propanodioli. Obecnie 3- i 2-MCPD i ich estry oraz estry glicydowe monitorowane są zgodnie z zaleceniem Komisji UE z dnia 10.09.2014 [79].

Występowanie 3-MCPD w produktach spożywczych

W literaturze przedmiotu analizowane są warunki powstawania 3-MCPD i dane dotyczące zawartości 3-MCPD i jego estrów w takich produktach, jak: oleje roślinne [47, 80], pieczywo i produkty zbożowe [20, 33], ciasta [30 - 32], smażone produkty ziemniaczane [38, 82], kawa [19], substytuty kawy i ekstrakty słodowe [18], śmietanki do kawy [41], żywność dla niemowląt i dla dzieci [83]. Na uwagę zasługują krajowe prace zespołu z Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego [26, 68] dotyczące zawartości estrów MCPD w artykułach spożywczych pochodzących z handlu detalicznego oraz badania prowadzone przez zespół z Politechniki Gdańskiej [27, 39].

Przykładowe zawartości niezwiązanego 3-MCPD w różnych produktach spożywczych opublikowali Hamlet i wsp. [29], a 3-MCPD związanego w postaci estrów w żywności – także Hamlet i wsp. [34]. Nowe dane dotyczące zawartości estrów 3-MPCD w żywności zawierają prace grupy autorów stowarzyszonych w Międzynarodowym Instytucie Nauk o Życiu [12] oraz MacMahona i wsp. [47]. Chung i wsp. [7] podają wyniki oznaczeń 3-MCPD i DCP w 318 próbkach artykułów spożywczych z handlu detalicznego w Hongkongu.

Oznaczanie 3-MCPD i jego estrów

Ilościowe oznaczanie zawartości chloropochodnych propanodioli i propanoli (na poziomie mikrogramów na kg produktu) jest zagadnieniem złożonym i analitycznie trudnym. 3-MCPD, 2-MCPD, 1,3 DCP i 2,3 DCP mimo prostej budowy chemicznej odznaczają się pewnymi specyficznymi właściwościami. Związki te nie zawierają odpowiedniej grupy chromoforowej, są wysokowrzące, silnie polarne i mają małą masę molową. To wyklucza lub znacząco utrudnia zastosowanie technik eksperymentalnych i detekcyjnych typowych w metodach chromatografii gazowej (GC) bądź zmusza do stosowania oznaczeń pośrednich poprzez syntezę pochodnych. Najczęściej stosowane są metody oznaczeń GC z detekcją MS czy MS/MS, po przeprowadzeniu 3-MCPD w jego lotne pochodne w reakcjach z heptafluorobutyro-imidazolem (HFBI) lub kwasem fenyloborowym (PBA). Rzadziej otrzymywane są pochodne ketonowe, głównie acetonowe, prowadzące do lotnych dioksolanów.

W USA (AOAC Official Method 2000.01 [4]) i w Europie (EN 14573 [56]) opracowano robocze procedury oznaczeń, dlatego według wielu opinii metoda z użyciem HFBI jest obecnie najczęściej stosowana. Dodatkową zaletą tej metody jest możliwość jednoczesnego oznaczenia 3-MCPD, 2,3-DCP i 1,3-DCP. Jest to podkreślane w porównaniach ww. metody z otrzymywaniem lotnych pochodnych 3-MCPD z PBA, która nie nadaje się do oznaczeń 1,3- i 2,3- dichloropropanoli. Heptafluorobutyroimidazol (HFBI) jest jednak nieodporny na wilgoć, co powoduje konieczność otrzymywania pochodnych 3-MCPD w środowisku bezwodnym. Dodatkowo pochodne DCP z HFBI są nietrwałe i wymagają natychmiastowego oznaczenia po derywatywacji. Kaze i wsp. podają [43], że z wymienionych powodów odczynnikiem najczęściej stosowanym do derywatywacji 3-MCPD jest PBA. Związek ten może być jednak stosowany tylko do derywatywacji dioli, co uniemożliwia jego użycie do jednoczesnego oznaczania MCPD i DCP.

Stosowane metody oznaczeń dzielą się na bezpośrednie i pośrednie. Metody bezpośrednie, niewymagające otrzymywania pochodnych, to głównie techniki chromatografii cieczowej (LC). Wymagają one jednak stosowania dużej liczby wzorców analitycznych (estrów 3-MCPD z różnymi kwasami tłuszczowymi), w tym wzorców izotopowo znakowanych. Haines i wsp. [28] opisują zastosowanie bezpośrednich

oznaczeń estrów kwasów tłuszczowych z 3-MCPD i z glicydołem w systemie LC-TOF-MS (TOF – *Time of Flight*). Metodę bezpośredniego, jednoczesnego oznaczania estrów 3-MCPD i estrów glicydolu techniką LC-TOF-MS zastosowali Hori i wsp. [35]. MacMahon i wsp. [47 - 49] opublikowali serię prac dotyczących bezpośredniego oznaczania estrów MCPD, w tym: zasady oznaczania monoestrów 3-MCPD oraz estrów glicydolu w olejach rafinowanych [49]. Autorzy opracowali metodę (z walidacją) bezpośredniego oznaczania diestrów 3-MCPD. Przedstawili także wyniki oznaczeń diestrów nasyconych kwasów tłuszczowych (C12 - C18) oraz kwasów C18:1, C18:2 i C18:3 z 3-MCPD w różnych matrycach [48]. Podsumowaniem tej serii jest publikacja [47], w której autorzy przytaczają wyniki bezpośrednich oznaczeń sumarycznej zawartości estrów 3-MCPD, z podziałem na zawartość estrów poszczególnych kwasów tłuszczowych w 116 próbkach różnych olejów jadalnych oraz szorteningów pochodzących z handlu detalicznego USA. Praca ta zawiera również wyniki oznaczeń estrów glicydolu w ww. olejach. Xu i wsp. [78] opisali sposób oznaczania 1,3-DCP, 2,3-DCP, 3-MCPD, 2-MCPD) w sosach sojowych metodą GC-MS/MS bez otrzymywania ich pochodnych. Granice wykrywalności wymienionych wyżej związków wynosiły $1,0 \div 5,0 \mu\text{g/kg}$. W metodach pośrednich próbka przed derywatyzacją i oznaczeniem 3-MCPD musi być poddana hydrolizie (lub częściej transestryfikacji z metanolem) uwalniającej z estru niezwiązany 3-MCPD, który dalej przekształcany jest w lotne pochodne. Stosowane są metody hydrolizy lub transestryfikacji kwasowej [17] z użyciem kwasu siarkowego jako katalizatora lub transestryfikacji zasadowej katalizowanej metanolanem sodowym [75]. Procesy hydrolizy i przeestryfikowania kwasowego, jako reakcje osiągające stan równowagi, wymagają długotrwałych zabiegów laboratoryjnych w celu uzyskania zadowalających wydajności. Stosowanie katalizatorów alkalicznych (MeONa), jakkolwiek szybkie (do 10 min), może powodować straty analitu. Uwalniany z estru 3-MCPD może w obecności MeONa rozkładać się poprzez glicydol do glicerolu [36]. Próby opóźniania tego rozkładu przez obniżanie temperatury skutkowały wydłużaniem czasu reakcji do kilkunastu godzin, a więc utratą podstawowej zalety przeestryfikowania w środowisku alkalicznym. Wadą tej metody jest jej niespecyficzność, ponieważ oprócz związanego 3-MCPD obejmuje także acyloglicerole i estry kwasów tłuszczowych z glicydołem. Oczywiście MeONa nie może być używany do przeestryfikowań w olejach "kwaśnych" tj. o dużej zawartości wolnych kwasów tłuszczowych. W 2011 roku Kuhlmann [44] przedstawił metodę równoległego oznaczania w oleju roślinnym estrowo związanym 3-MCPD, 2-MCPD i glicydolu. Metoda ta (znana jako metoda Kuhlmann lub metoda SGS) polega na ulepszeniu alkalicznego sposobu uwalniania wolnego glicydolu i chloropropanodioli z ich estrów, a następnie przekształceniu glicydolu w monobromopropanodiol (MBPD). Po derywatyzacji z PBA, otrzymane pochodne MBPD i MCPD są oznaczane metodą GC-MS z wykorzystaniem izotopowo znakowanych wzorców analitycznych. Przeprowadzona została

walidacja metody dotycząca glicydotu i 3-MCPD z użyciem stearynianu glicydotu i dipalmitynianu-3-MCPD. W tej samej pracy przedstawiono wyniki zawartości 2- i 3-MCPD oraz glicydotu w różnych rafinowanych i nierafinowanych olejach roślinnych i tłuszczach zwierzęcych. Nie stwierdzono obecności MCPD i glicydotu w olejach surowych i typu virgin oraz w tłuszczach zwierzęcych. Stwierdzono natomiast obecność estrów MCPD i glicydotu w 17 rodzajach olejów rafinowanych. Problem oceny jakości metod przygotowywania próbek do pośredniego oznaczania chloropochodnych propanolu i ich estrów jest przedmiotem zainteresowania analityków. Hrnčirik i wsp. [36] wykazali, że metody oznaczeń pośrednich, polegające na konwersji estrów 3-MCPD do wolnego 3-MCPD, zawierają szereg krytycznych etapów, mających wpływ na końcowe wyniki oznaczeń. Szczególnie ważne okazały się etapy transestryfikacji i wysalania. Po przeprowadzeniu oznaczeń porównawczych z zastosowaniem hydrolizy alkalicznej i kwasowej wykazano przewagę jakościową wyników oznaczeń 3-MCPD po hydrolizie kwasowej. W szczególności wykazano mniejszą stabilność 3-MCPD w warunkach hydrolizy alkalicznej. Stwierdzono także, że wyniki oznaczeń po pierwszych 2 - 3 min transestryfikacji zasadowej były o 10 ÷ 20 % wyższe od uzyskanych po dłuższym (5 - 10 min) czasie transestryfikacji. Oznaczenia kontrolne z użyciem roztworów wzorcowych wykazały zawyżone o 7 ÷ 15 % zawartości wzorca (deuterowany 3-MCPD). Wykorzystując te wyniki, Ermacora i Hrnčirik [21] przeprowadzili szczegółową analizę metody oznaczania 3-MCPD po transestryfikacji kwasowej. Oceniano powtarzalność metody i jej etapy, a także stabilność pochodnych 3-MCPD otrzymywanych w reakcji z PBA. Nie stwierdzono istotnych różnic w wynikach oznaczeń 3-MCPD w próbkach po derywatywacji, przechowywanych przez 0 - 7 dni w temperaturze pokojowej i w próbkach przechowywanych przez 0 - 60 dni w temp. -20 °C. Badano także ewentualne powstawanie 3-MCPD w reakcji Cl⁻ z glicydotem (wysalanie z NaCl). Stwierdzono, że stężenie jonów chlorkowych w próbce nie powinno przekraczać 1,7 mmola/kg oleju. Wyniki przeprowadzonych badań umożliwiły stwierdzenie, że rekomendowany zwykle 16-godzinny czas inkubacji próbek podczas transestryfikacji kwasowej może być skrócony do 4 h, bez istotnego wpływu na dokładność i powtarzalność wyników oznaczeń związanego 3-MCPD. Przeprowadzone badania pozwoliły autorom [22] na optymalizację i walidację metody jednoczesnego oznaczania estrów 2-MCPD, 3-MCPD i glicydotu. Oznaczenia wymienionych trzech analitów w wielu różniących się składem i pochodzeniem próbkach wykazały dużą dokładność, powtarzalność, czułość i wydajność opracowanej metody. Zdaniem autorów metoda nadaje się do rutynowych oznaczeń w laboratoriach badawczych i jednostkach kontroli jakości. Oznaczanie trzech analitów w jednym eksperymencie sprawiło, że w środowisku analityków metoda ta nazywana jest "trzy w jednym". Opracowana została także wersja metody oznaczania estrów 1,3- i 2,3-MCPD i estrów

glicydołu w tłuszczach do smarowania pieczywa, w margarynach, śmietanach i majonezach używanych w gospodarstwach domowych [23].

Alternatywne do hydrolizy kwasowej stosowanie lipaz i preparatów lipolitycznych jako katalizatorów hydrolizy czy przeestryfikowania jest w zasadzie na etapie badań naukowych. W nielicznych pracach opisano wykorzystanie lipaz z *Aspergillus oryzae* i *Candida rugosa* [54]. Chung i Chan [8] opisali metodę jednoczesnego oznaczania metodą GC-MS estrów 2-MCPD i 3-MCPD z kwasami tłuszczowymi po enzymatycznej hydrolizie (lipaza z *Candida antarctica*) tłuszczu wyekstrahowanego z badanej próbki.

W latach 2009 - 2011 Niemieckie Towarzystwo Tłuszczowe (DGF) wydało kilka standardowych procedur oznaczania estrowo związanego 3-MCPD: DGF Standard Method C III 18/2009 [15], DGF Standard Method C-VI 18/2011 [16], które są obecnie stosowane w Europie. Metody te są ulepszane i modyfikowane głównie w zakresie doboru rozpuszczalników i ekstrahentów [42, 43].

Küsters i wsp. [46] opracowali szybką mikrometodę oznaczania 3-MCPD i jego estrów. Po przeprowadzeniu estrów 3-MCPD w reakcji z MeONa w niezwiązany 3-MCPD i jego derywatyzacji z PBA powstałe pochodne oznaczane są metodą GC-MS. Metoda została sprawdzona w analizie różnych produktów spożywczych – pieczywa, przetworów mięsnych, ryb, koncentratów i przypraw.

Zapobieganie powstawaniu i redukcja zawartości 3-MCPD i jego estrów w żywności

Działania podejmowane w celu uzyskania danego produktu o możliwej do przyjęcia zawartości wolnych i związanych chloropropanoli można podzielić na dwie grupy. Pierwsza to zapobieganie powstawaniu DCP i MCPD, natomiast druga to ich usuwanie z wytworzonego produktu spożywczego. Ze względu na dominujący ilościowo udział 3-MCPD i jego estrów z kwasami tłuszczowymi, opis badań jest zwykle ograniczony do tych związków chemicznych.

W zakresie zapobiegania powstawaniu 3-MCPD i jego estrów podejmowane działania dzieli się na bezpośrednio związane z technologią wytwarzania i rafinacji oleju, a więc z zakładem produkcyjnym oraz na dodatkowe, specyficznie związane z danym produktem spożywczym. Stwierdzono, że głównym źródłem 3-MCPD są jego estry powstające w wyniku rafinacji oleju, a krytyczną dla zawartości 3-MCPD w oleju operacją rafinacji jest odwanianie. Proces przebiegający w zakresie temp. 200 ÷ 270 °C w ciągu kilku godzin i przy niskiej aktywności wody stwarza korzystne warunki powstawania estrów 3-MCPD. Dowiedziono, że głównymi prekursorami powstawania estrów chloropropanodioli są: lecytyna, diacyloglicerole, glicerol, triacyloglicerole, monoacyloglicerole [74]. W badaniach, przeprowadzonych w tej samej pracy, wykazano, że najbardziej skutecznymi związkami zapobiegającymi powstawaniu 3-MCPD

były: wodorowęglan i węglan sodu oraz cysteina i glutation. Związki te redukowały zawartość 3-MCPD w układzie glicerol + NaCl do poziomu odpowiednio: 8, 14, 42 i 80 % zawartości 3-MCPD powstającego bez stosowania inhibitorów. W doświadczeniu symulującym proces odwaniania oleju palmowego (temp. 240 °C) Freudenstein i wsp. [25] stwierdzili, że największy wpływ na powstawanie 3-MCPD i jego estrów z kwasami tłuszczowymi mają di- i monoacyloglicerole znajdujące się w oleju. Destillats i wsp. [14] wykazali, że w temp. >150 °C i w warunkach symulujących odwanianie triacyloglicerole (TAG), czyli główny składnik olejów roślinnych, są najbardziej reaktywnymi substratami w reakcjach powstawania diestrów MCPD. Rahn i Yaylayan [60] przedstawili spektroskopowe (IR) dowody na to, że w temp. 100 °C tripalmitynian glicerolu tworzy jon acylooksoniowy, reagujący z anionem chlorkowym do estrów 3-MCPD (rys. 1c). Obecność w oleju surowym tri- i diacylogliceroli (TAG i DAG) oraz jonów chlorkowych determinuje powstawanie estrów 3-MCPD [54]. W rafinacji niektórych olejów, np. palmowego, ważna dla powstawania 3-MCPD jest obecność związków chloroorganicznych rozpuszczalnych w fazie olejowej. Stąd zalecane jest staranne dobieranie jakościowe surowców do produkcji oleju (owoców, nasion), skracanie czasu od zbioru do produkcji i możliwie szybka deaktywacja enzymów lipolitycznych (szczególnie w pulpach), aby zawartość DAG w surowym oleju była poniżej 4 %, co uznaje się za wartość progową względem finalnej zawartości 3-MCPD i 3-MCPD-E w produkcie po odwanianiu [25, 50]. Niektóre surowce oleiste, np. owoce palmy, orzechy kokosowe, ziarna kukurydzy, oliwki, zawierają, w zależności od regionu pochodzenia i lokalnych warunków agrotechnicznych, duże ilości związków chloroorganicznych rozpuszczalnych w oleju i stanowiących, obok jonów Cl⁻ pochodzenia nieorganicznego, ważne źródło drugiego prekursora powstawania 3-MCPD-E. Z tego względu zalecane są ekstrakcje (płukania) surowców wodą czy roztworami wodno-alkoholowymi. W produkcji oleju palmowego dobre rezultaty uzyskuje się po płukaniu surowego oleju wodą lub roztworami alkoholu, co pozwala na zmniejszenie zawartości estrów 3-MCPD o 30 ÷ 35 % w gotowym oleju po odwanianiu [9, 50]. Podobną skuteczność wykazywało stosowanie środków wspomagających rafinację, tj. niskocząsteczkowych alkoholi [21] i diacetyny (1,3-dioctanu-glicerolu) [50, 51].

W planowaniu strategii minimalizowania zawartości chloropochodnych propanodioli i propanoli w produktach finalnych zalecane są analizy na zawartość Cl/Cl⁻ w surowcach i w oleju przed rafinacją, a także w środkach pomocniczych, jak: woda, ziemie bielące, związki chemiczne [50].

Drugim obszarem działania na terenie zakładu produkcyjnego jest optymalizacja procesów rafinacji oleju, a w szczególności etapu jego odwaniania i ewentualnie etapów wcześniejszych (odśluzowywania, bielenia). Ramli i wsp. [61] badali odśluzowywanie kwasowe (0,02 ÷ 0,1 % H₃PO₄) i wodne (2 % H₂O) oraz bielenie różnymi ziemiami bielącymi (1 %) surowego oleju palmowego (CPO). Olej CPO po odśluzowaniu

i bieleniu poddawano odwanianiu w temp. 260 °C przez 90 min. Po tych operacjach olej zawierał estry 3-MCPD, jednak w przypadku uprzedniego odśluzowania wodnego i bielenia ziemiami aktywowanymi kwasowo, zawartość estrów 3-MCPD nie przekraczała 0,25 ppm. Korzystny wpływ wcześniejszych etapów rafinacji oleju (odśluzowywanie, bielenie, adsorpcyjne usuwanie niepożądanych związków chemicznych i metali ciężkich) na zawartość estrów 3-MCPD w oleju po odwanianiu podkreślają Pudiel i wsp. [57]. Zawartość chloropropanoli i chloropropanodioli w finalnym oleju zależy głównie od temperatury i czasu odwaniania. Optymalizacja temperatury procesu odwaniania i skracanie jego czasu powoduje zwykle zmniejszenie zawartości 3-MCPD i 3-MCPD-E. Zalecany jest dwustopniowy proces odwaniania, tzn. wysoka temperatura (270 °C) i krótki czas (30 min), a następnie obniżona temperatura (około 200 ÷ 220 °C) i wydłużony czas (4 h) bądź odwrotność tych etapów [52]. Zmiany pH układów zawierających procesowo powstałe 3-MCPD i jego estry korzystnie wpływają na zmniejszanie zawartości tych zanieczyszczeń. Procesowi odwaniania prowadzonemu w wysokiej temperaturze towarzyszą reakcje izomeryzacji 3-MCPD, odchlorowania i deacylacji [24].

Dobre wyniki uzyskuje się po zastosowaniu specjalnych środków filtrujących, zawierających składniki chemicznie aktywne względem zanieczyszczeń. Kontaktowanie oleju zawierającego 3-MCPD z karboksymetylocelulozą, żywicami jonowymiennymi, kalcynowanymi zeolitami czy adsorbentami silikonowymi zawierającymi krzemiany magnezu i/lub wapnia powoduje zmniejszenie zawartości 3-MCPD od kilkunastu do nawet 40 % początkowej jego zawartości [69].

Stosowanie innych technologii do usuwania 3-MCPD i związków pokrewnych jest przedmiotem nielicznych publikacji. Sygnalizowane są prace dotyczące usuwania związków szkodliwych i niepożądanych z oleju poprzez "stripping" azotem [2]. Craft i wsp. [10] przedstawili ogólną ocenę stosowania różnych metod fizykochemicznych do poprawy jakości i bezpieczeństwa żywnościowego olejów jadalnych przez zmniejszanie zawartości 3-MCPD. Inną metodą usuwania 3-MCPD i jego estrów z oleju może być stosowanie technologii enzymatycznych. Opracowana w skali laboratoryjnej metoda polega na enzymatycznej konwersji 3-MCPD poprzez glicydol do glicerolu w układzie dwufazowym woda/olej, z użyciem tzw. kaskady enzymatycznej. Proces polega na hydrolizie enzymatycznej (*Candida antarctica*) i kolejnym traktowaniu uwolnionego 3-MCPD dehydrogenazą halohydrynową, otrzymywaną z *Arthrobacter* sp. AD2 i hydrolazą epoksydową z *Agrobacterium radiobacter* AD1 [3].

Kulinarna obróbka żywności bezpośrednio przed spożyciem, to ostatni etap możliwego unikania powstawania i zmniejszania zawartości chloropropanodioli. Unikanie zbędnego przegrzewania, właściwa kolejność dodawania soli i przypraw, dobór procesów obróbki (np. tostowanie czy grillowanie) może zdecydowanie zmniejszyć ilość spożywanego 3-MCPD i jego estrów. Crews i wsp. [11] oznaczyli zawartość 3-MCPD

w żywności (sosy, buliony, ciasta, naleśniki, pieczywo, sery, mięso) przygotowanej kulinarnie w warunkach symulujących domowe przyrządzanie dań (smażenie, pieczenie, grillowanie). We wszystkich przypadkach zawartość 3-MCPD wzrastała po obróbce cieplnej, najbardziej krytyczne okazały się procesy grillowania i opiekania. Baer i wsp. [1] zwracają uwagę na przyczyny powstawania 3-MCPD i jego estrów w takich grupach produktów, jak: chleb i ciastka, kawa, sery topione i grillowane, wędzonki mięsne i rybne. W tej samej pracy [1] podano sposoby redukcji zawartości 3-MCPD i jego estrów, jak: zwiększanie pH uwodnionych produktów, obniżanie temperatury i zawartości soli, unikanie obróbki w warunkach niska wilgotność – wysoka temperatura, ograniczanie obecności glicerolu i niepełnych acylogliceroli, stosowanie ekstraktów ziół i przypraw, redukcja obciążenia bakteriologicznego z naturalnych dodatków, deaktywacja lipaz/esteraz, eliminowanie prekursorów powstawania 3-MCPD.

Podsumowanie

Występowanie i zawartość 3- i 2- MCPD w żywności dokumentowane są od ponad 35 lat. Informacje o obecności znaczących ilości estrów kwasów tłuszczowych i 3-MCPD w olejach rafinowanych pojawiły się w 2006 roku. Spowodowało to w stosunkowo krótkim czasie opublikowanie wielu prac naukowych dotyczących chloropochodnych propanolu i propanodiolu.

W pracy omówiono problematykę dotyczącą powstawania i analitycznego oznaczania chloropochodnych propanolu i propanodiolu w żywności. W sposób szczególny podkreślono chemiczne aspekty poruszanych zagadnień. Przedstawiono informacje dotyczące toksykologii i regulacji prawnych. Omówiono również metody i procesy w zakresie możliwości eliminacji 3-MCPD i związków pokrewnych z żywności.

Literatura

- [1] Baer I., Calle B., Taylor P.: 3-MCPD in food other than soy sauce hydrolysed vegetable protein (HVP). *Anal. Bioanal. Chem.* 2010, **396**, 443-456.
- [2] Bertoli C., Cauville F.: A deodorized edible oil or fat with low levels of bound mcpd and process of making using an inert gas (Nestec S.A., Switzerland). *PCT Int. Appl.* 2011. CODEN: PIXXD2 WO 20110098 A1, 20110127.
- [3] Bornscheuer U.T., Hesseler M.: Enzymatic removal of 3-monochloro-1,2-propanediol (3-MCPD) and its esters from oils. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2010, **112**, 552-556.
- [4] Brereton P., Kelly J., Crews C., Honour S., Wood R., Davies A.: Determination of 3-chloro-1,2-propanediol in foods and food ingredients by GC/MS detection. *J. AOAC Int* 2001, **84**, 455-465
- [5] Burke T., Weisshaar R., Lampen A.: Absorption and metabolism of the food contaminant 3-MCPD and its fatty acid esters by human intestinal Caco-2 cells. *Arch. Toxicol.*, 2011, **85**, 1201-1208.
- [6] Cerbulis J., Parks O.W., Liu R., Piotrowski G., Farrell H.: Occurrence of diesters of 3-chloro-1,2-propanediol in the neutral lipid fraction of goats' milk. *J. Agric. Food Chem.*, 1984, **32**, 474-476.
- [7] Chung S.W.C., Kwong K.P., Yau J.C.W., Wong A.M.C., Xiao Y.: Chloropropanols levels in food-stuffs marketed in Hong Kong. *J. Food Composition Anal.*, 2008, **21**, 569-573.

- [8] Chung S.W.C., Chan B.T.P.: Simultaneous determination of 2- and 3-MCPD esters in foods by enzymatic hydrolysis and GC-MS detection. *Chromatographia*, 2012, **75**, 1049-1056.
- [9] Craft B.D., Nagy K., Sandoz L., Destaillets F.: Factors impacting the formation of monochloropropanediol (MCPD) fatty acid diesters during palm (*Elaeis guineensis*) oil production. *Food Addit. Contamin.*, 2012, **29**, 354-361.
- [10] Craft B.D., Chiodini A., Garst J., Granvogl M.: Fatty acid esters of monochloropropanediol (MCPD) and glycidol in refined edible oils. *Food Addit. Contamin. Part A*, 2013, **30**, 46-51.
- [11] Crews C., Brereton P., Davies A.: The effects of domestic cooking on the levels of 3-monochloropropanediol in foods. *Food Addit. Contamin. Part A*, 2001, **18**, 271-280.
- [12] Crews C., Chiodini A., Granvogl M., Hamlet C., Hrnčirik K., Kuhlman J., Lampen A., Scholtz G., Weißhaar R., Wenzl T., Jasti P.R., Seefelder W.: Analytical approaches for MCPD esters and glycidyl esters in food and biological samples: a review and future perspectives. *Food Addit. Contamin. Part A*, 2013, **30**, 11-45.
- [13] Davidek J., Velisek J., Kubelka V., Janicek G., Simicowa Z.: Glycerol chlorohydrins and their esters as products of the hydrolysis of tripalmitin, tristearin and triolein with hydrochloric acid. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 1980, **171**, 14-17.
- [14] Destaillets F., Craft B.D., Sandoz L., Nagy K.: Formation mechanism of MCPD fatty acid diesters in refined palm (*Elaeis guineensis*) oil and related fractions. *Food Addit. Contamin. Part A*, 2012, **29**, 29-37.
- [15] DGF Standard Method C III 18 (2009). Determination of ester bound 3-MCPD esters and 3-MCPD forming substances in fats and oils by means of GC/MS. Stuttgart, 2009.
- [16] DGF Standard Method C VI 18/2011. Fatty-acid-bound 3-chloropropane-1,2-diol (3-MCPD) and 2,3-epoxypropane-1-ol (glycidol). Determination in oils and fats by GC/MS. Federal Institute for Risk Assessment, Berlin, 2011.
- [17] Divinova V., Svejtkovska B., Dolezal M., Velisek J.: Determination of free and bound chloropropane-1,2-diol by gas chromatography with mass spectrometric detection using deuterated 3-chloropropane-1,2-diol as internal standard. *Czech J. Food Sci.*, 2004, **22**, 182-189.
- [18] Divinova V., Dolezal M., Velisek J.: Free and bound 3-chloropropane-1,2-diol in coffee surrogates and malts. *Czech J. Food Sci.*, 2007, **25**, 39-47.
- [19] Doležal M., Chaloupska M., Divinova V., Svejtkovska B., Velisek J.: Occurrence of 3-chloropropane-1,2-diol and its esters in coffee. *Eur. Food Res. Technol.*, 2005, **221**, 221-225.
- [20] Doležal M., Kortisova J., Zelinkova Z., Velisek J.: Analysis of bread lipids for 3-MCPD esters. *Czech J. Food Sci.*, 2009, **27**, S417-S419.
- [21] Ermacora A., Hrnčirik K.: Evaluation of an improved indirect method for the analysis of 3-MCPD esters based on acid trans-esterification. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2012, **89**, 211-217.
- [22] Ermacora A., Hrnčirik K.: A novel method for simultaneous monitoring of 2-MCPD, 3-MCPD and glycidyl esters in oils and fats. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2013, **90**, 1-8.
- [23] Ermacora A., Hrnčirik K.: Development of an analytical method for the simultaneous analysis of MCPD and glycidyl esters in oil-based foodstuffs. *Food Addit. Contamin. Part A*, 2014, **31**, 985-994.
- [24] Ermacora A., Hrnčirik K.: Study on the thermal degradation of 3-MCPD esters in model systems simulating deodorization of vegetable oils. *Food Chem.*, 2014, **150**, 158-163.
- [25] Freudenstein A., Weking J., Matthäus B.: Influence of precursors on the formation of 3-MCPD and glycidyl esters in a model oil under simulated deodorization conditions. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2013, **115**, 286-294.
- [26] Gawarska H., Sawilska-Rautenstrauch D., Starski A., Karłowski K.: Występowanie 3-MCPD w produktach spożywczych. *Roczniki PZH.*, 2009, **60**, 213-216.
- [27] Gromadzka J., Biernacka P., Namieśnik J.: 3-monochloro-1,2-propandiol w produktach żywnościowych. Problemy i wyzwania analityczne. *Analityka*, 2013, **3 (14)**, 44-50.
- [28] Haines T.D., Adlaf K.J., Pierceal R.M., Lee I., Venkatasubramanian P., Collison M.W.: Direct determination of MCPD fatty acid esters and glycidyl fatty acid esters in vegetable oils by LC-TOFMS. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2011, **88**, 1-14.

- [29] Hamlet C.G., Saad P.A., Crews C., Velisek J., Baxter D.E.: Occurrence of 3-chloropropane-1,2-diol (3-MCPD) and related compounds in foods. *Food Addit. Contamin. Part A.*, 2002, **17**, 619-631.
- [30] Hamlet C.G., Saad P.A., Gray D.A.: Influence of composition, moisture, pH and temperature on the formation and decay kinetics of monochloropropanediols in wheat flour dough. *Eur. Food Res. Technol.*, 2003, **216**, 122-128.
- [31] Hamlet C.G., Saad P.A., Gray D.A.: Generation of monochloropropanediols (MCPDs) in model dough systems. Leavened doughs. *J. Agric. Food Chem.*, 2004, **52**, 2059-2066.
- [32] Hamlet C.G., Saad P.A., Gray D.A.: Generation of monochloropropanediols (MCPDs) in model dough systems. Unleavened doughs. *J. Agric. Food Chem.*, 2004, **52**, 2067-2072.
- [33] Hamlet C.G., Saad P.A.: Chloropropanols and their esters in cereal products. *Czech J. Food Sci.*, 2004, **22**, 259-262.
- [34] Hamlet C.G., Asuncion L., Velisek J., Doležal M., Zelinkova Z., Crews C.: Formation and occurrence of esters of 3-chloropropane-1,2-diol (3-CPD) in foods: What we know and what we assume. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2011, **113**, 279-303.
- [35] Hori K., Koriyama N., Omori H., Kuriyama M., Arishima T., Tsumura K.: Simultaneous determination of 3-MCPD fatty acid esters and glycidol fatty acid esters in edible oils using liquid chromatography time-of-flight mass spectrometry. *LWT – Food Sci. Technol.*, 2012, **48**, 204-208.
- [36] Hrnčirik K., Zelinkova Z., Ermacora A.: Critical factors of indirect determination of 3-chloropropane-1,2-diol esters. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2011, **113**, 361-367.
- [37] IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Some chemicals present in industrial and consumer products, food and drinking-water. Vol. **101** pp. 349-374. Published by IARC, Lyon 2012. Distributed by WHO Press, Geneva.
- [38] Ilko V., Zelinkova Z., Doležal M., Velisek J.: 3-Chloropropane-1,2-diol fatty acid esters in potato products. *Czech J. Food Sci.*, 2011, **29**, 411-419.
- [39] Jędrkiewicz R., Kupka M., Głowacz A., Gromadzka J., Namieśnik J.: 3-MCPD: A world wide problem of food chem. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2015, **4**, DOI: 10.1080/10408398.2013.829414.
- [40] Karasek L., Wenzl T., Ulberth F.: Determination of 3-MCPD esters in edible oil – methods of analysis and comparability of results. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2011, **113**, 1433-1442.
- [41] Karsulinova L., Folprechtova B., Dolezal M., Dostalova J., Velisek J.: Analysis of the lipid fraction of coffee creamers, cream aerosols, and bouillon cubes for their health risk associated constituents. *Czech J. Food Sci.*, 2007, **25**, 257-264.
- [42] Kaze N., Sato H., Yamamoto H., Watanabe Y.: Improvement of accuracy in quantification of 3-monochloropropane-1,2-diol by Deutsche Gesellschaft für Fettwissenschaft standard methods C-III 18. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2011, **113**, 1168-1171.
- [43] Kaze N., Sato H., Yamamoto H., Watanabe Y.: Bidirectional conversion between 3-MCPD and 1,2-MCPD and glycidol in the Procedure of DGF Standard. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2011, **88**, 1143-1151.
- [44] Kuhlman J.: Determination of bound 2,3-epoxy-1-propanol (glycidol) and bound monochloropropanediol (MCPD) in refined oils. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2011, **113**, 335-344.
- [45] Kuntzler J., Weisshaar R.: The smoking process – A potent source of 3-chloropropane-1,2-diol (3-MCPD) in meat products. *Deutsche Lebensmittel Rundschau*, 2006, **102**, 397-400.
- [46] Küsters M., Bimber U., Ossenbrüggen A., Reeser S., Gallitzendörfer, Gerhartz M.: Rapid and simple micromethod for the simultaneous determination of 3-MCPD and 3-MCPD esters in different food-stuffs. *J. Agric. Food Chem.*, 2010, **58**, 6570-6577.
- [47] MacMahon S., Begley T.H., Diachenko G.W.: Occurrence of 3-MCPD and glycidyl esters in edible oils in the United States. *Food Addit. Contamin. Part A.*, 2013, **30**, 2081-2092.
- [48] MacMahon S., Begley T.H., Diachenko G.W.: Analysis of processing contaminants in edible oils. Part 2. Liquid chromatography – tandem mass spectrometry method for the direct detection of 3- and 2-Monochloropropanediols diesters. *J. Agric. Food Chem.*, 2013, **61**, 4748-4757.
- [49] MacMahon S., Mazola E., Begley T.H., Diachenko G.W.: Analysis of processing contaminants in edible oils. Part 1. Liquid Chromatography – Tandem Mass Spectrometry Method for the direct detection of 3-Monochloropropanediol monoesters and glycidyl esters. *J. Agric. Food Chem.*, 2013, **61**, 4737-4747.

- [50] Matthäus B., Pudel F., Fehling P., Vosmann K., Freudenstein A.: Strategies for the reduction of 3-MCPD esters and related compounds in oils. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2011, **113**, 380-386.
- [51] Matthäus B., Freudenstein A., Pudel P., Fehling P.: Final results of the German FEI research project concerning 3-MCPD esters and related compounds – mitigation strategies. Paper presented at: 9th Eurofed Lipid Congress, 18-21 September 2011, Rotterdam, the Netherlands.
- [52] Matthäus B., Freudenstein A., Vosmann K., Pudel F., Rudolph T., Franke K., Strijowski U.: Mitigation of 3-MCPD esters in refined vegetable oils. *Sweet Baking* 2012, **1**, 12-15.
- [53] Matthäus B.: Organic or not organic – that is the question: How the knowledge about the origin of chlorinated compounds can help to reduce formation of 3-MCPD esters. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2012, **114**, 1333-1334.
- [54] Miyazaki K., Koyama K., Sasako K., Hirao T. Indirect method for simultaneous determination of 3-chloro-1,2-propanediol and glycidol fatty acid esters. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2012, **89**, 1403-1407.
- [55] Nagy K., Sandoz L., Craft B.D., Destailats F. Massdefect filtering of isotope signatures to reveal the source of chlorinated palm oil contaminants. *Food Addit. Contamin. Part A*, 2011, **28**, 1492-1500.
- [56] PN-EN 14573:2005. Artykuły żywnościowe. Oznaczanie 3-MCPD metodą GC/MS.
- [57] Pudel F., Benecke P., Fehling P., Freudenstein A., Matthäus B., Schwar A.: On the necessity of edible oil refining and possible sources of 3-MCPD and glycidyl esters. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2011, **113**, 368-373.
- [58] Rahn A.K.K., Yaylayan V.A.: Thermal degradation of sucralose and its potential in generating chloropropanols in the presence of glycerol. *Food Chem.*, 2010, **118**, 56-61.
- [59] Rahn A.K.K., Yaylayan V.A., What do we know about the molecular mechanism of 3-MCPD esters formation. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2011, **113**, 323-329.
- [60] Rahn A.K.K., Yaylayan V.A.: Monitoring cycling acyloxonium ion formation in palmitin systems using IR spectroscopy and isotope labeling. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2011, **113**, 330-334.
- [61] Ramli M.R., Siew W.L., Ibrahim N.A., Hussein R., Kuntom A., Raazak R.A.A., Nesaratnam K.: Effects of degumming and bleaching on 3-MCPD esters formation during physical refining. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2011, **88**, 1839-1844.
- [62] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 13.01.2003 w sprawie maksymalnych poziomów zanieczyszczeń chemicznych i biologicznych. *Dz. U.* nr 37, poz. 326. Załącznik nr 5.
- [63] Rozporządzenie Komisji UE nr 1881/2006 z dnia 19 grudnia 2006 ustalające najwyższe dopuszczalne poziomy niektórych zanieczyszczeń w środkach spożywczych. *Dz. U. L* 364 z 20.12.2006 s. 5.
- [64] Schilter B., Scholtz G., Seefelder W.: Fatty acid esters of chloropropanols and related compound in food: Toxicological aspects. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2011, **113**, 309-313.
- [65] Seefelder W., Varga N., Studer A., Williamson G., Scanlan F.P., Stadler R.H.: Esters of 3-chloro-1,2-propanediol (3-MCPD) in vegetable oils: significance in the formation of 3-MCPD. *Food Addit. Contamin.*, 2008, **25**, 391-400.
- [66] Seefelder W., Scholz G., Schilter B.: Structural diversity of dietary fatty esters of chloropropanols and related substances. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2011, **113**, 319-322.
- [67] Smidrkal J., Ilko V., Filip V., Doležal M., Zelinkova Z., Kyselka J., Hradkova I., Velisek J.: Formation of acylglycerol chloro-derivatives in vegetable oils and mitigation strategy. *Czech J. Food Sci.*, 2011, **29**, 449-456.
- [68] Starski A., Jędra M., Gawarska H., Postupolski J.: Assessing exposure to 3-MCPD of bakery products based on studies undertaken throughout Poland. *Rocz. PZH*, 2013, **64**, 277-283.
- [69] Strijowski U., Heinz V., Franke K.: Removal of 3-MCPD esters and related substances after refining by adsorbent material. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2011, **113**, 387-392.
- [70] Svejkskova B., Novotny O., Divinova V., Reblova Z., Dolezal M., Velisek J.: Esters of 3-chloropropane-1,2-diol in foodstuffs. *Czech J. Food Sci.*, 2004, **22**, 190-196.
- [71] Svejkskova B., Doležal M., Velisek J.: Formation and decomposition of 3-chloropropane-1,2-diol esters in models simulating processed foods. *Czech J. Food Sci.*, 2006, **24**, 172-179.
- [72] Tomar R.S., Tsai F.C., Sandy M.S.: Evidence on the carcinogenicity of 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD). Reproductive and Cancer Hazard Assessment Branch. Office of Environmental Health Hazard Assessment (OEHHA). California Environ. Protection Agency. Sept. 2010, pp. 1-38.

- [73] Velisek J., Davidek J., Haislova J., Kubelka V., Janicek G., Mankova G.: Chlorohydrins in protein hydrolyzates. *Z. Lebensmittel Unters. Forsch.*, 1978, **167**, 241-244.
- [74] Velisek J., Calta P., Crews C., Hasnip S., Doležal M.: 3-Chloropropane-1,2-diol in models simulating processed foods: Precursors causing its decomposition. *Czech J. Food Sci.*, 2003, **21**, 153-161.
- [75] Weißhaar R.: Determination of total 3-chloropropane-1,2-diol (3-MCPD) in edible oils by cleavage of 3-MCPD esters with sodium methoxide. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2008, **110**, 183-186.
- [76] Weißhaar R.: Fatty acid esters of 3-MCPD: overview of occurrence and exposure estimates. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2011, **113**, 304-308.
- [77] Wenzl T., Lachenmeier D.W., Gökmen V.: Analysis of heat-induced contaminants (acrylamide, chloropropanols and furan) in carbohydrate-rich food. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2007, **389**, 119-137.
- [78] Xu X.-M., Wu H.-W., He H.-L., Huang B.-F., Han J.-L., Ren Y.-P.: Study of chloropropanols in soy sauce by gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry with coupled column separation without derivatisation. *Food Addit. Contamin. Part A.*, 2013, **30**, 421-429.
- [79] Zalecenie Komisji UE z dnia 10.09.2014 w sprawie monitorowania występowania w żywności 2 i 3-monochloropropano-1,2-diolu (2 i 3-MCPD), estrów kwasów tłuszczowych 2 i 3-MCPD oraz estrów glicydowych kwasów tłuszczowych. *Dz. U. L 271/93 z 12.09.2014*.
- [80] Zelinkova Z., Svejkskova B., Velisek J., Doležal M.: Fatty acid esters of 3-chloropropane-1,2-diol in edible oils. *Food Addit. Contamin.*, 2006, **23**, 1290-1298.
- [81] Zelinkova Z., Novotny O., Schurek J., Velisek J., Hajslova J., Doležal M.: Occurrence of 3-MCPD fatty acid esters in human breast milk. *Food Addit. Contamin. Part A.*, 2008, **25**, 669-678.
- [82] Zelinkova Z., Doležal M., Velisek J.: 3-Chloropropane-1,2-diol fatty acid esters in potato products. *Czech. J. Food Sci.*, 2009, **27**, S421-S424.
- [83] Zelinkova Z., Doležal M., Velisek J.: Occurrence of 3-chloropropane-1,2-diol fatty acid esters in infant and baby formulas. *Eur. Food Res. Technol.*, 2009, **228**, 571-578.

CHLOROPROPANOLS, CHLOROPROPANDIOLS AND THEIR ESTERS IN FOOD – FORMATION, OCCURRENCE, DETERMINATION, REDUCTION OF CONTENT

S u m m a r y

3-MCPD, 2-MCPD, 1,2- and 2,3-DCP and their esters belong to the group of well known process-induced contaminants. The 3-MCPD was first identified in 1978 in acid-hydrolyzed vegetable proteins and its corresponding esters in 1980. Since their discovery more than 35 years later the exact mechanisms of their formation in foods is still studied. 3-MCPD and its esters occur in fat rich food that was thermally processed. In 2006 the huge quantities of 3-MCPD esters were detected in refined vegetable oils. The presented paper contains information on 3-MCPD and its esters formation, occurrence in foods, and on analytical and toxicological aspects. The strategies for the reduction of content of 3-MCPD and 3-MCPD-esters in foods are also briefly discussed.

Key words: chloropropanols, chloropropandiols, 3-MCPD, 3-MCPD-esters, food processed contaminants



HUBERT ANTOLAK, DOROTA KRĘGIEL

BAKTERIE KWASU OCTOWEGO – TAKSONOMIA, EKOLOGIA ORAZ WYKORZYSTANIE PRZEMYSŁOWE

Streszczenie

Bakterie kwasu octowego (AAB) należą do Gram-ujemnych, tlenowych pałeczek, szeroko rozpowszechnionych w przyrodzie. Izolowane są zarówno ze środowisk pochodzenia roślinnego, takich jak: kwiaty, owoce, miody i rośliny uprawne, jak i z zanieczyszczonych smakowych wód mineralnych oraz produktów pochodzących z ukierunkowanych i spontanicznych procesów fermentacyjnych. Taksonomia AAB charakteryzuje się dużą dynamiką. W pracy dokonano przeglądu literatury obejmującej fizjologię, morfologię i właściwości biochemiczne, które wchodzą w zakres identyfikacji polifazowej. W ciągu ostatnich lat badania polifazowe umożliwiły tworzenie nowych rodzajów i gatunków AAB. Omówiono wybrane aspekty wykorzystania bakterii kwasu octowego w przemyśle spożywczym, zwłaszcza w produkcji tradycyjnych octów winnych oraz octów regionalnych. Ponadto przedstawiono zastosowanie AAB w procesach fermentacji ziaren kakaowca oraz wytwarzania herbaty kombucha.

Słowa kluczowe: bakterie octowe, taksonomia polifazowa, ekologia, octy winne, kombucha

Wprowadzenie

Bakterie kwasu octowego (AAB, ang. acetic acid bacteria) izolowane są z owoców, miodów, produktów fermentacji alkoholowej, octów, roślin uprawnych oraz gatunków dziko rosnących [35]. Są to nieprzetrwalnikujące pałeczki o wymiarach $(0,4 \div 1 \mu\text{m}) \times (0,8 \div 4,5 \mu\text{m})$, występujące pojedynczo lub tworzące łańcuszki. Należą do bakterii tlenowych – są katalazo-dodatnie i oksydazo-ujemne. AAB są stosowane w przemyśle, m.in. do produkcji octów, celulozy bakteryjnej i farmaceutyków [36].

Proces biosyntezy kwasu octowego stanowi główny element metabolizmu tlenowego tych bakterii, z tlenem jako końcowym akceptorem elektronów w łańcuchu oddechowym. Substrat tej przemiany – etanol – utleniany jest do kwasu octowego, który

*Mgr inż. H. Antolak, dr hab. inż. D. Kręgiel, Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, Wydz. Biotechnologii i Nauk o Żywności, Politechnika Łódzka, ul. Wólczańska 171/173, 90-924 Łódź.
Kontakt: hubert.antolak@gmail.com*

u niektórych rodzajów AAB ulega dalszej oksydacji do dwutlenku węgla i wody. Proces taki nazywany jest pełnym utlenieniem kwasu octowego (nadoksydacją). Bakterie kwasu octowego, jako główny przekaźnik elektronów w łańcuchu oddechowym, wykorzystują ubiquinon Q10. Wyjątek stanowią szczepy z rodzaju *Acetobacter*, u których stwierdzono obecność koenzymu Q9.

Taksonomia

W roku 1898 Beijerinck zaproponował utworzenie rodzaju *Acetobacter*, a w 1935 r. Asai wydzielił rodzaj *Gluconobacter*. System klasyfikacji bakterii octowych określał wówczas tylko podstawowe cechy morfologiczne i biochemiczne. Uzupełnieniem klasycznych testów diagnostycznych stały się później techniki analizy molekularnej [14]. Gdy udowodniono zawodność jednej metody jako kryterium diagnostycznego, powstało określenie "polifazowy" w odniesieniu do taksonomii bakterii. Koniec lat 70. XX w. to wprowadzenie rybosomalnego rRNA jako uniwersalnego markera do szacowania relacji filogenetycznych pomiędzy mikroorganizmami. W ostatniej edycji Bergey's Manual of Systematic Bacteriology do systematyki bakterii, w tym bakterii octowych, stosuje się analizę rRNA [38].

Badania polifazowe umożliwiły utworzenie nowych rodzajów i gatunków. Rodzina *Acetobacteraceae*, należąca do klasy α -*Proteobacteria*, obejmuje obecnie 33 rodzaje, z których 14 należy do AAB: *Acetobacter*, *Gluconobacter*, *Acidomonas*, *Gluconacetobacter*, *Asaia*, *Kozakia*, *Swaminathania*, *Saccharibacter*, *Neoasaia*, *Granulibacter*, *Tanticharoenia*, *Ameyamaea*, *Komagataeibacter* i *Nguyenibacter*. Dodatkowo, jeden rodzaj AAB – *Frateuria* z rodziny *Xanthomonadaceae* należy do klasy γ -*Proteobacteria* [5, 38, 46, 51].

Taksonomia AAB nadal charakteryzuje się dużą dynamiką. Prowadzi to niejednokrotnie do braku ujednoczonej nomenklatury odnoszącej się do nazw rodzajowych lub gatunkowych. Na przykład AAB początkowo klasyfikowano jako rodzaj *Acetobacter*, później reklasyfikowano jako *Gluconacetobacter*, a ostatnio przeniesiono do nowego rodzaju *Komagataeibacter*. W konsekwencji gatunki *Komagataeibacter europaeus*, *K. hansenii* i *K. xylinus* często pojawiają się w literaturze lub podręcznikach jako AAB należące do różnych rodzajów [38, 51].

Ekologia

Bakterie kwasu octowego zasiedlają środowiska bogate w sacharydy, które stanowią dla nich źródło węgla. Niektóre gatunki należące do rodziny *Acetobacteraceae* biorą udział w spontanicznych procesach fermentacyjnych, a inne związane są z korzeniami roślin uprawnych (tab. 1). Szczepy AAB izolowane są ze środowisk klimatu tropikalnego, śródziemnomorskiego i umiarkowanego.

Gatunkiem AAB obecnym na powierzchni winogron jest *Gluconobacter oxydans*, który razem z *Acetobacter pasteurianus* występuje w świeżym moszczu gronowym. Po fermentacji alkoholowej liczba bakterii *G. oxydans* ulega znacznemu obniżeniu ze względu na niską tolerancję na etanol wytworzony przez drożdże. Sukcesję w środowisku mogą wówczas przejmować inne bakterie kwasu octowego: *Acetobacter aceti*, *A. pasteurianus* i *Gluconacetobacter hansenii* [36].

Badania bioróżnorodności bakterii octowych izolowanych z różnych owoców egzotycznych: papai (*Carica papaya*), brzoskwini (*Persica* Mill), bananów (*Musa* L.), ananasów (*Ananas comosus*), mango (*Mangifera* L.) czy pomarańczy (*Citrus* L.) wykazały, że gatunkiem powszechnie występującym jest *Acetobacter pasteurianus*.

Gatunkiem AAB ściśle związanym z owocami tropikalnego oskomianu pospolitego (*Averrhoa carambola*) jest *Acetobacter orientalis* [23]. Z kolei analiza mikroflory soku palmowego (*Cocos nucifera*) oraz soku trzciny cukrowej (*Saccharum officinarum*) pozwoliła na wyizolowanie z tego materiału szczepu *Gluconacetobacter liquefaciens* [35]. Termotolerancyjny szczep *Acetobacter senegalensis* został wyizolowany z owoców mango uprawianych w Senegalu [30]. W Japonii wyizolowano 11 szczepów z rodzaju *Acetobacter*, zasiedlających łądygi trzciny cukrowej (*Saccharum officinarum*), owoce papai (*Carica papaya*), owoce granatu (*Punica granatum*), owoce śliwy japońskiej (*Prunus salicina*) czy winogron (*Vitis vinifera*). Trzy spośród wyizolowanych szczepów zostały zidentyfikowane jako nowe gatunki: *Acetobacter okinawensis*, *A. papayae* oraz *A. persici* [41]. Natomiast z kwiatów klimatu tropikalnego wyizolowano nowe szczepy, należące do rodzaju *Asaia*: *As. astilbis*, *As. platycodi* oraz *As. prunellae* [22, 42].

Bakterie octowe izolowane są także z wadliwych napojów fermentowanych, smakowych wód mineralnych i napojów bezalkoholowych [20, 21, 27]. Niekorzystna działalność bakterii AAB w winie lub piwie, polegająca na utlenianiu etanolu do kwasu octowego, powoduje pojawienie się w napoju obcego zapachu i posmaku. Zanieczyszczony produkt jest mętny, z możliwymi wyklaczeniami oraz charakterystycznym wzrostem lepkości – napój wylewa się w postaci tzw. strumienia olejowego. Odpowiedzialne za ten efekt są szczepy z rodzajów *Acetobacter*, *Gluconobacter* i *Gluconacetobacter* (*Komagataeibacter*) często rosnące w postaci biofilmu (błonki, kożucha) na powierzchni napoju. Stosowane w napojach bezalkoholowych środki konserwujące: kwas sorbowy, kwas benzoesowy i dimetylodiwęglan nie hamują wzrostu AAB. Bakterie kwasu octowego są jednak bardzo wrażliwe na pasteryzację, a ich namnażanie się zależy od obecności w środowisku wolnego tlenu. Wzrost bakterii octowych jest więc możliwy w napojach rozlewanych na zimno do butelek z tworzyw sztucznych, które są przepuszczalne dla gazów [39].

Tabela 1. Ekologia bakterii kwasu octowego

Table 1. Ecology of acetic acid bacteria

Środowisko naturalne Natural habitat	Izolowane rodzaje / gatunki Isolated genera / species	Literatura Literature
Winogrona i moszcze gronowe Grapes and grape musts	<i>Gluconobacter oxydans</i> <i>Acetobacter aceti</i> <i>Acetobacter pasteurianus</i> <i>Gluconacetobacter hansenii</i>	6, 25
Owoce egzotyczne: papaja (<i>Carica papaya</i>), brzoskwinie (<i>Persica</i> Mill), banany (<i>Musa</i> L.), ananas (<i>Ananas comosus</i>), mango (<i>Mangifera</i> L.), pomarańcza (<i>Citrus</i> L.) Exotic fruits: papaya (<i>Carica papaya</i>), peaches (<i>Persica</i> Mill), bananas (<i>Musa</i> L.), pineapple (<i>Ananas comosus</i>), mango (<i>Mangifera</i> L.), orange (<i>Citrus</i> L.)	<i>Acetobacter pasteurianus</i> <i>Acetobacter senegalensis</i>	30, 35
Owoce oskomanu pospolitego (<i>Averrhoa carambola</i>) Carambola fruits (<i>Averrhoa carambola</i>)	<i>Acetobacter orientalis</i>	23
Sok palmy kokosowej (<i>Cocos nucifera</i>), sok trzciny cukrowej (<i>Saccharum officinarum</i>) Coconut palm (<i>Cocos nucifera</i>) juice, sugar cane (<i>Saccharum officinarum</i>) juice	<i>Acetobacter liquefaciens</i> syn. <i>Gluconacetobacter liquefaciens</i>	35
Owoce granatu (<i>Punica granatum</i>), owoce śliwy japońskiej (<i>Prunus salicyna</i>), winogron (<i>Vitis vinifera</i>) Fruits of pomegranate (<i>Punica granatum</i>), Japanese plum (<i>Prunus salicyna</i>), grapes (<i>Vitis vinifera</i>)	<i>Acetobacter okinawensis</i> <i>Acetobacter papayae</i> <i>Acetobacter persici</i>	41
Kwiaty czerwonego imbiru (<i>Alpinia Purpurata</i>) Red ginger flowers (<i>Alpinia Purpurata</i>)	<i>Neoasaia chiangmaiensis</i>	47
Kwiaty tawułki (<i>Astilbe thunbergii</i> var. <i>congesta</i>); Kwiatostany roślin azjatyckich: rdestu (<i>Persicaria senticosa</i>), komeliny pospolitej (<i>Commelina communis</i>), rozwaru wielkokwiatowego (<i>Platycodon grandiflorus</i>), kryinii azjatyckiej (<i>Crinum asiaticum</i>), kwiaty drzewa storczykowego (<i>Bauhinia purpurea</i>), kwiaty ołownika (<i>Plumbago auriculata</i>) False spirea (<i>Astilbe thunbergii</i> var. <i>Congesta</i>) flowers; Inflorescences of Asian plants: knotweed (<i>Persicaria senticosa</i>), Asiatic dayflower (<i>Commelina communis</i>), balloon flower (<i>Platycodon grandiflorus</i>), giant crinum lily (<i>Crinum asiaticum</i>), orchid tree (<i>Bauhinia purpurea</i>) flowers, cape leadwort (<i>Plumbago auriculata</i>) flowers	<i>Asaia bogorensis</i> <i>Asaia lannensis</i> <i>Asaia astilbis</i> <i>Asaia platycodi</i> <i>Asaia prunellae</i>	40, 45
Smakowe wody mineralne Flavoured mineral waters	<i>Asaia lannensis</i> <i>Asaia bogorensis</i>	20, 21, 27
Napoje fermentowane Fermented drinks	<i>Gluconacetobacter hansenii</i> syn. <i>Gluconacetobacter kombuchae</i>	10, 19
Moskity (<i>Anopheles stephensi</i>) Mosquitoes (<i>Anopheles stephensi</i>)	<i>Asaia</i> sp.	12
Materiał kliniczny	<i>Asaia bogorensis</i>	1, 42

Clinical material		<i>Granulibacter bethesdensis</i>	
Korzenie krzewów kawowca (<i>Coffea arabica</i>) i trzciny cukrowej (<i>Saccharum officinarum</i>) Roots of coffee (<i>Coffea arabica</i>) and cane (<i>Saccharum officinarum</i>) plants		<i>Acetobacter peroxydans</i> syn. <i>Acetobacter pasteurianus</i> <i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i> <i>Gluconacetobacter azotocaptans</i> <i>Gluconacetobacter johannae</i>	3, 13, 32
Fermentacja ziaren kakaowca (<i>Theobroma cacao</i>) Fermentation of cocoa beans (<i>Theobroma cacao</i>)		<i>Acetobacter ghanensis</i>	2, 4, 7, 31
Ocet Vinegar	Ocet winny Wine vinegar	<i>Acetobacter pasteurianus</i> <i>Acetobacter aceti</i> <i>Acetobacter xylinus</i> reklasifikowany na <i>Gluconacetobacter xylinus</i> reklasifikowany na <i>Komagataeibacter xylinus</i> <i>Acetobacter europaeus</i> reklasifikowany na <i>Gluconacetobacter europaeus</i> reklasifikowany na <i>Komagataeibacter europaeus</i>	48
	Ocet balsamiczny Balsamic vinegar	<i>Acetobacter pasteurianus</i> <i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i> <i>Gluconacetobacter liquefaciens</i> <i>Acetobacter europaeus</i> reklasifikowany na <i>Gluconacetobacter europaeus</i> reklasifikowany na <i>Komagataeibacter europaeus</i>	15
	Ocet japoński (Kurosu / Komesu) Japanese vinegar (Kurosu / Komesu)	<i>Acetobacter aceti</i> <i>Acetobacter pasteurianus</i> <i>Gluconacetobacter kakiaceti</i>	18, 29
	Ocet chiński (Shanxi) Chinese vinegar (Shanxi)	<i>Gluconobacter oxydans</i> <i>Acetobacter indonesiensis</i> <i>Acetobacter malorum</i> <i>Acetobacter orientalis</i> <i>Acetobacter senegalensis</i>	33, 44
	Ocet przemysłowy – metoda powierzchniowa (orleańska) Industrial vinegar – surface (Orleans) method	<i>Acetobacter orleanensis</i>	38
	Ocet przemysłowy – metoda wstępna Industrial vinegar – submerged method	<i>Acetobacter aceti</i>	38

Niektóre szczepy bakterii kwasu octowego stymulują wzrost roślin. Wynika to ze zdolności do biologicznego wiązania azotu czy produkcji specyficznych hormonów. Do bakterii octowych wykazujących takie właściwości należą rodzaje: *Gluconacetobacter*, *Swaminathania* oraz *Acetobacter*. Przykładem AAB bytujących w korzeniach roślin uprawnych jest *Gluconacetobacter diazotrophicus*, który zasiedla korzenie indyjskiego ryżu i korzenie trzciny cukrowej uprawianej na terenach Brazylii [28]. Prócz zdolności do asymilacji azotu, jest producentem hormonów wzrostu roślin uprawnych, a także związków skierowanych przeciwko patogenom tych roślin. Nowo opisanymi

gatunkami żyjącymi w symbiozie z roślinami są *Ga. johannae* i *Ga. azotocaptans*, koegzystujące z krzewami kawy uprawianej w Meksyku [13].

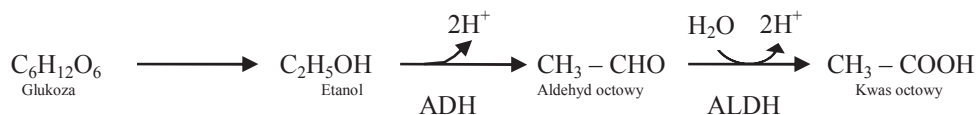
O zróżnicowanej ekologii bakterii octowych świadczy obecność niektórych z nich w jelicie samicy oraz narządach reprodukcyjnych samców komarów w Afryce – *Anopheles gambiae* oraz w Azji – *Anopheles stephensi* odpowiedzialnych za przeniesienie malarii [12].

AAB stanowią grupę mikroorganizmów saprofitycznych (niechorobotwórczych), jednak mogą wywoływać oportunistyczne infekcje u ludzi z obniżoną odpornością. Przewlekła choroba ziarniniakowa (CGD) jest rzadką chorobą dziedziczną, której istotą jest defekt formowania reaktywnych form tlenu przez komórki fagocytyczne. Mutacja genów odpowiedzialnych za kodowanie oksydazy NADPH powoduje niedobór tego enzymu, co z kolei prowadzi do wytworzenia zbyt małych ilości reaktywnych form tlenu, które niszczą bakterie, szczególnie katalazo-dodatnie. Komórki bakterii octowych izolowano od chorych na CGD zarówno z szyjki macicy, jak i nadobojczykowych węzłów chłonnych. Fenotypowa i genotypowa analiza tych bakterii potwierdziła ich przynależność do gatunku *Granulibacter bethesdensis*. Opisano także kilka przypadków bakteriemii wywołanej przez bakterie octowe z rodzaju *Asaia* u osób dorosłych, przewlekłe chorych, poddawanych okresowym dializom oraz u dzieci chorych na kardiomiopatię lub choroby nowotworowe. Szczepy oportunistyczne izolowane z materiału klinicznego charakteryzowały się zróżnicowaną opornością na antybiotyki: doksycyklinę, gentamycynę lub tetracyklinę [1, 42].

Cechy morfologiczne i biochemiczne

Bakterie kwasu octowego są pałeczkami, które wykazują zdolność ruchu dzięki urzęsieniu polarnemu (*Gluconobacter*, *Acidomonas*) lub peritrychalnemu (*Acetobacter*, *Gluconacetobacter*, *Asaia*, *Swaminathania*), chociaż niektóre rodzaje, np. *Kozakia*, *Neoasaia*, *Granulibacter*, *Saccharibacter* takiej zdolności nie wykazują [6, 7]. AAB należą do mikroorganizmów mezofilnych, ich optymalna temperatura wzrostu wynosi $25 \div 30$ °C. Szczepy pozyskane ze środowisk klimatu tropikalnego wykazują wzrost w wyższej temperaturze, wynoszącej $37 \div 40$ °C [30]. Bakterie te najlepiej rosną w środowisku o odczynie kwaśnym, którego pH wynosi $5 \div 6,5$. Namnażanie komórek możliwe jest również w podłożu o pH $3 \div 4$ [20].

Główny metabolit AAB – kwas octowy – produkowany jest z alkoholu etylowego w procesie utleniania. Proces ten katalizowany jest przez dwa enzymy związane z błoną cytoplazmatyczną bakterii: dehydrogenazę alkoholową (ADH) (EC 1.1.1.1) i dehydrogenazę aldehydową (ALDH) (EC 1.2.1.3) (rys. 1).



Rys. 1. Chemizm procesu biosyntezy kwasu octowego

Fig. 1. Process chemistry of acetic acid biosynthesis

Dehydrogenaza alkoholowa jest kompleksem składającym się z dwóch lub trzech podjednostek: jednostki o aktywności dehydrogenazy (72 ÷ 78 kDa), cytochromu c (48 kDa), ważnego dla aktywności tego enzymu oraz podjednostki białkowej o masie ok. 20 kDa, wspomagającej zasadniczą funkcję dwóch większych podjednostek. ADH jest niezależna od NAD(P), chociaż zidentyfikowano także cytoplazmatyczną dehydrogenazę alkoholową zależną od tego dinukleotydu [26]. Aktywność ADH zlokalizowanej w cytoplazmie jest o wiele niższa niż aktywność dehydrogenazy związanej z błoną, zaś optymalne pH zbliżone do obojętnego znacznie ogranicza wpływ tego enzymu na proces utleniania etanolu. Udowodniono, że dehydrogenaza alkoholowa szczepów *Acetobacter* sp. jest bardziej stabilna w środowiskach o wysokiej kwasowości (pH = 3 ÷ 4), co wyjaśnia wyższą produktywność kwasu octowego przez AAB należące tego rodzaju [26]. Dehydrogenaza aldehydowa katalizuje utlenianie aldehydu do kwasu octowego, a jej optymalne pH wynosi 4 ÷ 5. Jest aktywna nawet w środowisku o pH = 3,7, ale aktywność tego enzymu jest zależna zarówno od stężenia tlenu, jak i etanolu.

Bakterie, które zdolne są do produkcji kwasu octowego w ilościach ponad 150 g/l, są stosowane do przemysłowej produkcji octu. Oporność na wytworzony kwas octowy jest cechą szczepu. Udowodniono, że syntaza cytrynianowa (EC 2.3.3.1) odgrywa istotną rolę w oporności szczepu, gdyż wiąże kwas octowy poprzez włączenie go do cyklu Krebsa (TCA) lub cyklu gliksalowego, ale tylko wtedy, gdy w środowisku nie występuje etanol [34].

Szczepy *Acetobacter* prowadzą proces nadoksydacji, utleniając kwas octowy do CO₂ i wody w cyklu TCA, gdy zasoby etanolu w środowisku są wyczerpane. Stwierdzono, że nadoksydacja wywołuje nieodwracalne zmiany w metabolizmie bakterii octowych, po którym są już niezdolne do utleniania alkoholu etylowego. Szczepy *Gluconobacter* sp. nie wykazują zdolności nadoksydacji, w wyniku występowania u tych bakterii tzw. niefunkcjonalnego cyklu Krebsa, a zwłaszcza dwóch niefunkcjonalnych enzymów: dehydrogenazy α-ketoglutaranu (EC 1.2.4.2) i dehydrogenazy bursztynianowej (EC 1.3.99.1) [34].

Sacharydy są najkorzystniejszym źródłem węgla dla AAB. W cytoplazmie tych bakterii zlokalizowana jest zależna od NADP dehydrogenaza glukozowa (EC 1.1.5.2), a w membranie cytoplazmatycznej enzym ten występuje w formie NADP – niezależ-

nej. Glukoza jest utleniana do glukozo- δ -laktanu, a następnie do kwasu glukonowego oraz 2-ketoglukonu i kwasu 2,5-diketoglukonowego. Aktywne szczepy *G. oxydans* mogą produkować nawet 120 g/l kwasu glukonowego. Oprócz glukozy, źródłem węgla dla bakterii kwasu octowego mogą być inne sacharydy: arabinoza lub galaktoza, które metabolizowane są w szlaku pentozofosforanowym [34].

Niektóre rodzaje AAB są również zdolne do metabolizowania różnych kwasów organicznych. Uzyskują to w cyklu Krebsa. Nie dziwi więc, że szczepy *Gluconobacter* sp., które nie wykazują funkcjonalnego cyklu TCA, nie są zdolne do utleniania większości kwasów organicznych, np. octowego, cytrynowego, fumarowego, mlekowego, jabłkowego, pirogronowego lub bursztynowego. Zdolności asymilacyjne bakterii octowych mają istotne znaczenie w procesie izolowania i identyfikacji szczepów środowiskowych (tab. 2) [9].

Przemysłowe wykorzystanie bakterii octowych

Produkcja octu

Ocet jest przezroczystą bezbarwną cieczą, zawierającą zwykle 4 ÷ 15 % kwasu octowego. Chociaż ocet może oznaczać także rozcieńczony kwas octowy wytwarzany chemicznie, to termin „ocet” oznacza w tym opracowaniu kwas octowy – metabolit pierwotny, uzyskiwany metodą biologicznej konwersji etanolu do kwasu octowego.

Ocet jest tradycyjnym produktem biosyntezy, otrzymywanym z naturalnych napojów fermentowanych, zawierających zwykle 10 ÷ 15 % (v/v) alkoholu etylowego.

Surowcem do produkcji octu może być wino, cydr, piwo i inne produkty fermentacji alkoholowej zbóż, owoców, ziemniaków i roztworów sacharydów: melasy, miodu, serwatki. Specyfika octu jest uwarunkowana geograficznie, np. ocet ryżowy jest popularny w Japonii i Chinach, we Francji głównie produkowany jest ocet winny, w Wielkiej Brytanii – ocet słodowy, na Hawajach – ocet ananasowy [34].

Tradycyjne octy winne produkowane są z czerwonych lub białych win gronowych. Natomiast w produkcji octów szlachetnych, np. octu Sherry (Hiszpania) czy octu balsamicznego Aceto Balsamico Tradizionale (Włochy), wykorzystywane są unikatowe surowce gronowe. Produkcja octu balsamicznego przypomina produkcję doskonałego wina. Nazwa „balsamiczny” jest zastrzeżona dla octu wytwarzanego z moszczu gronowego odmiany białej *Trebbiano* lub czerwonej *Lambrusco*. Moszcz gronowy poddaje się gotowaniu aż do zmniejszenia objętości o ok. 1/3, co zwiększa stężenie cukrów oraz powoduje brązowienie produktu (reakcje Maillarda). Zagęszczony moszcz poddaje się fermentacji i dojrzewaniu w beczkach z dębu, kasztanowca, wiśni, morwy lub jałowca. Tradycyjny ocet balsamiczny to produkt co najmniej dwunastoletni. Na unikatowy, silnie aromatyczny smak i zapach octu balsamicznego

Tabela 2. Wybrane właściwości bakterii kwasu octowego
Table 2. Selected characteristics of acetic acid bacteria

Cecha Feature	Rodzaj / Genus													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Urzęsenie Flagellation	Pe / -	-	Pe / -	Pe / -	Po / -	-	Pe	-	-	-	-	Po	-	Pe
Utlenianie etanolu do kwasu octowego Oxidation of ethanol to acetic acid	+	+	- / W	+	+	+	+	V	+	V	+	+	+	-
Utlenianie octanu do CO ₂ i H ₂ O Oxidation of acetate to CO ₂ and H ₂ O	+	+	+	+	-	W	W	-	-	W	-	+	+	+
Wzrost przy 0,35 % kwasu octowego Growth in the presence of 0,35 % acetic acid	+	+	-	+	+	+	+	-	+	Nd	+	+	+	W
Wzrost w obecności 30 % D -glukozy Growth in the presence of 30 % D - glucose	-	-	+	+ / -	+ / -	-	Nd	+	+	Nd	+	-	Nd	W
Produkcja celulozy Cellulose production	-	-	-	+ / -	-	-	Nd	-	Nd	Nd	Nd	Nd	V	-

Asymilacja azotu Nitrogen fixing	V	-	-	-/+	-	-	-	-	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	W
Skład zasad DNA [%mol G +C] G+C content (mol %)	52 - 60	63 - 66	59 - 61	55 - 66	55 - 63	56 - 57	57 - 60	52 - 53	63.1	59	66	65.6	55,8 - 63,4	56,8 - 69,4	
Forma ubichinonu Form of ubiquinone	Q-9	Q-10	Q-10	Q-10	Q-10	Q-10	Q-10	Q-10	Q-10	Q-10	Q-10	Q-10	Q-10	Q-10	Q-10
Produkcja kwasu octowego z: Acetic acid production from:															
D-mannitolu D-mannitol	-/+	-	+/-	+/-	+	-	-	+	W	-	-	-	-	-	-
Glicerolu Glycerol	-/+	-	+	+	+	+	+	-	+	V	+	W	Nd	-	-
Rafinozy Raffinose	-	Nd	Nd	-	-	+	Nd	-	+	Nd	Nd	Nd	Nd	-	-

Objaśnienia: / Explanatory notes:

1 – *Acetobacter*, 2 – *Acidomonas*, 3 – *Asaia*, 4 – *Gluconacetobacter*, 5 – *Gluconobacter*, 6 – *Kozakia*, 7 – *Swaminathania*, 8 – *Saccharibacter*, 9 – *Neosaita*, 10 – *Granulibacter*, 11 – *Tanticharoenia*, 12 – *Ameyamaea*, 13 – *Komagataebacter*, 14 – *Nguyenibacter*.

Po – polarne / polar; Pe – peritrychalne / peritrichous; n – brak / none; + – reakcja pozytywna / positive reaction; W – słaba pozytywna reakcja / weak positive reaction; - – brak reakcji / no reaction; V – zmienne / variable; Nd – nie określone / undetermined.

Opracowano na podstawie: / Developed based on: [6, 35, 50]

składają się produkty i półprodukty powolnych procesów fermentacji wraz z produktami reakcji Maillarda. Dojrzewające, starsze partie octu uzupełnia się świeższymi i przenosi całość do kolejnych, coraz mniejszych beczek. W produkcji octu balsamicznego procesy fermentacji alkoholowej i fermentacji octowej zachodzą równolegle i powoli w ciągu całego okresu dojrzewania [38].

W krajach azjatyckich ocet wytwarza się z ryżu lub z rozcieńczonego sake. Do produkcji tradycyjnych octów chińskich stosuje się kultury *Acetobacter lovaniensis* [8, 38]. Kiedy proces biokonwersji przebiega w temperaturze wyższej niż $25 \div 30$ °C, stosuje się termoodporne szczepy *Acetobacter tropicalis* i *A. pasteurianus*. Z tradycyjnych odmian octu produkowanego z ryżu w Japonii – „Komesu”, „Kurosu”, jak i Chinach – „Wiekowy ocet Shanxi” (ang. *Shanxi Aged Vinegar*), izolowano *A. pasteurianus* oraz *A. senegalensis*, *A. indonesiensis*, *A. malorum*, *A. orientalis* oraz *Gluconobacter oxydans* [29, 43, 44]. Równie często izolowane są: *A. europaeus* (obecnie *Komagataeibacter europaeus*), *A. xylinus* (obecnie *Komagataeibacter xylinus*), *A. intermedius* (obecnie *Komagataeibacter intermedius*) [16, 23, 51]. W innych krajach Azji, z octów regionalnych izolowane są AAB należące do gatunków: *A. senegalensis*, *A. indonesiensis*, *A. malorum*, *A. orientalis*, *Gluconacetobacter kakaiceti* i *Ga. medellinensis* [18].

W produkcji przemysłowej stosuje się głównie tlenowe AAB, należące do *Acetobacter* sp., znacznie rzadziej beztlenowe bakterie z rodzaju *Clostridium*. Dobry szczep produkcyjny powinien charakteryzować się wysoką produktywnością, tolerancją na wysokie stężenie kwasu octowego, niewielkimi wymaganiami pokarmowymi, niezdolnością do nadoksydacji oraz opornością na infekcje fagowe [37].

Inne produkty fermentowane

Należąca do tradycyjnej żywności fermentowanej herbata kombucha zawdzięcza swoje charakterystyczne walory smakowe symbiotycznemu działaniu drożdży i bakterii kwasu octowego. Napój ten wytwarzany jest głównie z liści czarnej i białej herbaty, jednak stosowane są również herbaty zielone [19]. Enzym β -fruktofuranozydaza (EC 3.2.1.2.6) hydrolizuje sacharozę, w wyniku czego powstają cukry proste utleniane przez bakterie octowe do kwasu glukonowego. Herbata ta znana jest w Azji od ponad dwóch tysięcy lat, a na rynkach światowych zyskuje coraz większą popularność, m.in. ze względu na walory prozdrowotne. Wynika to z zawartości polifenoli, kwasu glukonowego, kwasu mlekowego, witamin, aminokwasów, antybiotyków i mikroelementów [11, 24, 49]. Wykazano, że za ogół procesów fermentacyjnych odpowiedzialne są szczepy: *Acetobacter aceti*, *A. xylinus* (obecnie *Komagataeibacter xylinus*), *A. pasteurianus* oraz bakterie z rodzaju *Gluconobacter* [24].

Proces fermentacji z udziałem AAB stosuje się także w obróbce ziaren kakaowca. W badaniach prowadzonych nad bioróżnorodnością mikroorganizmów odpowiedzial-

nych za fermentację ziaren kakaowca ustalono, że prócz drożdży (*Saccharomyces cerevisiae*, *Candida tropicalis*), bakterii kwasu mlekowego (*Lactobacillus cellobiosus*, *Lb. plantarum*), bakterii z rodzaju *Bacillus* (*B. pumilus*, *B. licheniformis*) w procesie biorą udział również bakterie AAB. Wytwarzany przez drożdże etanol wykorzystywany jest przez AAB do produkcji kwasu octowego, który wraz z alkoholem przenika do wnętrza ziaren, powodując w podwyższonej temperaturze śmierć zarodka. Ponadto kwas octowy jest prekursorem substancji odpowiedzialnych za walory smakowe ziaren kakaowca [17]. Wśród izolatów stwierdzono obecność *A. pasteurianus*, *A. ghanensis*, *A. senegalensis*, a także bakterii z rodzaju *Gluconobacter* [4, 31]. Stwierdzono także, że bakterie *Acetobacter* sp. wykazywały wzrost do 24. godziny procesu, uzyskując poziom namnożenia $10^5 \div 10^6$ jtk/g, jednak izolaty charakteryzowały się zróżnicowaną tolerancją na etanol [2].

Podsumowanie

AAB to bardzo zróżnicowana grupa bakterii. Wiedza na temat bakterii octowych ulega ciągłemu poszerzaniu, identyfikowane są nowe gatunki i rodzaje, a poznanie szerokiego spektrum cech biochemicznych podnosi atrakcyjność tych bakterii w zastosowaniu przemysłowym. Pierwotne znaczenie AAB jako producentów octu zostało znacznie rozszerzone. Metabolizm bakterii kwasu octowego umożliwia ich zastosowanie do produkcji żywności fermentowanej o potwierdzonych walorach prozdrowotnych. Rozwój metod i technik badawczych stwarza nowe możliwości wykorzystania tych interesujących mikroorganizmów.

Literatura

- [1] Alauzer A., Teyssier C., Jumas-Bilak E., Gouby A., Chiron R., Rabaud C., Counil F., Lozniewski A., Marchandi H.: *Gluconobacter* as well as *Asaia* species, newly emerging opportunistic human pathogens among acetic acid bacteria. *J. Clin. Microbiol.*, 2010, **48**, 3935-3942.
- [2] Ardhana M.M., Fleet G.H.: The microbial ecology of cocoa bean fermentations in Indonesia. *Int. J. Food Microbiol.*, 2003, **86**, 87-99.
- [3] Ashraf A.M., Rasool M., Mirza S.M.: Nitrogen fixation and indole acetic acid production potential of bacteria isolated from rhizosphere of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). *Adv. Biol. Res.*, 2011, **6**, 348-355.
- [4] Camu N., De Winter T., Verbrugghe K., Cleenwerck I., Vandamme P., Takrama S.J., Vancanneyt M., De Vuyst L.: Dynamics and biodiversity of population of lactic acid bacteria and acetic acid bacteria involved in spontaneous heap fermentation of cocoa beans in Ghana. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2007, **73**, 1809-1824.
- [5] Cleenwerck I., Vandemeulebroecke K., Janssens D., Swings J.: Reexamination of the genus *Acetobacter*, with descriptions of *Acetobacter cerevisiae* sp. nov. and *Acetobacter malorum* sp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Micr.*, 2002, **52**, 1551-1558.
- [6] Cleenwerck I., De Vos P.: Polyphasic taxonomy of acetic acid bacteria: An overview of the currently applied methodology. *Int. J. Food Microbiol.*, 2008, **125**, 2-14.
- [7] Cleenwerck I., González Á., Camu N., Engelbeen K., De Vos P., De Vuyst L.: *Acetobacter fabarum*

- sp. nov., an acetic acid bacterium from a Ghanaian coca bean heap fermentation. *Int. J. Food Microbiol.*, 2008, **58**, 2180-2185.
- [8] De Vero L., Gala E., Gullo M., Solieri L., Landi S., Giudici P.: Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) analysis to evaluate acetic acid bacteria in traditional balsamic vinegar. *Food Microbiol.*, 2006, **23**, 809-813.
- [9] De Vero L., Giudici P.: Significance and management of acetic acid bacteria culture collections. 3rd International Conference on Acetic Acid Bacteria. Vinegar and other products, Cordoba, Spain, 2013.
- [10] De Vuyst L., De Wachter M., González Á.: Differentiation of species of the family *Acetobacteraceae* by AFLP DNA fingerprinting: *Gluconacetobacter kombuchae* is a later heterotypic synonym of *Gluconacetobacter hansenii*. *Int. J. Syst. Evol. Micr.*, 2009, **7**, 1771-1786.
- [11] Dufresne C., Farnworth E.: Tea kombucha, and health: A review. *Food Res. Int.*, 2000, **33**, 409-421.
- [12] Favia G., Ricci I., Damian C., Raddadi N., Crotti E., Marzorati M., Rizzi A., Urso R., Brusetti L., Borin S., Mora D., Scuppa P., Pasqualini L., Clementi E., Genchi M., Corona S., Negri I., Grandi G., Alma A., Kramer L., Esposito F., Bandi C., Sacchi L., Daffonchio D.: Bacteria of the genus *Asaia* stably associated with *Anopheles stephensi*, an Asian material mosquito vector. *P. Nat. Acad. Sci. USA*, 2007, **104**, 9047-9051.
- [13] Fuentes-Ramirez L.E., Bustillos-Crystales R., Tapia-Hernández A., Jimenéz-Salgado T., Wang E.T., Martínez-Romero E.: Novel nitrogen-fixing acetic acid bacteria, *Gluconobacter johannae* sp. nov. and *Gluconacetobacter azotocaptans* sp. nov., associated with coffee plants. *Int. J. Syst. Evol. Micr.*, 2001, **51**, 1305-1314.
- [14] González A., Guillamón J.M., Mas A., Poblet M.: Application of molecular methods for routine identification of acetic acid bacteria. *Int. J. Food Microbiol.*, 2006, **108**, 141-146.
- [15] Gullo M., Giudici P.: Acetic acid bacteria in traditional balsamic vinegar: Phenotypic traits relevant for starter cultures selection. *Int. J. Food Microbiol.*, 2008, **125**, 46-53.
- [16] Gullo M., Caggia C., De Vero L., Giudici P.: Characterization of acetic acid bacteria in „traditional balsamic vinegar”. *Int. J. Food Microbiol.*, 2006, **106**, 209-212.
- [17] Hansen C.E., Del Olmo M., Burri C.: Enzyme activities during cocoa beans fermentation. *J. Sci. Food Agr.*, 1998, **77**, 273-281.
- [18] Iino T., Suzuki R., Tanaka N., Kosako Y., Ohkuma M., Komagata K., Uchimura T.: *Gluconacetobacter kakiaceti* sp. nov., an acetic acid bacterium isolated from a traditional Japanese fruit vinegar. *Int. J. Syst. Evol. Micr.*, 2012, **62**, 1465-1469.
- [19] Jayabalan R., Subathradevi P., Marimuthu S., Sathishkumar M., Swaminathan K.: Changes in free-radical scavenging ability of kombucha tea during fermentation. *Food Chem.*, 2008, **109**, 227-234.
- [20] Kręgiel D., Rygała A., Libudzisz Z.: Bakterie z rodzaju *Asaia* - nowe zanieczyszczenie smakowych wód mineralnych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, **2(75)**, 5-16.
- [21] Kręgiel D., Rygała A., Libudzisz Z., Walczak P., Oltuszek-Walczak E.: *Asaia lannensis*- the spoilage acetic acid bacteria isolated from strawberry-flavored bottled water in Poland. *Food Control*, 2012, **26**, 147-150.
- [22] Krommanee J., Tanasupawat S., Yuphan P., Malimas T., Muramatsu Y., Nakagawa Y., Yamada Y.: *Asaia spathodeae* sp. nov., an acetic acid bacterium in *α-Proteobacteria*. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 2010, **56**, 81-87.
- [23] Lisdiyanti P., Katsura K., Potacharoen W., Navarro R.R., Yamada Y., Uchimura T., Komagata K.: Diversity of acetic acid bacteria in Indonesia, Thailand and the Philippines. *Microbiol. Cult. Coll.*, 2003, **19**, 91-99.
- [24] Marsh J.A., O’Sullivan O.O., Hill C., Ross P.R., Cotter P.D.: Sequence-based analysis of the bacterial and fungal compositions of multiple kombucha (tea fungus) samples. *Food Microbiol.*, 2014, **38**, 171-178.
- [25] Mateo E., Torija M.J., Mas A., Bartowsky E.J.: Acetic acid bacteria isolated from grapes of South Australian vineyards. *Int. J. Food Microbiol.*, 2014, **178**, 98-106.
- [26] Matsushita K., Toyama H., Adachi O.: Respiration chains and bioenergetics of acetic acid bacteria. *Adv. Microb. Physiol.*, 1994, **36**, 247-301.

- [27] Moore J.E., McCalmont M., Xu J., Millar B.C., Heaney N.: *Asaia* sp., an unusual spoilage organism of fruit-flavored bottled water. *Appl. Environ. Microb.*, 2002, **68**, 4130-4131.
- [28] Muthukumarasamy R., Cleenwerck I., Revathia G., Vadivelua M., Janssens D., Hoste B., Gum K.U., Park K., Son C.Y., Sa T., Caballero-Mellado J.: Natural association of *Gluconacetobacter diazotrophicus* and diazotrophic *Acetobacter peroxydans* with wetland rice. *Syst. Appl. Microbiol.*, 2005, **28**, 277-286.
- [29] Nanda K., Taniguchi M., Ujike S., Ishihara N., Mori H., Ono H., Murooka Y.: Characterization of acetic acid bacteria in traditional acetic acid fermentation of rice vinegar (Komesu) and unpolished rice vinegar (Kurosu) produced in Japan. *Appl. Environ. Microb.*, 2001, **67**, 986-990.
- [30] Ndoye B., Lebecqque S., Dubois-Dauphin R., Tounkanra L., Guiro A.T., Kere C., Diawara B., Thonart P.: Thermoresistant properties of acetic acid bacteria isolated from tropical products of Sub-Saharan Africa and destined to industrial vinegar. *Enzyme Microb. Tech.*, 2006, **39**, 916-923.
- [31] Nielsen D., Teniola O., Ban-Koffi L., Owusu M., Andersson T.S., Holzapfel W.H.: The microbiology of Ghanaian cocoa fermentations analyzed using culture-dependent and culture-independent methods. *Int. J. Food Microbiol.*, 2007, **114**, 168-186.
- [32] Pedraza R.O.: Recent advances in nitrogen-fixing acetic acid bacteria. *Int. J. Food Microbiol.*, 2008, **125**, 25-35.
- [33] Prieto C., Jara C., Mas A., Romero J.: Application of molecular methods for analyzing the distribution and diversity of acetic acid bacteria in Chilean vineyards. *Int. J. Food Microbiol.*, 2007, **115**, 348-355.
- [34] Raspor P., Goranovič D.: Biotechnological applications of acetic acid bacteria. *Crit. Rev. Biotechnol.*, 2008, **28**, 101-124.
- [35] Seearunruangchai A., Tanasupawat S., Keeratipibul S., Thawai C., Itoh T., Yamada Y.: Identification of acetic acid bacteria isolated from fruits collected in Thailand. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 2004, **50**, 47-53.
- [36] Sengun I.Y., Karabiyikli S.: Importance of acetic acid bacteria in food industry. *Food Control*, 2011, **22**, 647-656.
- [37] Sharafi S.M., Rasooli I., Besheshti-Maal K.: Isolation, characterization and optimization of indigenous acetic acid bacteria and evaluation of their preservation methods. *Iranian J. Microbiol.*, 2010, **2**, 38-45.
- [38] Solieri L., Giudici P.: Vinegars of the world. In: *Vinegars of the world*. Eds. Solieri L., Giudici P. Springer-Verlag, Segrate 2009, pp. 2-5.
- [39] Stratford M., Capell C.J.: Soft drinks: Microbiology. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. Oxford Academic Press. 2nd ed. Vol. 8. 2003, 5358-5366.
- [40] Suzuki R., Zhang Y., Iino T., Kosako Y., Komagata K., Uchimura T.: *Asaia astilbis* sp. nov., *Asaia platycodi* sp. nov., and *Asaia prunellae* sp. nov. novel acetic acid bacteria isolated from flowers in Japan. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 2010, **56**, 339-346.
- [41] Takao I., Suzuki R., Kosako Y., Ohkuma M., Komagata K., Uchimura T.: *Acetobacter okinawensis* sp. nov., *Acetobacter papayae* sp. nov., and *Acetobacter persicus* sp. nov., novel acetic acid bacteria isolated from stems of sugarcane, fruits, and flowers in Japan. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 2012, **58**, 235-243.
- [42] Tuuminen T., Heinäsmäki T., Kertulla T.: First report of bacteremia by *Asaia bogorensis*, in patient with a history of intravenous-drug abuse. *J. Clin. Microbiol.*, 2006, **44**, 3048-3050.
- [43] Wu J.J., Gullo M., Chen F.S., Giudici P.: Diversity of *Acetobacter pasteurianus* strains isolated from solid-state fermentation of cereal vinegars. *Curr. Microbiol.*, 2010, **60**, 280-286.
- [44] Wu J.J., Ma K.Y., Zhang F.F., Chen F.S.: Biodiversity of yeasts, lactic acid bacteria and acetic acid bacteria in the fermentation of „Shanxi aged vinegar”, a traditional Chinese vinegar. *Food Microbiol.*, 2012, **30**, 289-297.
- [45] Yamada Y., Katsura K., Kawasaki H., Widyastuti Y., Saono S., Seki T., Uchimura T., Komagata K.: *Asaia bogorensis* gen. nov., sp. nov., an unusual acetic acid bacterium in the α -*Proteobacteria*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2000, **50**, 823-829.
- [46] Yukphan P., Malimas T., Muramatsu Y., Takahashi M., Kaneyasu M., Potacharoen W., Tanasupawat S., Nakagawa Y., Hamana K., Tahara Y., Suzuki K.I., Tanticharoen M., Yamada Y.:

- Ameyamaea chiangmaiensis* gen. nov., sp. nov., an acetic acid bacterium in α -Proteobacteria. Biosci. Biotech. Bioch., 2009, **73**, 2156-2162.
- [47] Yukphan P., Malimas T., Potacharoen W., Tanasupawat S., Tanticharoen M., Yamada Y.: *Neosaiia chingmaiensis* gen. nov., sp. nov., a novel osmotolerant acetic acid bacterium in the α -Proteobacteria. J. Gen. Appl. Microbiol., 2005, **51**, 301-311.
- [48] Vegas C.C., Mateo E., González Á., Jara C., Guillamón J.M., Poblet M., Torija J., Mas A.: Population dynamics of acetic acid bacteria during traditional wine vinegar production. Int. J. Food Microbiol., 2010, **138**, 130-136.
- [49] Vijayaraghavan R., Singh M., Rao P.V.L., Bhattacharya R., Kumar P., Sugendran K., Kumar O., Pant S.C., Singh R.: Subacute (90 days) oral toxicity studies of kombucha tea. Biomed. Environ. Sci., 2000, **13**, 293-299.
- [50] Vu H.T.L., Yukphan P., Chaipitakchonlatam W., Malimas T., Muramatsu Y., Bui U.T.T., Tanasupawat S., Duong K.C., Nakagawa Y., Pham H.T., Yamada Y.: *Nguyenibacter vanlangensis* gen. nov., sp. nov., an unusual acetic acid bacterium in the α -Proteobacteria. J. Gen. Appl. Microbiol., 2013, **59**, 153-166.
- [51] www.bacterio.net Dostęp w Internecie: [03.04.2014 r.].

ACETIC ACID BACTERIA – TAXONOMY, ECOLOGY, AND INDUSTRIAL APPLICATION

S u m m a r y

Acetic acid bacteria (AAB) are gram negative, aerobic rods that are widespread in nature. They are isolated both from the environments of plant origin, such as flowers, fruits, honeys, and cultivated plants, and the flavoured mineral waters that are microbiologically contaminated, as well as from the products produced using targeted and spontaneous fermentation processes. The taxonomy of AAB is characterized by high dynamics. This paper is a review of the literature on the physiology and morphology of AAB, and on those biochemical properties thereof, which are included into the range of polyphasic taxonomy. In recent years, the polyphasic studies made it possible to create new genera and species of AAB. Selected aspects are discussed of using acetic acid bacteria in food industry, especially to produce traditional wine vinegars and regional vinegars. Moreover, the use of AAB is described in the fermentation processes of cocoa beans and in the production of kombucha tea.

Key words: acetic bacteria, polyphasic taxonomy, ecology, wine vinegars, kombucha ☒

ALINA ADAMIAK, ALINA GÓRSKA, BARBARA MRÓZ

BAKTERIE PSYCHROTROFOWE W MLEKU SUROWYM I JEGO PRZETWORACH

Streszczenie

W unijnych rozporządzeniach określono ogólne wymagania mikrobiologiczne dotyczące mleka surowego, nie sprecyzowano jednak, jaki ma być skład jakościowy mikroflory. Przy braku higieny doju mleko zostaje zanieczyszczone mikroflorą, która pomimo chłodniczego przechowywania namnaża się i produkuje równocześnie zewnątrzkomórkowe enzymy (głównie proteinazy i lipazy), przyczyniające się do obniżenia jakości mleka i produktów mlecznych. Ze względu na termooporność enzymy pochodzenia bakteryjnego stanowią poważny problem dla przemysłu mleczarskiego. W niniejszej pracy scharakteryzowano źródła zanieczyszczenia mleka surowego mikroflorą psychrotrofową, omówiono skład jakościowy drobnoustrojów psychrotrofowych i właściwości ich enzymów oraz skutki działania proteaz i lipaz podczas magazynowania mleka i jego produktów.

Słowa kluczowe: surowe mleko, bakterie psychrotrofowe, enzymy proteolityczne, enzymy lipolityczne

Wprowadzenie

Mleko, jako produkt zróżnicowany pod względem zawartości składników pokarmowych, stanowi dobrą pożywkę dla rozwoju bakterii. Ze względu na specyfikę jego pozyskiwania nie jest możliwe uniknięcie zanieczyszczenia mleka mikroorganizmami. Dlatego ogólna liczba drobnoustrojów jest ważnym wskaźnikiem przy określaniu jego jakości higienicznej [4, 38]. Zgodnie z rozporządzenia Komisji (WE) nr 1662/2006 z dnia 6 listopada 2006 r. [39] mleko surowe nie powinno zawierać więcej niż 100 tys. drobnoustrojów w 1 ml. Dobra jakość mleka surowego warunkuje jego przydatność technologiczną oraz odpowiednią jakość i trwałość przetworów mleczarskich. Zanieczyszczenie mikrobiologiczne surowego mleka zależy m.in. od takich czynników, jak:

*Mgr inż. A. Adamiak, Katedra Hodowli Bydła i Oceny Mleka, prof. dr hab. Alina Górską, dr Barbara Mróz, Katedra Dietetyki i Oceny Żywności, Wydz. Przyrodniczy, Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach, ul. Prusa 14, 08-110 Siedlce.
Kontakt: ala.witkowska@interia.pl*

stan zdrowotny krów, warunki higieniczne gospodarstwa, higiena doju oraz temperatura przechowywania mleka [27, 50]. Obowiązek niezwłocznego schładzania mleka bezpośrednio po udoju przyczynił się do znacznej poprawy jakości mleka surowego i przetworów mleczarskich. Równocześnie powstały dobre warunki do rozwoju bakterii zimnolubnych [39]. Dominującą mikroflorę schłodzonego mleka surowego stanowią bakterie psychrotrofowe, zdolne do wydzielania zewnątrzkomórkowych enzymów, szczególnie proteolitycznych i lipolitycznych, warunkujących psucie się gotowych wyrobów mleczarskich [8, 9, 22].

W niniejszej pracy przedstawiono charakterystykę bakterii psychrotrofowych występujących w mleku surowym i jego produktach oraz skutki ich działania.

Źródła zanieczyszczenia mikrobiologicznego mleka surowego

Bakterie psychrotrofowe są powszechne w przyrodzie, występują w wodzie, glebie, na roślinach i w powietrzu. Mogą gromadzić się w rurociągach, paszy (w tym w kiszonkach niskiej jakości), trawie, ściółce, kale, na powierzchni strzyków oraz sprzętu mleczarskiego. Nie są jednak naturalną mikroflorą znajdującą się w wymionach krów, dlatego ich obecność jest wyłącznie wynikiem zanieczyszczenia mleka surowego w trakcie doju lub po nim [3, 14, 20, 40].

Wśród źródeł zanieczyszczenia Gram-ujemnymi bakteriami psychrotrofowymi należy wymienić pozostałości wody w dojarkach i rurociągach podających mleko oraz w zbiornikach chłodzących, brudne wymiona i strzyki, nieodpowiednio czyszczone powierzchnie mające kontakt z mlekiem w trakcie jego transportu i dalszego magazynowania w mleczarni. Z kolei obecność przetrwalnikujących bakterii psychrotrofowych z rodzaju *Bacillus spp.* zwykle tłumaczona jest tzw. efektem sezonowości. Głównymi źródłami zanieczyszczenia mleka tymi bakteriami w okresie zimowym są siano i pył, a w lecie – zabrudzone ziemią wymiona i strzyki [40, 41]. Christiansson i wsp. [13] potwierdzili w badaniach, że liczba zarodników w mleku surowym jest skorelowana ze stopniem zanieczyszczenia strzyków glebą. Z kolei Lukaseva i wsp. [31] oraz Foltys i Kirchnerova [16] nie potwierdzili wpływu „efektu sezonowości” na obecność *Bacillus spp.* w mleku surowym. Lukaseva i wsp. [31] tłumaczyli duże zanieczyszczenie mleka bakteriami z rodzaju *Bacillus spp.* w sierpniu i październiku brakiem higieny podczas doju i przechowywania mleka. Berthold i Molska [3] stwierdziły

w 1 g gleby obecność $10^3 \div 10^7$ jtk komórek wegetatywnych *Bacillus cereus* i $10^2 \div 10^5$ jego przetrwalników, natomiast w 1 g kału pobranego z otoczenia krów było $10^2 \div 10^5$ jtk przetrwalników *Bacillus cereus*. Większość analizowanych pasz zawierała przetrwalniki *Bacillus cereus*, a ich liczba mieściła się w granicach $10 \div 10^4$ w 1 g. Kał i gleba, ze względu na łatwość zanieczyszczenia powierzchni strzyków krów, stanowią znaczne zagrożenie dla mleka. Zajac i Brzozowska [49] wykazały, że ocenione wzro-

kowo jako czyste strzyki krów utrzymywanych w pomieszczeniach zamkniętych były przyczyną wzrostu zanieczyszczenia mleka średnio o 10^4 jtk/ml. Udział komórek bakterii z powierzchni strzyków ocenionych wzrokowo jako brudne w ogólnym zanieczyszczeniu mleka był większy i osiągnął 10^5 jtk/ml, natomiast zanieczyszczenie mleka pozyskanego po umyciu i dezynfekcji strzyków było mniejsze niż 10^3 jtk/ml. Jak podaje Ziarno [50], w przypadku zdrowej krowy i czysto przeprowadzonego doju pozyskane mleko zanieczyszczone jest jedynie nieliczną mikroflorą saprofityczną na poziomie do kilku tysięcy komórek w 1 ml. Natomiast niehigieniczny dój i nieprawidłowe przechowywanie surowca skutkują zwiększeniem liczby komórek bakterii do poziomu od kilkuset tysięcy do kilkudziesięciu milionów w 1 ml.

Bakterie psychrotrofowe w mleku

Bakterie psychrotrofowe nie są jedną grupą taksonomiczną, określenie to charakteryzuje drobnoustroje różnego gatunku zdolne do wzrostu w temp. $7\text{ }^{\circ}\text{C}$ lub niższej, niezależnie od ich optymalnej temperatury wzrostu [40], która wynosi $20 \div 30\text{ }^{\circ}\text{C}$. Zdolność bakterii psychrotrofowych do wzrostu i aktywności metabolicznej w niskiej temperaturze związana jest z budową błony komórkowej, która, wzbogacona w wielonienasycone kwasy tłuszczowe, chroni i zapewnia prawidłową przepuszczalność oraz aktywny transport metabolitów niezbędnych do wzrostu [40].

Kukula [27] stwierdziła większą liczbę bakterii psychrotrofowych w mleku w cieplejszych porach roku, co uzasadnia warunkami korzystnymi do namnażania mikroorganizmów w wyższej temperaturze. Wykazała ona, że przy ogólnej liczbie bakterii w mleku na poziomie 10^6 jtk/ml udział komórek bakterii psychrotrofowych pozostawał na poziomie niższym o 1 do 2 rzędów wielkości. Przy zwiększeniu ogólnego zanieczyszczenia mleka, zwiększała się również liczba komórek bakterii psychrotrofowych. Z kolei w badaniach prowadzonych od wielu lat w Zakładzie Biotechnologii Mleka SGGW wykazano, że w mleku pozyskanym z doju mechanicznego, przechowywanym w warunkach chłodniczych, udział bakterii psychrotrofowych w ogólnej liczbie drobnoustrojów wynosił $30 \div 60,7\%$, ale analizy przeprowadzone w warunkach przemysłowych wskazują, że udział ten może przewyższać 90% [50]. Cempirkova [6] potwierdziła wysoką korelację pomiędzy ogólną liczbą drobnoustrojów mleka surowego i liczbą komórek bakterii psychrotrofowych ($r = 0,69$, $p < 0,01$). Ponadto wykazała znaczący wpływ systemu utrzymania krów i techniki doju na ogólną liczbę drobnoustrojów i liczbę bakterii psychrotrofowych mleka. Ogólna liczba bakterii w mleku pochodzącym od krów utrzymywanych w oborach wolnostanowiskowych i dojonych w hali udojowej wyniosła $5 \times 10^3 \div 370 \times 10^3$ jtk/ml, w tym liczba bakterii psychrotrofowych $0,9 \times 10^3 \div 39,7 \times 10^3$ jtk/ml, a od krów utrzymywanych w systemie uwięzionym i dojonych dojarką przewodową odpowiednio $5 \times 10^3 \div 4\,239 \times 10^3$ jtk/ml i $1,4 \times 10^3 \div 64,8 \times 10^3$ jtk/ml.

Hantsis-Zacharov i wsp. [22] stwierdzili, że ok. 20 % bakterii wyizolowanych z mleka surowego stanowiły bakterie psychrotrofowe, które zaklasyfikowali do siedmiu klas: *Gammaproteobacteria*, *Bacilli*, *Acinobacteria*, *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Flavobacteria* i *Sphingobacteria*. Trzy pierwsze klasy zawierały po 18 ÷ 21 gatunków bakterii i dominowały w zależności od pory roku. Klasa *Gammaproteobacteria* dominowała w sezonie jesiennym i zimowym, *Bacilli* – w sezonie letnim, a *Acinobacteria* – w jesiennym. Dominującym rodzajem w obrębie wyżej wymienionych klas były: *Pseudomonas* i *Acinetobacter* (*Gammaproteobacteria*), *Microbacterium* (*Acinobacteria*) oraz bakterie fermentacji mlekowej *Leuconostoc* i *Lactococcus* (*Bacilli*). Większość autorów zajmujących się badaniem jakościowym flory bakteryjnej mleka surowego podaje, że drobnoustroje psychrotrofowe zdolne do wzrostu w mleku surowym w temp. bliskiej 0 °C reprezentowane są przez Gram-ujemne bakterie, takie jak: *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Aeromonas*, *Serratia*, *Alcaligenes*, *Chromobacterium* i *Flavobacterium* oraz Gram-dodatnie bakterie z rodzajów: *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* i *Microbacterium* [6, 7, 27, 40, 44, 46].

Wśród psychrotrofowej mikroflory mleka największe zainteresowanie mikrobiologów i technologów mleczarstwa wzbudzają gatunki reprezentowane przez *Pseudomonas* spp. oraz *Bacillus* spp. [42, 43]. Bakterie z rodzaju *Pseudomonas*, odporne w lekko alkalicznym środowisku, mogą rozmnażać się w urządzeniach mytych tylko środkami alkalicznymi, niestarannie wypłukanych i niezdezynfekowanych [1, 35]. Adams i wsp. [2] wykazali, że 70 ÷ 90 % bakterii psychrotrofowych wyizolowanych z surowego mleka przechowywanego przez tydzień w temp. 4 °C należało do *Pseudomonas* spp. Podobne wyniki uzyskali Craven i Macauley [15], którzy potwierdzili obecność wymienionych bakterii w 87 % próbek pasteryzowanego mleka przechowywanego w temperaturze 4 °C. Natomiast Moussa i wsp. [35] wykazali, że ponad 50 % ogólnej liczby bakterii psychrotrofowych w mleku należało do rodzaju *Pseudomonas*. Wyizolowali oni z próbek surowego mleka pięć dominujących gatunków, tj. *Pseudomonas fluorescens* (20 %), *Aeromonas hydrophila* (16 %), *Pseudomonas cepacia* (13 %), *Pseudomonas putida* (6 %) i *Chryseomonas luteola* (5 %). Większość tych bakterii (58 ÷ 91 %) produkuje zewnątrzkomórkowe enzymy: proteazy, lipazy i fosfolipazy. W porównaniu z innymi bakteriami psychrotrofowymi *Pseudomonas* spp. charakteryzuje się krótkim czasem generacji (<4 h), co oznacza, że zanieczyszczenie jedną komórką wyżej wymienionej bakterii może prowadzić do zwiększenia ich liczby do wartości 10⁶ jtk/ml w mleku przechowywanym przez 8 dni w temp. 4 °C [40].

Wśród ciepłoodpornej, psychrotrofowej i przetrwalnikującej mikroflory mleka dominuje *Bacillus* spp. [45]. Phillips i Griffiths stwierdzili [37], że 86 % ciepłoodpornych bakterii psychrotrofowych wyizolowanych z mleka surowego stanowiły bakterie z tego rodzaju. *Bacillus* spp. są bardziej niejednorodną grupą aniżeli *Pseudomonas* spp., charakteryzującą się w obrębie grupy różnymi wymaganiami żywieniowymi,

zdolnością do wzrostu w szerokim przedziale temperatur i pH oraz wykazującą inną oporność na ciśnienie osmotyczne. Wśród bakterii należących do rodzaju *Bacillus* najczęściej izolowanymi gatunkami w mleku surowym i pasteryzowanym oraz w produktach mleczarskich są: *B. stearothermophilus*, *B. licheniformis*, *B. coagulans*, *B. cereus*, *B. subtilis* i *B. circulans*. W stosunku do *Pseudomonas* spp. wegetatywne komórki *Bacillus* spp. mają większą zdolność do wydzielania zewnątrz- i wewnątrzkomórkowych enzymów hydrolitycznych [10, 11, 19, 23, 40]. W 40 ÷ 84 % przypadków stwierdzono, że *Bacillus* spp., a w szczególności gatunek *B. cereus* wyizolowany z mleka, produkował enzymy lipolityczne i proteolityczne, a w ok. 80 % także fosfolipazę [33, 40]. Czas trwania jednej generacji (ok. 8,5 h) i okres fazy przygotowawczej (lag fazy) psychrotrofowych laseczek z rodzaju *Bacillus* w temp. 2 ÷ 7 °C są znacznie dłuższe niżeli *Pseudomonas* spp. Mimo tego zarodnikujące formy *Bacillus* spp. mogą stać się dominującym zanieczyszczeniem mleka przechowywanego w temp. 10 °C [45, 46]. Sorhoug i Stepaniak [46] podają, że ok. 25 % wszystkich problemów związanych z trwałością konwencjonalnie pasteryzowanego mleka i śmietanki w USA może być powiązana z ciepłoopornymi bakteriami psychrotrofowymi.

Enzymy bakterii psychrotrofowych oraz ich wpływ na jakość mleka i jego przetworów

Bakterie psychrotrofowe mleka surowego powodują stopniowe niekorzystne i nieodwracalne zmiany jego składu chemicznego oraz cech sensorycznych, a natężenie tych zmian zależy od początkowej liczby i charakteru drobnoustroju. Prawidłowo przeprowadzony proces pasteryzacji mleka surowego zredukuje liczbę bakterii Gram-ujemnych, wegetatywne formy ciepłoopornych bakterii Gram-dodatnich, jednak ich przetrwalniki przetrwają. Także enzymy proteolityczne i lipolityczne oraz inne metabolity wydzielane do mleka przez bakterie psychrotrofowe przetrzymują pasteryzację, a nawet sterylizację [6, 8, 9, 26].

Drobnoustroje z rodzaju *Pseudomonas* wydzielają do środowiska dwa lub trzy immunologicznie niepowiązane enzymy proteolityczne i jeden lipolityczny. Enzymy te wydzielane są do mleka pod koniec fazy intensywnego wzrostu komórek lub w fazie stacjonarnej [10, 11, 25]. Proteinaza wydzielana przez *Pseudomonas* spp. zachowuje 55 ÷ 60 % aktywności po obróbce termicznej w 77 °C przez 17 s i 20 ÷ 49 % aktywności po obróbce termicznej w 140 °C przez 10 s, a proteinazy produkowane przez dziesięć różnych gatunków z rodzaju *Pseudomonas* przetrwały obróbkę cieplną w 149 °C przez 10 s [2, 21, 34].

Większość enzymów proteolitycznych wytwarzanych przez *Pseudomonas* spp. zawiera jeden atom cynku i do ośmiu atomów wapnia w cząsteczce (metaloenzymy). Optimum ich działania znajduje się w zakresie pH 6,5 ÷ 8. Rozwój ten może nastąpić w mleku pozbawionym aktywności bakterii kwaszących, które zostaną zahamowane na

skutek schłodzenia mleka. Proteiny wydzielane są przez *Pseudomonas* spp. również w mleku rozcieńczonym do 5000 razy, tym samym mogą gromadzić się w źle wypłukanych i zdezynfekowanych zbiornikach i rurociągach [10, 46].

W porównaniu z *Pseudomonas* spp. gatunki z rodzaju *Bacillus* zdolne są do produkcji bardziej zróżnicowanych enzymów proteolitycznych, a wiele z nich może także produkować więcej niż jeden rodzaj proteiny. Chopra i Mathur [12] stwierdzili, że *Bacillus stearothermophilus* wyizolowany z surowego mleka produkuje dwie proteiny: metaloproteinę RM-67 I o masie cząsteczkowej ok. $67,6 \cdot 10^3$ Da i proteinę serynową RM-67 II o masie cząsteczkowej ok. $20 \cdot 10^3$ Da. Obie proteiny wykazują optimum działania przy pH 8. Wykazano także, że enzymy proteolityczne pochodzące od *Bacillus stearothermophilus* i *Bacillus licheniformis* nie tracą aktywności po obróbce cieplnej w temp. 70 °C przez 10 min [10, 12, 46].

Wśród Gram-ujemnych bakterii psychrotrofowych *Pseudomonas* ssp. jest przyczyną niekorzystnych zmian jakościowych mleka pasteryzowanego w 15 ÷ 33 %. Nawet bardzo niska początkowa liczba ich komórek podczas dłuższego przechowywania mleka pasteryzowanego może osiągnąć poziom $10^6 \div 10^7$ jtk/ml w ciągu 10 dni i powodować zmiany smaku, zapachu a tym samym skracać długość terminu przydatności do spożycia mleka pasteryzowanego [5, 28, 48].

Przy wysokich standardach higienicznych, jakie wdrożono w zakładach mleczarskich, to właśnie wzrost i aktywność *Pseudomonas* spp. i *Bacillus* spp., pochodzących z tzw. reinfekcji, jest jednym z najczęstszych szkodliwych czynników decydujących o jakości mleka pasteryzowanego (w temp. 72 °C przez 12 ÷ 15 s) przechowywanego w temp. 4 ÷ 7 °C. Zakładając, że poziom reinfekcji *Pseudomonas* spp. w pierwszych dniach przechowywania wynosi 1 jtk/ml, uwzględniając czas generacji 9,4 h w temp. 4 °C, w ciągu 10 dni liczba komórek bakterii wzrośnie do $3 \cdot 10^7$ jtk/ml [46]. Popasteryzacyjny wzrost komórek bakterii potwierdzają Śmietana i wsp. [48], którzy po pasteryzacji mleka surowego, o początkowej wartości ogólnej liczby drobnoustrojów $2,9 \cdot 10^5$ jtk/ml, uzyskali redukcję OLD do poziomu $8,2 \cdot 10^2$ jtk/ml. W czasie przechowywania zaobserwowano jednak zwiększenie wartości tego wskaźnika do $6,0 \cdot 10^5$ jtk/ml w ostatnim dniu przechowywania (9. dzień). Liczba komórek bakterii psychrotrofowych po obróbce termicznej była niższa niż 10 jtk/ml. Jednak już pierwszego dnia przechowywania wynosiła $1,0 \cdot 10^3$ jtk/ml i nieznacznie zmieniała się w trakcie przechowywania. Pasteryzacja zmniejszyła populację bakterii ciepłopornych o dwa rzędy wielkości i nie zaobserwowano wzrostu komórek tych drobnoustrojów w trakcie przechowywania. Liczba komórek bakterii tlenowych przetrwalnikujących (*Bacillus*) została natomiast zredukowana z $4,0 \cdot 10^2$ do $3,0 \cdot 10^1$ jtk/ml. Jednak już po pierwszym dniu przechowywania stwierdzono jej zwiększenie o jeden rząd wielkości, zaś w ostatnim dniu przechowywania populacja tych bakterii była równa liczbie oznaczonej w mleku surowym.

W przypadku, gdy wyizolowany czysty szczep *Pseudomonas fluorescens* dodano do mleka UHT, kolejne etapy w ocenie smaku określono jako: świeży, nieświeży, nieco przestarzały, nieczysty lub o łagodnym posmaku, lekko gorzki i gorzki [45, 46]. Z kolei przechowywane mleko UHT w warunkach doświadczalnych (temp. 37 °C), zanieczyszczone szczepami *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *B. licheniformis* po 30 dniach charakteryzowało się obcym smakiem i galaretowatą konsystencją [29, 36, 40].

Wzmożony wzrost i aktywność metaboliczna drobnoustrojów z rodzaju *Pseudomonas* i *Bacillus* w mleku przechowywanym w temp. 4 °C prowadzi do nagromadzenia enzymów proteolitycznych – proteinaz, które hydrolizują kazeinę do rozpuszczalnych peptydów. Rozłożone białko traci swoje właściwości i przydatność technologiczną, szczególnie w serowarstwie. Gorzyczka w mleku, galaretowacenie mleka UHT i zmniejszona produkcja miękkiego sera są efektem obecności proteinaz produkowanych przez bakterie psychrotrofowe. Większość proteinaz jest zdolna do rozkładu przede wszystkim kazeiny, a w tym jej frakcji β , a następnie α_s i κ . Białka serwatkowe są rozkładane na ogół wolniej i nie przez wszystkie bakterie [45, 46].

Sorhaug i wsp. [46] stwierdzili rozwój nieswoistego zapachu, a także smaku gorzkiego oraz problemy z teksturą sera, spowodowane psychrotrofozymi enzymami proteolitycznymi, gdy ogólna liczba bakterii psychrotrofozowych w mleku wynosiła $2,0 \times 10^6 \div 5,0 \times 10^8$ jtk/ml. Enzymy proteolityczne bakterii psychrotrofozowych stymulują uwalnianie plazminy i plazminogenu z miceli kazeinowych w mleku surowym. W praktyce oznacza to, że wysoka aktywność plazminy już w mleku przerabianym na sery powoduje zmniejszenie zdolności do tworzenia skrzepu serowarskiego i straty białek z serwatką na skutek wypłukiwania plazminy i plazminogenu z masy serowej do serwatki, a tym samym zmniejszenie wydajności produkcji. Zanieczyszczenie mleka surowego na poziomie 10^3 jtk/ml bakteriami psychrotrofozowymi, przechowywanego przez 48 h, zmniejsza wydajność o ok. 4 % [10, 30, 40]. Ponadto pozostające w skrzepie serowym enzymy proteolityczne przy zmniejszonym stężeniu plazminy powodują nietypowy zapach podczas dojrzewania, szczególnie serów półtwardych, które długo dojrzewają [17, 18, 40].

Smak twarogu wyprodukowanego z mleka zawierającego 5 ng/ml proteinazy P1 z *P. fluorescens*, po upływie 3 tygodni przechowywania w temp. 7 °C, był znacząco niżej oceniany ze względu na smak gorzki [46].

Interesującą konsekwencją aktywności enzymów proteolitycznych jest stymulacja rozwoju w mleku komórek bakterii kwasu mlekowego. Dzieje się tak prawdopodobnie dlatego, że bakterie te mogą korzystać z peptydów, aminokwasów i amoniaku produkowanych przez psychrotrofy. Z drugiej strony, wolne kwasy tłuszczowe uwalniane przez *Pseudomonas* spp. mogą hamować wzrost bakterii kwasu mlekowego. Podobnie enzymy proteolityczne wytwarzane przez *P. fluorescens*, które przyczyniają się do

posmaku goryczy w mleku, były stosowane z dobrym skutkiem do przyspieszenia dojrzewania serów Cheddar [46].

Bakterie z rodzaju *Pseudomonas* wykazują także silne właściwości lipolityczne, a wydzielane przez nie do środowiska lipazy wchodzą w kontakt z tłuszczem mlecznym. Lipazy wytwarzane przez *P. fluorescens* i *P. fragi* wykazują optimum działania odpowiednio przy pH 6,5 i 7,5, ale znaczną część aktywności zachowują jeszcze przy pH 5,0 ÷ 5,5. Większość bakterii psychrotrofowych produkuje lipazy w późnej fazie logarytmicznej oraz we wczesnej stacjonarnej fazie wzrostu. Bakterie wytwarzają także fosfolipazy uszkadzające otoczki kuleczek tłuszczu mlecznego, co znacznie ułatwia działanie lipazom [10, 46]. Produkcję lipaz stwierdzono zarówno w przypadku Gram-ujemnych, jak i Gram-dodatnich bakterii psychrotrofowych. Jednak w przeciwieństwie do *Pseudomonas* spp., których enzymy lipolityczne zakwalifikowano do sześciu biochemicznych grup, enzymy lipolityczne wydzielane przez rodzaj *Bacillus* są ściśle związane z zewnątrzkomórkowymi i wewnątrzkomórkowymi lipazami, które należą tylko do dwóch grup [11]. Bakteryjne enzymy lipolityczne są zróżnicowane pod względem właściwości i specyfikacji podłoża. Na ogół mają masę cząsteczkową $30 \cdot 10^3$ ÷ $50 \cdot 10^3$ Da, a optimum działania w zakresie pH 7 ÷ 9. Większość z nich jest specyficzna w pozycji *sn-1* i *sn-3* triacylogliceroli, a niektóre hydrolizują diacyloglicerole i monoacyloglicerole, szybciej niż triacyloglicerole [35]. W przeciwieństwie do lipazy lipoproteinowej (LPL) mleka, lipazy bakteryjne są zdolne do hydrolizy nienaruszonych kuleczek tłuszczu mleka, ale tryb dostępu i mechanizm tego działania nie są jeszcze poznane [12, 32].

Podobnie jak proteiny, również lipazy wytwarzane przez *Pseudomonas* spp. i *Bacillus* spp. są względnie stabilne termicznie, np. wyizolowana z surowego mleka lipaza produkowana przez *Pseudomonas* spp. zachowała 55 ÷ 100 % aktywności podczas obróbki termicznej w temp. 63 °C przez 30 min. Natomiast większość lipaz produkowanych przez *Bacillus* spp. wykazywała najwyższą aktywność w temp. 60 ÷ 75 °C [11]. Lipazy są bardziej stabilne termicznie niż proteiny. Prawdopodobnie dlatego wykazują wyższą aktywność podczas przechowywania mleka w proszku [45, 46, 47].

Gorzki smak śmietanki i pływające grudki tłuszczu, występujące w produktach mleczarskich, związane są z obecnością komórek *Bacillus* spp. w liczbie ok. 10^6 jtk/ml lub większej i sugerują wyjątkową zdolność bakteryjnej fosfolipazy do uszkadzania błon kuleczek tłuszczowych [45, 46, 47]. Matta i Punji [33] wykazali, że 48 próbek surowego mleka było zanieczyszczone bakteriami psychrotrofowymi o właściwościach lipolitycznych, takimi jak: *Bacillus cereus*, *B. polymyxa*, *B. licheniformis*, *B. circulans*, *B. subtilis*, *B. laterosporus* i *B. coagulans*.

Janstova i wsp. [24] badali zmianę stężenia wolnych kwasów tłuszczowych (FFA) w mleku sterylizowanym zanieczyszczonym *Bacillus* spp. Po trzech tygodniach prze-

chowywania mleka UHT w temp. 24 °C początkowe stężenia FFA – 41,97 mmol/kg zwiększyło się do 1617,22 mmol/kg. Największy wzrost stężenia FFA w mleku UHT zaobserwowano przy zanieczyszczeniu mleka jednocześnie dwoma gatunkami: *B. licheniformis* i *B. cereus*. Ze względu na intensywną lipolizę i proteolizę nastąpiło skrócenie terminu przydatności do spożycia mleka UHT o 25 %.

Jak podają Smarzija i wsp. [40], mikroflora psychrotrofowa w 25 % jest przyczyną skrócenia terminu przydatności do spożycia śmietany i masła produkowanych wyłącznie ze schłodzonego mleka surowego. Produkty te ze względu na dużą zawartość tłuszczu są bardziej podatne na zepsucie spowodowane lipolizą aniżeli proteolizą. Koka i wsp. [26] stwierdzili, że główne drobnoustroje psychrotrofowe związane z jęlczeniem masła i śmietany to *P. fragi* i *P. fluorescens*. Gatunki te namnażają się przy zwiększonej wilgotności masła i wówczas *P. fragi* uwalnia estry kwasu jabłkowego, w konsekwencji czego pojawia się jełki smak. Z kolei *P. putrefaciens* rośnie na powierzchni masła, uwalniając kwasy organiczne, a w szczególności kwas izowalerianowy, który jest rozpoznawalny po 7 ÷ 10 dniach jako zgniły zapach masła. Oba gatunki mogą wydzielać zielonkawy barwnik, który odpowiedzialny jest za nieprzyjemne przebarwienia masła. *P. mephitica* oraz *P. nigrificiens* odpowiedzialne są za rzadziej opisywane wady masła, jak nieprzyjemny smak i czarne przebarwienia [26, 40].

W serach dojrzewających aktywność lipolityczna bakterii psychrotrofowych rozpoczyna się w końcowej fazie dojrzewania sera i odpowiedzialna jest za obcy smak spowodowany uwalnianiem przez lipazy FFA z kuleczek tłuszczowych. W przypadku zanieczyszczenia sera lipazą pochodzącą od *P. fluorescens* jęlczenie serów twardych rozpocznie się po ok. 2 miesiącach dojrzewania [40, 46].

Mleko fermentowane z powodu niskiego pH 4,2 ÷ 4,6 nie jest odpowiednim środowiskiem dla większości bakterii. Jednak użycie do jego produkcji mleka surowego, wysoko zanieczyszczonego mikrobiologicznie, stwarza problemy technologiczne. Mikroflora psychrotrofowa hydrolizująca białko i tłuszcz w mleku surowym powoduje niekorzystne zmiany tekstury i zapachu wyrobu gotowego. Na przykład zhydrolizowana κ-kazeina z mleka surowego w jogurcie ma żelową konsystencję, zwiększoną lepkość i ulega szybciej synerезie [40].

Inaktywacja zewnątrzkomórkowych, stabilnych w wysokich temperaturach hydrolaz, pochodzących od bakterii psychrotrofowych, wymagałaby takich zabiegów termicznych, które są niedopuszczalne w przemyśle mleczarskim. Mogłyby one doprowadzić choćby do zmiany barwy mleka na skutek reakcji Maillarda [46]. Pomimo badań nad termoopornością enzymów pochodzących od bakterii psychrotrofowych oraz ich wpływu na podstawowe składniki mleka, mechanizmy ich syntezy nie są jeszcze wyjaśnione. Potwierdza to z jednej strony ich złożoność i różnorodność, z drugiej – utrudnia ustalenie metod i celów ich kontroli [2, 10, 12, 17, 21, 25, 26, 32, 33, 35, 46].

Podsumowanie

Na jakość produktów mleczarskich mogą mieć wpływ enzymy termostabilne, które wydzielane są do mleka przez bakterie psychrotrofowe przed obróbką termiczną surowego mleka lub enzymy i inne metabolity, które są produkowane przez bakterie psychrotrofowe podczas chłodniczego magazynowania produktów mleczarskich. Usunięcie zarówno bakterii psychrotrofowych, jak i skutków ich działania jest trudne, dlatego na wszystkich etapach pozyskiwania i przetwarzania mleka należy stosować takie zabiegi, które w znacznym stopniu ograniczą udział tego typu mikroflory w mleku surowym. Największe znaczenie w tym względzie mają prawidłowe warunki higieniczne doju oraz szybkie schłodzenie pozyskanego mleka. Obniżenie jakości mleka i produktów mleczarskich powodowane przez bakterie psychrotrofowe i ich metabolity oraz potencjalna chorobotwórczość wymienionych bakterii wymagają dalszych badań. Szczególnie ważne są prace zmierzające do opracowania szybkich i skutecznych metod pomiaru aktywności enzymów mleka i jego produktów, bowiem dostępne testy są czasochłonne i skomplikowane technicznie.

Literatura

- [1] Aaku E.N., Collinson E.K., Gashe B.A., Mpuchane S.: Microbiological quality of milk from two processing plants in Gaborone Botswana. *Food Control*, 2004, **15**, 181-186.
- [2] Adams D.M., Barch J.T., Speck M.L.: Heat resistant proteases produced in milk by psychrotrophic bacteria of dairy origin. *J. Dairy Sci.*, 1975, **58** (6), 828-834.
- [3] Berthold A., Molska I.: Występowanie *Bacillus cereus* w środowisku pozyskiwania mleka. *Med. Weter.* 2004, **60** (1), 42.
- [4] Bis H., Mędreła-Kuder E.: Czystość mikrobiologiczna mleka i jego przetworów dostarczanych przez indywidualnych producentów na plac targowy Stary Kleparz w Krakowie. *Hygeia Public Health* 2011, **46**, 57-63.
- [5] Burdova O., Baranova M., Andrea L., Róžańska H., Rola J.: Hygiene of pasteurized milk depending on psychrotrophic microorganisms. *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, 2002, **46**, 325-329.
- [6] Cempirkova R.: Psychrotrophic vs. total bacterial counts in bulk milk samples. *Vet. Med. Czech*, 2002, **47** (8), 227-233.
- [7] Cempirkova R.: Contamination of cow's raw milk by psychrotrophic and mesophilic microflora in relation to selected factors. *Czech J. Anim. Sci.*, 2007, **52** (11), 387-393.
- [8] Cempirkova R., Mikulova M.: Incidence of psychrotrophic lipolytic bacteria in cow's raw milk. *Czech. J. Anim. Sci.*, 2009, **54**, 65-73.
- [9] Cempirkova R., Mikulova M., Travnicek J.: Counts of psychrotrophic lipolytic bacteria in cow's raw milk samples from the aspect of technological quality. *J. Agrobiol.*, 2009, **26** (2), 113-121.
- [10] Chen L., Daniel R.M., Coolbear T.: Detection and impact of protease and lipase activities in milk and milk powders. *Int. Dairy J.*, 2003, **13**, 255-275.
- [11] Chen L., Coolbear T., Daniel R.M.: Characteristics of proteinases and lipases produced by seven *Bacillus sp.* Isolated from milk powder production lines. *Int. Dairy J.*, 2004, **14**, 495-504.
- [12] Chopra A.K., Mathur D.K.: Purification and character-isolation of heat-stable proteases from *Bacillus stearothermophilus* RM-67. *J. Dairy Sci.*, 1985, **68**, 3202-3211.

- [13] Christiansson A., Bertilsson J., Sevansson B.: *Bacillus cereus* spores in raw milk: Factor affecting the contamination of milk during the grazing period. *J. Dairy Sci.*, 1999, **82**, 305-314.
- [14] Coorevits A., De Jonghe V., Vandroemme J., Reekmans R., Heyrman, J., Messens W., De Vos P., Heyndrickx M.: Comparative analysis of the diversity of aerobic-spore-forming bacteria in raw milk from organic and conventional dairy farms. *System. Appl. Microbiol.*, 2008, **31**, 126-140.
- [15] Craven H.M., Macauley B.J.: Microorganisms in pasteurized milk after refrigerated storage 1. Identification of types. *Austr. J. Dairy Technol.*, 1992, **47**, 38-45.
- [16] Foltys V., Kirchenerova K.: Mesophilic and psychrotrophic aerobic sporulating microorganisms in raw cow's milk. *CEJB*, 2006, **1 (4)**, 545-560.
- [17] Fox P.F., Stepniak L.: Isolation and some properties of extracellular heat-stable lipases from *Pseudomonas fluorescens* strain AFT36. *J. Dairy Res.*, 1983, **50**, 77-89.
- [18] Fox P.F., Guinee T.P., T.M., McSweeney, P.L.H.: *Microbiology of Cheese Ripening*. U knjizi *Fundamentals of Cheese Science*, An Aspen Publication. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland 2000, pp. 206-232.
- [19] Gargourin A., Hamed H., El Feki A.: Analysis of raw milk quality at reception and during cold storage: Combined effects of somatic cell counts and psychrotrophic bacteria on lipolysis. *J. Food Sci.*, 2013, **78, 9**, 405-411.
- [20] Godic Torkar K., Golc Teger S.: The microbiological quality of raw milk after introducing the two day's milk collecting system. *Acta Agriculturae Slov.*, 2008, **92**, 61-74.
- [21] Griffiths M.W., Philips J.D., Muir D.D.: Thermostability of proteases and lipases from a number of species of psychrotrophic bacteria of dairy origin. *J. Appl. Bacteriol.*, 1981, **50**, 289-303.
- [22] Hantsis-Zacharov E., Halpern M.: Culturable psychrotrophic bacterial communities in raw milk and their proteolytic and lipolytic traits. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2007, **73**, 7162-7168.
- [23] Izidoro T., Pereira J., Soares V., Pinto J.: Effect of psychrotrophic growth on the milk fat fraction at different temperatures of storage. *J. Food Sci.*, 2013, **78, 9**, 615-618.
- [24] Janstova B., Drackova M., Vorlova L.: Effect of *Bacillus cereus* enzymes on the milk quality following ultra high temperature processing. *Acta Veterinaria Brno*, 2006, **75**, 601-609.
- [25] Kohlmann, K.L., Nielsen S.S., Steenson L.R., Landisch M.R.: Production of proteases by psychrotrophic microorganisms. *J. Dairy Sci.*, 1991, **74**, 3275-3283.
- [26] Koka R., Weimer B.C.: Influence of growth conditions on heat-stable phospholipase activity in *Pseudomonas*. *J. Dairy Res.*, 2001, **68**, 109-116.
- [27] Kukula E.: Mikroflora psychrotrofowa w mleku surowym przeznaczonym do skupu. *Zesz. Nauk. AR Kraków*, 2001, **83**, 37-44.
- [28] Kumaresan G., Annalvilli R., Sivakumar K.: Psychrotrophic spoilage of raw milk at different temperatures of storage. *J. App. Sci. Res.*, 2007, **3 (11)**, 1383-1387.
- [29] Larsen H.D., Jorgensen K.: Growth of *Bacillus cereus* in pasteurized milk product. *Int. J. Food Microbiol.*, 1999, **46**, 173-176.
- [30] Leitner G., Silanikove N., Jacobi S., Weisbilt L., Bernstein S., Merin U.: The influence of storage on the farm and in dairy silos on milk quality for cheese production. *Int. J. Dairy*, 2008, **18**, 109-113
- [31] Lukasova J., Vyhalkova J., Pacova Z.: *Bacillus species* in raw milk and in the farm environment. *Milchwissenschaft*, 2001, **56**, 609-611.
- [32] Macrae A.R.: Extracellular microbial lipases. In: W. M. Fogarty (Ed.). *Microbial enzymes and biotechnology*. Applied Science Publishers, New York 1983, pp. 225-249.
- [33] Matta H., Punj V.: Isolation and identification of lipolytic, psychrotrophic spore forming bacteria from raw milk. *Int. J. Dairy Technol.*, 1999, **52**, 59-62.
- [34] Marchand S., Coudijzer K., Heyndrickx M., Dewettinck K., Block De J.: Selective determination of the heat-resistant proteolytic activity of bacterial origin in raw milk. *Int. Dairy J.*, 2008, **18**, 514-519.

- [35] Moussa O.B., Mankai M., Barbana Ch., Hassouna M., Alvarenga N.B., Canada J.: Influence of culture conditions on esterase activity of five psychrotrophic Gram negative strains selected from raw Tunisian milk. *Ann. Microbiol.*, 2008, **58**, 53-59.
- [36] Murugan B., Villi R.A.: Lipolytic activity of *Bacillus species* isolated from milk and dairy products. *The Indian Vet. J.*, 2009, **86**, 80-81.
- [37] Phillips J., Griffiths M.W.: Pasteurized dairy products: the constraints imposed by environmental contamination. In: Nriagu J.O., Simmons M.S.: *Food Contamination from Environmental Sources*. Wiley, New York 1990, pp. 387-456.
- [38] Rogelj I.: Mleko. In: Bem Z., Adamic J., Zilender B., Smole Mozina S., Gasperlin L.: *Mikrobiologija Zivlj Zivalskega Izvora Biotehniska fakulteta. Oddelek za zivilstvo Ljubljana 2003*, pp. 515-538.
- [39] Rozporządzenia Komisji (WE) nr 1662/2006 z dnia 6 listopada 2006 r., zmieniające Rozporządzenie (WE) nr 853/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady ustanawiające szczególne przepisy dotyczące higieny w odniesieniu do żywności pochodzenia zwierzęcego. *Dz. Urz. UE L 320 z 18.11.2006 r.* z późn. zm.
- [40] Samarzija D., Zamberlin S., Pogacić T.: Psychrotrophic bacteria and milk and dairy products quality. *Mljekarstvo*, 2012, **62 (2)**, 77-79.
- [41] Santana E.H.W., de Beloti, Muller E.E., Ferreira M.A.de Moraes L.B., Pereira M.S., Gusmao VV.: Milk contamination in different points of dairy process. Mesophilic, psychrotrophic and proteolytic microorganisms. *Semina: Ciencias Agrarias, Londrina 2004*, **25**, 349-358.
- [42] Sevansson B., Monthan A., Shaheen R., Andersson A.M., Salkinoja-Salonen M., Christiansson A.: Occurrence of emetic toxin producing *Bacillus cereus* in dairy production chain. *Int. Dairy J.*, 2005, **16**, 740-749.
- [43] Sevansson B., Ekelund K., Ogura H., Christiansson A.: Characterisation of *Bacillus cereus* isolated from milk silo tanks at eight different dairy plants. *Int. Dairy J.*, 2004, **14**, 17-27.
- [44] Shah N.P.: Psychrotrophs in milk: a review. *Milchwissenschaft*, 1994, **49**, 432-437
- [45] Sorhaug T., Stepaniak L.: *Microbial Enzymes in the Spoilage of Milk and Dairy Products: Food Enzymology*. Vol. 1. Elsevier 1991, pp. 169-218.
- [46] Sorhaug T., Stepaniak L.: Psychrotrophs and their enzymes in milk and dairy products: Quality aspects. *Trends Food Sci. Technol.*, 1997, **35-40**.
- [47] Stepaniak L.: Psychrotrophic bacteria, bacteria other than *Pseudomonas spp.*. *Encyclopedia of Dairy Sci.*, 2002, **4**, 2345-2351.
- [48] Śmietana Z., Krajewska-Kamińska E., Bohdziewicz K., Nalepa B.: Porównanie jakości mikrobiologicznej mleka pasteryzowanego mikrofiltrowanego i UHT. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **2 (51)**, 29-39.
- [49] Zając M., Brzozowska M.: Czynniki warunkujące jakość mikrobiologiczną mleka surowego. *Med. Weter.*, 1990, **7-8**, 34.
- [50] Ziarno M., Czapska M.: Skład jakościowy mikroflory mleka krowiego surowego i pasteryzowanego. *Przegl. Mlecz.*, 2008, **5**, 4-8.

PSYCHROTROPHIC BACTERIA IN RAW MILK AND DAIRY PRODUCTS

Summary

In the EU regulations, general microbiological requirements for raw milk are laid down; however, the qualitative composition of microflora is not defined. In the absence of hygiene during milking, milk becomes contaminated with microflora that, despite the cold storage, can multiply and, at the same time, produces extracellular enzymes (mainly proteases and lipases), which contribute to the quality deteriora-

tion of milk and dairy products. Owing to their heat resistance, the enzymes of bacterial origin are a serious problem for the dairy industry. In the paper, there are characterized the contamination sources of raw milk with psychrotrophic microflora and the qualitative composition of psychrotrophic microorganisms as are the properties of their enzymes and the effects of the activity of proteases and lipases while storing milk and its products.

Key words: raw milk, psychrotrophic bacteria, proteolytic enzymes, lipolytic enzymes ☒

KRZYSZTOF SIEMIANOWSKI, ELŻBIETA TOŃSKA, JERZY SZPENDOWSKI

ZAWARTOŚĆ WYBRANYCH MAKROELEMENTÓW I MIKROELEMENTÓW W KAZEINIE KWASOWEJ I KAZEINIANACH

Streszczenie

Celem pracy było określenie zawartości wybranych makroelementów i mikroelementów w kazeinie kwasowej i kazeinianach. Materiał badawczy stanowiła kazeina kwasowa otrzymana metodą tradycyjną oraz kazeiniany: sodu, wapnia i sodowo-wapniowy otrzymane metodą ekstruzji. Badane preparaty białkowe pochodziły z produkcji przemysłowej. W kazeinie kwasowej i kazeinianach oznaczono zawartość wody, związków mineralnych w postaci popiołu oraz zmierzono kwasowość czynną. Próbkę preparatów białkowych mineralizowano na mokro, a następnie oznaczano w nich zawartość wybranych makroelementów (Ca, P, Mg, K, Na) i mikroelementów (Fe, Zn, Cu, Mn). Zawartość Ca, Mg, Fe, Zn, Cu i Mn oznaczono techniką płomieniowej spektrometrii absorpcji atomowej (płomień: acetylen – powietrze). K i Na oznaczano techniką emisyjną (płomień: acetylen – powietrze). Zawartość P oznaczano metodą kolorymetryczną.

Wykazano, że produkowane ekstruzyjnie kazeiniany zawierały średnio mniej wody ($5,63 \div 6,28$ %) w porównaniu z otrzymaną tradycyjnie kazeiną kwasową ($8,15$ %). Kazeiniany zawierały średnio kilkakrotnie więcej popiołu ($3,80 \div 4,54$ %) w porównaniu z kazeiną kwasową ($0,77$ %). Badane preparaty białkowe różniły się istotnie pod względem pH. Średnia wartość pH kazeiny kwasowej wynosiła $5,10$ a kazeinianu wapnia – $6,92$. Kazeiniany, niezależnie od rodzaju, w porównaniu z kazeiną kwasową zawierały znacznie więcej wapnia (odpowiednio: $1,196 \div 22,004$ mg/g s.m. wobec $0,499$ mg/g s.m.), potasu ($0,136 \div 0,262$ mg/g s.m. wobec $0,005$ mg/g s.m.) i sodu ($0,279 \div 12,665$ mg/g s.m. wobec $0,005$ mg/g s.m.) oraz zbliżoną ilość fosforu ($8,084 \div 8,177$ mg/g s.m. wobec $8,205$ mg/g s.m.) i magnezu ($0,033 \div 0,040$ mg/g s.m. wobec $0,039$ mg/g s.m.), z wyjątkiem kazeinianu wapnia ($0,201$ mg/g s.m.). Największą zawartością wapnia oraz żywieniowo korzystnym stosunkiem jego zawartości względem fosforu ($2,70 : 1$) charakteryzował się kazeinian wapnia, co predysponuje ten preparat do stosowania w postaci składnika do wzbogacania żywności w pełnowartościowe białko i wapń. Pod względem mikroelementów kazeiniany, w porównaniu z kazeiną kwasową, zawierały więcej żelaza (odpowiednio: $76,234 \div 89,325$ µg/g s.m. wobec $8,090$ µg/g s.m.) i manganu ($0,654 \div 6,068$ µg/g s.m. wobec $0,155$ µg/g s.m.). Kazeinian sodowo-wapniowy charakteryzował się mniejszą zawartością cynku ($17,042$ µg/g s.m.) w porównaniu z kazeiną

Mgr inż. K. Siemianowski, prof. dr hab. inż. J. Szpendowski, Katedra Mleczarstwa i Zarządzania Jakością, ul. Oczapowskiego 7, 10-719 Olsztyn, dr inż. E. Tońska, Katedra Towaroznawstwa i Badań Żywności, ul. Heweliusza 6, 10-957 Olsztyn, Wydz. Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie. Kontakt: krzysztof.siemianowski@uwm.edu.pl

kwasową (27,101 µg/g s.m.), kazeinianem sodu (29,508 µg/g s.m.) i kazeinianem wapnia (28,602 µg/g s.m.). Kazeinian wapnia zawierał więcej miedzi (1,801 µg/g s.m.) od kazeiny kwasowej (1,284 µg/g s.m.), kazeinianu sodu (1,234 µg/g s.m.) i od kazeinianu sodowo-wapniowego (1,120 µg/g s.m.).

Słowa kluczowe: kazeina kwasowa, kazeiniany, makroelementy, mikroelementy

Wprowadzenie

Ważnym kierunkiem w przetwórstwie mleka jest produkcja preparatów białkowych, do których zalicza się m.in. kazeinę kwasową i kazeiniany. W technologii kazeiny kwasowej spożywczej białko wytrącane jest z mleka odtłuszczonego przez zakwaszenie do pH 4,4 ÷ 4,6, co może być osiągnięte przez dodatek odpowiedniego kwasu lub ukwaszonej serwatki. W dalszych etapach produkcji kazeiny kwasowej koagulat poddawany jest obróbce mechanicznej, dojrzewaniu, a po oddzieleniu serwatki – płukaniu wodą, odwadnianiu, rozdrabnianiu i suszeniu [10]. Kazeina kwasowa jest tylko w nieznacznym stopniu rozpuszczalna w wodzie, co ogranicza możliwości jej praktycznego wykorzystania. Dobrą rozpuszczalność wykazują natomiast sole kazeiny kwasowej, czyli kazeiniany [4, 6, 16]. Kazeiniany otrzymywane są w wyniku modyfikacji kazeiny kwasowej przez jej neutralizację związkami alkalicznymi, takimi jak: wodorotlenek lub węglan sodu, wapnia, potasu, magnezu, amonu. W praktyce przemysłowej kazeiniany mogą być produkowane metodami: tradycyjną lub ekstruzji. W metodzie tradycyjnej zawiesina kazeiny kwasowej zobojętniana jest w podwyższonej temperaturze związkami alkalicznymi, co realizowane jest w zbiorniku zaopatrzonym w płaszcz grzewczy i mieszało, a następnie uzyskany roztwór kazeinianu poddaje się suszeniu metodami: walcową lub rozpryskową [6, 10, 18, 19]. Metoda tradycyjna, ze względu na dużą energochłonność, znaczne koszty przetwarzania oraz niekorzystny wpływ na wartość biologiczną białka, często jest zastępowana metodą ekstruzji. Wdrożenie techniki ekstruzji w produkcji kazeinianów pozwala na realizację wielu procesów jednostkowych w jednym urządzeniu. W ekstruderze w krótkim czasie (10 ÷ 30 s), dzięki działaniu ciepła, ciśnienia, sił ścinających oraz dozowania określonej ilości związków alkalicznych, zachodzi przekształcenie kazeiny w kazeinian [6, 7, 18, 19].

Ze względu na korzystne właściwości funkcjonalne, takie jak: rozpuszczalność, wodochłonność, lepkość, żelowanie, wiązanie tłuszczu, emulgowanie i pienienie, kazeiniany mogą być wykorzystywane do produkcji żywności w wielu branżach spożywczych [4, 6, 15, 16]. W przetwórstwie spożywczym największe znaczenie mają kazeiniany sodu i wapnia. Preparaty te stosowane są w przetwórstwie mięsa, produkcji garmażeryjnej, produkcji przetworów zbożowych, piekarnictwie, cukiernictwie, mleczarstwie, produkcji napojów i koncentratów spożywczych oraz do otrzymywania produktów o specjalnym przeznaczeniu żywieniowym [16]. Kazeiniany mogą być także wykorzystywane do produkcji powłok jadalnych [2].

Pod względem odżywczym kazeina kwasowa oraz kazeiniany stanowią bogate źródło białka o wysokiej wartości biologicznej [16]. Kazeiniany zawierają również znaczne ilości składników mineralnych, które pochodzą zarówno z mleka będącego surowcem do otrzymywania kazeiny kwasowej, jak również ze związków alkalicznych stosowanych do jej neutralizacji. W przypadku kazeiny i kazeinianów otrzymywanych ekstruzyjnie stwierdza się migrację metali do produktu z części roboczych ekstrudera [3, 17 - 20].

Celem pracy było określenie zawartości wybranych makroelementów i mikroelementów w kazeinie kwasowej otrzymanej metodą tradycyjną i w kazeinianach wyprodukowanych metodą ekstruzji.

Material i metody badań

Materiałem doświadczalnym była kazeina kwasowa otrzymana metodą tradycyjną oraz kazeiniany: sodu, wapnia i sodowo-wapniowy otrzymane metodą ekstruzji. Kazeina kwasowa oraz kazeiniany pochodziły z produkcji przemysłowej.

W kazeinie kwasowej i kazeinianach oznaczano zawartość wody [11], związków mineralnych w postaci popiołu [1] oraz mierzono kwasowość czynną [12]. Ponadto oznaczano zawartość wybranych makroelementów: wapnia, fosforu, magnezu, potasu i sodu oraz mikroelementów: żelaza, cynku, miedzi i manganu. W celu oznaczenia wymienionych pierwiastków próbki analizowanych preparatów białkowych mineralizowano na mokro w mieszaninie kwasów azotowego i nadchlorowego (3 : 1 v/v). Mineralizację prowadzono w elektrycznym bloku grzejnym (DK 20, VELP Scientifica, Włochy) w ciągu 4 ÷ 5 h, podnosząc stopniowo temperaturę od 120 do 200 °C. Mineralizat przenoszono do kolb miarowych i uzupełniano wodą dejonizowaną do objętości 25 cm³. Równoległe z próbkami badanymi przygotowano próbki odczynnikowe. Zawartość Ca, Mg, Fe, Zn, Cu, Mn w mineralizatach oznaczano techniką płomieniowej spektrometrii absorpcji atomowej (płomień: acetylen – powietrze) przy użyciu spektrometru (iCE 3000 Series AAS, Thermo Scientific, Anglia) wyposażonego w stację danych GLITE, korekcję tła (lampa deuterowa) oraz odpowiednie lampy katodowe. Oznaczeń pierwiastków dokonywano przy długościach fali: 422,7 nm (Ca), 285,2 nm (Mg), 248,3 nm (Fe), 213,9 nm (Zn), 324,8 nm (Cu), 279,5 nm (Mn). W celu wyeliminowania oddziaływania P podczas oznaczania Ca, do badanych próbek oraz wzorców dodawano wodny roztwór chlorku lantanu w ilości zapewniającej 0,5-procentowe stężenie La⁺³ [23]. K i Na oznaczano za pomocą spektrometru pracującego w systemie emisyjnym (płomień: acetylen – powietrze) przy długości fali 766,5 nm (K) i 589,0 nm (Na). Zawartość P oznaczano metodą kolorymetryczną [9], a pomiaru absorbancji dokonywano spektrofotometrem (VIS 6000, KRÜSS – OPTRONIC, Niemcy) przy długości fali 610 nm.

Uzyskane wyniki opracowano statystycznie przy użyciu programu Statistica 10 (StatSoft). Obliczono wartości średnie i odchylenia standardowe. Do analizy wyników zastosowano nieparametryczny test U Manna-Whitneya. Istotność różnic szacowano na poziomie $p = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Stwierdzono że kazeina kwasowa otrzymana metodą tradycyjną zawierała statystycznie istotnie ($p < 0,05$) więcej wody (średnio 8,15 %) w porównaniu z kazeinianami otrzymanymi metodą ekstruzji (średnio od 5,63 % w kazeinianie sodowo-wapniowym do 6,28 % w kazeinianie sodu). Wykazano również, że kazeinian sodu i kazeinian wapnia zawierały statystycznie istotnie ($p < 0,05$) więcej wody w porównaniu z kazeinianem sodowo-wapniowym (tab. 1). Zawartość wody w badanych preparatach białkowych odpowiadała wartości ujętej w wymaganiach jakościowych kazein spożywczych i kazeinianów spożywczych, według których w kazeinie kwasowej powinno jej być nie więcej niż 10 %, natomiast w kazeinianach – nie więcej niż 8 % [13]. Wykazano, że badane preparaty białkowe różniły się między sobą statystycznie istotnie ($p < 0,05$) pod względem zawartości składników mineralnych oznaczonych jako popiół, przy czym kazeiniany otrzymane ekstruzyjnie charakteryzowały się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) większą zawartością popiołu w porównaniu z kazeiną kwasową uzyskaną metodą tradycyjną. W preparatach białkowych zawartość popiołu wynosiła średnio: w kazeinie kwasowej – 0,77 %, w kazeinianie sodu – 3,98 %, w kazeinianie wapnia – 4,54 %, a w kazeinianie sodowo-wapniowym – 3,80 % (tab. 1). W badaniach Dziuby i wsp. [5] zawartość popiołu w kazeinie kwasowej i kazeinianach (uzyskanych przy zastosowaniu wodorotlenków) otrzymanych metodą tradycyjną oraz ekstruzji wynosiła odpowiednio: 2,02 % oraz 2,13 % w kazeinie kwasowej, 3,38 % oraz 3,67 % w kazeinianie sodu, 2,48 % oraz 3,55 % w kazeinianie wapnia. Wyraźnie mniejsza zawartość popiołu w kazeinie kwasowej, w badaniach własnych, w porównaniu z danymi literaturowymi może wynikać z dużej efektywności usuwania składników niebiałkowych na etapie płukania ziarna kazeinowego. Skuteczność płukania kazeiny jest tym większa, im więcej wody używa się do płukania. Podczas produkcji kazeiny kwasowej stosowane jest najczęściej trzykrotne płukanie wodą, kolejno o temp. [°C]: 40, 25 i 5 ÷ 15, przy czym woda stosowana do drugiego i trzeciego płukania powinna być zakwaszona do pH 4,5 ÷ 5,0 [10]. W przypadku kazeinianów zawartość popiołu zależy od zawartości składników mineralnych w kazeinie kwasowej, wykorzystanej do ich produkcji, ale również determinowana jest rodzajem oraz ilością dodanych związków alkalicznych na etapie neutralizacji [18, 19]. Między badanymi preparatami białkowymi stwierdzono statystycznie istotnie ($p < 0,05$) różnice pod względem kwasowości czynnej (tab. 1). Kwasowość czynna badanych kazeinianów odpowiadała wymaganiom jakościowym, według których pH powinno się zawierać w przedziale 6,0 ÷ 8,0

[13]. Zawartość popiołu w badanych preparatach białkowych wzrastała ze wzrostem wartości pH, a więc wraz z obniżaniem ich kwasowości czynnej. Średnia wartość pH kazeiny kwasowej wynosiła 5,10 (średnio 0,77 % popiołu), kazeinianu sodu – 6,77 (średnio 3,98 % popiołu), kazeinianu wapnia – 6,92 (średnio 4,54 % popiołu), kazeinianu sodowo-wapniowego – 6,65 (średnio 3,80 % popiołu).

Tabela 1. Zawartość wody, popiołu oraz kwasowość czynna badanych preparatów białkowych
Table 1. Water and ash contents as well as active acidity of protein preparations analyzed

Preparat białkowy Protein preparation	Woda Water [%]	Zw. min. jako popiół Mineral compounds in the form of ash [%]	Kwasowość czynna Active acidity [pH]
Kazeina kwasowa produkowana metodą tradycyjną Acid casein produced by traditional method	8,15 ^C ± 0,10	0,77 ^A ± 0,02	5,10 ^A ± 0,02
Kazeinain sodu produkowany ekstruzyjnie Sodium caseinate produced by extrusion	6,28 ^B ± 0,03	3,98 ^C ± 0,08	6,77 ^C ± 0,02
Kazeinain wapnia produkowany ekstruzyjnie Calcium caseinate produced by extrusion	6,24 ^B ± 0,10	4,54 ^D ± 0,04	6,92 ^D ± 0,01
Kazeinian sodowo-wapniowy produkowany ekstruzyjnie Sodium-calcium caseinate produced by extrusion	5,63 ^A ± 0,03	3,80 ^B ± 0,03	6,65 ^B ± 0,02

Objaśnienia / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviations; n = 4; A, B, C, D – wartości średnie oznaczone w tej samej kolumnie różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy p = 0,05 / mean values designated by different letters and placed in the same column differ statistically significantly at p = 0.05.

Analizowane preparaty białkowe różniły się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) pod względem zawartości wapnia, przy czym kazeiniany wyprodukowane ekstruzyjnie wykazywały wyraźnie większą zawartość wapnia (średnio od 1,196 mg Ca/g s.m. w kazeinianie sodu do 22,004 mg Ca/g s.m. w kazeinianie wapnia) od kazeiny kwasowej wyprodukowanej tradycyjnie (średnio 0,499 mg Ca/g s.m.). Kazeinian sodu zawierał ok. 2,4-krotnie, kazeinian wapnia ok. 44,1-krotnie, a kazeinian sodowo-wapniowy ok. 12-krotnie więcej wapnia w porównaniu z kazeiną kwasową. Nie wykazano statystycznie istotnych ($p > 0,05$) różnic między badanymi preparatami pod względem zawartości fosforu, która wynosiła średnio od 8,084 mg/g s.m. w kazeinianie sodu do 8,205 mg/g s.m. w kazeinie kwasowej (tab. 2). Duży wpływ na wykorzystanie wapnia przez organizm ma stosunek jego zawartości do zawartości fosforu w spożywanej żywności. Właściwy stosunek zawartości Ca : P w diecie nie powinien być mniejszy

Tabela 2. Zawartość makroelementów i mikroelementów w badanych preparatach białkowych
 Table 2. Content of macroelements and microelements in protein preparations analysed

Preparat białkowy Protein preparation	Makroelementy Macroelements [mg/g s.m.] [mg/g d.m.]					Ca : P	Mikroelementy Microelements [µg/g s.m.] [µg/g d.m.]			
	Ca	P	Mg	K	Na		Fe	Zn	Cu	Mn
Kazeina kwasowa produkowana metodą tradycyjną Acid casein produced by traditional method	0,499 ^A ± 0,023	8,205 ^A ± 0,089	0,039 ^B ± 0,002	0,005 ^A ± 0,001	0,005 ^A ± 0,001	0,06 : 1	8,090 ^A ± 0,611	27,101 ^B ± 1,088	1,284 ^B ± 0,012	0,155 ^A ± 0,016
Kazeinain sodu produkowany ekstruzyjnie Sodium caseinate produced by extrusion	1,196 ^B ± 0,016	8,084 ^A ± 0,105	0,033 ^A ± 0,001	0,243 ^C ± 0,005	12,665 ^D ± 0,148	0,15 : 1	76,234 ^B ± 3,049	29,508 ^B ± 1,556	1,234 ^{A,B} ± 0,144	0,654 ^B ± 0,032
Kazeinain wapnia produkowany ekstruzyjnie Calcium caseinate produced by extrusion	22,004 ^D ± 0,492	8,162 ^A ± 0,010	0,201 ^C ± 0,003	0,262 ^D ± 0,008	0,279 ^B ± 0,021	2,70 : 1	89,325 ^D ± 0,867	28,602 ^B ± 1,386	1,801 ^C ± 0,149	6,068 ^D ± 0,114
Kazeinain sodowo-wapniowy produkowany ekstruzyjnie Sodium-calcium caseinate produced by extrusion	5,972 ^C ± 0,028	8,177 ^A ± 0,201	0,040 ^B ± 0,001	0,136 ^B ± 0,002	7,905 ^C ± 0,151	0,73 : 1	85,459 ^C ± 2,022	17,042 ^A ± 0,539	1,120 ^A ± 0,059	2,032 ^C ± 0,026

Objaśnienia / Explanatory notes:

wartość średnia ± odchylenie standardowe / mean value ± standard deviation; n = 4

A, B, C, D – wartości średnie oznaczone w tej samej kolumnie różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy p = 0,05 / mean values designated by different letters and placed in the same column differ statistically significantly at p = 0,05.

niż 1,3 : 1 [8, 21]. Spośród analizowanych preparatów białkowych korzystny stosunek średniej zawartości Ca : P wykazywał tylko kazeinian wapnia (2,70 : 1). W przypadku pozostałych preparatów białkowych stosunek średniej zawartości Ca : P był znacznie mniejszy i wynosił 0,06 : 1 w kazeinie kwasowej, 0,15 : 1 – w kazeinianie sodu oraz 0,73 : 1 – w kazeinianie sodowo-wapniowym (tab. 2). Według Tossavainena i wsp. [22] kazeinian sodu zawierał 0,35 mg Ca/g i 7,7 mg P/g, a więc stosunek Ca : P wyniósł 0,05 : 1. Sugiarto i wsp. [14] oznaczyli w kazeinianie sodu 0,3 mg Ca/g oraz 6,7 mg P/g, czyli stosunek Ca : P wyniósł również 0,05 : 1. Zawartość wapnia porównywalną z wynikami badań własnych oraz zdecydowanie mniejszą zawartość fosforu oznaczyli w kazeinie kwasowej i kazeinianach Szpendowski i wsp. [20]. W badaniach tych kazeina kwasowa zawierała średnio $0,28 \div 0,29$ mg Ca/g s.m. i $0,66 \div 0,71$ mg P/g s.m., kazeinian sodu – 2,12 mg Ca/g s.m. i 0,91 mg P/g s.m., natomiast kazeinian wapnia – 13,72 mg Ca/g s.m. i 0,94 mg P/g s.m.

Pod względem zawartości magnezu nie wykazano statystycznie istotnych ($p > 0,05$) różnic między wyprodukowaną tradycyjnie kazeiną kwasową i ekstrudowanym kazeinianem sodowo-wapniowym, natomiast preparaty te zawierały statystycznie istotnie ($p < 0,05$) mniej magnezu w porównaniu z ekstrudowanym kazeinianem wapnia i istotnie więcej niż w ekstrudowanym kazeinianie sodu. Średnia zawartość magnezu w kazeinianie wapnia (0,201 mg Mg/g s.m.) była ok. 5-krotnie większa od zawartości tego makroelementu w pozostałych analizowanych preparatach białkowych, które charakteryzowały się średnią zawartością magnezu od 0,033 (kazeinian sodu) do 0,040 mg/g s.m. (kazeinian sodowo-wapniowy) – tab. 2.

Preparaty białkowe różniły się między sobą statystycznie istotnie ($p < 0,05$) pod względem zawartości potasu i sodu. Kazeiniany wytworzone ekstruzyjnie zawierały zdecydowanie więcej potasu i sodu w porównaniu z kazeiną kwasową produkowaną tradycyjnie (tab. 2). Pod względem przeciętnej zawartości potasu analizowane w doświadczeniu preparaty można uszeregować następująco: kazeinian wapnia (0,262 mg/g s.m.) > kazeinian sodu (0,243 mg/g s.m.) > kazeinian sodowo-wapniowy (0,136 mg/g s.m.) > kazeina kwasowa (0,005 mg/g s.m.), natomiast w przypadku sodu: kazeinian sodu (12,665 mg/g s.m.) > kazeinian sodowo-wapniowy (7,905 mg/g s.m.) > kazeinian wapnia (0,279 mg/g s.m.) > kazeina kwasowa (0,005 mg/g s.m.). Podobną zawartość sodu w różnych formach kazeinianów wyprodukowanych metodą ekstruzji wykazali Szpendowski i wsp. [15]. Według wymienionych autorów zawartość sodu wynosiła średnio 12,20 mg/g s.m. w kazeinianie sodu, 7,52 mg/g s.m. – w kazeinianie sodowo-wapniowym oraz 2,90 mg/g s.m. – w kazeinianie wapnia. Tossavainen i wsp. [22] oznaczyli sód w kazeinianie sodu w ilości 16 mg/g, a Sugiarto i wsp. [14] – 95,9 mg/g, co stanowi kilkukrotnie większą wartość niż oznaczona w kazeinianie sodu w doświadczeniu własnym.

Zawartość wapnia i sodu w kazeinianach determinowana jest rodzajem oraz ilością związków alkalicznych użytych do neutralizacji kazeiny kwasowej. Podczas produkcji kazeinianu sodu do neutralizacji stosuje się najczęściej wodorotlenek sodu lub węglan sodu, natomiast w produkcji kazeinianu wapnia – wodorotlenek wapnia, za pomocą których doprowadza się kwasowość czynną kazeiny kwasowej do pH ok. 6,5 ÷ 6,8 [10, 18 - 20].

Spośród oznaczonych mikroelementów w badanych preparatach białkowych w największych ilościach występowały: żelazo i cynk (tab. 2). Między preparatami białkowymi stwierdzono statystycznie istotne ($p < 0,05$) różnice pod względem zawartości żelaza, przy czym kazeiniany otrzymane metodą ekstruzji wykazywały zdecydowanie większą zawartość żelaza (średnio od 76,234 $\mu\text{g/g}$ s.m. w kazeinianie sodu do 89,325 $\mu\text{g/g}$ s.m. w kazeinianie wapnia) od kazeiny kwasowej wyprodukowanej metodą tradycyjną (średnio 8,090 $\mu\text{g/g}$ s.m.). Kazeinian sodu zawierał ok. 9,4-krotnie, kazeinian wapnia ok. 11-krotnie, a kazeinian sodowo-wapniowy ok. 10,6-krotnie więcej żelaza w porównaniu z kazeiną kwasową. W badaniach Szpendowskiego i wsp. [20] średnia zawartość żelaza wynosiła: w kazeinie kwasowej przed ekstruzją 12,11 $\mu\text{g/g}$ s.m., w kazeinie kwasowej po ekstruzji – 19,51 $\mu\text{g/g}$ s.m., w ekstrudowanym kazeinianie sodu – 41,06 $\mu\text{g/g}$ s.m., w ekstrudowanym kazeinianie wapnia – 48,68 $\mu\text{g/g}$ s.m. Znacznie mniejsze zawartości żelaza w kazeinie kwasowej i kazeinianach oznaczyli Barraquio i van de Voort [3]. W badaniach tych zawartość żelaza wynosiła: 3,3 $\mu\text{g/g}$ w komercyjnym kazeinianie sodu, 18,4 $\mu\text{g/g}$ – w ekstrudowanej kazeinie kwasowej oraz 428-453 $\mu\text{g/g}$ – w doświadczalnym ekstrudowanym kazeinianie sodu wyprodukowanym z proszku mlecznego.

Pod względem zawartości cynku stwierdzono statystycznie istotnie ($p < 0,05$) mniejszą ilość tego mikroelementu w ekstrudowanym kazeinianie sodowo-wapniowym (średnio 17,042 $\mu\text{g/g}$ s.m) w porównaniu z produkowaną tradycyjnie kazeiną kwasową (średnio 27,101 $\mu\text{g/g}$ s.m), ekstrudowanym kazeinianem sodu (średnio 29,508 $\mu\text{g/g}$ s.m) i ekstrudowanym kazeinianem wapnia (średnio 28,602 $\mu\text{g/g}$ s.m) – tab. 2. W badaniach Szpendowskiego i wsp. [15] zawartość cynku wynosiła średnio 32,91 $\mu\text{g/g}$ s.m. w ekstrudowanym kazeinianie sodu, 47,86 $\mu\text{g/g}$ s.m. – w ekstrudowanym kazeinianie wapnia oraz 31,75 $\mu\text{g/g}$ s.m. – w ekstrudowanym kazeinianie sodowo-wapniowym. Sugiarto i ws. [14] oznaczyli cynk w kazeinianie sodu w ilości 40 $\mu\text{g/g}$.

Zawartość miedzi w ekstrudowanym kazeinianie wapnia (średnio 1,801 $\mu\text{g/g}$ s.m.) była statystycznie istotnie ($p < 0,05$) większa w porównaniu z produkowaną tradycyjnie kazeiną kwasową (średnio 1,284 $\mu\text{g/g}$ s.m.), ekstrudowanym kazeinianem sodu (średnio 1,234 $\mu\text{g/g}$ s.m.) oraz ekstrudowanym kazeinianem sodowo-wapniowym (średnio 1,120 $\mu\text{g/g}$ s.m.) – tab. 2. Barraquio i van de Voort [3] oznaczyli zbliżoną zawartość miedzi w komercyjnym kazeinianie sodu (1,35 $\mu\text{g Cu/g}$), natomiast większą w przypadku ekstrudowanej kazeiny kwasowej oraz ekstrudowanego kazeinianu sodu

(odpowiednio: 6,4 $\mu\text{g Cu/g}$ oraz 3,69-4,10 $\mu\text{g Cu/g}$). Wyraźnie większą zawartość miedzi, niż oznaczoną w badaniach własnych, wykazywały preparaty białkowe analizowane w badaniach Szpendowskiego i wsp. [20]. W badaniach tych kazeina kwasowa przed ekstruzją zawierała 4,74 $\mu\text{g Cu/g s.m.}$, kazeina kwasowa po ekstruzji – 5,40 $\mu\text{g Cu/g s.m.}$, ekstrudowany kazeinian sodu – 10,41 $\mu\text{g Cu/g s.m.}$, a ekstrudowany kazeinian wapnia – 10,43 $\mu\text{g Cu/g s.m.}$

Analizowane preparaty białkowe różniły się między sobą statystycznie istotnie ($p < 0,05$) pod względem zawartości manganu, przy czym kazeiniany wyprodukowane ekstruzyjnie wykazywały większą zawartość tego mikroelementu (średnio od 0,654 $\mu\text{g/g s.m.}$ w kazeinianie sodu do 6,068 $\mu\text{g/g s.m.}$ w kazeinianie wapnia) od kazeiny kwasowej wyprodukowanej tradycyjnie (średnio 0,155 $\mu\text{g/g s.m.}$) – tab. 2. Kazeinian sodu zawierał ok. 4,2-krotnie, kazeinian wapnia ok. 39,2-krotnie, a kazeinian sodowo-wapniowy ok. 13,1-krotnie więcej manganu w porównaniu z kazeiną kwasową. Barraquio i van de Voort [3] oznaczyli mangan w ilości 0,25 $\mu\text{g/g}$ w komercyjnym kazeinianie sodu, 3,79 $\mu\text{g/g}$ – w ekstrudowanej kazeinie kwasowej oraz 1,12 ÷ 2,02 $\mu\text{g/g}$ – w doświadczalnym ekstrudowanym kazeinianie sodu otrzymanym z proszku mlecznego.

W przypadku produkcji preparatów białkowych metodą ekstruzji stwierdza się zwiększenie w nich zawartości niektórych metali, co tłumaczy się ich migracją z ekstrudera. Efekt migracji zależy od parametrów technologicznych ekstruzji oraz składu metalicznego i stanu powierzchni części roboczych ekstrudera mających bezpośredni kontakt z przerabianą masą białkową (bęben, ślimaki) [19, 20]. Migracji metali ze ściany ekstrudera sprzyja kwaśne środowisko [3]. Potwierdzają to wyniki badań Szpendowskiego i wsp. [17], w których wykazano, że poddanie kazeiny procesowi ekstruzji skutkuje ok. 1,5 - 3-krotnym zwiększeniem zawartości żelaza, ok. 1,5-krotnym zwiększeniem zawartości miedzi, ok. 2-krotnym zwiększeniem zawartości cynku i ok. 3-krotnym zwiększeniem zawartości cyny.

Wnioski

1. Kazeiniany wytworzone ekstruzyjnie zawierały kilkakrotnie więcej związków mineralnych w postaci popiołu, w porównaniu z kazeiną kwasową otrzymaną tradycyjnie.
2. Niezależnie od rodzaju, kazeiniany zawierały znacznie więcej wapnia, potasu i sodu oraz zbliżoną zawartość magnezu (z wyjątkiem kazeinianu wapnia) i fosforu, w porównaniu z kazeiną kwasową. Największą zawartością wapnia oraz korzystnym żywieniowo stosunkiem jego zawartości do fosforu charakteryzował się kazeinian wapnia, co wyróżnia ten preparat jako możliwy dodatek do wzbogacania żywności w pełnowartościowe białko i wapń.

3. Z grupy mikroelementów kazeiniany zawierały zdecydowanie więcej żelaza i manganu w porównaniu z kazeiną kwasową. Kazeinian sodowo-wapniowy wykazywał mniejszą zawartość cynku w porównaniu z kazeiną kwasową, kazeinianem sodu i kazeinianem wapnia, natomiast kazeinian wapnia zawierał więcej miedzi od kazeiny kwasowej, kazeinianu sodu i kazeinianu sodowo-wapniowego.

Pracę zrealizowano w ramach tematu statutowego pt. "Zmiany jakości i bezpieczeństwo żywności w procesach jej przetwarzania, pakowania i przechowywania" nr 528-0703-0801, realizowanego w Uniwersytecie Warmińsko-Mazurskim w Olsztynie.

Literatura

- [1] AOAC: Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Ed. S. Williams. Arlington, Virginia 1984.
- [2] Arrieta M.P., Peltzer M.A., López J., María del Carmen Garrigósa M., Valente A.J.M., Jiménez A.: Functional properties of sodium and calcium caseinate antimicrobial active films containing carvacrol. *J. Food Eng.*, 2014, **1** (121), 94-101.
- [3] Barraquío V.L., van de Voort F.R.: Sodium caseinate from skim milk powder by extrusion processing: physicochemical and functional properties. *J. Food Sci.*, 1991, **6** (56), 1552-1556.
- [4] Bastier P., Dumay E., Cheftel J.C.: Physico-chemical and functional properties of commercial caseinates. *LWT - Food Sci. Technol.*, 1993, **6** (26), 529-537.
- [5] Dziuba J., Babuchowski A., Smoczyński M., Smietana Z.: Fractal analysis of caseinate structure. *Int. Dairy J.*, 1999, **3-6** (9), 287-292.
- [6] Fichtali J., van de Voort F.R.: Pilot plant production of caseins using extrusion processing. II. Sodium caseinate production. *Milchwissenschaft*, 1991, **8** (46), 479-483.
- [7] Fichtali J., van de Voort F.R., Diosady L.L.: Performance evaluation of acid casein neutralization process by twin-screw extrusion. *J. Food Eng.*, 1995, **3** (26), 301-318.
- [8] Kusiuk A., Grembecka M., Szefer P.: Wzajemne relacje stężeń Ca i P w serach źródłem prawidłowo zbilansowanej diety. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2009, **3** (XLII), 798-802.
- [9] Markiewicz K.: Oznaczanie zawartości wapnia i fosforu w produktach spożywczych. W: *Ćwiczenia z analizy żywności*. Red. Z. Żegarska. Wyd. UWM. Olsztyn 2000, ss. 67-72.
- [10] Obrusiewicz T.: *Technologia mleczarstwa*. Cz. 2. WSZiP, Warszawa 1995, ss. 250-270.
- [11] PN-A 86361-2:1999. Mleko i przetwory mleczne. Kazeina kwasowa i kazeiniany. Metody badań. Oznaczanie zawartości wody.
- [12] PN-A 86361-9:1999. Mleko i przetwory mleczne. Kazeina kwasowa i kazeiniany. Metody badań. Oznaczanie pH.
- [13] Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 29 lipca 2004 r. w sprawie szczególnych wymagań w zakresie jakości handlowej oraz metod analizy kazein spożywczych i kazeinianów spożywczych. *Dz. U.* 2004 r. Nr 180, poz. 1863.
- [14] Sugiarto M., Ye A., Singh H.: Characterisation of binding of iron to sodium caseinate and whey protein isolate. *Food Chem.*, 2009, **3** (114), 1007-1013.
- [15] Szpendowski J., Cierach M., Śmietana Z., Wilczewska J.: Physico-chemical and functional properties of caseinates obtained by extrusion-cooking. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2001, **10/51** (4), 13-18.
- [16] Szpendowski J., Siemianowski K.: Właściwości odżywcze i funkcjonalne oraz zastosowanie kazeinianów w przetwórstwie spożywczym. *NIT*, 2013, **3** (10), 122-138.
- [17] Szpendowski J., Staniewski B., Bohdziewicz K., Siemianowski K., Szymański E.: Wpływ ekstruzji na właściwości fizykochemiczne i czystość mikrobiologiczną kazeiny. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **4** (71), 37-49.


- [18] Szpendowski J., Szymański E., Staniewski B., Bohdziewicz K.: Właściwości fizykochemiczne i funkcjonalne kazeinianów otrzymanych metodą zbiornikową oraz ekstruzji. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **2** (69), 62-75.
- [19] Szpendowski J., Śmietana Z., Panfil-Kuncewicz H.: Wpływ neutralizacji kazeiny kwasowej na jakość ekstrudowanego kazeinianu sodowego. *Przem. Spoż.*, 1994, **6**, 175-177.
- [20] Szpendowski J., Śmietana Z., Świgoń J.: The effect of extrusion on the content of minerals in selected extruded products. *Acta Acad. Agricult. Tech. Olst. Technologia Alimentorum*, 1996, **29**, 15-23.
- [21] Śmigielska H., Lewandowicz G., Gawęcki J.: Biopierwiastki w żywności. Przystawalność składników mineralnych. *Przem. Spoż.*, 2005, **7**, 28-32.
- [22] Tossavainen O., Pyykkönen P., Vastamäki P., Huotari H.: Effect of milk protein products on the stability of a model low-fat spread. *Int. Dairy J.*, 1996, **2** (6), 171-184.
- [23] Whiteside P.J., Miner B.: *Pye Unicam Atomic Absorption Data Book*. Pye Unicam Ltd, Cambridge 1984.

CONTENT OF SELECTED MACROELEMENTS AND MICROELEMENTS IN ACID CASEIN AND CASEINATES

S u m m a r y

The objective of the research study was to determine the content of selected macroelements and microelements in acid casein and caseinates. The research materials comprised acid casein produced using a traditional method and sodium caseinate, calcium caseinate, and sodium-calcium caseinate produced using a method of extrusion. The analyzed protein preparations came from the industrial manufacturing. In the acid casein and caseinates, the water content was determined as were the mineral compounds in the form of ash, and the active acidity was measured. The samples of protein preparations were wet-mineralized, and, next, the contents of selected macroelements (Ca, P, Mg, K, Na) and microelements (Fe, Zn, Cu, Mn) were determined. The contents of Ca, Mg, Fe, Zn, Cu, and Mn were determined using a flame atomic absorption spectroscopy (flame: acetylene-air). The contents of K and Na were determined using an emission spectrometry (flame: acetylene-air). The content of P was determined using a colorimetric method.

It was proved that the caseinates produced by extrusion had, on average, a lower water content ($5.63 \div 6.28$ %) than the acid casein produced by a traditional method (8.15 %). The caseinates contained a several times larger amount of ash ($3.80 \div 4.54$ %) compared to the acid casein (0.77 %). The protein preparations analyzed differed significantly in the pH value. The mean pH value of the acid casein was 5.10 and that of calcium caseinate: 6.92. Compared to the acid casein and regardless of their type, the caseinates contained much more calcium (respectively: $1.196 \div 22.004$ mg/g d.m. vs. 0.499 mg/g d.m.), potassium ($0.136 \div 0.262$ mg/g d.m. vs. 0.005 mg/g d.m.), and sodium ($0.279 \div 12.665$ mg/g d.m. vs. 0.005 mg/g d.m.), and the similar concentrations of phosphorus ($8.084 \div 8.177$ mg/g d.m. vs. 8.205 mg/g d.m.) and magnesium ($0.033 \div 0.040$ mg/g d.m. vs. 0.039 mg/g d.m.), except for the calcium caseinate. The calcium caseinate was characterized by the highest content of calcium and a nutritionally desirable calcium-to-phosphorus ratio (2.70 : 1), which indicated that it could be used as a food additive to enrich food products with the high-quality protein and calcium. Regarding the microelements, the caseinates contained higher amounts of iron (respectively: $76.234 \div 89.325$ µg/g d.m. vs. 8.090 µg/g d.m.) and manganese ($0.654 \div 6.068$ µg/g d.m. vs. 0.155 µg/g d.m.) compared to the acid casein. The sodium-calcium caseinate was characterized by lower contents of zinc (17.042 µg/g d.m.), sodium caseinate (29.508 µg/g d.m.), and calcium caseinate (28.602 µg/g d.m.) compared to the acid casein (27.101 µg/g d.m.). The calcium caseinate had more copper (1.801 µg/g d.m.) than the acid casein (1.284 µg/g d.m.), sodium caseinate (1.234 µg/g d.m.), and sodium-calcium caseinate (1.120 µg/g d.m.).

Key words: acid casein, caseinates, macroelements, microelements 

EWA GORNOWICZ, TOMASZ SZWACZKOWSKI, MARIAN PIETRZAK,
MAGDALENA GRACZYK

WPLYW MASY TUSZKI NA BARWĘ MIĘSA KACZEK TYPU PEKIN

Streszczenie

Określono barwę mięsa kaczek typu pekin, odchowanych przez 11 tygodni, z uwzględnieniem płci i masy tuszek pogrupowanych w czterech przedziałach wartości. Przedziały masy tuszek: PI – 1567 ÷ 2170 g, PII – 2171 ÷ 2330 g, PIII – 2331 ÷ 2510 g i PIV – 2511 ÷ 2949 g utworzono w taki sposób, żeby liczba próbek w poszczególnych grupach była równa. Barwę mięśni piersiowych i nóg zmierzono instrumentalnie za pomocą kolorymetru w systemie CIE L*a*b*. Określono także odcień (h) i nasycenie barwy (C). Nie wykazano wpływu płci na żadną ze składowych barwy zarówno mięśni piersiowych, jak i nóg. Wykazano wpływ masy tuszki wyłącznie na kształtowanie się barwy żółtej (b*) i odcienia (h) mięśni nóg. Zawartość tłuszczu w mięśniach była zależna od masy tuszki i płci ptaków. Wykazano korelację tej cechy z jasnością mięśni piersiowych ($r = 0,58$) i nóg ($r = 0,76$). Tylko w przypadku samic kaczek wykazano istotnie ($p \leq 0,05$) różną jasność (L*) mięśni piersiowych pochodzących z grup o lżejszych tuszkach (PI i PII) i z grupy najcięższej (PIV). Tych samych grup dotyczyło istotne ($p \leq 0,05$) zróżnicowanie zawartości tłuszczu. Dowiedziono, że w celu uzyskania mięsa (jako surowca do przetwórstwa) wyrównanego pod względem barwy, należy prowadzić oddzielny chów samców i samic kaczek typu pekin. Chów samic kaczek powinien trwać nie dłużej niż do uzyskania tuszki o masie 2500 g, tj. do momentu osiągnięcia przez te ptaki 3500 g masy ciała.

Słowa kluczowe: kaczka, płeć, masa tuszki, mięso, barwa

Wprowadzenie

Obserwuje się zmiany wielkości i struktury spożycia produktów mięsnych. Przede wszystkim wzrasta konsumpcja drobiu. W grupie tej dominuje produkcja mięsa

*Dr hab. E. Gornowicz, prof. nadzw. Stacja Zasobów Genetycznych Drobiu Wodnego w Dworzyskach, Instytut Zootechniki PIB Zakład Doświadczalny Koluda Wielka, 62-035 Kórnik, prof. dr hab. T. Szwaczkowski, mgr inż. M. Graczyk, Katedra Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt, Wydz. Hodowli i Biologii Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wołyńska 33, 60-637 Poznań, dr inż. M. Pietrzak, Katedra Małych Ssaków i Surowców Pochodzenia Zwierzęcego, Wydz. Hodowli i Biologii Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Złotniki, ul. Słoneczna 1, 62-002 Suchy Las.
Kontakt: ewa.gornowicz@izoo.krakow.pl*

z kurcząt (87,17 %) i indyczego (5,83 %), czyli z drobiu grzebiącego. Udział mięsa z drobiu wodnego stanowi w tej puli 6,93 %, przy czym w większości (4,21 %) jest to mięso kaczki, a jego produkcja w Unii Europejskiej kształtowała się w 2011 r. na poziomie 4 193 tys. ton [7, 20].

Proces wyboru mięsa kulinarnego przez konsumentów zależy zarówno od jego cech ocenianych wzrokowo (np. barwy, stopnia przetłuszczenia), jak i miejsca oraz warunków zakupu. Istotnym ograniczeniem w badaniach czynników decydujących o wyborze mięsa jest stosunkowo krótki czas, w którym świeże mięso zachowuje jednakową jakość pod względem wszystkich badanych cech wyglądu [17]. W badaniach preferencji polskich konsumentów, w zakresie wizualnych determinant kulinarnego mięsa różnych gatunków zwierząt wykazano, że najbardziej istotną cechą jest barwa. Kierowało się nią aż 89 % respondentów. Cecha ta ma także istotne znaczenie w procesie przetwórczym mięsa, gdyż stosowany surowiec powinien charakteryzować się dobrą, stabilną i wyrównaną barwą [5, 10]. Wykorzystywanie w przetwórstwie niejednorodnego mięsa może uniemożliwiać uzyskiwanie produktów o standardowej jakości i powodować straty finansowe w zakładach mięsnych [16]. Wady mięsa drobiowego przejawiają się w zespołach cech, z powodu których mięso określane jest jako PSE i DFD, w przeciwieństwie do mięsa RFN o pożądaney jakości technologicznej. Cechy PSE obejmują znaczną wodnistość, miękką konsystencję i bladą, szarobiałą barwę. Natomiast charakterystyczne dla mięsa DFD są: zbita konsystencja, duża wodochłonność oraz ciemna barwa [6, 15, 19]. Zmiany najczęściej dotyczą najbardziej wartościowego elementu drobiu, jakim są mięśnie piersiowe [9]. Dbłość o jakość surowca połączona z właściwymi procesami przetwórstwa pozwala na osiągnięcie rezultatu w postaci żywności bezpiecznej i o wysokiej jakości [13].

Celem pracy była ocena barwy mięsa kaczki typu pekin z uwzględnieniem płci i masy tuszek pogrupowanych w określonych przedziałach wartości.

Material i metody badań

Materiałem doświadczalnym było wychłodzone mięso kaczki mieszańców typu pekin, pochodzących z krzyżówki samców A-55 z samicami GL-30 (pokolenie F2) [14]. Ptaki (170 samców i 216 samic) odchowywano przez 11 tygodni na prywatnej fermie kaczki w Wielkiej Wsi (województwo wielkopolskie) według standardów przyjętych w konwencjonalnym chowie kaczki. Ptaki utrzymywano w pomieszczeniu, bez dostępu do wybiegów i żywiono *ad libitum* takimi samymi paszami. Podstawową wartość pokarmową mieszanek paszowych określono na podstawie deklaracji producenta pasz (Agrifirm Polska Sp. z o.o.) – tab. 1.

Doświadczenie prowadzono po uzyskaniu zgody Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach w Poznaniu.

Tabela 1. Zawartość podstawowych składników pokarmowych w mieszankach paszowych dla kaczek
Table 1. Content of basic nutrients in compound feeds for ducks

Składniki Ingredients	Wiek kaczek w tygodniach Age of ducks in weeks	
	1 - 4	5 - 11
Białko ogólne / Total protein [%]	19,76	17,64
Tłuszcz surowy / Crude fat [%]	4,63	6,33
Włókno surowe / Crude fibre [%]	3,61	4,52
Popiół surowy / Crude ash [%]	7,87	8,09
Energia metaboliczna w 1 kg paszy [MJ] Metabolisable energy in 1 kg feed [MJ]	11,9	12,6
Stosunek energetyczno-białkowy [MJ:1%] Energy to protein ratio [MJ:1%]	0,60	0,71
Aminokwasy w 1 kg paszy / Amino acids in 1 kg of feed		
Lizyna / Lysine [%]	1,00	0,90
Metionina / Methionine [%]	0,50	0,40
\bar{x} Cystyna / Cystine [%]	0,35	0,30
Składniki mineralne / Minerals		
Wapń / Calcium [%]	1,00	0,90
Fosfor przyswajalny / Available phosphorus [%]	0,45	0,40

Po 11 tygodniach odchowu i po 12-godzinnej głodówce, ale z zapewnionym w tym czasie dostępem do wody pitnej, ptaki poddano ubojowi w ciągu 3 dni (2 × po 129 szt. i 1 × 128 szt.) i obróbce poubojowej. Zastosowane procedury były zgodne z praktyką przemysłową. Po wypatroszeniu i oczyszczeniu tuszki chłodzono immersyjnie, umieszczając je w wannach z wodą i lodem na około 45 min, do uzyskania temp. 9 °C wewnątrz mięśni piersiowych (*m. pectoralis superficialis* i *m. pectoralis profundus*). Następnie tuszki zawieszano na stojakach do ociekania i po 15 min ważono na elektronicznej wadze laboratoryjnej RADWAG WPT 5C z dokładnością do 0,2 g. Przez kolejne 18 h tuszki chłodzono w chłodni z wymuszonym obiegiem powietrza w temp. 4 °C, przy wilgotności na poziomie 60 ÷ 65 %. Przez okres odchowu, uboju i obróbki poubojowej ptaki miały zamocowany w błonach obu skrzydeł metalowy znaczek z numerem identyfikacyjnym.

W zależności od masy tuszek materiał badawczy dzielono na cztery równoliczne grupy (PI do PIV). Przyjęto następujące przedziały masy tuszek w poszczególnych grupach: PI – 1567 ÷ 2170 g, PII – 2171 ÷ 2330 g, PIII – 2331 ÷ 2510 g, PIV – 2511 ÷ 2949 g.

Stężenie jonów wodorowych w mięśniach piersiowych i nóg mierzono przenośnym pH-metrem MP 125 DE, firmy Mettler-Toledo (Szwajcaria), z elektrodą kalomelową Inlab 427, po 15 min (pH₁₅) i po 24 h (pH₂₄) od uboju.

Pomiar barwy mięsa wykonywano 24 h od uboju kaczek. Próbki pobierano z lewych półtuszek. Mięśnie piersiowe odcinano od mostka i żeber oraz odwracano na zewnątrz. Uzyskiwano w ten sposób powierzchnię plastra mięśni piersiowych (*m. pectoralis superficialis* i *m. pectoralis profundus*). W przypadku mięśni nóg wypreparowywano mięśnie z uda oraz podudzia i poddawano je rozdrobnieniu. Instrumentalny pomiar barwy w systemie CIE $L^*a^*b^*$ [4] wykonywano przy użyciu elektronicznego kolorymetru trójchromatycznego Minolta Chroma Meter C580 (źródło światła D65, obserwator 10° , otwór głowicy pomiarowej 8 mm, kalibracja wzorcem bieli: $L^* = 99,18$, $a^* = 0,07$, $b^* = 0,05$). W systemie tym L^* oznacza jasność, która jest wektorem przestrzennym, natomiast a^* i b^* są współrzędnymi trójchromatyczności, gdzie dodatnie wartości a^* odpowiadają barwie czerwonej, ujemne – barwie zielonej, dodatnie b^* – żółtej, ujemne b^* – niebieskiej. Określano także odcień (h) i nasycenie barwy (C). Pomiaru barwy produktu jednorodnego, jakim był plaster mięśni piersiowych, dokonywano jednorazowo w trzech punktach. Natomiast w produkcie niejednorodnym, jakim było rozdrobnione mięso z nóg, pomiar wykonywano w trzech punktach i w trzech powtórzeniach. Wartość średnią z pomiarów w poszczególnych grupach mięśni przyjmowano za wynik oznaczenia.

Z lewej półtuszkii pobierano również mięśnie (lewy mięsień piersiowy – powierzchniowy i głęboki oraz mięśnie z lewej nogi) do oznaczeń zawartości tłuszczu metodą Soxhleta, z użyciem aparatu Büchi 810, wg PN-ISO [22].

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej przy użyciu programu Statistica 10. Obliczono współczynniki korelacji i przeprowadzono jednoczynnikową analizę wariancji (Anova). Testowanie prowadzono na poziomie $p \leq 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Zawartość białka ogólnego i aminokwasów oraz energii metabolicznej w 1 kg paszy (tab. 1) były nieznacznie mniejsze od zaleceń żywieniowych dla kaczek [18]. Jednak wyniki użytkowości kaczek były dobre i odpowiadały średnim wynikom uzyskiwanym w chowie tego typu ptaków. Masa tuszek wahała się od 1567 do 2949 g, a wartość średnia populacji doświadczalnej wynosiła 2330 g. Udział populacji kaczek w analizowanych grupach wynosił od 23 % (PIV) do 26 % (PI i PIII). Największe zróżnicowanie masy wystąpiło w przedziałach skrajnych. W grupie PI, o najmniejszej masie tuszek, rozstęp ten wynosił 603 g, a w PIV – 438 g. W grupach środkowych rozstęp masy tuszek wynosił: w PII – 153 g, w PIII – 177 g (tab. 2).

Do odchowu doświadczalnego wstawiono kaczęta nieseksowane, stąd stosunek samców do samic w populacji wynosił 1 : 1,27 (tab. 2). W poszczególnych grupach wskaźnik ten wynosił 1 : 4 (PI), 1 : 2,4 (PII), 1 : 0,66 (PIII) i 1 : 0,49 (PIV). Wraz ze wzrostem masy tuszki w analizowanych przedziałach zwiększała się proporcjonalnie liczba samców w grupie.

Tabela 2. Średnia masa tuszki, pH oraz zawartość tłuszczu w mięśniach, z uwzględnieniem czterech przedziałów masy tuszek i płci kaczek
 Table 2. Mean weight of carcass, pH, and fat content in muscles with regard to four ranges of carcass weights and sex of ducks

Cecha Trait	Przedział masy tuszek / Carcass weight range [g]								Korelacja Correlation	
	PI 1567 ÷ 2170		PII 2171 ÷ 2330		PIII 2331 ÷ 2510		PIV 2511 ÷ 2949		Masa tuszki Carcass weight	Płeć Sex
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀		
n	18	72	25	61	56	37	55	27	351	351
Masa tuszki										
\bar{x} [g]	2034 ^a	2033 ^a	2266 ^b	2249 ^b	2415 ^c	2410 ^c	2609 ^d	2646 ^d	-	**
s / SD	101,2	113,4	42,81	43,92	47,83	49,39	87,56	119,8	-	-
V [%]	4,98	5,58	1,89	1,95	1,98	2,05	3,36	4,53	-	-
pH ₁₅ MP										
\bar{x}	5,98	5,96	5,89	5,92	5,97	5,95	5,98	5,96	NS	NS
s / SD	0,06	0,07	0,05	0,07	0,06	0,08	0,05	0,06	-	-
V [%]	1,00	1,18	0,85	1,18	1,01	1,35	0,84	1,01	-	-
pH ₂₄ MP										
\bar{x}	5,87	5,88	5,83	5,86	5,91	5,88	5,91	5,89	NS	NS
s / SD	0,05	0,09	0,07	0,03	0,04	0,06	0,07	0,05	-	-
V [%]	0,85	1,53	1,20	0,51	0,68	1,02	1,18	0,85	-	-
TS MP										
\bar{x} [%]	1,71 ^a	1,99 ^b	1,92 ^{ab}	2,23 ^c	1,99 ^b	2,38 ^c	1,96 ^b	2,83 ^d	*	*
s / SD	0,01	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,01	0,03	-	-
V [%]	0,59	1,01	1,04	0,90	1,01	1,26	0,51	1,06	-	-
pH ₁₅ MN										
\bar{x}	6,26 ^a	6,28 ^a	6,30 ^{ab}	6,33 ^{ab}	6,39 ^{ab}	6,36 ^{ab}	6,49 ^b	6,48 ^b	*	NS
s / SD	0,11	0,08	0,09	0,12	0,09	0,09	0,13	0,09	-	-
V [%]	1,76	1,27	1,43	1,90	1,41	1,42	2,00	1,39	-	-
pH ₂₄ MN										
\bar{x}	5,88 ^a	5,86 ^a	6,03 ^b	5,97 ^{ab}	6,01 ^{ab}	6,03 ^b	6,02 ^b	6,03 ^b	*	NS
s / SD	0,13	0,11	0,16	0,17	0,15	0,16	0,13	0,16	-	-
V [%]	2,21	1,88	2,65	2,85	2,50	2,65	2,16	2,65	-	-
TS MN										
\bar{x} [%]	5,40 ^{ab}	5,23 ^a	5,71 ^b	5,25 ^a	5,80 ^b	5,79 ^b	6,25 ^c	5,66 ^b	*	*
s / SD	0,03	0,02	0,04	0,03	0,04	0,04	0,05	0,03	-	-
V [%]	0,56	0,38	0,70	0,57	0,69	0,69	0,80	0,53	-	-

Objaśnienie: / Explanation:

\bar{x} – wartość średnia / mean value; s – odchylenie standardowe / SD – standard deviation; V – współczynnik zmienności / variation coefficient; MP – mięśnie piersiowe / breast muscles; MN – mięśnie nóg / leg muscles; TS – tłuszcz surowy / crude fat; NS – nie stwierdzono korelacji między czynnikami / no correlation was found among the factors; ^{a, b, c, d} – wartości oznaczone różnymi literami w wierszu oznaczają różnice statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) / ^{a, b, c, d} – values in the same rows with different letters differ significantly ($p \leq 0,05$); * - korelacja potwierdzona statystycznie ($p \leq 0,05$) / statistically confirmed correlation ($p \leq 0,05$).

Stężenie jonów wodorowych 15 min od uboju (pH_{15}) wynosiło od 5,89 (PII♂) do 5,98 (PI♂ i IV♂) w mięśniach piersiowych i od 6,26 (PI♂) do 6,49 (PIV♂) w mięśniach nóg. Po 24 h (pH_{24}) wartości te obniżyły się średnio w mięśniach piersiowych o 0,08 jednostki, a w mięśniach nóg o 0,38. Świadczy to o powolnych przemianach glikolitycznych w mięśniach piersiowych.

Potwierdzono statystyczną istotność ($p \leq 0,05$) różnic pod względem pH tylko w przypadku mięśni nóg i wykazano zależność wartości tego wskaźnika, zarówno 15 min, jak i 24 h od uboju od masy tuszki. Mięśnie nóg kaczek z grupy o największej masie tuszek (PIV) charakteryzowały się istotnie ($p \leq 0,05$) najwyższym pH.

Średnia zawartość tłuszczu w mięśniach piersiowych doświadczalnej populacji kaczek typu pekin wynosiła 2,13 %, a w mięśniach nóg – 5,64 %. W mięśniach piersiowych samic kaczek wykazano istotnie ($p \leq 0,05$) większą zawartość tłuszczu we wszystkich badanych przedziałach masy tuszki. Natomiast w przypadku mięśni nóg większym udziałem tłuszczu cechowały się samce, ale istotność ($p \leq 0,05$) różnic potwierdzono tylko w grupach PII i PIV. Wykazano korelacje między masą tuszki i płcią a wielkością kształtowania się zawartości tłuszczu w mięśniach analizowanych grup ptaków.

Jasność barwy L^* mięśni piersiowych (tab. 3) w poszczególnych przedziałach masy tuszki zawierała się w granicach od 43,19 (PII♀) do 46,03 (PIV♀). W mięśniach nóg (tab. 4) parametr ten przyjmował wyższe wartości, od 50,30 (PI♀) do 52,68 (PI♂). Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w kształtowaniu się tej cechy w mięsie kaczorów (♂). Natomiast istotnie ($p \leq 0,05$) jaśniejsze były mięśnie kaczek (♀) z grupy PIV wobec grupy PI, a w przypadku mięśni piersiowych także wobec grupy PII. Wykazano istotne ($p \leq 0,05$) różnice jasności barwy mięśni piersiowych łącznie populacji samców i samic grup PII i PIV. Uzyskane wartości tego parametru nie wykazywały dużego zróżnicowania w obrębie grupy, jaką stanowiły przedziały masy tuszek z uwzględnieniem płci i także łącznie – całej populacji (♂+♀). Świadczyć o tym może odchylenie standardowe, które wynosiło w przypadku mięśni piersiowych od 3,13 do 4,54, a mięśni nóg – od 2,38 do 3,56. Współczynnik zmienności (V) w żadnej z grup nie przekroczył 10 %, co świadczy o wyrównaniu kształtowania się badanej cechy. W przypadku mięśni piersiowych przyjmował on wartości od 7,21 do 9,91 %, a mięśni nóg – od 4,64 do 7,08 %.

Baęza i wsp. [1], w badaniach barwy mięśni piersiowych kaczek piżmowych w wieku zbliżonym do populacji ptaków w badaniach własnych, uzyskali niższe wartości parametru L^* w zakresie 35,34 ÷ 39,60. Wartości na zbliżonym poziomie w przypadku mięśni piersiowych (36,77 ÷ 41,63) i mięśni nóg (36,87 ÷ 40,98) wykazano w badaniach mięsa kaczek typu pekin w zależności od pochodzenia i systemu chowu [11]. Istotność różnic ($p \leq 0,05$) potwierdzono jednak tylko w przypadku mięśni

Tabela 3. Wyniki pomiaru składowych barwy mięśni piersiowych kaczek, oznaczonych w skali CIE L*a*b*, z uwzględnieniem czterech przedziałów masy tuszek i płci kaczek
 Table 3. Measurement results of colour components of ducks' breast muscles acc. to CIE L*a*b* colour system, based on four carcass weight ranges and sex of ducks

Cecha Trait	Przedziały masy tuszek / Carcass weight ranges [g]								Korelacja Correlation	
	PI 1567 ÷ 2170		PII 2171 ÷ 2330		PIII 2331 ÷ 2510		PIV 2511 ÷ 2949		Masa tuszeki Carcass weight	Płeć Sex
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀		
L*										
\bar{x}	45,58 ^{ab}	44,30 ^a	45,82 ^{ab}	43,19 ^a	44,35 ^{ab}	44,34 ^{ab}	44,92 ^{ab}	46,03 ^b	NS	NS
s / SD	3,77	4,38	4,54	3,13	3,34	3,78	3,24	3,84	-	-
V [%]	8,27	9,89	9,91	7,25	7,53	8,53	7,21	8,34	-	-
SEM	0,88	0,44	0,75	0,48	0,50	0,61	0,50	0,72	-	-
a*										
\bar{x}	11,55 ^{ab}	11,35 ^{ab}	10,70 ^a	11,98 ^b	11,86 ^b	11,90 ^b	11,94 ^b	11,08 ^{ab}	NS	NS
s / SD	2,35	2,19	2,15	1,67	2,01	2,05	2,00	2,06	-	-
V [%]	20,35	19,30	20,09	13,94	16,95	17,23	16,75	18,59	-	-
b*										
\bar{x}	5,44 ^b	5,01 ^{ab}	4,58 ^a	5,07 ^{ab}	5,03 ^{ab}	5,31 ^{ab}	5,46 ^b	5,29 ^{ab}	NS	NS
s / SD	1,99	1,75	1,38	1,40	1,24	1,33	1,64	1,55	-	-
V [%]	36,58	34,93	30,13	27,61	24,65	25,05	30,04	29,30	-	-
C										
\bar{x}	12,84 ^{ab}	12,49 ^{ab}	11,66 ^a	13,04 ^b	12,91 ^b	13,07 ^b	13,17 ^b	12,32 ^{ab}	NS	NS
s / SD	2,76	2,42	2,42	1,96	2,22	2,27	2,36	2,39	-	-
V [%]	21,50	19,38	20,76	15,03	17,20	17,37	17,92	19,40	-	-
h										
\bar{x}	24,66 ^b	23,54 ^{ab}	22,84 ^{ab}	22,61 ^a	22,85 ^{ab}	23,94 ^{ab}	24,12 ^b	25,11 ^b	NS	NS
s / SD	6,52	6,84	4,16	4,33	3,61	4,34	4,91	4,69	-	-
V [%]	26,44	29,06	18,21	19,15	15,80	18,13	20,36	18,68	-	-

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

piersiowych i obu czynników doświadczalnych. Z kolei Wołoszyn i wsp. [21] badali barwę mięśni nóg kaczek typu pekin po siedmiu tygodniach odchowu i wykazali istotny wpływ filogenetycznego pochodzenia ptaków na kształtowanie się jasności L* ($p \leq 0,01$) oraz parametru b* ($p \leq 0,05$). Wartości parametrów L* i b* barwy przyjmowały wartości na poziomie niższym, niż uzyskane w badaniach własnych, odpowiednio: o 6,34 i 8,13. Natomiast wartość parametru a* była wyższa o 3,02.

Tabela 4. Wyniki pomiaru składowych barwy mięśni nóg kaczek, oznaczonych w skali CIE L*a*b*, z uwzględnieniem czterech przedziałów masy tuszek i płci kaczek

Table 4. Measurement results of colour components of ducks' leg muscles acc. to CIE L*a*b* colour system, based on four carcass weight ranges and sex of ducks

Cecha Trait	Przedziały masy tuszek / Carcass weight ranges [g]								Korelacja Correlation	
	PI 1567 ÷ 2170		PII 2171 ÷ 2330		PIII 2331 ÷ 2510		PIV 2511 ÷ 2949		Masa tuszeki Carcass weight	Płeć Sex
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀		
L*										
\bar{x}	52,68 ^b	50,30 ^a	51,73 ^{ab}	50,95 ^{ab}	51,72 ^{ab}	51,30 ^{ab}	51,27 ^{ab}	51,91 ^b	NS	NS
s / SD	2,80	3,56	2,62	2,82	2,53	2,54	2,38	3,50	-	-
V [%]	5,32	7,08	5,07	5,53	4,89	4,95	4,64	6,74	-	-
a*										
\bar{x}	12,87	14,15	13,47	14,05	13,71	13,57	13,63	13,51	NS	NS
s / SD	2,11	2,10	1,91	1,87	2,10	1,81	1,43	1,81	-	-
V [%]	16,40	14,84	14,18	13,31	15,32	13,34	10,49	13,40	-	-
b*										
\bar{x}	12,91 ^a	12,88 ^a	13,34 ^{ab}	13,72 ^b	13,66 ^b	13,28 ^{ab}	13,66 ^b	13,77 ^b	*	NS
s / SD	1,78	2,34	1,84	2,19	1,76	1,86	1,92	2,12	-	-
V [%]	13,79	18,17	13,79	15,96	12,88	14,01	14,06	15,40	-	-
C										
\bar{x}	18,25	19,19	18,98	19,68	19,38	19,01	19,33	19,36	NS	NS
s / SD	2,59	2,81	2,45	2,54	2,54	2,36	2,19	2,19	-	-
V [%]	14,19	14,64	12,91	12,91	13,11	12,42	11,33	11,31	-	-
h										
\bar{x}	45,18 ^b	42,19 ^a	44,74 ^b	44,19 ^b	45,02 ^b	44,34 ^b	44,91 ^b	45,44 ^b	*	NS
s / SD	2,85	4,39	3,06	4,04	3,14	3,30	2,88	5,30	-	-
V [%]	6,31	10,41	6,84	9,14	6,98	7,44	6,41	11,66	-	-

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

Nieznaczone różnice zaobserwowano w udziale barwy czerwonej (a*) i żółtej (b*) w kształtowaniu się barwy badanych mięśni w zależności od przedziału masy tuszki. Różnice ich wartości w mięśniach piersiowych wynosiły maksymalnie odpowiednio: 1,28 i 0,88 oraz podobnie w mięśniach nóg – 1,28 i 0,89. Omawiane parametry barwy cechowały się wyższymi wartościami w odniesieniu do mięśni nóg. W przypadku wskaźnika a* była to wartość istotnie ($p \leq 0,05$) wyższa średnio o 2,13, a parametru b* – aż o 8,28. Nie wykazano istotnych różnic w kształtowaniu się wskaźnika barwy a* w mięśniach nóg. Natomiast istotnie ($p \leq 0,05$) niższą wartością omawianego parametru

tru cechowały się mięśnie piersiowe kaczorów PII wobec samic PII, samców i samic PIII oraz samców PIV. Pod względem kształtowania się parametru b^* w mięśniach nóg wykazano, że najniższą jego wartością charakteryzowały się ptaki z grupy (PI) obu płci. Nie potwierdzono statystycznie istotnych różnic tylko w przypadku samców PII i samic PIII. Wyniki składowych barwy mięśni piersiowych cechowały wysokie współczynniki zmienności, wynoszące od 13,94 % ($PII_{\text{♀}}$) do 20,35 % ($PI_{\text{♀}}$) w stosunku do parametru a^* i od 24,65 % ($PIII_{\text{♂}}$) do 36,58 % ($PI_{\text{♂}}$) w odniesieniu do parametru b^* . Florowski i wsp. [9] wykazali, że ogólna zawartość hemu w mięśniach piersiowych jest istotnie ($p \leq 0,05$) skorelowana z parametrem barwy b^* i dlatego sugerują, że pomiar ten można wykorzystać do oszacowania zawartości barwników hemowych w mięsie kurcząt brojlerów. Natomiast Chmiel i wsp. [6] nie potwierdzili tej tezy w przypadku mięsa wieprzowego (*m. longissimus lumborum*). Wykazali, że różnice jasności barwy badanych grup jakości mięsa nie wynikały z różnej zawartości barwników hemowych ogółem, która niezależnie od grupy jakości mięsa kształtowała się na zbliżonym poziomie (od 49,8 do 51,6). Ponadto wspomniani autorzy nie stwierdzili istotnego zróżnicowania parametrów barwy a^* i b^* w obrębie poszczególnych badanych grup.

Chartrin i wsp. [3] analizowali parametry barwy L^* , a^* i b^* w zależności od zawartości tłuszczu w mięśniach piersiowych kaczek typu pekin, piżmowych i ich mieszańców. Mierzili parametry barwy mięśni 14-tygodniowych kaczek trzech grup o zróżnicowanym pochodzeniu filogenetycznym. Autorzy uwzględnili przedziały zawartości tłuszczu: $1,7 \div 3,05$ g, $3,06 \div 4,37$ g i powyżej 4,37 g w 100 g mięsa. Wykazali istotne ($p < 0,0001$) różnice między badanymi grupami w przypadku składowych barwy L^* i b^* . Warto podkreślić, że mięśnie piersiowe o najmniejszej zawartości tłuszczu były istotnie ($p < 0,0001$) cięższe (329 g), ciemniejsze ($L^* = 34,38$) i mniej żółte ($b^* = 10,42$) wobec pozostałych dwóch analizowanych grup.

W badaniach własnych wykazano korelację ($r = 0,763$) między zawartością tłuszczu w mięśniach piersiowych samic a ich jasnością L^* . Nie zaobserwowano tej zależności w mięśniach piersiowych samców ani przy uwzględnieniu pozostałych składowych barwy. Wołoszyn i wsp. [21] stwierdzili, że najmniej zróżnicowaną składową barwy była intensywność czerwieni, niezależna od masy mięśni, tuszki czy zawartości tłuszczu. Potwierdziły to badania własne i Baéza [2].

Fernandez i wsp. [8] badali składowe $L^*a^*b^*$ barwy mięśni piersiowych ze skórą („magrets”) mulard i wykazali dużą ich zmienność. Stwierdzili znaczny udział mięśni z tendencją do odcienia bladego (pale), gdyż w 21,4 % prób po 24 h od uboju jasność L^* przekraczała wartość 45,0, a średnio wynosiła 45,7. Autorzy wykazali ponadto, że parametr ten jest skorelowany ($p < 0,001$) z zawartością tłuszczu śródmięśniowego. Wykazali także korelację ($p < 0,01$) między tą cechą mięśni a udziałem barwy żółtej (b^*). W badaniach własnych, na podstawie średnich wartości tego parametru w po-

szczególnej grupach kaczek (sklasyfikowanych według masy tuszki i bez uwzględniania płci), także 25 % populacji cechowało się bladą barwą mięśni piersiowych. Dotyczyło to ptaków najcięższych z grupy PIV ($L^* = 45,48$). Pozostała część populacji kaczek charakteryzowała się stosunkowo jasną barwą mięśni piersiowych – parametr L^* wynosił od 44,34 (PIII) do 44,94 (PI) i mięśnie te można ocenić pod względem technologicznym jako pośrednie między normalnymi a bladymi [8]. Udział barwy czerwonej (a^*) w mięśniach piersiowych poszczególnych grup całej populacji kaczek (bez uwzględniania płci) wynosił od 11,34 do 11,88. Nie wykazano istotnych różnic ($p \leq 0,05$) w odniesieniu do tego parametru, co było zgodne z wynikami innych autorów [6 i 8]. Wykazano istotne różnice ($p \leq 0,05$) w kształtowaniu się barwy żółtej (b^*) w mięśniach piersiowych kaczorów między grupami PI (najlżejsze) i PIV (najcięższe) a grupą PII. W ostatniej wymienionej grupie parametr b^* osiągnął najniższe wartości, a jak wykazali Strzyżewski i wsp. [19], niższą wartością tego wskaźnika charakteryzuje się mięso RFN – normalne, bez wad jakościowych.

Kolejną składową barwy to wskaźnik jej nasycenia (C). W mięśniach nóg nasycenie to wynosiło od 18,25 ($PI\♂$) do 19,68 ($PII\♀$), a wartości nie różniły się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$). Obliczony współczynnik zmienności był stosunkowo wysoki i wynosił w przypadku mięśni nóg od 11,31 % (PIV) do 14,64 % ($PI\♀$), a mięśni piersiowych – od 15,03 % ($PII\♀$) do 21,50 % ($PI\♂$). W ostatniej wymienionej grupie mięśni wskaźnik nasycenia barwy przyjmował wartości mniejsze o 33,75 % niż w mięśniach nóg i istotnie ($p \leq 0,05$) różne między grupami $PII\♂$ a $PII\♀$, $PIII\♂$, $PIII\♀$ i $PIV\♂$. Różnicę w kształtowaniu się tego wskaźnika w mięśniach nóg i piersi potwierdzono ($p \leq 0,05$) statystycznie (tab. 3 i 4).

Ostatnia składową barwy to odcień (h), którego wartość była prawie o połowę niższa w mięśniach piersiowych (od 22,82 – PII do 24,42 – PIV) niż w mięśniach nóg (od 42,88 – PI do 45,07 – PIV). Haraf i wsp. [12] oznaczyli inne wartości parametru h i C mięśni piersiowych kaczek typu pekin po 7 tygodniach chowu. W badaniach tych odcień (h) wynosił $9,21 \div 14,98$, nasycenie barwy (C) $16,60 \div 18,02$ jednostek, a średnia jasność L^* mięśni wynosiła 43,21. W badaniach własnych parametr L^* kształtował się na zbliżonym poziomie (44,82), jednak odcień barwy przyjmował dwukrotnie wyższe wartości, a nasycenie – niższe o $2,43 \div 6,64$ jednostek.

W przypadku oceny składowych b^* i h barwy mięśni nóg wykazano tendencję wzrostu wartości wraz ze wzrostem masy ciała ptaków. W mięśniach piersiowych taka zależność dotyczyła tylko nasycenia barwy (C).

Po uwzględnieniu płci kaczek (tab. 3 i 4) dowiedziono, że wartości wskaźników L^* , b^* i h mięsa samców były wyższe. Jedynie odcień (h) różnił się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$). Pozostałe składowe barwy mięsa samców i samic – a^* i C przyjmowały takie same lub zbliżone wartości.

Jednym z najcenniejszych elementów tuszy wieprzowej jest mięsień najdłuższy grzbietu (*m. longissimus dorsi*). W badaniach mających na celu wykorzystanie pomiaru barwy do rozpoznawania wad jakościowych tego mięśnia Strzyżewski i wsp. [19] wykazali, że odpowiednie będą parametry L^* , b^* i C^* , a pomiary należy wykonywać 24 h od uboju. Natomiast w tuszce kaczki najbardziej wartościowym składnikiem są mięśnie piersiowe (*m. pectoralis superficialis* i *m. pectoralis profundus*). W badaniach własnych zaobserwowano, że po 24 h od uboju mięśnie piersiowe poszczególnych grup doświadczalnych kaczek typu pekin różniły się nieznacznie jasnością barwy, udziałem barwy czerwonej i żółtej oraz nasyceniem i odcieniem barwy. Nie wykazano jednak korelacji między kształtowaniem się tych cech a masą tuszki czy płcią ptaków.

Wnioski

1. Nie wykazano wpływu płci kaczek typu pekin na żadną ze składowych barwy, zarówno mięśni piersiowych, jak i nóg.
2. Stwierdzono wpływ masy tuszki na kształtowanie się wyłącznie barwy żółtej (b^*) i odcienia (h) mięśni nóg.
3. Zawartość tłuszczu w mięśniach była zależna od masy tuszki i płci ptaków.
4. Wykazano korelacje między zawartością tłuszczu w mięśniach a jasnością mięśni piersiowych ($r = 0,58$) i nóg ($r = 0,76$). Tylko w przypadku samic kaczek wykazano istotnie ($p \leq 0,05$) różną jasność (L^*) mięśni piersiowych pochodzących z grup o lżejszych tuszkach (PI i PII) a grupą najcięższą (PIV). Tych samych grup dotyczyło istotne ($p \leq 0,05$) zróżnicowanie zawartości tłuszczu.
5. W celu uzyskania wyrównanego pod względem barwy mięsa kaczek (jako surowca do przetwórstwa) należy prowadzić oddzielny chów samców i samic kaczek typu pekin. Chów samic kaczek powinien trwać nie dłużej niż do uzyskania tuszki o masie 2500 g, tj. do momentu osiągnięcia przez te ptaki 3500 g masy ciała.

Literatura

- [1] Baéza E., Dessay C., Wacrenier N., Marche G., Listrat A.: Effect of selection for improved body weight and composition on muscle and meat characteristics in Muscovy duck. *Brit. Poultry Sci.*, 2002, **43**, 560-568.
- [2] Baéza E.: Effects of genotype, age and nutrition on intramuscular lipids and meat quality. *Symp. COA/INRA Scient. Cooperation in Agriculture, Tainan 2006, November 7-10*, pp. 79-82.
- [3] Chartrin P., Méteau K., Juin H., Bernadet M.D., Guy G., Larzul C., Rémygnon H., Mourot J., Duclos M.J., Baéza E.: Effects of intramuscular fat levels on sensory characteristics of duck breast meat. *Poult. Sci.*, 2006, **85**, 914-922.
- [4] CIE: Colorimetry, Commission Internationale de l'Eclairage. Publication CIE 15.2, 2nd ed. Viene 1986.
- [5] Chmiel M., Słowiński M., Dasiewicz K.: Lightness of the color measured by computer image analysis as a factor for assessing the quality of pork meat. *Meat Sci.*, 2011, **88**, 566-570.

- [6] Chmiel M., Słowiński M., Dasiewicz K., Mościcka K.: Porównanie jakości technologicznej mięsa wieprzowego zaklasyfikowanego do różnych grup jakości. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 2012, z. **570**, 19-29.
- [7] FAOSTAT Download Data, Livestock Primary: <http://faostat3.fao.org/download/Q/QL/E>
- [8] Fernandez X., Auvergne A., Renner M., Gatellier P., Manse H., Babilé R.: Preliminary observations on the colour variability of breast meat (“magrets”) in force-fed ducks. Anim. Res., 2003, **52**, 567-574.
- [9] Florowski T., Słowiński M., Dasiewicz K.: Colour measurements as a method for the estimation of certain chicken meat quality indicators. EJPAU, Food Sci. Technol., 2002, **2** (5).
- [10] Grabowski T., Kijowski J.: Jakość mięsa drobiowego. W: Mięso i przetwory drobiowe – technologia, higiena, jakość. Red. T. Grabowski, J. Kijowski. WNT. Warszawa 2004, pp.156-183.
- [11] Gornowicz E., Lewko L., Pietrzak M.: Kształtowanie się cech jakości mięsa kaczek w zależności od pochodzenia i metody chowu. Post. Nauki i Technol. Przem. Rol.-Spoż., 2011, **1** (66), 32-43.
- [12] Haraf G., Książkiewicz J., Wołoszyn J., Okruszek A.: Characteristic of meat colour of different duck populations. Arch. Tierz., 2009, **52**, 527-537.
- [13] Makala H., Olkiewicz M.: Zasady opracowywania nowych produktów z uwzględnieniem oczekiwań konsumentów, na przykładzie mięsa i jego przetworów. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2004, **1** (38), 120-133.
- [14] Mucha S., Gornowicz E., Lisowski M., Grajewski B., Radziszewska J., Szwaczkowski T.: Genetic parameters of carcass traits in ducks from crossbreeding population. Ann. Anim. Sci., 2014, **1**, 43-53.
- [15] Pospiech E., Borzuta K.: Cechy surowcowe a jakość mięsa. Roczn. Inst. Przem. Mięś. Tuszcz., 1998, **1** (35), 7-33.
- [16] Pospiech E., Iwanowska A., Montowska M.: Surowce zwierzęce i ich jakość. Jakość surowca mięsnego i jej uwarunkowania. Wady mięsa i możliwości ograniczenia ich negatywnego wpływu na jakość. W: A. Pisula., E. Pospiech (Red). Mięso – podstawy nauki i technologii. Wyd. SGGW, Warszawa 2011, pp. 231-249.
- [17] Sikora T., Weber P.: Próba poznania konsumenckich preferencji dotyczących mięsa kulinarnego. Gosp. Mięś., 1995, **1**, 40-41.
- [18] Smulikowska S., Rutkowski A. (Red.): Zalecenia żywieniowe i wartość pokarmowa pasz. Normy Żywienia Drobiu. Wyd. IV, IFiZZ PAN, Jabłonna 2005, pp. 71-76.
- [19] Strzyżewski T., Bilka A., Krysztofiak K.: Zależność pomiędzy wartością pH mięsa a jego barwą. Nauka Przyr. Technol., 2008, **2** (2), 1-9.
- [20] Windhorst H.W.: Patterns and dynamics of global and EU poultry meat production and trade. Lohmann Information, 2011, **46** (1), 28-37.
- [21] Wołoszyn J., Okruszek A., Orkusz A., Wereńska M., Książkiewicz J., Grajeta H.: Effect of duck genotype on leg muscle properties. Arch. Tierz., 2011, **6**, 649-660.
- [22] PN-ISO 1444 : 2000. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie tłuszczu wolnego.

EFFECT OF CARCASS WEIGHT ON MEAT COLOUR OF PEKIN DUCKS

Summary

Under the research study, the meat colour was determined of Pekin ducks raised for 11 weeks; the determination was made with regard to the sex and carcass weights grouped in four value ranges. The ranges of carcass weights: (i) PI from 1567 to 2170 g; (ii) PII from 2171 to 2330 g; (iii) PIII from 2331 to 2510 g; and (iv) PIV from 2511 to 2949 g were set so as to obtain the same number of samples in the

individual groups. The colour of breast and leg muscles was measured instrumentally using a colorimeter, according to a CIE L*a*b* system. The hue (h) and the saturation (C) of colour were also determined. It was found that the sex of ducks had no effect on any of the colour components of breast or leg muscles. It was proved that the carcass weight affected only the development of the yellow colour (b*) and the hue (h) of leg muscles. The fat content in the muscles depended on the carcass weight and the sex of the birds. A correlation was proved to exist between that trait and the brightness of breast muscle ($r = 0.581$) and leg muscles ($r = 0.763$). Only in the case of female ducks, a significant difference ($p \leq 0.05$) was confirmed to exist between the lightness (L*) of breast muscles from the groups with lighter carcasses (PI and PII) and the breast muscles from the group of the heaviest carcasses (PIV). A significant difference ($p \leq 0.05$) was found in the fat content in the muscles from the same groups. It was confirmed that in order to get the meat (to be used as a raw material for further meat processing) of even colour, male and female Pekin ducks should be raised separately. Moreover, the female ducks should not be raised longer than until their carcass weight reaches 2500 g, i.e. until those birds reach a body weight of 3500 g.

Key words: duck, sex, carcass weight, meat, colour ☒

MAŁGORZATA NATONEK-WIŚNIEWSKA, PIOTR KRZYŚCIN

OPRACOWANIE PROSTYCH I SKUTECZNYCH TESTÓW REAL-TIME PCR DO IDENTYFIKACJI KOMPONENTÓW BYDLĘCYCH, WIEPRZOWYCH I OWCZYCH W ŻYWNOSCI

Streszczenie

Proste, skuteczne i czułe metody identyfikacji gatunkowej komponentów mięsnych w produktach spożywczych są ważnym aspektem produkcji żywności. Są one istotne zarówno dla producentów, jak i konsumentów, którzy są coraz bardziej zainteresowani rzeczywistym składem żywności. W identyfikacji komponentów pochodzenia zwierzęcego w żywności największe znaczenie mają obecnie metody polegające na analizie mtDNA, co wynika ze znacznej trwałości oraz specyficzności gatunkowej tej cząsteczki. Celem pracy było opracowanie prostych i skutecznych testów identyfikacji gatunkowej komponentów bydlęcych, wieprzowych i owczych, przydatnych do analizy żywności. Badaniom poddano próbki mięsa o zawartości [%]: 6, 35, 60, 80 i 100 wołowiny w wieprzowinie, wieprzowiny w wołowinie i baraniny w wieprzowinie. Metoda polega na identyfikacji gatunkowo specyficznych dla bydła, świń i owiec fragmentów genu kodującego COX1 o długościach 68 pz oraz 53 pz. W opracowanych testach granica wykrywalności komponentu wieprzowego wynosiła 0,07 %, bydlęcego – 0,4 % i owczego – 0,5 %. Uzyskane wyniki wskazują na specyficzność gatunkową stosowanych testów. Reaktywność krzyżowa albo nie zachodzi, albo można ją zaobserwować w późnych cyklach reakcji. Metoda ma zastosowanie zarówno do mięsa surowego, jak i jego przetworów, takich jak kielbasa, mielonka, szynka. Metoda nie jest czasochłonna (4 h), natomiast jest powtarzalna (względne odchylenie standardowe w przypadku mięsa surowego wynosi $\leq 1,57$ %) oraz dokładna (błąd pomiaru $\leq 2,33$). W analizach mięsa przetworzonego dokładność pomiaru jest mniejsza, a rozrzut wyników nieznacznie większy, co może wskazywać na konieczność dostosowania krzywej standardowej do próbek badanych pod względem przetworzenia.

Słowa kluczowe: identyfikacja gatunkowa, startery specyficzne gatunkowo, Real-time PCR, COX1 mtDNA

Wprowadzenie

Identyfikacja gatunkowa przetworzonych komponentów artykułów spożywczych lub ich surowych składników wzbudza zainteresowanie producentów żywności i kon-

*Dr M. Natonek-Wiśniewska, dr inż. P. Krzyścin, Dział Cytogenetyki i Genetyki Molekularnej Zwierząt, Instytut Zootechniki - PIB, ul. Krakowska 1, 32-081 Balice.
Kontakt: malgorzata.natonek@izoo.krakow.pl*

sumentów. Potrzeba poznania rzeczywistego składu produktów spożywczych wynika ze zwiększającej się dbałości o jakość żywności i o jej pozytywny wpływ na ludzkie zdrowie. Poszukiwana jest np. informacja o obecności składników alergicznych w produktach żywnościowych, a bywa ona niedostateczna. Ważnym aspektem jest czynnik ekonomiczny, skłaniający niektórych producentów do świadomych zafałszowań, szczególnie do zastępowania mięsa o wyższej wartości rynkowej tańszym, zazwyczaj mniej wartościowym składnikiem. Ponadto wzrasta liczba klientów zainteresowanych oryginalnymi produktami spożywczymi (np. dziczyzną) [10, 17], żywnością egzotyczną (np. owocami morza) [8, 18] lub produktami o określonych walorach żywieniowych. W związku z tym może dochodzić do zafałszowań produktu żywnościowego, czyli podawania nieprawdziwych danych o produkcie na opakowaniu, co ma na celu ukrycie jego rzeczywistego składu [22]. Przepisy unijne zakazują takich praktyk i zapewniają konsumentom prawo do dokonywania świadomych wyborów dotyczących spożywanej przez nich żywności oraz wprowadzają sankcje za działanie wprowadzające konsumenta w błąd [20]. Rozporządzenie UE nr 1169/2011 [19] z dnia 13 grudnia 2014 r. rozszerza zakres odpowiedzialności – sankcje mogą dotyczyć nie tylko producentów, ale i np. właścicieli sklepów internetowych. Zakaz wprowadzania konsumenta w błąd został rozszerzony także o treści reklamowe.

Ustanowione przepisy będą respektowane wtedy, gdy zostaną opracowane skuteczne metody pozwalające na specyficzną kontrolę produktów. Obecnie największe znaczenie dla identyfikacji gatunkowej w produktach pochodzenia zwierzęcego mają metody polegające na analizie mitochondrialnego DNA (mtDNA), co wynika ze znacznej trwałości takiej cząsteczki oraz jej specyficzności gatunkowej. W obrębie sekwencji nukleotydowej można wyodrębnić fragmenty specyficzne dla identyfikowanego gatunku – takie same bez względu na pochodzenie tkanki. Ponadto cząsteczka DNA pozostaje stabilna w zmiennych, niekorzystnych warunkach termiczno-barycznych, co pozwala na identyfikację produktów przechowywanych lub przetworzonych. Wśród metod bazujących na DNA, reakcja łańcuchowa polimerazy – w odmianie klasycznej (PCR) oraz w czasie rzeczywistym (Real-time PCR) – jest najlepiej opracowaną techniką molekularną, umożliwiającą identyfikację gatunkową komponentów, nawet w złożonych i przetworzonych produktach żywnościowych [1, 11, 13, 14]. Podczas doskonalenia metod wykazano przewagę mitochondrialnego DNA nad innymi markerami genetycznymi. W ostatnich latach coraz większe znaczenie zyskuje PCR w czasie rzeczywistym ze względu na dużą czułość testów oraz możliwość określenia składu ilościowego badanego materiału [2, 3, 4].

Celem pracy było opracowanie prostych i skutecznych testów identyfikacji gatunkowej komponentów bydłych, wieprzowych i owczych, które byłyby skuteczne w analizie żywności.

Material i metody badań

Material doświadczalny stanowiły próbki mięsa: wieprzowego (*Sus scrofa*), wołowego (*Bos taurus*) i owczego (*Ovis aries*). Próbki mięsa poszczególnych gatunków pobierano podczas dysekcji doświadczalnych, przeprowadzanych na zwierzętach, utrzymywanych w zasobach Instytutu Zootechniki PIB. Następnie na ich bazie przygotowywano próbki dwugatunkowe przez mieszanie mięsa wołowego z wieprzowym oraz owczego z wieprzowym w takich proporcjach, aby skład próbek był następujący [%]: 6, 35, 50, 60, 80, 100 odpowiednio: wołowiny w wieprzowinie, wieprzowiny w wołowinie, baraniny w wieprzowinie.

Ponadto material doświadczalny stanowiły produkty żywnościowe dostępne w handlu, tj. kielbasy (biała, śląska, krakowska sucha) szynki (konserwowa, pieczona, gotowana), mielonka oraz surowe mięso (wołowe, wieprzowe, owcze). Z surowego mięsa jednogatunkowego tworzone mieszaniny mięsa wołowo-wieprzowego (50 : 50) oraz wieprzowo-owczego (50 : 50).

Odważano próbki mięsa o masie 500 g. Mięso mielono kilkakrotnie w celu homogenizacji, a między kolejnymi homogenizacjami mieszano. Z tak przygotowanego materiału tworzone podpróby o masie 50 g, losowo wybierano porcje homogenizowanego mięsa, a z nich odważano następnie próbki laboratoryjne o masie zgodnej z wymogami izolacji DNA. Urządzenie rozdrabniające było sterylizowane między mieleciem kolejnych próbek (w celu uniknięcia kontaminacji).

DNA otrzymywano przy użyciu zestawu AX Food (A&A Biotechnology). Stosowano metodę izolacji podaną przez producenta, zawieszając DNA w 50 μ l buforu TE (Tris-EDTA). Do pomiaru stężenia DNA używano spektrofotometru Nanodrop (ThermoScientific), określając jednocześnie czystość wyekstrahowanego DNA poprzez pomiar stosunku absorpcji przy $\lambda = 260$ nm i $\lambda = 280$ nm. Ponadto jakość DNA sprawdzano poprzez elektroforezę w 0,8-procentowym żelu agarozowym przy napięciu 80 V przez 50 min.

Wybrane sekwencje genów gatunków: bydło, świnie i owce zaczerpnięto z Gen Banku [7]. Numery akcesyjne sekwencji genów wymienionych gatunków to odpowiednio: NC_006850, NC_012095 i NC_001941. Na podstawie porównania wspomnianych sekwencji między sobą, jak również z sekwencjami kury (NC_001323) i człowieka (NC_012920.1), wybrano regiony wykazujące brak homologii międzygatunkowej w mitochondrialnym genomie (COX1) tych gatunków. Wybrana do badań sekwencja kodująca podjednostkę COX1 jest powszechnie używana do rozróżniania gatunków zwierząt oraz do barkodingu [9, 15]. Do fragmentów tych zaprojektowano startery i sondy TaqMan przy użyciu programu PrimerExpress (Life Technologies) [21]. Sondy wyznakowano barwnikiem reporterowym Vic (sonda bydłęca) oraz NED (sonda wieprzowa i owcza). W tab. 1. przedstawiono sekwencje starterów i sond oraz wielkość otrzymanego przy ich udziale produktu reakcji PCR. Przeprowadzono teore-

tyczne (przy zastosowaniu oprogramowania FastPCR [12]) i doświadczalne (w reakcji PCR) sprawdzenie zaprojektowanych starterów pod względem ewentualnego równoczesnego powielania DNA zwierząt innych gatunków oraz roślin, stosowanych w postaci składników lub zafałszowań produktów spożywczych (koń, królik, indyk, kaczka, gęś, kot, pies, soja, ryż, kukurydza).

Tabela 1. Startery i sondy specyficzne gatunkowo zaprojektowane dla genu kodującego COX1

Table 1 Primers and species-specific probes designed for gene encoding COX 1

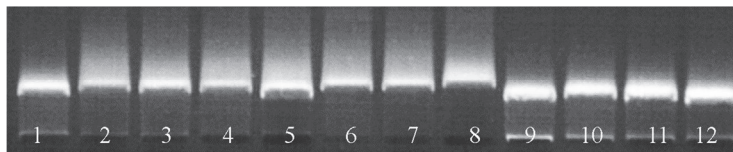
Gatunek Species	Starter/Sonda Primer/Probe	Sekwencja (5'-3') Sequence (5'-3')	Wielkość amplikonu Size of amplicon [pz] / [bp]	Temperatura anilingu Annealing temperature [°C]
Bydło Cattle	Forward	GATGCTTGGGCCGGTATAGTAG	68	60
	Reverse	GGCCTAATTCAGCGCGAAT		
	Sonda/Probe	AACAGCTCTAAGCCTTC		
Świnia Pig	Forward	GACATCGGCACCCTGTACCT	53	60
	Reverse	GCTCAAGGCAGTGCCCACTA		
	Sonda/Probe	CTATTTGGTGCCTGAGCAG		
Owca Sheep	Forward	[16]	53	64
	Reverse	[16]		
	Sonda/Probe	TCGGAGGCTTAACTGG		

Przy zastosowaniu wyznaczonych starterów prowadzono reakcje PCR na DNA wyizolowanym z modelowych próbek mięsa [%]: 6, 35, 60, 80 i 100. Reakcje PCR prowadzono w układzie duplex (startery/sondy bydlęce i wieprzowe) oraz monoplex (startery/sonda owcze). Sprawdzono specyficzność reakcji, liniowość oraz granice wykrywalności. Na próbkach modelowych jednogatunkowych oraz 50-procentowych dwugatunkowych sprawdzono powtarzalność wyniku dla niezależnych izolacji (tab. 2) oraz reakcji qPCR wykonanych na tym samym ekstrakcie DNA (tab. 3).

Opracowaną metodę zastosowano do analizy komercyjnych próbek żywności (tab. 4). Do wszystkich reakcji zastosowano krzywe standardowe wyznaczone z modelowych próbek mięsa [%]: 6, 35, 60, 80 i 100.

Wyniki i dyskusja

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono przydatność zestawu Ax Food do izolacji DNA. Otrzymano DNA o stężeniu powyżej 400 ng/μl i o jakości wystarczającej do przeprowadzenia reakcji qPCR. Współczynnik $A_{260/280}$ wszystkich próbek zawierał się w przedziale $1,80 \div 1,92$, a w rozdziale elektroforetycznym DNA migrowało w postaci mocnego prążka. Jednak DNA próbek przetworzonych było nieznacznie zdegradowane (rys. 1).

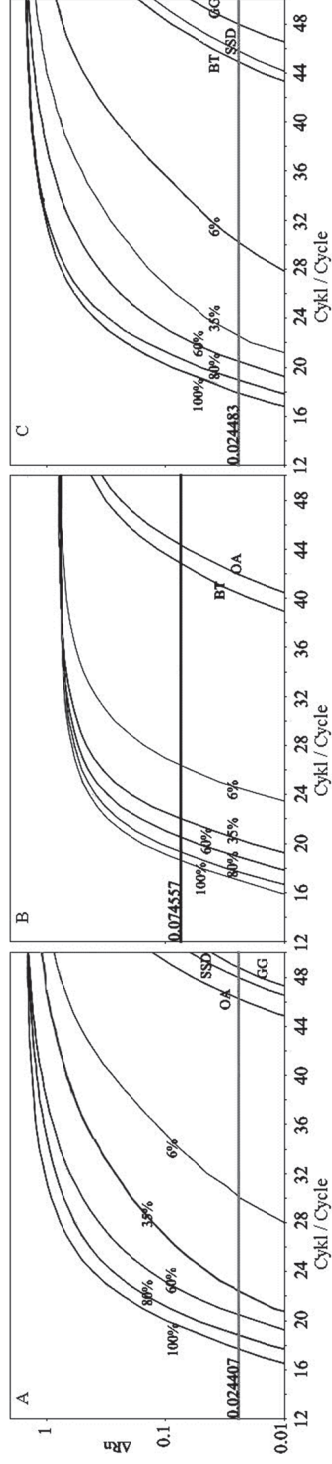


Rys. 1. Rozdział elektroforetyczny DNA w 0,8-procentowym żelu agarozowym. W kolejnych studzienkach przedstawiono DNA wyizolowane z kiełbasy: śląskiej A (1), śląskiej B (2), białej (3), krakowskiej suchej (4); z szynki: konserwowej (5), pieczonej (6), gotowanej (7); z mielonki (8); z mięsa mielonego: wołowego (9), wieprzowego (10), owczego (11) i wołowo-wieprzowego (12)

Fig. 1. Electrophoretic separation of DNA in 0.8 % agarose gel. Subsequent lanes contain DNA isolated from: Śląska sausage A (1); Śląska sausage B (2); white sausage (3); Krakowska dry sausage (4); tinned ham (5); roast ham (6); cooked ham (7); luncheon meat (8); minced bovine meat (9); minced pork meat (10); minced ovine meat (11); and minced bovine and porcine meat (12).

Wykazano, że optymalne ilości starterów oraz sondy to odpowiednio: 300 oraz 150 nmol, natomiast najkorzystniejsza dla każdej reakcji ilość DNA to 50 ng. Przy takim poziomie DNA amplifikacja w zakresie stężeń $6 \div 100$ % zachodziła między 17. a 30. cyklem testu bydlęcego (rys. 2A), 17. a 26. cyklem testu wieprzowego (rys. 2B) oraz między 17. a 30. cyklem – owczego (rys. 2C). W analogicznych testach stosuje się zazwyczaj od 25 ng DNA. W przypadku opracowywanych testów zastosowano jednak większą ilość DNA, aby osiągnąć granice wykrywalności na satysfakcjonującym poziomie. Gdyby użyto mniej DNA, doprowadziłoby to do wzrostu CT (cyklu progowego) i zmniejszenia ilości produktu amplifikacji, co ostatecznie spowodowałoby obniżenie czułości reakcji.

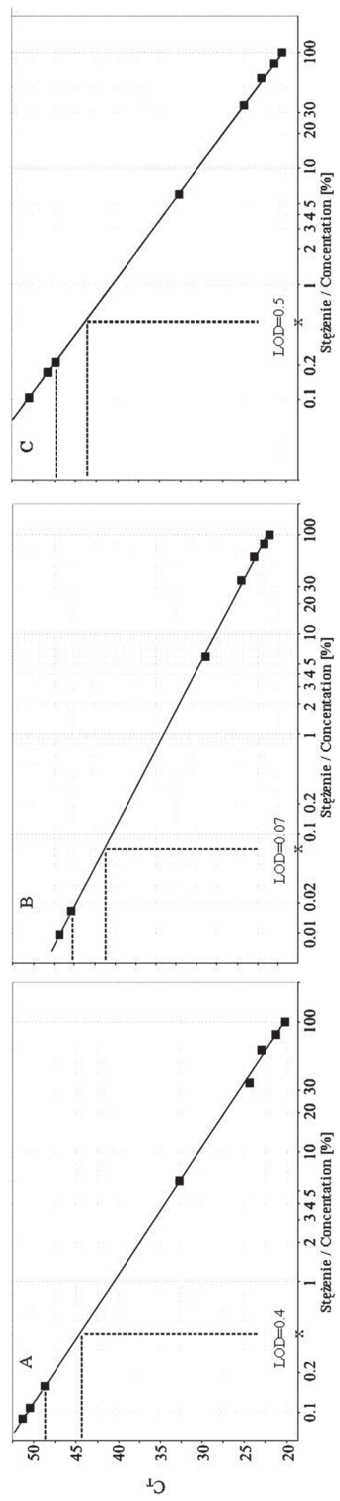
Uzyskane wyniki wskazują na małą reaktywność krzyżową. W przypadku starterów bydlęcych i owczych reaktywność krzyżowa zachodzi od 44 cyklu (rys. 2A i 2C). Z kolei dla starterów wieprzowych reakcja z komponentem kurzym nie zachodzi, a z bydlęcym i owczym przebiega ok. 42 cyklu (rys. 2B). W tym przypadku jednak różnica między reaktywnością próbki 1 % a reakcjami krzyżowymi jest większa niż w pozostałych przypadkach i wynosi 11 cykli (rys. 3). Zależność między log fluorescencji a stężeniem oznaczanego DNA jest liniowa w całym zakresie stężeń (rys. 3). W celu wyznaczenia zakresu stężeń, dla których można stosować metodę „odcięto” wykresy fluorescencji dla 100 % próbek pochodzących z gatunków innych niż docelowe. Zakłada się, że wszystkie wyniki poniżej tych wartości nie są brane pod uwagę. Dla większej wiarygodności wyników otrzymaną granicę przesunięto dodatkowo o 4 cykle. Z krzywej standardowej dla każdego badanego gatunku (rys. 3 A, B, C) odczytano stężenia analizowanego komponentu. Wynosiły one 0,4 % dla bydła, 0,07 % dla świń oraz 0,5 % dla owiec. W ten sposób wyznaczono najmniejszą ilość badanego materiału specyficznego gatunkowo, jaką można realnie zidentyfikować (LOD).



Objasnienia: / Explanatory notes: ΔRn – względna wartość fluorescencji / relative fluorescence value; cykl reakcji qPCR / cycle qPCR reaction; 6 ÷ 100 % udział DNA: bydłęcego w wieprzowym (A), wieprzowego w bydłęcym (B), owczego w wieprzowym (C) / 6 ÷ 100 % of DNA share: of bovine in porcine (A), of porcine in bovine (B), of ovine in porcine (C). Wykres dot. 100 % DNA / Graph refers to 100 % DNA: BT – bydłęcego / of bovine; SSD – wieprzowego / of porcine; OA – owczego / of ovine, GG – kurzego / of chicken

Rys. 2. Wykresy amplifikacji w teście: bydłęcym (A), wieprzowym (B), owczym (C)

Fig. 2. Amplification graphs for bovine (A), porcine (B), and ovine tests (C)



Objasnienie: / Explanatory note: LOD – granica wykrywalności / limit of detection

Rys. 3. Krzywe standardowe w tęście: bydlęcym (A), wieprzowym (B), owczym (C)
 Fig. 3. Standard curves for bovine (A), porcine (B), and ovine tests (C)

Tabela 2. Wyniki analizy modelowych próbek mięsa z niezależnych izolacji DNA

Table 2. Analysis results of model meat samples fro independent DNA isolations

Rzeczywisty skład Real composition [%]			Powtórzenie izolacji DNA DNA isolation repetition	Zidentyfikowany skład Identified composition [%]			Miary statystyczne Statistical measures		
B	S	O		B	S	O	SD	D	RSD [%]
100	-	-	A	96,70	-	-	2,30	4,94	2,42
			B	92,44	-	-			
			C	92,66	-	-			
			D	96,92	-	-			
			E	96,60	-	-			
-	100	-	A	-	101,1	-	1,80	0,46	1,81
			B	-	97,26	-			
			C	-	98,37	-			
			D	-	101,4	-			
			E	-	99,46	-			
-	-	100	A	-	-	98,25	0,71	1,76	0,72
			B	-	-	99,25			
			C	-	-	98,23			
			D	-	-	97,25			
			E	-	-	98,22			
50	50	-	A	48,26	47,27	-	0,69	2,35	1,46
			B	47,69	48,27	-			
			C	46,53	48,33	-			
			D	47,58	48,22	-			
			E	48,19	47,27	-			
-	50	50	A	-	46,22	47,66	1,11	2,10	2,31
			B	-	48,22	48,33			
			C	-	47,59	47,16			
			D	-	49,24	49,27			
			E	-	48,22	46,27			

Objaśnienia: / Explanatory notes:

B – mięso z bydła / meat from cattle; S – mięso ze świń / meat from pig; O – mięso z owiec / meat from sheep; SD – odchylenie standardowe / standard deviation; D – błąd bezwzględny / absolute error; RSD – względne odchylenie standardowe / relative standard deviation.

Granice wykrywalności uznano za wystarczającą do komercyjnego zastosowania opracowanych testów, pomimo że analogiczne metody opracowane w innych laboratoriach cechują się granicą wykrywalności od 0,1 % [3, 5]. Na korzyść LOD uzyskanego w badaniach własnych przemawia to, że poprzez wykorzystywanie reakcji duplex generuje niższe koszty od reakcji multipleksowych wykorzystywanych do analizy zafałszowań wołowiny wieprzowiną [5, 13].

Zaobserwowano powtarzalność wyników w przypadku niezależnych izolacji tej samej próbki (tab. 2) – odchylenie standardowe nie większe niż 2,3 (RSD = 2,42 %). Większość otrzymanych wyników jest nieznacznie zaniżona, gdyż wartości średnie zidentyfikowanego składu plasują się poniżej wartości rzeczywistych, różnice są jed-

nak niewielkie – błąd bezwzględny $\leq 4,94$. Podobnie wyniki otrzymane w niezależnych powtórzeniach reakcji qPCR również są powtarzalne (RSD $\leq 3,18$ %) oraz niewiele odbiegają od składu rzeczywistego $D \leq 3,7$ (tab. 3).

Tabela 3. Wyniki analizy modelowych próbek mięsa z pięciu niezależnych reakcji qPCR
Table 3. Analysis results of model meat samples from five independent qPCR reactions

Skład rzeczywisty Real composition [%]			Zidentyfikowany średni skład Identi- fied mean composi- tion [%]			Miary statystyczne Statistical measures					
B	S	O	B	S	O	SD	D	RSD [%]	SD	D	RSD [%]
100	-	-	96,30	-	-	B 1,03	B 3,70	B 1,07	-	-	-
-	100	-	-	98,87	-	S 0,93	S 1,13	S 0,94	-	-	-
-	-	100	-	-	97,74	O 0,96	O 2,26	O 0,98	-	-	-
50	50	-	47,95	47,06	-	B 0,43	B 2,05	B 0,86	S 1,13	S 2,94	S 2,40
-	50	50	-	47,07	47,10	S 1,16	S 2,93	S 2,46	O 1,50	O 2,90	O 3,18

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

Zastosowanie omawianego testu do badania żywności wskazuje na podobne prawidłowości, jak w badaniach modelowych w przypadku materiału surowego ($D \leq 2,33$, RSD $\leq 7,52$ %). Natomiast wyniki dotyczące materiału przetworzonego są powtarzalne (w przypadku dużego udziału mięsa identyfikowanego gatunku – RSD $\leq 5,39$ %, podobnie w przypadku małego udziału – RSD $\leq 11,93$ %), lecz dokładność pomiaru jest mniejsza (tab. 4). W przypadku kielbasy D wynosi 6,94, a mielonki – nawet 17,9. Jeśli założy się, że skład podany przez producenta jest zgodny z rzeczywistym, to przyczyną różnic w wartościach metody może być zastosowanie krzywej standardowej wykonanej na podstawie oznaczeń w surowym mięsie, które zawierało DNA o wyższej jakości. Możliwe, że zastosowanie krzywej standardowej wyznaczonej z próbek przetworzonych umożliwiłoby otrzymywanie wyników o większej dokładności.

Uzyskane wyniki wskazują na wysoką przydatność opracowanych testów do analizowania żywności surowej oraz poddanej obróbce termiczno-barycznej. Proponowane startery wytwarzają amplikony o niewielkiej długości. Wielkość amplikonów ma ogromne znaczenie w przypadku identyfikacji próbek przetworzonych, w której DNA może być zdegradowane do odcinków poniżej 100 pz. [16]. W takim przypadku test wykorzystujący małe fragmenty sprawdza się bardzo dobrze [17, 18], co zostało potwierdzone również w przedstawionej metodzie. PCR z użyciem starterów specyficznych jest jedną z najczęściej stosowanych metod identyfikacji gatunkowej, ponieważ

zapewnia szybkość, specyficzność i wysoką czułość badań. W przypadku przetworzonych i wielogatunkowych produktów żywnościowych, PCR z użyciem specyficznych starterów stanowi skuteczne narzędzie do identyfikacji gatunków [10, 14].

Tabela 4. Wyniki analizy próbek komercyjnych z trzech niezależnych reakcji qPCR
Table 4. Analysis results of commercial samples from three independent qPCR reactions

Rodzaj próbki Type of sample	Skład podany przez producenta Composition declared by producer [%]		Zidentyfikowany średni skład Identified mean composition [%]		Miary statystyczne Statistical measures					
	B	S	B	S	SD	D	RSD [%]	SD	D	RSD [%]
Kielbasa biała White sausage	-	91	-	84,06	S 4,53	S 6,94	S 5,39	-	-	-
Kielbasa śląska A Śląska sausage A	-	94	-	87,05	S 2,25	S 6,95	S 2,58	-	-	-
Kielbasa śląska B Śląska sausage B	9	78	8,13	69,67	B 0,97	B 0,87	B 11,93	S 5,32	S 8,33	S 7,63
Krakowska sucha Krakowska dry sausage	5	85	3,61	85,74	B 0,27	B 1,39	B 7,42	S 4,27	S 0,74	S 4,98
Mielonka wieprzowa Luncheon meat pork	-	94	-	76,10	S 4,27	S 17,9	S 5,61	-	-	-
Szynka konserwowa Canned ham	-	58	-	52,04	S 3,27	S 5,96	S 6,28	-	-	-
Szynka pieczona Roasted ham	-	80	-	85,76	S 4,30	S 5,76	S 5,01	-	-	-
Szynka gotowana Cooked ham	-	90	-	84,90	S 3,59	S 5,10	S 4,22	-	-	-
Mięso mielone Minced meat	100	-	97,78	-	B 0,52	B 2,22	B 0,53	-	-	-
Mięso mielone Minced meat	-	100	-	97,67	S 0,57	S 2,33	S 0,58	-	-	-
Mięso mielone Minced meat	50	50	47,7	48,44	B 0,75	B 2,30	B 1,57	S 0,51	S 1,56	S 1,05

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

Wnioski

1. Mitochondrialna sekwencja kodująca podjednostkę I genu oksydazy cytochromowej (COX1) jest przydatna do rozróżniania gatunków zwierząt w próbkach mięsa.

2. Opracowane testy pozwalają na określenie przynależności gatunkowej składników zwierzęcych w żywności surowej oraz przetworzonej.
3. Do poprawnego zidentyfikowania składu żywności krzywa standardowa powinna być sporządzana na podstawie oznaczeń w materiale podobnym do próbek badanych.
4. Metoda identyfikacji gatunkowej żywności przy zastosowaniu reakcji Real-Time jest powtarzalna i dokładna

Literatura

- [1] Ballin N., Vogensen F., Karlsson A.: Species determination – Can we detect and quantify meat adulteration? *Meat Sci.*, 2009, **2** (83), 165-174.
- [2] Camma C., Domenico D., Monaco F.: Development and validation of fast Real-time PCR assays for species identification in raw and cooked meat mixtures. *Food Control*, 2012, **23**, 400-404.
- [3] Cawthraw S., Saunders G.C., Martin T.C., Sawyer J., Windl O., Reaney S.: Real-Time PCR detection and identification of prohibited mammalian and avian material in animal feeds. *J. Food Prot.*, 2009, **72**, 1055-1062.
- [4] Che Man Y.B., Aida A.A., Raha A.R., Son R.: Identification of pork derivatives in food products by species-specific polymerase chain reaction (PCR) for halal verification. *Food Control*, 2007, **18**, 885-889.
- [5] Fumière O., Dubois M., Baeten V., von Holst Ch., Berben G.: Effective PCR detection of animal species in highly processed animal byproducts and compound feeds. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2006, **385**, 1045-1054.
- [6] Frezza D., Giambra V., Chegdani F., Fontana C., Maccabiani G., Losio N., Faggionato E., Chiappini D., Vaccari G., von Holst Ch., Lanni L., Saccare S., Ajmone-Marsan P.: Standard and light-cycler PCR methods for animal DNA species detection in animal feedstuffs. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2008, **9**, 18-23.
- [7] Genomes [online]. National Center for Biotechnology Information GenBank Dostęp w Internecie [20.09.2014]: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/submit_types
- [8] Griffiths A., Sotelo C, Mendes R, Pérez-Martín R.: Current methods for seafood authenticity testing in Europe: Is there a need for harmonisation? *Food Control*, 2014, **45**, 95-100.
- [9] Guardone L., Deplazes P., Macchioni F., Magi M., Mathis A.: Ribosomal and mitochondrial DNA analysis of Trichuridae nematodes of carnivores and small mammals. *Veterinary Parasitology*, 2013, **197**, 364-369.
- [10] Fajardo V., González I., López-Calleja I., Martín I., Hernández P.E., Garcia T.: PCR-RFLP authentication of meats from red deer (*Cervus elaphus*), fallow deer (*Dama dama*), roe deer (*Capreolus capreolus*), cattle (*Bos taurus*), sheep (*Ovis aries*), and goat (*Capra hircus*). *J. Agric. Food Chem.*, 2006, **54**, 1144-1150.
- [11] Fumière O., Veys P., Boix A., von Holst Ch., Baeten V., Berben G.: Methods of detection, species identification and quantification of processed animal proteins in feedingstuffs. *Biotechnol., Agron., Soc. Envir.*, 2009, **13**, 57-68.
- [12] Kalendar R., Lee D., Schulman A.: Java web tools for PCR, in silico PCR, and oligonucleotide assembly and analysis. *Genomics*, 2011, **98**, 137-144.
- [13] Kesmen Z., Gulluce A., Sahin F., Yetim H.: Identification of meat species by TaqMan-based real-time PCR assay. *Meat Sci.*, 2009, **4** (82), 444-449.

- [14] Mafra I., Ferreira I., Oliveira B.: Food authentication by PCR-based methods. *Eur. Food Res. Technol.*, 2008, **227**, 649-665.
- [15] Mirek Z., Bieniek W., Sztorc A.: Barkoding DNA – nowe narzędzie do opisu bioróżnorodności. *Wiadomości Botaniczne*, 2007, **51**, 41-50.
- [16] Natonek-Wisniewska M., Krzyścin P., Piestrzyńska-Kajtoch A.: The species identification of bovine, porcine, ovine and chicken components in animal meals, feeds and their ingredients, based on COX I analysis and ribosomal DNA sequences. *Food Control*, 2013, **34**, 69-78.
- [17] Natonek-Wisniewska M., Słota E., Kalisz B.: Use of cytochrome b polymorphism for species identification of biological material derived from cattle, sheep, goats, roe deer and red deer. *Folia Biologica*, 2010, **58**, 46-50.
- [18] Rasmussen R., Morrissey M.: DNA-based methods for the identification of commercial fish and seafood species. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 2008, **7**, 280-295.
- [19] Rozporządzenie (UE) nr 1169/2011 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 13 grudnia 2011 r. w sprawie przekazywania konsumentom informacji na temat żywności.
- [20] Rozporządzenie (WE) nr 178/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 28 stycznia 2002 r. ustanawiające ogólne zasady i wymagania prawa żywnościowego, powołujące Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności oraz ustanawiające procedury w zakresie bezpieczeństwa żywności (Dz. Urz. UE z późn. zm.- 596/2009 z dnia 18 czerwca 2009).
- [21] Primer Express® Software v3.0. Simple Primer and Probe Design for Real-Time PCR Applications.
- [22] Ustawa z dnia 15 września 2005 r. o jakości handlowej artykułów rolno-spożywczych. Dz. U. 2005 r. Nr 187, poz. 1577 (z późn. zm).

DEVELOPMENT OF EASY AND EFFECTIVE REAL-TIME PCR TESTS TO IDENTIFY BOVINE, PORCINE, AND OVINE COMPONENTS IN FOOD

Summary

Simple, effective, and sensitive methods to species identify meat components in food products are an important aspect in the production of food production. They are essential for both the manufacturers and the consumers, who are more and more interested in the actual composition of foods. At present, among the most important methods to identify components of animal origin in food are those based on an mtDNA analysis owing to the considerable stability and species-specificity of that molecule. The objective of the research study was to develop simple and efficient tests for species identification of bovine, porcine, and ovine components, which would be useful for the analysis of food. The analysis covered samples of meat containing 6 %, 35 %, 60 %, 80 %, and 100 % of beef in pork, pork in beef, and mutton in pork. The method is based on the identification of cattle, pigs, and sheep species-specific fragments of the gene encoding COX1 with 68 and 53 bp. For the tests being developed, the limit of detection was 0.07 % as for the porcine component, 0.4 % as for the bovine component, and 0.5 % as for the ovine component. The results obtained show the species specificity of the tests applied. The cross reactivity does not occur or it can be found in the late cycles of reaction. This method may be applied to raw meat and to its products, such as sausages, luncheon meat, ham. The method is not time-consuming (4 hours); it is repeatable (relative standard deviation for raw meat ≤ 1.57 %) and accurate (measurement error ≤ 2.33 %). As for the analysis of the processed meat, the accuracy of measurement is lower, and the relative dispersion of results is slightly higher; this might indicate the need to adjust the standard curve to the samples the processing of which is to be analyzed.

Key words: identification of species, species-specific primers, real-time PCR, COX1, mtDNA 

KAROLINA M. WÓJCIAK, KATARZYNA NEFFE-SKOCIŃSKA,
EUGENIUSZ GRELA, ZBIGNIEW J. DOLATOWSKI

**ZASTOSOWANIE MIĘSA WIEPRZOWEGO POCHODZĄCEGO
Z TUCZNIKÓW SKARMIANYCH MIESZANKĄ PASZOWĄ
Z DODATKIEM PREPARATU BIAŁKOWO-KSANTOFILOWEGO
Z LUCERNY DO PRODUKCJI POTENCJALNIE PROBIOTYCZNEJ
KIELBASY DOJRZEWAJĄCEJ**

Streszczenie

Celem pracy była ocena możliwości zastosowania mięsa wieprzowego pochodzącego z tuczników skarmianych mieszanką paszową z dodatkiem preparatu białkowo-ksantofilowego z lucerny do produkcji potencjalnie probiotycznej kielbasy dojrzewającej. W doświadczeniu zastosowano mięso i słoninę ze świń dwóch grup żywieniowych: kontrolnej (K) oraz doświadczalnej (PX). Grupę kontrolną stanowiły loszki żywione standardową mieszanką paszową, zaś w grupie doświadczalnej loszki żywione były mieszanką paszową z dodatkiem koncentratu białkowo-ksantofilowego z lucerny. Z mięsa i słoniny wyprodukowano cztery warianty kielbasy dojrzewającej. Zarówno kielbasy kontrolne, jak i doświadczalne poddano tradycyjnej fermentacji z wykorzystaniem naturalnej mikroflory mięsa oraz fermentacji z udziałem startowego szczepu probiotycznego *Lb. casei* ŁOCK 0900 w ilości 6,3 log jtk/g. Kielbasy dojrzewały 21 dni w temperaturze 18 °C, przy wilgotności względnej powietrza 75 - 85 %. Po zakończeniu procesu dojrzewania próby pakowano próżniowo, a następnie przechowywano w temperaturze 4 °C.

Badania obejmowały oznaczenie wartości pH, potencjału oksydacyjno-redukcyjnego (ORP), liczby nadtlenkowej, zawartości wolnych kwasów tłuszczowych (FFA), wskaźnika TBARS po procesie dojrzewania (0) oraz po 3 i 6 miesiącach chłodniczego przechowywania. Liczbę bakterii kwasu mlekowego oznaczano po procesie dojrzewania. Stopień zakwaszenia (pH) kielbas wahał się w zakresie 4,6 ÷ 5,2. Istotnie wyższe wartości liczby nadtlenkowej określono w próbach z dodatkiem probiotyku, niezależnie od zastosowanego do produkcji surowca mięsnego i tłuszczowego odpowiednio: 3,5 i 3,8 meq O₂/g. Wartość wskaźnika TBARS w próbach w trakcie całego okresu chłodniczego przechowywania nie była wyższa niż 1,5 mg MDA/kg. Na podstawie wyników badań stwierdzono, że surowce mięsno-tłuszczowe ze

Dr inż. K. M. Wójciak, prof. dr hab. Z. J. Dolatowski, Katedra Technologii Mięsa i Zarządzania Jakością, Wydz. Nauk o Żywności i Biotechnologii, prof. dr hab. E. Grela, Zakład Bromatologii i Fizjologii Żywienia, Wydz. Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Skromna 8, 20-704 Lublin, dr inż. K. Neffe-Skocińska, 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: karolina.wojciak@up.lublin.pl

zwierząt żywionych paszą z dodatkiem preparatu białkowo-ksantofilowego z lucerny mogą być zastosowane do produkcji potencjalnie probiotycznej kielbasy dojrzewającej. Produkty charakteryzowały się wysoką stabilnością oksydacyjną oraz optymalnymi właściwościami fizykochemicznymi w ciągu sześciu miesięcy chłodniczego przechowywania.

Słowa kluczowe: koncentrat białkowo-ksantofilowy z lucerny, żywienie świń, wieprzowina, probiotyk, kielbasa surowo dojrzewająca, jakość

Wprowadzenie

Jakość mięsa w głównej mierze determinowana jest sposobem żywienia zwierząt. Współczesna produkcja zwierzęca wymaga stosowania dodatków paszowych w celu uzyskania optymalnego surowca do produkcji. Wobec zakazu stosowania antybiotykowych stymulatorów wzrostu w produkcji zwierzęcej [31], poszukuje się naturalnych i bezpiecznych dodatków paszowych wpływających na poprawę cech użytkowych zwierząt z jednoczesnym zaspokojeniem ich potrzeb żywieniowych [28].

Lucerna siewna (*Medicago sativa* L.) jest rośliną zyskującą w ostatnich latach na znaczeniu. Wśród biologicznie aktywnych związków znajdujących się w lucernie siewnej na uwagę zasługują glikozydy saponinowe oraz sterole roślinne, np. β -sitosterol, kampesterol, cykloartenol, stigmasterol. Wśród związków polifenolowych lucerny zidentyfikowano kumestany oraz izoflawonoidy, które w niewielkich stężeniach wykazują działanie fitobiotyczne [7]. Lucerna siewna stanowi cenne źródło witamin (A, B₁, B₆, B₁₂, C, E, K), prowitamin (β -karotenu), związków mineralnych (soli wapnia, żelaza, potasu, manganu) oraz aminokwasów egzogennych (argininy, asparaginy, cystyny, histydyny, izoleucyny, leucyny, lizyny i metioniny [8] [28]. Obecność saponin w lucernie siewnej wpływa na jej aktywność przeciwbakteryjną w stosunku do bakterii Gram-dodatnich. Lucerna może wzmacniać działanie bakterii kwasu mlekowego, stanowiących prawidłową i pożyteczną mikroflorę człowieka [28]. Grela i wsp. [8] wykazali, że dodatek koncentratu PX z lucerny przyczynił się do uzyskania poprawy efektów produkcyjnych w postaci zwiększonych przyrostów masy ciała oraz zmniejszonego zużycia paszy przez trzodę chlewną oraz indyki. Wykazano fitobiotyczne oddziaływanie koncentratu na zwierzęta, głównie w zakresie zwiększania masy ciała i umięśnienia, większej odporności zwierząt na choroby, pobudzania ich układu immunologicznego i krwiotwórczego oraz poprawy wskaźników hematologicznych krwi, jak też zwiększenia wykorzystania składników pokarmowych z paszy [7]. Karwowska i wsp. [12] wykazali, że dodatek koncentratu PX z lucerny w ilości 2,0 g/kg nie wpływa istotnie na poprawę stabilności oksydacyjnej mięsa oraz barwę [11] produktów mięsnych parzonych. Ran i wsp. [23] podają, że etanolowe ekstrakty z lucerny są bogate w związki fenolowe, dezaktywujące wolne rodniki w stopniu zbliżonym do kwasu askorbinowego.

Celem pracy była ocena możliwości zastosowania mięsa wieprzowego pochodzącego z tuczników skarmianych mieszanką paszową z dodatkiem preparatu białkowo-ksantofilowego (PX) z lucerny, do produkcji potencjalnie probiotycznej kielbasy dojrzewającej.

Material i metody badań

Mięso i słonina, których użyto w doświadczeniu, pochodziły ze świń z chowu towarowego. Tuczniaki były chowane w dwóch grupach żywieniowych: kontrolnej (K) i doświadczalnej (PX). Grupę kontrolną stanowiło 20 loszek mieszańców [(wbp × pbz) × Duroc] żywionych standardową mieszanką paszową, a w grupie doświadczalnej było 20 loszek mieszańców [(wbp × pbz) × Duroc] żywionych mieszanką paszową wzbogaconą stymulatorem wzrostu, w postaci koncentratu białkowo-ksantofilowego (PX) z lucerny [3], w ilości 3,0 g/kg paszy. Tuczniaki miały swobodny dostęp do paszy pobieranej z automatów paszowych oraz do wody pobieranej z poidel smoczkowych. Skład i wartość odżywcza mieszanek paszowych były zgodne z zaleceniami norm żywienia świń NRC [18]. Po osiągnięciu ok. 130 kg masy ciała tuczniaki były ubijane w profesjonalnej ubojni, zgodnie z procedurami obowiązującymi w przemyśle mięsnym. Z mięsa (80 % szynki) i słoniny grzbietowej (20 %) tuczników obu grup produkowano modelową kielbasę dojrzewającą. Mięso poddawano peklowaniu mieszanką peklującą w ilości 2,8 %, w stosunku do masy mięsa i słoniny, o składzie: 98,8 - 99,0 % chlorku sodu, 0,5 - 0,6 % azotanu(III) sodu, 0,5 - 0,6 % azotanu(V) sodu, przez 48 h w temp. 4 °C. Wychłodzone peklowane mięso i słoninę rozdrabniano w wilku KU2-3EK (MESKO-AGD, Skarżysko-Kamienna, Polska) przez siatkę o średnicy oczek 8 mm. Rozdrobnione składniki mieszano z glukozą (0,6 %) i szczepem probiotycznym *Lactobacillus casei* LOCK 0900 dodawanym w ilości 6,0 log jtk/g. Przygotowanymi farszami napełniano osłonki fibrusowe o średnicy 58 mm (VISCASE, Chicago, USA). Produkty poddawano 21-dniowemu dojrzewaniu w temp. 18 °C i przy wilgotności względnej powietrza – 75 ÷ 85 %. Po zakończeniu procesu dojrzewania kielbasy wędzono w zimnym dymie (T < 26 °C, 1 h), a następnie pakowano próżniowo w opakowania PA/PE przy użyciu pakowarki próżniowej VAC-10 DT (EDES, Czosnów, Polska). Wyroby poddawano badaniom w momencie osiągnięcia przez nie dojrzałości konsumpcyjnej oraz po 3 i 6 miesiącach przechowywaniu w temp. 4 °C. Zastosowano szczep probiotyczny *Lactobacillus casei* LOCK 0900, ożywiony w Zakładzie Higieny i Zarządzania Jakością Żywności SGGW w Warszawie metodą opisaną przez Jaworską i wsp. [10]. Przygotowano następujące warianty doświadczalne kielbas:

- K – kielbasa wyprodukowana z mięsa loszek żywionych standardową mieszanką paszową, z dodatkiem 0,6 % glukozy,

- PX – kiełbasa wyprodukowana z mięsa loszek żywionych mieszanką paszową wzbogaconą w preparat PX, z dodatkiem 0,6 % glukozy,
- P – kiełbasa wyprodukowana z mięsa loszek żywionych standardową mieszanką paszową, z dodatkiem 0,6 % glukozy, 6,3 log jtk/g szczepu probiotycznego *Lactobacillus casei* LOCK 0900,
- PX-P – kiełbasa wyprodukowana z mięsa loszek żywionych mieszanką paszową wzbogaconą w preparat PX, z dodatkiem 0,6 % glukozy, 6,3 log jtk/g szczepu probiotycznego *Lactobacillus casei* LOCK 0900.

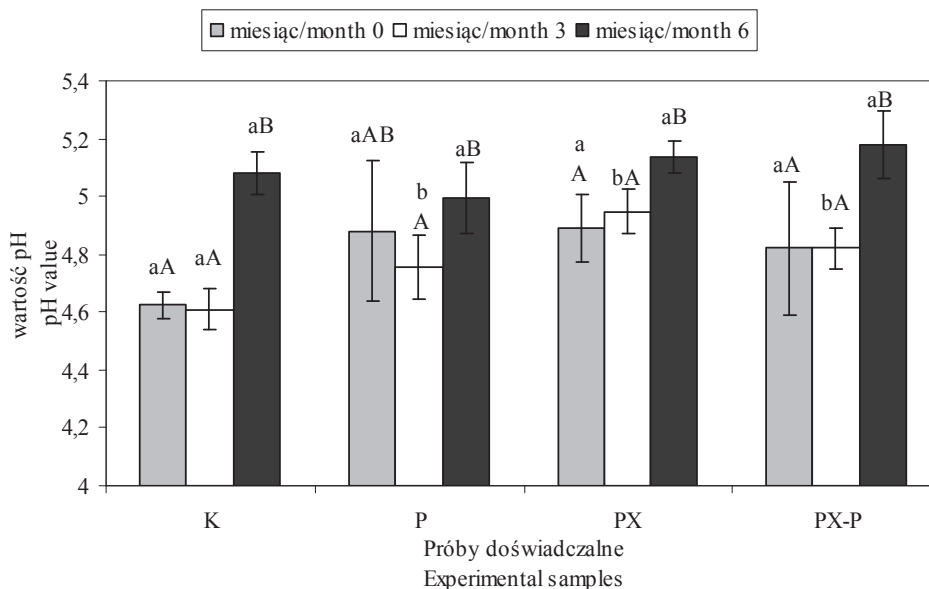
Kwasowość oznaczano przez pomiar wartości pH przy użyciu cyfrowego pH-konduktometru CPC-501 (Elmetron, Zabrze, Polska) i elektrody zespolonej, typu ERH-111 (Elmetron, Zabrze, Polska). Potencjał oksydacyjno-redukcyjny oznaczano przy użyciu elektrody zespolonej, typu ERPt-13 z wykorzystaniem cyfrowego pH-konduktometru CPC – 501 metodą podaną przez Ahn i Nam [1]. Intensywność różowego zabarwienia, powstałego w wyniku reakcji produktów utleniania tłuszczów z kwasem 2-tiobarbiturowym, mierzono z użyciem spektrofotometru Nicole Evolution 300 (Thermo Elektron Corporation, Madison, WI, USA) przy $\lambda = 532$ nm. Wartość wskaźnika TBARS wyrażano w miligramach aldehydu malonowego na 1 kg wyrobu mięsnego i na tej podstawie wykonano krzywą wzorcową [20]. Tłuszcz z produktu ekstrahowano mieszaniną metanolu i chloroformu (2 : 1) i zagęszczano w wyparce próżniowej w temp. 30 - 35 °C metodą opisaną przez Folcha i wsp. [6]. W ekstrahowanym tłuszczu oznaczano zawartość wolnych kwasów tłuszczowych zgodnie z PN-ISO 660:2010 [22] oraz wartość liczby nadtlenkowej (LOO) według PN-ISO 3960:2005 [21]. Doświadczenie przeprowadzono na dwóch partiach mięsa, w co najmniej dwóch powtórzeniach.

Dokonano charakterystyki kiełbas, obliczając wartości średnie (\bar{x}) oraz odchylenia standardowe (s) badanych wyróżników. Przeprowadzono dwuczynnikową analizę wariancji. Do oceny istotności różnic ($p < 0,05$) zastosowano test T-Tukeya. Obliczenia wykonano w programie KyPlot ver 2.0, Kyens Lab Inc., Tokyo, Japan.

Wyniki i dyskusja

Na podstawie wyników badań stwierdzono istotny ($p < 0,05$) wpływ czasu przechowywania na pH surowo dojrzewających kiełbas (rys. 1) we wszystkich próbach, z wyjątkiem próby P.

Nie wykazano istotnych różnic pod względem wartości pH kiełbas wyprodukowanych z mięsa tuczników grupy kontrolnej (żywionych standardową mieszanką paszową) i doświadczalnej (żywionych mieszanką paszową wzbogaconą w preparat PX), mierzoną bezpośrednio po procesie dojrzewania oraz po 6 miesiącach przechowywania. Obserwowano istotnie ($p < 0,05$) wyższe wartości pH w próbkach kiełbas



Objaśnienia:/ Explanatory notes:

K – kielbasa wieprzowa z mięsa loszek żywionych standardową mieszanką paszową, z dodatkiem 0,6 % glukozy / pork sausage from meat of sows fed standard pasture blend with added 0.6 % of glucose;

PX – kielbasa wieprzowa z mięsa loszek żywionych mieszanką paszową wzbogaconą w preparat PX, z dodatkiem 0,6 % glukozy / pork sausage from meat of sows fed standard pasture blend enriched with PX mixture, with 0.6 % of glucose added; P – kielbasa wieprzowa z mięsa loszek żywionych standardową mieszanką paszową, z dodatkiem 0,6 % glukozy i 6,3 log jtk/g szczepu probiotycznego *Lactobacillus casei* ŁOCK 0900 / pork sausage from meat of sows fed standard pasture blend with 0.6 % of glucose added and with 6.3 log cfu/g of *Lactobacillus casei* ŁOCK 0900 probiotic strain added; PX-P – kielbasa wieprzowa z mięsa loszek żywionych mieszanką paszową wzbogaconą w preparat PX, z dodatkiem 0,6 % glukozy i 6,3 log jtk/g szczepu probiotycznego *Lactobacillus casei* ŁOCK 0900 / pork sausage from meat of sows fed standard pasture blend enriched with PX mixture with 0.6 % of glucose added and with 6.3 log cfu/g of *Lactobacillus casei* ŁOCK 0900 probiotic strain added.

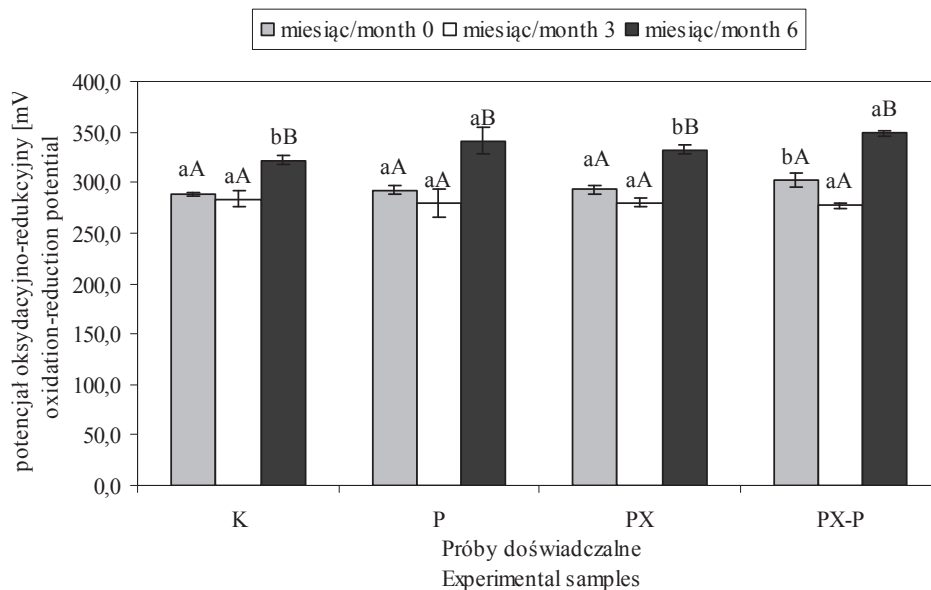
Na rysunku przedstawiono wartości średnie (w postaci słupków) \pm odchylenia standardowe / Figure shows mean values (in the form of bars) \pm standard deviations; n = 4;

a, b, c – wartości średnie oznaczone różnymi małymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) pomiędzy próbkami / mean values denoted by different small letters differ statistically significantly among samples ($p < 0.05$). Wartości średnie oznaczone różnymi dużymi literami różnią się statystycznie istotnie w obrębie próby ($p < 0,05$) / mean values denoted by different capital letters differ statistically significantly within one sample ($p < 0.05$).

Rys. 1. Kwasowość czynna (pH) surowo dojrzewającej kielbasy wieprzowej, zmierzona bezpośrednio po procesie dojrzewania oraz po 3 i 6 miesiącach chłodniczego przechowywania

Fig. 1. pH value in dry-fermented pork sausage measured after immediately ripening process and after 3 and 6 months of chilling storage

uzyskanych z mięsa tuczników grupy doświadczalnej w porównaniu z kielbasami kontrolnymi po 3 miesiącach chłodniczego przechowywania. Stopień zakwaszenia kielbas mierzony bezpośrednio po procesie dojrzewania wahał się w zakresie $4,6 \div 4,9$, co świadczy o intensywności fermentacji zachodzącej w trakcie dojrzewania [2]. Intensywną fermentację obserwowano zarówno w próbkach fermentowanych za pomocą mikroflory autochtonicznej, jak również allochtonicznej. W trakcie przechowywania kielbas obserwowano istotny ($p < 0,05$) wzrost wartości pH: od 0,2 do 0,6 jednostki we wszystkich próbach po 6 miesiącach chłodniczego przechowywania, z wyjątkiem próby P, w której wartość pH nie zmieniała się istotnie ($p > 0,05$) w trakcie składowania. Uzyskane wyniki badań potwierdzają, że dodany szczep probiotyczny, jak również autochtoniczna mikroflora surowca mięsnego wykazują silne właściwości zakwaszające farsz wędliniarski [4]. Podobne wyniki badań uzyskali Zhao i wsp. [30]. Obserwowany w trakcie przechowywania stopniowy wzrost wartości pH prawdopodobnie wynikał z rozkładu białek i peptydów do aminokwasów, amidów, amin, zasad purynowych i pirymidynowych oraz innych substancji o odczynie alkalicznym, na skutek aktywności enzymów własnych mięsa oraz enzymów pochodzenia bakteryjnego [25] [30].



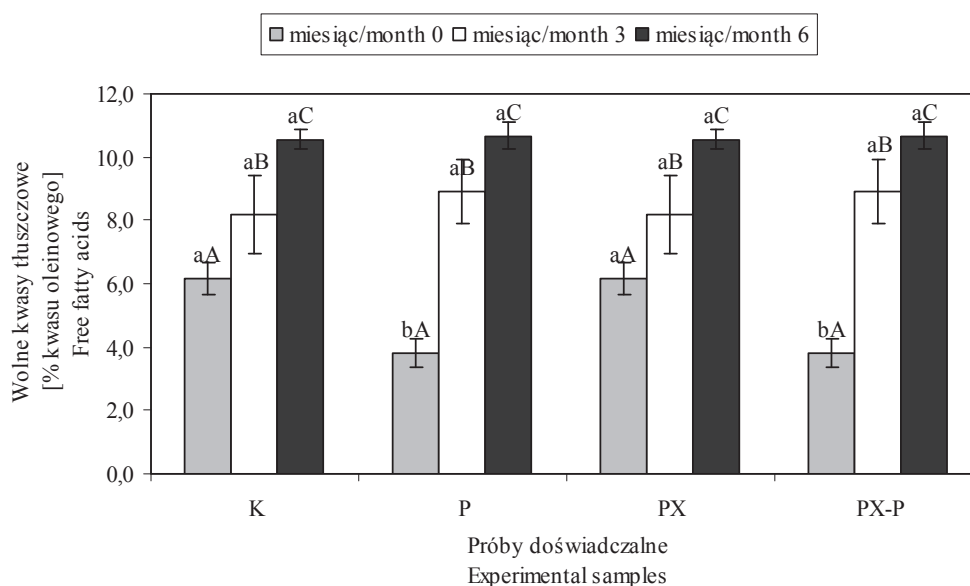
Objaśnienia jak pod rys. 1. / Explanatory notes as in Fig. 1.

Rys. 2. Potencjał oksydacyjno-redukcyjny surowo dojrzewającej kielbasy wieprzowej, zmierzony bezpośrednio po procesie dojrzewania oraz po 3 i 6 miesiącach chłodniczego przechowywania

Fig. 2. Oxidation-reduction potential in dry-fermented pork sausage measured immediately after ripening process and after 3 and 6 months of chilling storage

Wartość potencjału oksydacyjno-redukcyjnego (ORP) próby doświadczalnej z dodatkiem bakterii probiotycznych (PX-P) kształtowała się na istotnie ($p < 0,05$) wyższym poziomie (o ok. 15 mV) w porównaniu z pozostałymi próbkami badanymi bezpośrednio po procesie dojrzewania (rys. 2). Po 6 miesiącach chłodniczego przechowywania kielbas obserwowano istotnie ($p < 0,05$) wyższą – o ok. 20 mV wartość potencjału oksydacyjno-redukcyjnego w próbkach badawczych, do których dodano probiotyczny szczep ŁOCK 0900 (P, PX-P), w porównaniu z pozostałymi próbkami. W trakcie całego okresu chłodniczego przechowywania statystycznie istotny ($p < 0,05$) wzrost wartości potencjału redox o ok. 30 mV zaobserwowano również po 6 miesiącach przechowywania we wszystkich badanych próbkach.

Wykazano istotny wpływ dodatku probiotyku i czasu przechowywania na zawartość wolnych kwasów tłuszczowych (FFA) w badanych kielbasach (rys. 3). Stwierdzono istotnie ($p < 0,05$) mniejszą zawartość FFA w próbkach z dodatkiem bakterii probiotycznych (P, PX-P), oznaczoną bezpośrednio po procesie dojrzewania odpowiednio: 3,90 i 3,85 %.

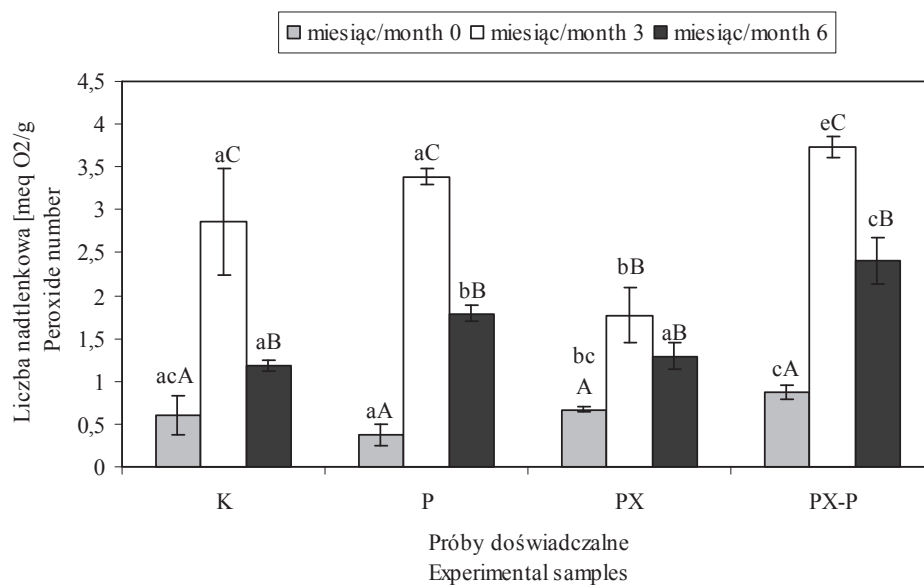


Objaśnienia jak pod rys. 1. / Explanatory notes as in Fig. 1.

Rys. 3. Zawartość wolnych kwasów tłuszczowych w surowo dojrzewającej kiełbasie wieprzowej, oznaczona bezpośrednio po procesie dojrzewania oraz po 3 i 6 miesiącach chłodniczego przechowywania

Fig. 3. Content of free fatty acids in dry-fermented pork sausage determined immediately after ripening process and after 3 and 6 months of chilling storage

W ciągu całego okresu chłodniczego przechowywania nie obserwowano istotnych ($p > 0,05$) różnic pomiędzy badanymi wariantami pod względem zawartości FFA. Systematyczny, istotny ($p < 0,05$) wzrost (o ok. 4 %) zawartości wolnych kwasów tłuszczowych obserwowano w trakcie całego okresu chłodniczego przechowywania w obrębie badanych wariantów. Świadczy to o aktywności lipolitycznej głównie enzymów pochodzenia mikrobiologicznego [14] [29]. Podobne wyniki uzyskali również inni autorzy w badaniach prowadzonych na surowo dojrzewających kiełbasach „Chorizo de Pamplona” [15].



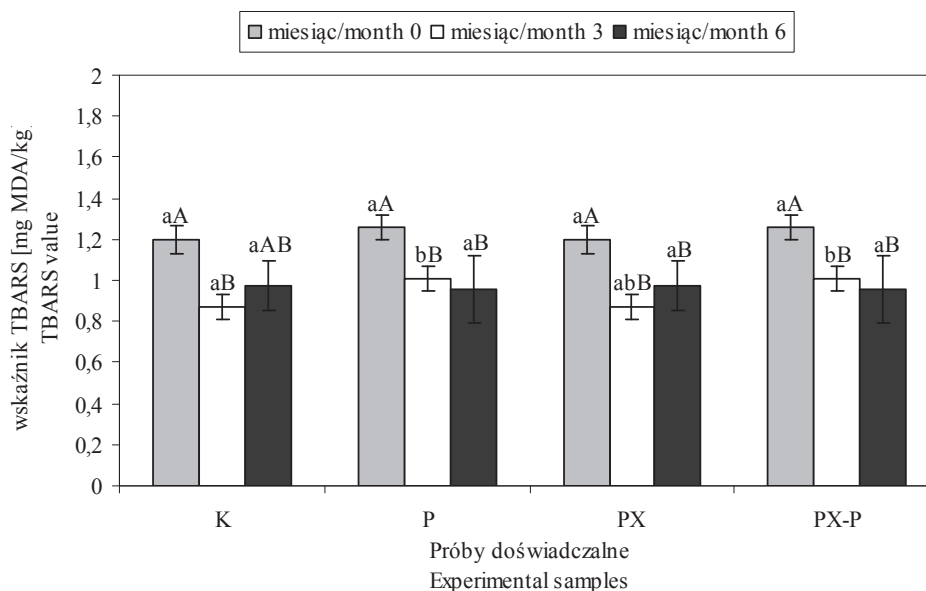
Objaśnienia jak pod rys. 1. / Explanatory notes as in Fig. 1.

Rys. 4. Wartość liczby nadtlenkowej w surowo dojrzewającej kiełbasie wieprzowej, oznaczona bezpośrednio po procesie dojrzewania oraz po 3 i 6 miesiącach chłodniczego przechowywania

Fig. 4. Peroxide number value in dry-fermented pork sausage determined immediately after ripening process and after 3 and 6 months of chilling storage

Na podstawie badań wykazano istotny wpływ dodatku probiotyku oraz czasu przechowywania na wartości liczby nadtlenkowej [meq O₂/g] – rys. 4. Bezpośrednio po procesie dojrzewania najniższą wartość liczby nadtlenkowej zaobserwowano w próbach potencjalnie probiotycznych kiełbas wyprodukowanych z mięsa grupy kontrolnej (P) – 0,3 meq O₂/g. Stwierdzono wzrost wartości liczby nadtlenkowej o ok. 2,0 meq O₂/g, w ciągu 3 miesięcy chłodniczego przechowywania kiełbas. Po 6 miesiącach przechowywania prób zaobserwowano istotny wzrost ($p < 0,05$) zawartości pierwotnych produktów utleniania o ok. 1,5 meq O₂/g we wszystkich próbach, z wyjątkiem

próby PX, w której nie stwierdzono istotnych zmian zawartości nadtlenków po 3 i po 6 miesiącach przechowywania. Obniżenie wartości LOO, obserwowane w trakcie przechowywania, prawdopodobnie było związane z rozpadem niestabilnych nadtlenków oraz rozrywaniem łańcuchów kwasów tłuszczowych i powstawaniem wtórnych produktów utleniania o niższej masie cząsteczkowej, np. ketonów, aldehydów, kwasów, węglowodorów, alkoholi [14], [24] i innych związków, w tym lotnych, wpływających na smak i zapach przechowywanych kielbas, co potwierdzają uzyskane wyniki wskaźnika TBARS (rys. 5). Najniższą, statystycznie istotną ($p < 0,05$) zawartością nadtlenków, zaobserwowaną pod koniec okresu chłodniczego przechowywania, charakteryzowała się kielbasa doświadczalna, bez dodatku bakterii probiotycznych wyprodukowana z mięsa świń żywionych mieszanką paszową z preparatem PX (ok. 1,7 meq O_2/g).



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

Rys. 5. Wskaźnik TBARS w surowo dojrzewającej kielbasie wieprzowej, oznaczony bezpośrednio po procesie dojrzewania oraz po 3 i 6 miesiącach chłodniczego przechowywania

Fig. 5. TBARS values in dry-fermented pork sausage determined after ripening process and after 3 and 6 months of chilling storage

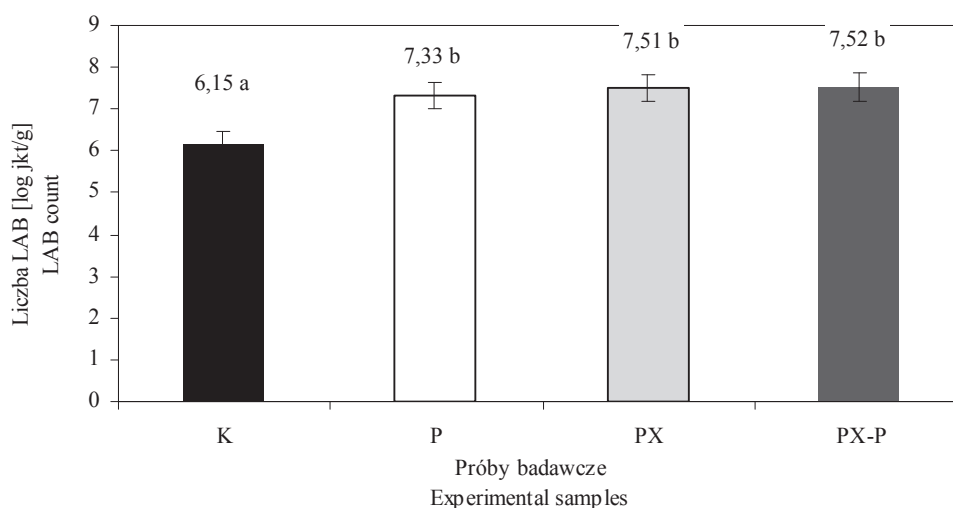
Istotnie ($p < 0,05$) wyższe wartości liczby nadtlenkowej określono w próbach z dodatkiem probiotyku (P, PX-P), niezależnie od zastosowanego do produkcji surowca mięsnego i tłuszczowego odpowiednio: 3,5 i 3,8 meq O_2/g . Jak podają Zanardi

i wsp. [29], wytwarzany przez bakterie kwasu mlekowego (LAB) nadtlenek wodoru może wpłynąć na zwiększenie zawartości nadtlenu w produkcie. Zawartość nadtlenu w kiełbasach, monitorowana podczas półrocznego okresu przechowywania, była na poziomie zbliżonym do wartości zaobserwowanych przez innych autorów [27] w kiełbasach dojrzewających (2 - 4 meq O₂/g), w których zastosowano tradycyjne kultury startowe. Wartości wskaźnika TBARS (mg MDA/kg) w kiełbasach bezpośrednio po procesie dojrzewania nie różnicowały istotnie ($p > 0,05$) prób (rys. 5). Po 3 miesiącach przechowywania stwierdzono istotnie wyższe wartości wskaźnika TBARS w kiełbasach z dodatkiem probiotyku (P, PX-P), odpowiednio: 1,0 i 1,05 mg MDA/kg, niezależnie od surowca zastosowanego do produkcji kiełbas.

Nie stwierdzono istotnych ($p < 0,05$) różnic pod względem wartości wskaźnika TBARS pod koniec okresu chłodniczego przechowywania prób. Wyższe wartości wskaźnika TBARS w podobnych produktach oznaczyli Olivares i wsp. [19] oraz Soyer i Ertas [24]. Najwyższe wartości wskaźnika TBARS uzyskane w niniejszych badaniach są zbliżone do wartości podanych przez Soyera i wsp. [24], którzy oznaczyli w kiełbasie ok. 1,5 mg MDA/kg wtórnych produktów utleniania lipidów.

Bakterie kwasu mlekowego stanowią część naturalnej mikroflory surowo dojrzewających produktów mięsnych. Specyfika produkcji wędlin surowo dojrzewających związana jest z brakiem obróbki cieplnej, a tym samym z niemożnością uzyskania sterylnej surowca, który stanowiłby dobre środowisko do rozwoju dodanych bakterii startowych o właściwościach probiotycznych. W związku z tym wykorzystanie wspomnianych kultur startowych w produkcji surowo dojrzewających wyrobów mięsnych nie jest popularne, m.in. z powodu trudności doboru, a następnie utrzymania odpowiedniego wzrostu i przeżywalności zastosowanych szczepów bakterii probiotycznych w produktach fermentowanych [16] [17]. Uważa się, że surowo dojrzewające produkty mięsne charakteryzujące się naturalnym występowaniem bakterii kwasu mlekowego, niskim pH i niską aktywnością wody oraz dodatkowo zawierające sól peklującą, nie mogą stanowić dobrego środowiska do rozwoju bakterii o właściwościach probiotycznych [5] [13]. Z drugiej strony w literaturze naukowej przedstawia się dane, z których wynika, że prawidłowo zoptymalizowane warunki procesu produkcji umożliwiają wyselekcjonowanym szczepom bakterii o właściwościach probiotycznych rozwój, a następnie przeżywalność w mięsnych produktach surowo dojrzewających [10] [17] [26]. W związku z powyższym przeprowadzono analizy mikrobiologiczne mające na celu określenie ogólnej liczby bakterii kwasu mlekowego w badanych kiełbasach surowo dojrzewających bez dodatku probiotycznych kultur startowych lub z ich obecnością. W próbach kontrolnych (K), wyprodukowanych z mięsa świń karmionych standardowymi paszami, oznaczono liczbę bakterii LAB średnio na poziomie 6 log jtk/g. Natomiast w przypadku prób kiełbas surowo dojrzewających (PX), wyprodukowanych

z mięsa tuczników karmionych paszami z dodatkiem koncentratu lucerny, stwierdzono istotnie ($p < 0,05$) wyższą liczbę bakterii LAB, średnio na poziomie 7 log jtk/g (rys. 6).



Objaśnienia: / Explanatory notes:

a, b – wartości średnie oznaczone różnymi małymi literami różnią się statystycznie istotnie pomiędzy próbkami ($p < 0,05$) / mean values denoted by different small letters differ statistically significantly among samples ($p < 0,05$)

Pozostałe objaśnienia jak pod rys. 1. / Other explanatory notes as in Fig. 1.

Rys. 6. Liczba bakterii kwasu mlekowego w surowo dojrzewającej kielbasie wieprzowej, oznaczona bezpośrednio po procesie dojrzewania

Fig. 6. Count of lactic acid bacteria in dry-fermented pork sausage determined immediately after ripening process

Inny przebieg miała fermentacja kielbas surowo dojrzewających z dodatkiem kultur startowych o właściwościach probiotycznych *Lb. casei* ŁOCK 0900. W kielbasach kontrolnych, wyprodukowanych z mięsa tuczników karmionych standardowymi paszami z dodatkiem szczepu probiotycznego (P), stwierdzono dobry wzrost i rozwój bakterii kwasu mlekowego, w tym dodanych bakterii probiotycznych, średnio na poziomie 7 log jtk/g. Nie stwierdzono istotnej ($p < 0,05$) różnicy pod względem liczby bakterii LAB, w tym dodanego szczepu *Lb. casei* ŁOCK 0900, pomiędzy próbkami kontrolnymi (P) a próbkami kielbas wyprodukowanych z mięsa świń żywionych paszami z koncentratem lucerny (PX-P) (rys. 6).

Na podstawie wyników badań własnych można stwierdzić, że zmodyfikowane żywienie świń, uwzględniające w paszach udział koncentratu z lucerny, mogło mieć wpływ na wytworzenie sprzyjających warunków środowiskowych do rozwoju natural-

nie bytujących bakterii kwasu mlekowego w surowo dojrzewających kielbasach wieprzowych. Zależności tej nie można stwierdzić w przypadku prób kielbas z dodatkiem szczepu o właściwościach probiotycznych *Lb. casei* LOCK 0900. W literaturze naukowej zawarte są jedynie informacje o wpływie zmodyfikowanego żywienia świń na jakość fizykochemiczną surowca mięsnego. Brakuje natomiast badań dotyczących wytworzenia się w surowcu mięsnym korzystnych warunków do rozwoju mikroflory mlekowej, w tym kultur startowych o właściwościach probiotycznych. Kierunek ten będzie kontynuowany w dalszych badaniach autorów.

Wnioski

1. W produkcji potencjalnie probiotycznej kielbasy dojrzewającej możliwe jest użycie mięsa świń żywionych mieszanką paszową wzbogaconą w preparat białkowo-ksantofilowy (PX) z lucerny.
2. Stabilność oksydacyjna potencjalnie probiotycznej kielbasy dojrzewającej nie była determinowana przez zastosowanie do produkcji surowców pochodzących ze świń żywionych mieszanką paszową z udziałem preparatu PX.
3. Kielbasy dojrzewające, wyprodukowane z mięsa świń żywionych mieszanką paszową z udziałem preparatu PX, charakteryzowały się optymalnymi parametrami fizykochemicznymi w trakcie sześciu miesięcy chłodniczego przechowywania.

Literatura

- [1] Ahn D.U., Nam K.C.: Effect of ascorbic acid and antioxidants on color, lipid oxidation and volatiles of irradiated ground beef. *Radiat. Phys. Chem.*, 2003, **71**, 149-154.
- [2] Bloukas J.G., Paneras E.D., Fountzitis G.C.: Effect of replacing pork backfat with olive oil on processing and quality characteristics of fermented sausages. *Meat Sci.*, 1996, **45**, 133-144.
- [3] Caillot J.: Produkcja lucerny w regionie Szampanii-Ardenach. W: Lucerna w żywieniu ludzi i zwierząt. Red. E.R. Grela. Wyd. Stowarzyszenie Rozwoju Regionalnego i Lokalnego "PROGRESS" Dzierżkówka - Lublin 2008, T. 3, ss. 21-27.
- [4] Casaburi A., Aristoy M.C., Cavella S., Monaco R.D., Ercolini D., Toldrá F.: Biochemical and sensory characteristics of traditional fermented sausages of Vallo di Diano (Southern Italy) as affected by the use of starter cultures. *Meat Sci.*, 2007, **76**, 295-307.
- [5] Erkkilä S., Suihko M.L., Eerola S., Petäjä E., Mattila-Sandholm T.: Dry sausages fermented by *Lactobacillus rhamnosus* strains. *Int. J. Food Microbiol.*, 2001, **64**, 205-210.
- [6] Folch J., Lee M., Stanley G.G.S.: A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 1957, **226**, 497-509.
- [7] Gawel E., Grzelak M.: Koncentrat białkowo-ksantofilowy z lucerny w żywieniu zwierząt. *J. Res. Appl. Agric. Eng.*, 2013, **58**, 137-142.
- [8] Grela E.R., Semeniuk, V., Florek, M.: Effects of protein-xanthophyll (PX) concentrate of alfalfa additive to crude protein-reduced diets on nitrogen excretion, growth performance and meat quality of pigs. *J. Centr. Eur. Agric.*, 2008, **9**, 669-676.

- [9] Hierro E., de la Hoz L., Ordonez J.A.: Contribution of the microbial and meat endogenous enzymes to the free amino acids contents of dry fermented sausages. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47**, 1156-1161.
- [10] Jaworska D., Neffe K., Kołożyn-Krajewska D., Dolatowski Z.J.: Survival during storage and sensory effect of potential probiotic lactic acid bacteria *Lactobacillus acidophilus* Bauer and *Lactobacillus casei* Bif3'IV in dry fermented pork loins. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2011, **12** (46), 2491-2497.
- [11] Karwowska M.: Wpływ zastosowania ekstraktu lucerny w żywieniu świń na barwę mięsa. *Żywność Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **5**, 282-288.
- [12] Karwowska M., Dolatowski Z.J., Grela E.: The effect of dietary supplementation with extracted alfalfa meal on oxidation stability of cooked ham. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2007, **57**, 271-274.
- [13] Lücke F.K.: Utilization of microbes to process and preserve meat. *Meat Sci.*, 2000, **56**, 105-115.
- [14] Martín-Sánchez A.M., Chaves-López C., Sendra E., Sayas E., Fernández-López, J., Pérez-Álvarez J.A.: Lipolysis, proteolysis and sensory characteristics of a Spanish fermented dry-cured meat product (salchichón) with oregano essential oil used as surface mold inhibitor. *Meat Sci.*, 2011, **89**, 35-44.
- [15] Muguerza E., Ansorena D., Astiasarán I.: Improvement of nutritional properties of Chorizo de Pemplona by replacement of pork backfat with soy oil. *Meat Sci.*, 2003, **65**, 1361-1367.
- [16] Muthukumarasamy P., Holley R.: Microbiological and sensory quality of dry fermented sausages containing alginate-microencapsulated *Lactobacillus reuteri*. *Int. J. Food Microbiol.*, 2006, **111**, 164-169.
- [17] Neffe-Skocińska K., Kołożyn-Krajewska D., Goryl A.: Wpływ dodatku szczepu *Lactobacillus casei* LOCK 0900 i warunków dojrzewania na jakość fermentowanych poledwic podczas przechowywania. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, **6** (91), 45-59.
- [18] NRC, Nutrient Requirements of swine. Tenth Revised Edition, Washington, DC, 1998.
- [19] Olivares A., Navarro J.L., Flores M.: Effect of fat content on aroma generation during processing of dry fermented sausages. *Meat Sci.*, 2011, **87**, 264-273.
- [20] Pikul J., Leszczyński D.E., Kummerow F.A.: Evaluation of three modified TBA methods for measuring lipid oxidation in chicken meat. *J. Agric. Food Chem.*, 1989, **37**, 1309.
- [21] PN-ISO 3960:2005. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby nadtlenkowej.
- [22] PN-ISO 660:2010. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby kwasowej i kwasowości.
- [23] Rana M.G., Katbamna R.V., Padhya. A.A., Dudhrejiya A.D., Jivani N.P., Sheth N.R.: *In vitro* antioxidant and free radical scavenging studies of alcoholic extract of *Medicago sativa* L. *Rom. J. Biol. Plant Biol.*, 2010, **55**, 15-22.
- [24] Soyer A., Ertas A.H.: Effects of fat level and storage time on lipid and color stability of naturally fermented Turkish sausages (Sucuk). *J. Muscle Food.*, 2007, **18**, 330-340.
- [25] Sunesen L.O., Stahnke L.H.: Moulds starter cultures for dry sausages selection, application and effects. *Meat Sci.*, 2003, **65**, 935-948.
- [26] Trzaskowska M., Kołożyn-Krajewska D., Wójciak K., Dolatowski Z.: Microbiological quality of raw-fermented sausages with *Lactobacillus casei* LOCK 0900 probiotic strain. *Food Control*, 2014, **35**, 184-191.
- [27] Visessanguan W., Benjakul S., Riebroy S., Yarchai M., Tapingkae W.: Changes in lipid composition and fatty acid profile of Nham, a Thai fermented pork sausage, during fermentation. *Food Chem.*, 2007, **94**, 580-588.
- [28] Zagórka G., Głowniak K.: Ocena aktywności biologicznej składników czynnych lucerny (*Medicago sativa* L.) na podstawie badań *in vitro* i *in vivo*. W: Lucerna w żywieniu ludzi i zwierząt. Red. E.R. Grela. Stowarzyszenie Rozwoju Regionalnego i Lokalnego „PROGRESS” Dzierżniówka - Lublin 2008, T. 3, ss. 39-48.

- [29] Zanardi E., Ghidini S., Battaglia A., Chizzolini R.: Lipolysis and lipid oxidation in fermented sausages depending on different processing conditions and different antioxidants. *Meat Sci.*, 2004, **66**, 415-423.
- [30] Zhao L., Jin Ye, Ma C., Song H., Li H., Wang Z., Xiao S.: Physico-chemical characteristics and free fatty acid composition of dry fermented mutton sausages as affected by the use of various combinations of starter cultures and spices. *Meat Sci.*, 2011, **88**, 761-766.
- [31] Rozporządzenie (WE) nr 1831/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 22 sierpnia 2003 r. w sprawie dodatków stosowanych w żywieniu zwierząt. *Dz. Urz. UE L 268*, 18/10/2003 poz. 0029-0043.

USING PORK MEAT FROM PORKERS FED PASTURE BLEND WITH ADDED PROTEIN-XANTHOPHYLLS CONCENTRATE OF ALFALFA TO PRODUCE POTENTIALLY PROBIOTIC DRY-FERMENTED SAUSAGES

S u m m a r y

The objective of the research study was to assess the possibilities of using pork meat from the porkers fed a pasture blend with the addition of protein-xanthophylls concentrate of alfalfa to produce potentially probiotic dry-fermented sausages. In the experiment, the meat and pork back fat were used from pigs grouped in two feeding groups: control (C) and experimental (EX). The control group comprised the sows fed a standard pasture blend, whereas in the experimental group contained the sows fed a pasture blend enriched with a protein-xanthophylls concentrate of alfalfa. Four variants of dry-fermented sausage were produced using the meat and back fat from the animals in the C and EX groups. Both the control and the experimental sausages were fermented traditionally, i.e. with the use of natural meat microflora, and, also, using a starter probiotic strain of *Lb. casei* LOCK 0900; the size of the added strain was 6.3 log cfu/g. The sausages matured during a 21 day period, at a temperature of 18° C and at a relative humidity of 75-85%. After maturing, the samples were vacuum-packed and stored at a temperature of 4 ° C.

The research study included the determination of a pH value, oxidative-reduction potential (ORP), peroxide number, content of free fat acids (FFA), TBARS value after the maturation process (0), and after 3 and 6 months of chilling storage. The count of Lactic Acid Bacteria (LAB) was determined after the maturation process. The level of sausage acidification (pH) was between 4.6 and 5.2. Significantly higher peroxide values were determined in the samples with the probiotic added regardless of the meat and fat used as raw materials to make sausages; those values were 3.5 and 3.8 meq O₂/g, respectively. During the entire period of chilling storage, the value of TBARS in the samples was not higher than 1.5 mg MDA/kg. Based on the results, it was proved that the raw materials from meat and fat from animals fed the pasture with the protein-xanthophylls (PX) concentrate of alfalfa added could be used to produce potentially probiotic dry-fermented sausages. The products were characterized by a high oxidative stability and optimal physical-chemical qualities during the entire 6 month period of chilling storage.

Key words: protein-xanthophylls concentrate of alfalfa, feeding pigs, pork, probiotic, dry-fermented sausage, quality ☒

ANNA SADOWSKA, FRANCISZEK ŚWIDERSKI, RITA RAKOWSKA,
ELIZA KOSTYRA, ANNA PIOTROWSKA

**PRZYDATNOŚĆ METODY ILOŚCIOWEJ ANALIZY OPISOWEJ
(QDA) I ANALIZY SKŁADOWYCH GŁÓWNYCH (PCA) NA
PRZYKŁADZIE OCENY SENSORYCZNEJ GRILLOWANYCH
STEKÓW WOŁOWYCH**

Streszczenie

Celem pracy było określenie możliwości szerszego wykorzystania ilościowej metody opisowej (QDA) i analizy składowych głównych (PCA) w ocenie jakości sensorycznej mięsa wołowego poddanego grillowaniu, poprzez określenie kompleksowej charakterystyki badanego produktu, a następnie ograniczenie liczby uwzględnionych atrybutów, ułatwiające interpretację wyników i wyznaczanie zależności istotnych dla jakości badanego produktu. Materiał doświadczalny stanowiło pięć mięśni wołowych: *musculus semitendinosus* (L_PO), *musculus semimembranosus* (Z_PO), *musculus longissimus dorsi thoracis* (A_NG), *musculus longissimus dorsi lumborum* (R_NG), *musculus gluteus medium* (K_PS), które poddano 7-, 14- i 21-dniowemu procesowi dojrzewania w opakowaniach próżniowych w temp. 2 ± 1 °C. Mięso po obróbce cieplnej (grillowaniu) poddano ocenie sensorycznej metodą ilościowej analizy opisowej (QDA), a następnie otrzymane wyniki opracowano statystycznie przy wykorzystaniu analizy składowych głównych (PCA). Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że ocena sensoryczna mięśni wołowych, poddanych procesowi dojrzewania, przeprowadzona zgodnie z metodą QDA, dostarcza kompleksowej i szczegółowej wiedzy o profilu sensorycznym ocenianego produktu. Analiza składowych głównych jako zastosowane narzędzie statystyczne umożliwiła analizę dużej liczby ocenianych wyróżników jakościowych otrzymanych podczas oceny sensorycznej mięsa. Analiza ta pozwoliła wykryć prawidłowości niezauważalne w oryginalnym układzie otrzymanych wyników ocen sensorycznych. Na podstawie PCA stwierdzono, że wiele atrybutów sensorycznych jest ze sobą mocno powiązanych i do otrzymania pełnej charakterystyki jakości sensorycznej wystarczy uwzględnić jedynie niewielki podzbiór z dużej liczby ocenianych wyróżników, co może znacznie ułatwić interpretację wyników i wyznaczanie zależności istotnych dla jakości sensorycznej badanego produktu. Wykazano również, że zróżnicowanie jakości sensorycznej mięśni wołowych w największym stopniu dotyczyło cech tekstury i jakości ogólnej. Intensywność odczuwania poszczególnych atrybutów sensorycznych mięsa poddanego obróbce cieplnej była zróżnicowana.

Dr inż. A. Sadowska, prof. dr hab. F. Świdorski, mgr inż. R. Rakowska, dr inż. E. Kostyra, dr inż. A. Piotrowska, Katedra Żywności Funkcjonalnej, Ekologicznej i Towaroznawstwa, Wydz. Nauk o Żywnieniu Człowieka i Konsumpcji, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa. Kontakt: sadowska_a@interia.eu

wana w przypadku poszczególnych mięśni i zależała od czasu trwania ich dojrzewania. W mięśniu półścięgnistym w największym stopniu ukształtowały się pozytywne cechy sensoryczne pod wpływem 14-dniowego dojrzewania, zaś w mięśniu najdłuższym grzbietu okolicy lędźwi uzyskano najkorzystniejsze cechy tekstury i jakość ogólną po 21 dniach dojrzewania. W obrębie pozostałych badanych próbek nie stwierdzono istotnych ($p < 0,05$) różnic jakości sensorycznej po zastosowanym czasie dojrzewania.

Słowa kluczowe: mięso wołowe, jakość sensoryczna, ilościowa metoda opisowa (QDA), analiza składowych głównych (PCA)

Wprowadzenie

Do najbardziej złożonych, dynamicznie rozwijających się i często stosowanych metod analizy sensorycznej należy ilościowa analiza opisowa (ang. *Quantitative Descriptive Analysis* – QDA). Metodę tę, zwaną również metodą profilowania, stosuje się do jakościowo-ilościowego określania kompleksowej charakterystyki produktów spożywczych. Podstawowym jej założeniem jest stwierdzenie, że smakowitość, zapach lub tekstura nie są pojedynczymi cechami jakości produktu, lecz kompleksem wielu cech jednostkowych, które można rozróżnić, zidentyfikować i określić ich intensywność [6]. Charakterystyczne cechy jednostkowe analizowanych produktów są wybierane według specjalnej procedury wstępnej i ustalane są ich definicje. Analiza profilowa może być pełna, tzn. dotyczyć wyróżników postrzeganych za pośrednictwem wszystkich zmysłów (wzroku, węchu, zmysłów czucia i dotykowych, hemostatycznych i smaku) lub cząstkowa, obejmująca tylko cechy zapachowe i smakowe lub cechy tekstury. Ocenę ilościową każdej z cech przeprowadza się na skali liniowej (lub liczbowej) o odpowiednich określeniach brzegowych. Wyniki oceny zamienia się na wartości liczbowe, a następnie poddaje obróbce statystycznej, wykorzystując analizę wariancji (ANOVA) w celu stwierdzenia, które z cech istotnie różnicują badane próbki oraz czy powtórzenia ocen (oddzielne sesje) nie stanowią istotnego czynnika zmienności (co mogłoby wskazywać na inne warunki oceny lub odmienne przygotowanie próbek w obu sesjach – a więc niezachowanie procedury oceny) [1]. W analizie sensorycznej stosowana jest również analiza składowych głównych (PCA), która jest jednym z najczęściej wykorzystywanych narzędzi statystycznych podczas opracowywania wyników. PCA służy m.in. do znajdowania zależności w zbiorze danych, lepszej reprezentacji danych, klasyfikacji, szukania wzorców czy redukcji wymiarów. Bardzo często wielowymiarowe obserwacje zawierają (pod względem informacyjnym) nadmiarową liczbę atrybutów. Wartości obserwacji nie są równomiernie rozłożone wzdłuż wszystkich kierunków wielowymiarowego układu współrzędnych, ale wykazują koncentracje w pewnych podprzestrzeniach. Znalezienie tych podprzestrzeni (z reguły o dużo niższym wymiarze niż oryginalna przestrzeń) pozwala dostrzec prawidłowości niewidoczne lub niemożliwe do zauważenia w oryginalnym układzie danych. Transformacja PCA określa

korelację, jaka zachodzi pomiędzy wieloma zmiennymi w zbiorze danych. Jeżeli dane są ze sobą skorelowane, to znajomość zaledwie części z nich wystarczy do określenia cech badanego produktu. Stąd taki zbiór danych może być reprezentowany przez mniejszą liczbę zmiennych. Jeżeli zmienne te nie są ze sobą wzajemnie skorelowane, to odtworzenie części z nich na podstawie pozostałych staje się niemożliwe. W praktyce często okazuje się, że wiele ocenianych atrybutów jest ze sobą dosyć mocno skorelowanych i do otrzymania pełnego obrazu opisywanego zjawiska czy zauważenia prawidłowości w danych wystarczy uwzględnić jedynie niewielki ich podzbiór. Wychwycenie takich prawidłowości przy analizowaniu wszystkich skorelowanych ze sobą atrybutów jest albo niemożliwe, albo trudne do uzyskania. Obliczenie składowych głównych dokonywane jest na wartościach i wektorach własnych tzw. macierzy kowariancji pierwotnego zbioru danych [5].

Mięso wołowe przeznaczone zarówno na cele kulinarne, jak i do przetwórstwa mięsnego powinno spełniać określone wymagania jakościowe w zakresie cech sensorycznych, m.in. charakteryzować się odpowiednią barwą, optymalnymi cechami smakowo-zapachowymi oraz odpowiednią teksturą, w tym kruchością. W celu ukształtowania smakowitości mięsa i poprawy jego kruchości konieczne jest przechowywanie mięsa po uboju zwierząt przez okres od kilkunastu godzin do kilku tygodni w temp. 2 - 5 °C. Taki proces zwany jest dojrzewaniem. Efektywność tego procesu może zależeć od gatunku zwierzęcia, z którego pochodzi dana część kulinarna oraz rodzaju mięśni w obrębie tuszy [12]. Podczas dojrzewania w mięsie tworzą się związki odpowiedzialne za intensyfikację jego smaku [13, 17]. Jednak postępowanie poubojowe może w znacznym stopniu, zarówno w sposób pozytywny, jak i negatywny, przyczynić się do zmian jakości mięsa. Wraz z wydłużającym się czasem dojrzewania mięsa tworzy się w nim aromat wątrobowy, krwisty, gorzki i kwaśny. Cechy te negatywnie oddziałują na pożądalność wołowiny poddanej obróbce cieplnej, gdyż mogą przyczyniać się do zmniejszenia odczuwania intensywności kluczowych cech mięsa wołowego, takich jak: smak wołowy, bulionowy i słodki [15]. Niezbędna jest zatem znajomość profilu sensorycznego różnych mięśni w czasie długotrwałego przechowywania, gdyż stanowi to ważny czynnik w ocenie jakości i przydatności kulinarnej poszczególnych mięśni wchodzących w skład elementów kulinarnych mięsa. Ocena sensoryczna mięśni wołowych poddanych procesowi dojrzewania przeprowadzona zgodnie z metodą QDA może dostarczyć kompleksowej i szczegółowej wiedzy o profilu sensorycznym produktu, natomiast zastosowanie analizy PCA może w znacznym stopniu wyjaśnić kierunek zmian powstałych wskutek zastosowania procesu dojrzewania poprzez utworzenie podzbiorów zmiennych, które są ze sobą skorelowane. Takie podejście pozwoli na ograniczenie liczby omawianych wyróżników, wskazując te, które w największym stopniu warunkują profil sensoryczny ocenianych mięśni.

Celem pracy było określenie przydatności ilościowej metody opisowej (QDA) i analizy składowych głównych (PCA) do oceny jakości sensorycznej żywności, na przykładzie mięsa wołowego poddanego grillowaniu, poprzez określenie kompleksowej charakterystyki badanego produktu, a następnie ograniczenie liczby uwzględnionych atrybutów ilościowych, ułatwiając interpretację wyników i wyznaczanie zależności kluczowych dla jakości badanego produktu.

Material i metody badań

Material do badań stanowiło pięć mięśni wołowych: *m. semitendinosus* (L_PO), *m. semimembranosus* (Z_PO), *m. longissimus dorsi thoracis* (A_NG), *m. longissimus dorsi lumborum* (R_NG), *m. gluteus medium* (K_PS) pozyskanych z elementów kulinarnych odpowiednio z: ligawy, zrazowej górnej, antrykotu, rostbefu i krzyżowej. Mięso do badań otrzymano ze zwierząt pochodzących z krzyżowania towarowego bydła mlecznego płci żeńskiej rasy holsztyńsko-fryzyjskiej z bydłem mięsnym płci męskiej rasy Limousine. Zwierzęta żywione były zgodnie z założeniami opasu półintensywnego w ściśle kontrolowanych warunkach. Wiek ubojowy zwierząt wynosił 18 miesięcy. Wyizolowane z elementów kulinarnych mięśnie pakowano próżniowo i poddawano procesowi dojrzewania w temp. 2 ± 1 °C przez 7, 14 i 21 dni.

Obróbkę cieplną – grillowanie prowadzono na dwustronnym grillu żeliwnym, rozgrzanym do temp.: 190 °C – pokrywa górna i 210 °C – pokrywa dolna po każdym ustalonym dniu dojrzewania. Do grillowania przygotowano steki o grubości $2,5 \pm 0,5$ cm. Obróbkę cieplną prowadzono do uzyskania temp. 65 ± 2 °C w centrum geometrycznym steków (temperaturę steków monitorowano za pomocą termopary elektronicznej), a następnie steki kondycjonowano w temp. 60 °C przez 6 min.

Ocenę sensoryczną próbek steków prowadzono według akredytowanej metody ilościowej analizy opisowej QDA (ang. *Quantitative Descriptive Analysis*) zgodnie z procedurą wykonawczą opisaną w normie ISO 13299:2010 [6]. Wybrano i zdefiniowano atrybuty jakościowe do oceny steków: zapach (przypalony, przypieczony, ostry, mięsny, wątrobiany, kwaśny, tłuszczowy, inny), barwę, konsystencję (miętkość, łatwość fragmentacji, soczystość, włóknistość), krwistość, wrażenie tłustości, smak (przypalony, przypieczony, gorzki, mięsny, wątrobiany, kwaśny, słony, słodki, inny) oraz ocenę ogólną. W badaniach wykorzystywano niestrukturowaną skalę liniową z oznaczonymi wartościami brzegowymi od 0 do 10 jednostek umownych (j.u.), gdzie 0 oznaczało brak natężenia danej cechy, 10 zaś oznaczało wysokie natężenie danej cechy. Podczas ocen wykorzystywano oprogramowanie komputerowe Analsens.

Oceny były wykonywane w Pracowni Analizy Sensorycznej, spełniającej wszystkie wymagania określone normą BS EN ISO 8589:2010+A1:2014 [3] dla laboratoriów sensorycznych (indywidualne stanowiska ocen, standardowe oświetlenie, kontrolowana temperatura i wilgotność względna powietrza). Charakterystykę sensoryczną próbek

przeprowadził 8-osobowy zespół oceniający (w dwóch niezależnych powtórzeniach), posiadający kwalifikacje oceniających – ekspertów wg normy PN-EN ISO 8586-03:2014 [11] oraz odpowiednie przygotowanie metodyczne (teoretyczne i praktyczne) w zakresie metod sensorycznych i duże doświadczenie w realizowaniu ocen metodą ilościowej analizy opisowej. Próbki jednostkowe steków o przybliżonej masie 15 g umieszczane były w uprzednio przygotowanych i zakodowanych pojemniczkach z tworzywa sztucznego (150 ml) oraz przykrywane wieczkami. Jako neutralizator smaku pomiędzy próbkami zastosowano niesłodzoną herbatę (o temp. ok. 50 °C).

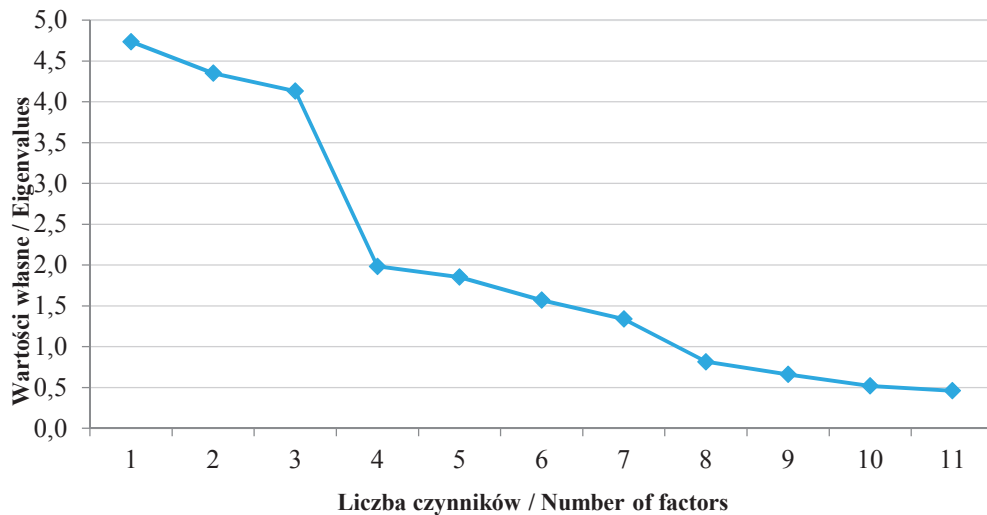
Składowe główne wykazujące korelacje z wyróżnikami analizy sensorycznej ocenianych próbek mięsa wyłoniono za pomocą analizy składowych głównych i klasyfikacji PCA (ang. *Principal Component Analysis*) z wykorzystaniem rotacji Varimax na podstawie macierzy korelacji. Określone za pomocą analizy PCA czynniki główne zastosowano do omówienia istotnych ($p < 0,05$) różnic jakości sensorycznej badanych mięśni poddanych procesowi dojrzewania, stosując test t-Studenta. Wyniki ocen sensorycznych poddano analizie, biorąc pod uwagę jako czynnik zmienności: sesje ocen, oceniających i badane próbki. Analizę statystyczną przeprowadzono za pomocą programu Statistica 10 (StatSoft).

Wyniki i dyskusja

Wybór czynników głównych odpowiedzialnych za zmienność jakości sensorycznej mięsa wołowego (analiza PCA)

Wyniki oceny jakości sensorycznej, dokonanej za pomocą metody QDA, poszczególnych mięśni wołowych po 7, 14 i 21 dniach dojrzewania poddano analizie składowych głównych (PCA) na podstawie macierzy korelacji, z wykresu osypiska (rys. 1) wyodrębniono 4 czynniki główne, odpowiadające w 61 % za zmienność jakości sensorycznej ocenianych próbek mięsa.

Pierwszy wyznaczony czynnik pozwolił określić największą część zmienności (zawartej informacji) w ocenach jakości sensorycznej badanych mięśni wołowych, drugi czynnik wyjaśniał największą część zmienności, która nie została wyjaśniona przez pierwszy czynnik itd. Dzięki temu czynniki zostały posortowane od najważniejszych do najmniej ważnych. Najbardziej odpowiednie są takie czynniki, gdy dana zmienna opisująca określoną cechę sensoryczną badanych próbek mięsa należy tylko do jednego czynnika, a unikane są sytuacje, w których jedna zmienna jakości sensorycznej należy w równym stopniu do co najmniej dwóch czynników. Dzięki temu najłatwiej jest opisywać czynniki, które w największym stopniu są powiązane z wybranymi wyróżnikami jakości sensorycznej ocenianego produktu.



Rys 1. Wykres osypiska utworzony na podstawie uzyskanych wyników oceny sensorycznej mięsa wołowego

Fig. 1. Screen diagram formed based on results of sensory evaluation of beef meet

Do określenia zmiennych wchodzących w skład wyodrębnionych czynników wykorzystano algorytm „optymalnego” obrotu – varimax. W tab. 1. przedstawiono współrzędne czynnikowe zmiennych, będące jednocześnie współczynnikami korelacji, uzyskane między czynnikami głównymi i wszystkimi ocenianymi wyróżnikami sensorycznymi badanych próbek mięsa. Współczynniki korelacji, których wartość bezwzględna była równa 0,58 bądź wyższa (pogrubione wartości w tabeli) uznano za wartości poziomu, od którego zmienne wchodziły w skład czynników głównych.

Pierwsza główna składowa dotyczyła cech wynikających z przeprowadzonej obróbki cieplnej (grillowania) mięsa. Reprezentowana była przede wszystkim przez: zapach i smak przypieczony, barwę (zmienne te były dodatnio skorelowane z czynnikiem 1) oraz zapach i smak wątrobiany, soczystość, krwistość (które wykazywały ujemną korelację z czynnikiem 1).

Druga z głównych składowych odnosiła się do cech smaku i zapachu mięsa. Przenosiła przede wszystkim informacje zawarte w zapachu i smaku kwaśnym, zapachu tłuszczowym oraz smakach: przypalonym, gorzkim i słodkim (atributy te wykazywały dodatnią korelację z czynnikiem drugim).

Trzecia składowa główna uwzględniała ogólną jakość mięsa oraz cechy jego tekstury. W największym stopniu uzależniona była od oceny ogólnej, miękkości i łatwości fragmentacji (zmienne te wykazywały dodatnią korelację z czynnikiem 3) oraz włóknistości (która była ujemnie skorelowana z czynnikiem trzecim).

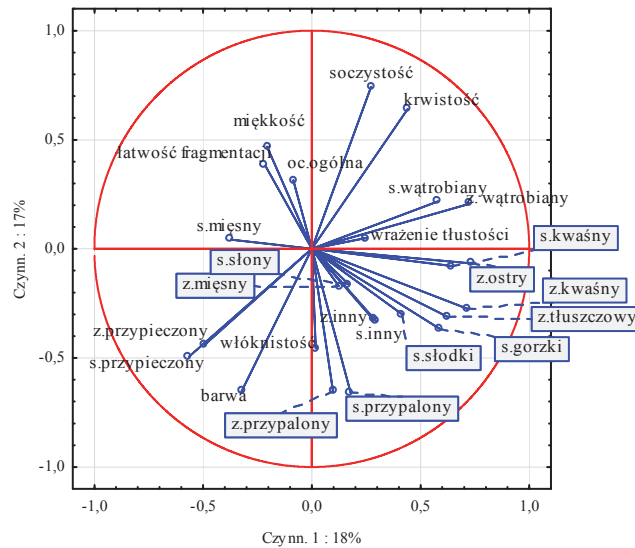
Tabela 1. Macierz ładunków analizy czynnikowej rotowanych metodą rotacji varimax

Table 1. Matrix of factor analysis loads rotated using varimax rotation method

Oceniane atrybuty jakości sensorycznej Evaluated sensory quality attributes	Zmienność wspólna Common volatility (h ²) [%]	Czynnik Factor 1	Czynnik Factor 2	Czynnik Factor 3	Czynnik Factor 4
Wyjaśniona wariancja [%]		18	17	17	9
Wartości własne		4,41	4,35	4,23	2,22
Zapach przypieczony	70	0,71	-0,06	0,12	0,43
Zapach przypalony	47	0,43	0,49	-0,19	0,06
Zapach ostry	62	-0,47	0,48	-0,23	0,34
Zapach mięsny	70	0,06	0,11	0,00	0,83
Zapach wątrobiany	69	-0,69	0,27	-0,23	0,28
Zapach kwaśny	72	-0,21	0,82	0,01	-0,07
Zapach tłuszczowy	64	-0,13	0,70	-0,01	0,36
Zapach inny	24	0,08	0,45	-0,05	0,17
Barwa	55	0,70	0,17	-0,17	-0,02
Miękkość	91	0,02	-0,05	0,95	0,05
Soczystość	71	-0,63	-0,09	0,55	0,10
Krwistość	62	-0,77	-0,07	0,13	-0,06
Włóknistość	71	0,12	-0,07	-0,83	0,04
Łatwość fragmentacji	89	0,09	0,00	0,94	0,08
Wrażenie tłustości	39	-0,11	0,25	0,30	0,48
Smak przypieczony	82	0,82	-0,02	0,19	0,32
Smak przypalony	56	0,41	0,62	-0,12	-0,06
Smak gorzki	55	-0,08	0,72	-0,06	0,18
Smak mięsny	64	0,32	-0,23	0,39	0,58
Smak wątrobiany	60	-0,61	0,12	-0,21	0,41
Smak kwaśny	55	-0,29	0,67	0,14	-0,03
Smak słony	27	0,11	0,42	0,24	-0,17
Smak słodki	54	0,04	0,69	0,16	-0,18
Smak inny	25	0,10	0,48	0,01	0,09
Ocena ogólna	86	0,06	0,13	0,90	0,15

Objaśnienia: / Explanatory notes:

zapach przypalony / burnt odour; zapach przypieczony / roasted odour; zapach ostry / sharp odour; zapach mięsny / meaty odour; zapach wątrobiany / liver odour; zapach kwaśny / sour odour; zapach tłuszczowy / fatty odour; zapach inny / other odour; smak przypalony / burnt taste; smak przypieczony / roasted taste; smak gorzki / bitter taste; smak mięsny / meaty taste; smak wątrobiany / liver taste; smak kwaśny / sour taste; smak słony / salty taste; smak słodki / sweet taste; smak inny / other taste; miękkość / softness; łatwość fragmentacji / ease of fragmentation; soczystość / juiciness; włóknistość / fibrosity; barwa / colour; krwistość / ruddiness; wrażenie tłustości / greasy feel; ocena ogólna / overall rating



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

Rys. 2. Wykres konfiguracji punktów reprezentujących zmienne w układzie dwóch pierwszych osi czynnikowych (głównych składowych)

Fig. 2. Graph of configuration of points representing variables in system of first two factorial axes (principal components)

Czwarta składowa główna dotyczyła smaku i zapachu mięsnego. Cechy te wykazywały dodatnią korelację z omawianym czynnikiem.

Powiązania pomiędzy zmiennymi wejściowymi oraz głównymi składowymi przedstawiono w formie graficznej na rys. 2. Projekcja ta obrazuje rozkład wyróżników jakości sensorycznej na płaszczyźnie utworzonej z wybranych dwóch czynników, które w 35 % odpowiadały za zmienność próbek (czynnik 1 i 2), czyli przedstawiona projekcja jest obrazem korelacji ocenianych atrybutów sensorycznych opisanych w tab. 1. w przypadku dwóch pierwszych czynników. Współrzędnymi punktów na wykresie są odpowiadające im współczynniki (ładunki czynnikowe) zmiennych. Długość wektorów kierunkowych łączących punkty reprezentujące zmienne z początkiem układu współrzędnych jest równa zasobom informacyjnym tych zmiennych przenoszonym przez dwie pierwsze główne składowe. Im dana zmienna wejściowa leży bliżej brzegu tego koła, tym większa część informacji zawartych w danej zmiennej wejściowej jest przenoszona przez te główne składowe. Położenie punktów reprezentujących zmienne wejściowe względem osi czynnikowych (głównych składowych) pozwala na zakwalifikowanie zmiennych do odpowiednich kategorii. Im bliżej siebie leżą na wykresie punkty (wektory) reprezentujące zmienne wejściowe, tym silniejsza jest dodatnia korelacja pomiędzy odpowiadającymi im zmiennymi. Jeżeli wektory te są prostopadłe, to

zmienne są ze sobą nieskorelowane. Jeżeli natomiast wektory leżą na jednej linii, lecz po przeciwnych stronach środka układu współrzędnych, to zmienne są maksymalnie ujemnie skorelowane (współczynnik korelacji liniowej wynosi -1).

Wartość informacyjna wyników ocen sensorycznych badanych mięśni poddanych obróbce cieplnej po przeprowadzeniu analizy składowych głównych (PCA)

Zastosowana w niniejszej pracy analiza składowych głównych (PCA) pozwoliła wyodrębnić najważniejsze wyróżniki przeprowadzonej oceny sensorycznej, ograniczając tym samym liczbę ocenianych wyróżników sensorycznych z 25 do 4. W tab. 2. przedstawiono zróżnicowanie jakości sensorycznej w obrębie różnych mięśni wołowych poddanych dojrzewaniu przez 7, 14 i 21 dni.

Rozpatrując wartości pierwszej składowej głównej, odnoszące się do poszczególnych mięśni po każdym z zastosowanych okresów dojrzewania stwierdzono, że mięśnie po 7 i 14 dniach dojrzewania nie różniły się istotnie ($p < 0,05$) pod względem wartości czynnika 1. Natomiast po 3-tygodniowym dojrzewaniu mięśnie podzielono na dwie grupy jednorodne pod względem wartości tej składowej. Podstawą takiego podziału były istotne ($p < 0,05$) różnice wartości czynnika 1. mięśnia A_NG względem L_PO. W skład pierwszej grupy homogennej wchodziły mięśnie: A_NG, R_NG, Z_PO, K_PS, drugą zaś tworzyły mięśnie: R_NG, Z_PO, K_PS i L_PO. Mięsień A_NG wykazywał istotnie ($p < 0,05$) niższą wartość czynnika 1. względem mięśnia L_PO.

Wartości drugiej składowej głównej, reprezentowanej w największym stopniu przez noty zapachowe i smakowe mięsa, nie różniły się istotnie ($p < 0,05$) w obrębie badanych mięśni po 7, 14 i 21 dniach dojrzewania.

Badane próbki mięsa wykazywały istotne zróżnicowanie ($p < 0,05$) pod względem trzeciej składowej głównej po każdym z zastosowanych czasów dojrzewania. Po tygodniowym czasie dojrzewania wartości czynnika 3. mięśnia L_PO były istotnie ($p < 0,05$) niższe względem mięśni: R_NG, K_PS i A_NG, natomiast nie różniły się od wartości mięśnia Z_PO. Jakość ogólna i cechy tekstury mięśnia Z_PO były istotnie ($p < 0,05$) różne względem mięśni K_PS, A_NG i R_NG (wartość czynnika 3. istotnie ($p < 0,05$) niższa w przypadku mięśnia Z_PO w stosunku do mięśni K_PS i A_NG). Mięśnie R_NG, K_PS i A_NG nie wykazywały istotnego ($p < 0,05$) zróżnicowania pod względem wartości omawianego czynnika. Na podstawie istotnych ($p < 0,05$) różnic między wartościami czynnika 3. badane mięśnie po 14 dniach dojrzewania podzielono na trzy jednorodne grupy. Do pierwszej grupy przydzielono mięsień cechujący się najniższą wartością trzeciej składowej głównej (L_PO). W drugiej grupie jednorodnej znalazł się mięsień Z_PO, który wyróżniał się istotnie ($p < 0,05$) wyższą wartością czynnika 3. względem mięśnia L_PO oraz istotnie ($p < 0,05$) niższą wartością tego czynnika w stosunku do mięśni K_PS, R_NG i A_NG, które przydzielono do trzeciej

grupy jednorodnej. Mięśnie te wykazywały istotnie ($p < 0,05$) najwyższą wartość omawianego czynnika względem wszystkich badanych próbek. Po 21 dniach dojrzewania, podobnie jak po tygodniowym okresie dojrzewania, najniższymi wartościami czynnika 3. cechowały się mięśnie L_PO i Z_PO względem pozostałych próbek. Mięśnie te utworzyły grupę jednorodną. W skład drugiej grupy jednorodnej wchodziły mięśnie K_PS i R_NG, trzecią zaś tworzyły mięśnie R_NG i A_NG. Mięśnie K_PS

Tabela 2. Jakość sensoryczna badanych mięśni – oceniane wyróżniki sensoryczne ujęte w 4 czynnikach głównych

Table 2. Sensory quality of muscles analyzed; evaluated sensory discriminants included in 4 main factors

Czas dojrzewania Aging time	Mięśnie Muscles	Czynnik 1 Factor 1	Czynnik 2 Factor 2	Czynnik 3 Factor 3	Czynnik 4 Factor 4
7 dni 7 days	L_PO	6,44 ^a ± 0,96	0,92 ^a ± 0,25	4,60 ^a ± 0,31	3,91 ^a ± 0,28
	Z_PO	6,51 ^a ± 0,65	1,02 ^a ± 0,30	4,85 ^{a,b} ± 0,81	4,19 ^a ± 0,43
	A_NG	6,34 ^a ± 0,52	0,97 ^a ± 0,32	6,50 ^c ± 0,65	4,08 ^a ± 0,54
	K_PS	6,27 ^a ± 0,73	0,99 ^a ± 0,31	5,98 ^c ± 0,52	3,91 ^a ± 0,38
	R_NG	6,31 ^a ± 0,72	0,97 ^a ± 0,27	5,91 ^c ± 0,95	4,19 ^a ± 0,43
14 dni 14 days	L_PO	6,47 ^a ± 0,82	1,09 ^a ± 0,25	5,43 ^b ± 0,42	4,26 ^a ± 0,22
	Z_PO	6,72 ^a ± 0,60	1,10 ^a ± 0,23	4,44 ^a ± 0,98	4,22 ^a ± 0,34
	A_NG	6,67 ^a ± 0,43	1,08 ^a ± 0,31	6,93 ^c ± 0,89	4,32 ^a ± 0,31
	K_PS	6,70 ^a ± 0,65	1,10 ^a ± 0,26	6,21 ^c ± 0,52	4,35 ^a ± 0,26
	R_NG	6,63 ^a ± 0,72	1,17 ^a ± 0,36	6,43 ^c ± 0,49	4,49 ^a ± 0,34
21 dni 21 days	L_PO	7,13 ^b ± 0,24	1,11 ^a ± 0,16	4,92 ^a ± 0,34	4,22 ^a ± 0,56
	Z_PO	6,78 ^{a,b} ± 0,55	1,15 ^a ± 0,27	4,99 ^a ± 0,65	4,29 ^a ± 0,70
	A_NG	6,76 ^a ± 0,31	1,04 ^a ± 0,21	6,96 ^c ± 0,49	4,45 ^a ± 0,55
	K_PS	6,97 ^{a,b} ± 0,38	1,16 ^a ± 0,34	5,99 ^b ± 0,72	4,40 ^a ± 0,53
	R_NG	6,76 ^{a,b} ± 0,37	1,11 ^a ± 0,27	6,54 ^{b,c} ± 0,96	4,48 ^a ± 0,57

Objaśnienia: / Explanatory notes:

L_PO – *musculus semitendinosus*, Z_PO – *musculus semimembranosus*, A_NG – *musculus longissimus dorsi thoracis*, R_NG – *musculus longissimus dorsi lumborum*, K_PS – *musculus gluteus medius*.

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values ± standard deviations; n = 4. Wartości średnie w kolumnach w obrębie każdego dnia dojrzewania, oznaczone różnymi indeksami literowymi, różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) / Mean values in columns within each of ageing day, denoted by different letter superscripts are statistically significantly different ($p < 0.05$).

i A_NG cechowały się istotnymi ($p < 0,05$) różnicami pod względem omawianego czynnika (mięsień A_NG cechował się istotnie ($p < 0,05$) wyższą wartością trzeciej składowej głównej w porównaniu z mięśniem K_PS). Nie wykazano również istotnych ($p < 0,05$) różnic wartości czwartej składowej głównej w obrębie badanych mięśni po każdym z zastosowanych okresów dojrzewania.

W niniejszej pracy oceniane wyróżniki sensoryczne podzielono na cztery grupy. W pierwszej grupie znalazły się wyróżniki opisujące cechy mięsa związane z jego wyciekiem, w drugiej – wyróżniki smakowo-zapachowe, w trzeciej najważniejsze były cechy tekstury mięsa oraz jego jakość ogólna, zaś w czwartej – smak i zapach mięsny. Rozpatrując wyniki poszczególnych mięśni wykazano, że statystycznie istotne ($p < 0,05$) różnice były charakterystyczne tylko dla mięśnia półścięgnistego oraz najdłuższego grzbietu – okolicy łędźwi, wartości czynników głównych pozostałych mięśni nie wykazywały statystycznego zróżnicowania. Różnice statystycznie istotne mogły być związane ze specyficznymi właściwościami białych włókien mięśniowych, budujących cały mięsień. Mięso, które cechuje się większą liczbą komórek mięśniowych z przewagą szybko przekształcających się włókien białych (m. półścięgnisty), wykazuje szybsze tempo degradacji oraz wyższą podatność na zmiany zachodzące podczas dojrzewania [10], co może być przyczyną łatwiejszego rozwoju cech smakowo-zapachowych w tym mięśniu. Otrzymane wyniki mogą sugerować, że czas dojrzewania wpływa na zmiany intensywności odczuwania zapachów i smaków mięsa wołowego, jak również warunkuje jego cechy tekstury. Na podstawie wyników ujętych w czterech składowych głównych w przypadku wszystkich mięśni stwierdzono, że podczas założonego czasu dojrzewania zmianie uległ profil smakowo-zapachowy mięsa, czego wyrazem były wyższe noty przyznane wyróżnikom jakości sensorycznej ocenianych mięśni po przeprowadzeniu obróbki cieplnej – grillowania. Biorąc pod uwagę wartości czynnika pierwszego, zaobserwowano, że ulegały one zwiększeniu wraz z wydłużaniem czasu dojrzewania mięsa. Otrzymane różnice nie były statystycznie istotne ($p < 0,05$), jednak dość zauważalne. Zwiększenie wartości omawianej składowej pierwszej oznacza, że mięso wraz z wydłużającym się czasem dojrzewania było mniej soczyste, cechowało się bardziej intensywnym zapachem i smakiem przypieczonym oraz barwą o bardziej intensywnym szarym odcieniu. Mięso to było mniej krwiste, wykazywało mniej intensywny zapach i smak wątrobiany. Niższa soczystość badanych mięśni po dłuższym czasie dojrzewania mogła wynikać z osłabienia struktury mięśniowej wraz z dłuższym czasem dojrzewania, co mogło powodować większe straty płynów podczas prowadzenia obróbki cieplnej [9]. Druga składowa główna była dodatnio skorelowana z zapachem kwaśnym i tłuszczowym oraz smakiem przypalonym, gorzkim, kwaśnym i słodkim. Większość wymienionych w czynniku drugim zapachów czy smaków odbiera się negatywnie. Zwiększenie intensywności powyższych zapachów w czasie trwania dojrzewania mięsa było zgodne z wynikami badań

innych autorów [4, 7, 9, 14]. Wartości trzeciej składowej uległy zwiększeniu wskutek zastosowanego czasu dojrzewania, co oznacza że mięso wraz z wydłużeniem czasu przechowywania cechowało się większą miękkością oraz łatwością fragmentacji, wykazywało mniejszą włóknistość oraz wyższą jakość ogólną. Otrzymane wyniki są zgodne z danymi literaturowymi [2, 7, 9, 16]. Ostatnia wyodrębniona w niniejszej pracy składowa główna związana była z zapachem i smakiem mięsa wołowego. Wyniki tej składowej głównej uległy zwiększeniu wraz z wydłużeniem czasu trwania dojrzewania mięsa, co mogło wynikać z większej akumulacji związków smakowych (nukleotydów inozynowych, inozyny i hipoksantyny) w mięśniach po przeprowadzonym procesie dojrzewania [8].

W dostępnej literaturze brak jest danych dotyczących zastosowania analizy PCA w zakresie przedstawionym w niniejszej pracy, gdzie wykorzystano tę analizę jako narzędzie statystyczne pozwalające na dokładne i precyzyjne określenie zachodzących zmian jakości sensorycznej mięśni wołowych poddanych procesowi dojrzewania, a następnie obróbce cieplnej.

Wnioski

1. Ocena sensoryczna mięśni wołowych poddanych procesowi dojrzewania przeprowadzona zgodnie z metodą QDA dostarcza kompleksowej i szczegółowej wiedzy o profilu sensorycznym ocenianego produktu.
2. Analiza składowych głównych jest optymalnym narzędziem statystycznym ułatwiającym analizę dużej liczby ocenianych wyróżników jakościowych otrzymanych podczas oceny sensorycznej mięsa, pozwalającym wykryć prawidłowości niezauważalne w oryginalnym układzie zmiennych wejściowych (wyników ocen sensorycznych).
3. Analiza PCA pozwala dostrzec, które atrybuty sensoryczne są ze sobą istotnie powiązane i otrzymać pełną charakterystykę jakości sensorycznej z uwzględnieniem jedynie niewielkiego podzbioru z dużej liczby ocenianych wyróżników, co może znacznie ułatwić interpretację wyników ocen sensorycznych oraz wnioskowanie.
4. Wykazano, że zróżnicowanie jakości sensorycznej mięśni wołowych w największym stopniu dotyczy cech tekstury i jakości ogólnej.
5. Intensywność odczuwania poszczególnych atrybutów sensorycznych mięsa poddanego obróbce cieplnej była zróżnicowana w przypadku poszczególnych mięśni i zależała od czasu ich dojrzewania.
6. W mięśniu półścięgnistym w największym stopniu ukształtowały się pozytywne cechy sensoryczne pod wpływem 14-dniowego okresu dojrzewania, natomiast w mięśniu najdłuższym grzbietu okolicy lędźwi uzyskano najkorzystniejsze cechy tekstury i jakość ogólną po 21 dniach dojrzewania.

Badania zrealizowano w ramach projektu: Optymalizacja produkcji wołowiny w Polsce, zgodnie ze strategią „od widelca do zagrody” nr PO IG 01.03.01-00-204/09, współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka 2007 - 2013.

Literatura

- [1] Baryłko-Pikielna N., Matuszewska I.: Sensoryczne badania żywności. Podstawy. Metody. Zastosowania. Wyd. II. Wyd. Nauk. PTTŻ, Kraków 2014, ss. 181-199.
- [2] Boleman C.T., McKenna D.R., Ramsey W.S., Peel R.K., Savell J.W.: Influence of feeding vitamin D₃ and aging on the tenderness of four lamb muscles. *Meat Sci.*, 2004, **2** (67), 185-190.
- [3] BS-EN ISO 8589:2010+A1:2014. Sensory analysis. General guidance for the design of test rooms.
- [4] Campo M.M., Sanudo C., Panea B., Alberti P., Santolaria P.: Breed type and ageing time effects on sensory characteristics of beef strip loin steaks. *Meat Sci.*, 1999, **51** (4), 383-390.
- [5] Gramacki J., Gramacki A.: Statystyczne odkrywanie zależności w danych. *Przeł. Telekom.*, 2008, **6**, 711-713.
- [6] ISO 13299:2010. Sensory analysis. Methodology. General guidance for establishing a sensory profile.
- [7] Jiang T., Busboom J.R., Nelson M.L., O'Fallon J., Ringkob T.P., Rogers-Klette K.R., Joos D., Piper K.: The influence of forage diets and aging on beef palatability. *Meat Sci.*, 2010, **3** (86), 642-650.
- [8] Kołczak T.: Jakość wołowiny. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **1** (56), 5-22.
- [9] Monsón F., Sañudo C., Sierra I.: Influence of breed and ageing time on the sensory meat quality and consumer acceptability in intensively reared beef. *Meat Sci.*, 2005, **3** (71), 471-479.
- [10] Ouali A.: Meat tenderization: Possible causes and mechanisms. A review. *J. Muscle Foods*, 1990, **1** (2), 129-165.
- [11] PN-EN ISO 8586-03:2014. Analiza sensoryczna. Ogólne wytyczne wyboru, szkolenia i monitorowania wybranych oceniających i ekspertów oceny sensorycznej.
- [12] Rosochacki S.J.: Proteoliza w mięśniach po uboju zwierząt. *Przeł. Hod.*, 1999, **9**, 26-29.
- [13] Sentandreu M., Coulis G., Ouali A.: Role of muscle endopeptidases and their inhibitors in meat tenderness. *Trends Food Sci. Technol.*, 2002, **12** (13), 398-419.
- [14] Spanier A.M., Flores M., McMillin K.W., Bidner T.D.: The effect of *post-mortem* aging on meat flavour quality in Brangus beef. Correlation of treatments, sensory, instrumental and chemical descriptors. *Food Chem.*, 1997, **4** (59), 531-538.
- [15] Stetzer A.J., Cadwallader K., Singh T.K., McKeith F.K., Brewer M.S.: Effect of enhancement and ageing on flavor and volatile compounds in various beef muscles. *Meat Sci.*, 2008, **1** (79), 13-19.
- [16] Stolowski G.D., Baird B.E., Miller R.K., Savell J.W., Sams A.R., Taylor J.F., Sanders J.O., Smith S.B.: Factors influencing the variation in tenderness of seven major beef muscles from three Angus and Brahman breed crosses. *Meat Sci.*, 2006, **3** (73), 475-483.
- [17] Takahashi K.: Mechanism of meat tenderization during postmortem aging: calcium theory. *Proc. of the 45th Interanrional Congress of Meat Science and Technology. Yokohama 1999*, pp. 230-235.

USEFULNESS OF QUANTITATIVE DESCRIPTIVE ANALYSIS (QDA) AND PRINCIPAL COMPONENTS ANALYSIS (PCA) EXEMPLIFIED BY SENSORY EVALUATION OF GRILLED BEEF STEAKS

S u m m a r y

The objective of the research study was to determine the potential of using, more extensively, a quantitative descriptive method (QDA) and a principal components analysis (PCA) to evaluate the sensory quality of grilled beef by identifying the complex profile of the product under evaluation and, then, by limiting the quantity of attributes included, which facilitated the interpretation of results and the determination of the relationships that were important for the quality of the product analyzed. The research material consisted of five muscles: *musculus semitendinosus* (L_PO), *musculus semimembranosus* (Z_PO), *musculus longissimus dorsi thoracis* (A_NG), *musculus longissimus dorsi lumborum* (R_NG), and *musculus gluteus medius* (K_PS); those muscles were subjected to an ageing process for 7, 14, and 21 days in vacuum packs, at a temperature of $2\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$. The meat after the heat treatment (grilling) was sensory assessed using a quantitative descriptive analysis (QDA) and, next, the results obtained were statistically analysed using a principal components analysis (PCA). Based on the analyses performed, it was found that the QDA-based sensory evaluation of the beef muscles subjected to the ageing process provided a comprehensive and detailed knowledge of the sensory profile of the product evaluated. The principal component analysis, used as a statistical tool, enabled the analysis of a large number of quality parameters under assessment obtained during the sensory evaluation of meat. With that analysis, it was possible to detect the regularities that were imperceptible in the original layout of the obtained results of sensory evaluations. On the basis of PCA, it was found that many sensory attributes were quite strongly correlated with each other and in order to obtain a complete characterisation of the sensory quality, it was enough to include just a small subset from a group of numerous parameters under evaluation; this could essentially facilitate the interpretation of results and the determination of relationships important for the sensory quality of the product being assessed. It was also proved that the variation in the sensory quality of beef muscles referred to the features of texture and overall quality. The intensity of how individual sensory attributes of heat-treated meat were felt varied in the case of individual muscles and depended on the duration of their ageing. As regards the *musculus semitendinosus*, its positive sensory characteristics were formed, to the greatest extent, during a 14-day ageing period, while in the *musculus longissimus dorsi lumborum*, the best features of its texture and overall quality were reported after a 21 day ageing period. Regarding the remaining samples analyzed, no significant ($p < 0.05$) differences were found in their sensory quality after the applied period of ageing.

Key words: beef, sensory quality, quantitative descriptive method (QDA), principal component analysis (PCA) ☒

JUSTYNA E. BOJARSKA, KATARZYNA M. MAJEWSKA,
RYSZARD ZADERNOWSKI

TEKSTURA OWOCÓW WYBRANYCH ODMIAN TRUSKAWEK

Streszczenie

Celem pracy była ocena tekstury owoców wybranych odmian truskawek, uprawianych w jednolitych warunkach glebowo-klimatycznych.

Materiał doświadczalny stanowiły owoce truskawek dziesięciu odmian deserowych: ‘Camarosa’, ‘Dukat’, ‘Elsanta’, ‘Heros’, ‘Honeoye’, ‘Kama’, ‘Kent’, ‘Onebor’ (‘Marmolada’), ‘Polka’ i ‘Thuriga’ oraz owoce odmiany przemysłowej – ‘Senga Sengana’, uznane w niniejszym eksperymencie za odmianę kontrolną. Owoce pochodziły z poletek doświadczalnych założonych na plantacji towarowej w Jarotach k. Olsztyna. Próbkę pobrano w dwóch kolejnych latach z roślin losowo wybranych z każdej odmiany. Oznaczono zawartość suchej masy owoców. Pomiar tekstury świeżych owoców wykonano przy użyciu uniwersalnej maszyny testującej INSTRON 4301. Do oceny jędrności owoców zastosowano testy: penetracji oraz jednoosiowego ściskania między płytkami. Pomiarów wykonywano w temperaturze 20 ± 2 °C w 30 powtórzeniach.

Stwierdzono, że zawartość suchej masy w owocach badanych odmian była istotnie ($p < 0,05$) zróżnicowana. Najmniej suchej masy zawierały owoce odmiany ‘Camarosa’ (9,75 %), najwięcej – ‘Heros’, ‘Elsanta’ i ‘Senga Sengana’ (powyżej 10,87 %). W przeprowadzonym teście penetracji największą siłą przebijania $F_{p \max}$ charakteryzowały się owoce odmian: ‘Kent’, ‘Elsanta’, ‘Onebor’ oraz ‘Thuriga’ (powyżej 2,7 N), podczas gdy owoce odmian: ‘Heros’, ‘Dukat’, i ‘Honeoye’ cechowała najmniejsza zwięzłość struktury (poniżej 1,1 N/mm). Wyniki zbieżne z powyższymi otrzymano w teście ściskania. Największe wartości badanych parametrów tekstury, uzyskane w obu testach ($F_{p \max}$, $E_{p \max}$, $F_{\text{ś max}}$, $E_{\text{ś max}}$), charakteryzowały owoce odmiany ‘Kent’.

Słowa kluczowe: truskawki, odmiany, tekstura, przebijanie, ściskanie

Wprowadzenie

Polska znajduje się wśród dziesięciu największych światowych producentów truskawek [19]. Krajowe zbiory owoców w 2014 r. wynosiły 197,0 tys. ton [21]. Tru-

Dr inż. J. E. Bojarska, prof. dr hab. inż. K. M. Majewska, prof. dr hab. inż. R. Zadernowski, Katedra Przetwórstwa i Chemii Surowców Roślinnych, Wydz. Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Pl. Cieszyński 1, 10-957 Olsztyn. Kontakt: justyna.bojarska@uwm.edu.pl

skawki przeznaczano głównie do celów przetwórczych, a dominującą odmianą była ‘Senga Sengana’. Obecnie, przy znacznym udziale owoców przemysłowych, obserwuje się wzrost popytu na owoce deserowe. Oprócz takich cech, jak: odpowiednia wielkość, wybarwienie, połysk, aromat i smak, truskawki powinny się charakteryzować pożądaną teksturą [2]. Skórka owoców odmian deserowych powinna być wytrzymała na otarcia mechaniczne, a miąższ jędrny, aby owoce można było transportować na większe odległości i sprzedawać przez kilka dni. Wymienione cechy, jak również parametry geometryczne mające związek ze strukturą wewnętrzną truskawek (np. kolistość, wypukłość, wydłużenie przestrzeni identyfikowanych jako komórki), są cechami odmianowymi [11]. Znaczenie twardości owoców w transporcie podkreślają Chen i Opara [7]. Owoce jędrne są ponadto mniej podatne na gnicie powodowane przez szarą pleśń [30].

Tekstura produktu żywnościowego jest zbiorem właściwości wynikających z natury strukturalnych elementów i ich wzajemnego uporządkowania oraz sposobu, w jaki są one odbierane i rejestrowane przez zmysły człowieka. Definicja ta ujmuje trzy podstawowe elementy tekstury: zależność od strukturalnych parametrów produktu (na poziomie molekularnym, względnie mikro- lub makroskopowym), złożenie z szeregu prostych właściwości (cech), atrybut jakości sensorycznej. Opisany w definicji wpływ struktury tkanki na teksturę surowca potwierdza Bourne [4]. Taub i Singh [27] wskazują, że za strukturę owoców, w tym jagód, odpowiada parenchyma – tkanka magazynująca składniki odżywcze. Zbliżoną definicję tekstury podano w Polskiej Normie [17], zgodnie z którą teksturę produktu spożywczego definiuje się jako ogół cech mechanicznych, geometrycznych oraz powierzchniowych, odbieranych za pomocą receptorów mechanicznych (podczas procesu mastykacji – żucia), dotykowych, wzrokowych i słuchowych. Do oceny tekstury żywności wykorzystywane są dwie grupy metod: sensoryczne oraz instrumentalne [26]. Tekstura jako cecha wieloparametrowa może być kompleksowo oceniona jedynie przez aparat zmysłowy człowieka. Jednak metody analizy sensorycznej, mimo wielu zalet, nie są odpowiednie do przeprowadzania rutynowych badań w warunkach przemysłowych, w których stosowane są metody instrumentalne [9, 22]. Wśród zalet metod instrumentalnych wymienia się: niższe koszty, większą szybkość i powtarzalność uzyskiwanych wyników oraz niezależność wartości tych wyników od psychofizycznego stanu osób oceniających czy miejsca badania [4, 25, 26]. Ponadto udowodniono, że wyniki uzyskane metodami instrumentalnymi korelują z wrażeniami uzyskanymi sensorycznie [7, 20].

Najczęściej stosowanym parametrem określającym teksturę owoców jest jędrność. Może być ona określana w testach przebijania (penetracji) lub ściskania, przy zastosowaniu różnych trzpieni lub innych elementów odkształcających badaną próbkę, zróżnicowanej siły oraz wielkości odkształcenia, w zależności od celu pomiaru. Jędrność surowców roślinnych rozumiana jest przez różnych autorów zarówno jako wiel-

kość maksymalnej siły przebijania lub ściskania badanego materiału, jak też jako stosunek siły do przesunięcia [1].

Jędrność truskawek zależy od ich wielkości, stadium dojrzałości owoców, warunków wzrostu oraz liczby owoców na krzaku [18]. Owoce te są szczególnie wrażliwe na uszkodzenia, co wynika ze specyficznej budowy tkanek oraz dużej zawartości wody [3, 10]. Jędrność owoców truskawek określali Żurawicz i Masny [30]. Jak podają, odmianami wytwarzającymi bardzo jędrne owoce są: 'Camarosa', 'Darselect', 'Elsanta', 'Honeoye', 'Kent', 'Onebor' i 'Selva' – w zakresie $0,9 \div 2,0$ N. Cordenunsi i wsp. [8] oznaczyli jędrność na poziomie od 0,6 N – w przypadku owoców odmiany 'Campineiro' do ponad 1,0 N – odmiany 'Oso Grande'. Singh i wsp. [22] mierzyli jędrność owoców truskawek odmiany 'Chandler' za pomocą trzpienia o średnicy 2 mm, poruszającego się z prędkością 50 mm/min (texture analyzer TA-Hdi, Stable Micro Systems, UK). Wartość jędrności truskawek próby kontrolnej wynosiła 1,30 N, a owoców natryskiwanych przed zbiorem związkami wapnia oraz związkami wapnia i boru istotnie więcej, odpowiednio: 1,55 i 1,62 N. Stwierdzono, że dostarczenie roślinom podczas vegetacji odpowiedniej ilości wapnia i krzemu wpływa na jędrność owoców oraz możliwość ich przechowywania [15, 23]. Pierwiastki te pełnią ważną funkcję w stabilizacji ściany komórkowej [29]. Podejmowano również próby pozbiorczego zwiększenia trwałości truskawek poprzez immersję w roztworach chlorku wapnia [6, 12, 28]. Chen i wsp. [6] wykazali, że stosowanie 1-procentowego CaCl_2 po zbiorze ograniczyło ubytek masy owoców, nie stwierdzono natomiast istotnego wpływu stosowanych substancji na jędrność truskawek. Zmiany jędrności oraz ubytki masy owoców truskawek podczas przechowywania badali Ochmian i Grajkowski [14]. Analizowali truskawki zbierane z szypułką oraz bez szypułki. Stwierdzili szybsze ubytki masy oraz jędrności w trakcie przechowywania owoców zbieranych bez szypułki.

Doświadczenie polegające na zastosowaniu jadalnych powłok maltodekstrynowych na owoce truskawek poddanych procesowi zamrażania i rozmrażania przeprowadzili Białas i wsp. [3]. Określili oni zarówno ubytki masy, jak i jędrność rozmrożonych owoców. Stwierdzili, że powlekanie owoców filmem maltodekstrynowym prawie trzykrotnie ograniczało wyciek soku po rozmrożeniu i wpływało korzystnie na zachowanie jędrności truskawek. Wśród metod zabezpieczających pozbiorczo jakość owoców badany był także wpływ oddziaływania ultradźwiękami [5]. W owocach poddanych takiemu działaniu (40 kHz/10 min) jędrność owoców ulegała zmniejszeniu w mniejszym stopniu niż w próbce kontrolnej, zwiększała się natomiast zawartość suchej masy, witaminy C i kwasowość.

Na polski rynek wprowadzane są co roku nowe zagraniczne odmiany truskawek deserowych, których wartość produkcyjna w naszych warunkach klimatyczno-glebowych jest nieznana [30]. Niewiele jest także doniesień dotyczących ich cech sen-

sorycznych, w tym jędrności, która determinuje logistykę surowca (wytrzymałość w czasie przechowywania i transportu).

Celem pracy była ocena owoców wybranych odmian truskawek, uprawianych w jednolitych warunkach glebowo-klimatycznych, pod względem ich tekstury.

Material i metody badań

Materiał doświadczalny stanowiły owoce truskawek (*Fragaria x ananassa* D.) odmian deserowych: 'Camarosa', 'Dukat', 'Elsanta', 'Heros', 'Honeoye', 'Kama', 'Kent', 'Onebor' ('Marmolada'), 'Polka' i 'Thuriga' oraz owoce odmiany przemysłowej – 'Senga Sengana', uznanej w niniejszym eksperymencie za odmianę kontrolną. Owoce pochodziły z poletek doświadczalnych plantacji towarowej w Jarotach k. Olsztyna. Doświadczenie założono na glebie gliniastej III klasy bonitacyjnej, na płaskowyzu o lekkim nachyleniu w stronę południową. Pozyskanie owoców z jednej plantacji stwarzało możliwość obiektywnego porównania odmian, rosnących w tych samych warunkach glebowo-klimatycznych. Próbkę pobierano w okresie dwuletnim, z roślin losowo wybranych z każdej odmiany. Owoce zbierano w stadium dojrzałości zbiorczej i badano przed upływem 12 h.

Oznaczanie zawartości suchej masy wykonywano metodą wagową wg PN-ISO 1026: 2000 [16].

Pomiar tekstury świeżych owoców wykonywano przy użyciu uniwersalnej maszyny testującej INSTRON 4301 (USA). Zastosowano dwa testy: penetracji (ocena twardości skórki i warstwy podskórnej) oraz jednoosiowego ściskania między płytkami (ocena twardości miąższu). Podczas wszystkich testów zakres pomiarowy głowicy INSTRON wynosił $0 \div 100$ N. Pomiarów wykonywano w temp. 20 ± 2 °C w 30 powtórzeniach [4]. Krzywe penetracji i ściskania, przedstawione w układzie siła – odkształcenie (F- d), analizowano korzystając z oprogramowania INSTRON IX Series Automated Materials Tester (AMT) ver. 8.34.00. Z każdego wykresu analizowano maksymalną siłę F_{\max} [N] i odpowiadające jej odkształcenie (przesunięcie) d_{\max} [mm]. Ponadto obliczano całkowitą energię E_{\max} [J], czyli pracę, jaka została wykonana podczas odkształcania badanych próbek, jak również zwięzłość struktury owoców Z_{\max} , będącą ilorazem maksymalnej siły i przesunięcia (F_{\max}/d_{\max}) [4]. Podczas testu penetracji stosowano trzpień cylindryczny płasko ścięty o średnicy 6 mm (Instron, USA), który przemieszczając się z prędkością 50 mm/min penetrował owoc na głębokość 7 mm. Oś penetracji owocu była prostopadła do jego osi pionowej. Natomiast podczas testu ściskania stosowano kowadło ściskające typu 2830-009 (4 in²) (Instron, USA). Prędkość ściskania wynosiła 50 mm/min. Owoce, ułożony w pozycji podobnej do opisanej w teście penetracji, ściskano do momentu uzyskania odkształcenia równego 70 %.

Do statystycznej analizy wyników badań zastosowano program komputerowy Statistica PL6. Istotność różnic pomiędzy wartościami średnimi oceniano testem Tukeya na poziomie istotności $p = 0,05$ [24].

Wyniki i dyskusja

Poszczególne odmiany truskawek różniły się między sobą istotnie ($p < 0,05$) pod względem zawartości suchej masy (tab. 1). Najmniej suchej masy było w owocach odmiany ‘Camarosa’ (9,75 %), najwięcej – w owocach odmiany ‘Heros’ (10,97 %). Owoce odmiany ‘Senga Sengana’ zawierały średnio 10,87 % suchej masy i nie różniły się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) pod względem badanego parametru od owoców odmian: ‘Elsanta’, ‘Heros’, ‘Honeoye’, ‘Onebor’ i ‘Thuriga’. Istotnie mniejszą zawartością suchej masy niż owoce odmiany ‘Senga Sengana’ charakteryzowały się owoce odmiany ‘Camarosa’, ‘Dukat’, ‘Kama’, ‘Kent’ i ‘Polka’, w których kształtowała się ona na poziomie $9,75 \div 10,52$ %.

Tabela 1. Zawartość suchej masy w owocach truskawek badanych odmian

Table 1. Content of dry mass in strawberry fruits of varieties analyzed

Okres uprawy - Odmiany Cultivation period - Varieties	Sucha masa [%] / Dry mass [%]		
	\bar{x}	\pm	s / SD
I	11,10 ^b	\pm	0,15
II	10,45 ^a	\pm	0,19
‘Senga Sengana’	10,87 ^{ef}	\pm	0,59
‘Camarosa’	9,75 ^a	\pm	0,13
‘Dukat’	10,42 ^{cd}	\pm	0,22
‘Elsanta’	10,95 ^{ef}	\pm	0,16
‘Heros’	10,97 ^f	\pm	0,32
‘Honeoye’	10,63 ^{de}	\pm	0,33
‘Kama’	10,03 ^{ab}	\pm	0,31
‘Kent’	10,20 ^{bc}	\pm	0,23
‘Onebor’	10,72 ^{def}	\pm	0,33
‘Polka’	10,52 ^{cd}	\pm	0,35
‘Thuriga’	10,73 ^{def}	\pm	0,19

Objaśnienia: / Explanatory notes:

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

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

Tabela 2. Parametry tekstury. Wyniki testu przebijania owoców truskawek

Table 2. Texture analysis parameters. Puncture test of strawberry fruits

Okres uprawy - Odmiany Cultivation period - Varieties	Maksymalna siła przebijania Maximum puncture force $F_{p \max}$ [N]	Odształcenie (przesunięcie) Deformation (shift) $d_{p \max}$ [mm]	Zwięzłość struktury Compactness of structure $Z_{p \max}$ [N/mm]	Energia przebijania Puncture energy $\times 10^{-2}$ $E_{p \max}$ [J]
	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$
I	2,83 ^b \pm 0,05	2,46 ^b \pm 0,04	1,21 ^a \pm 0,02	1,06 ^b \pm 0,03
II	2,25 ^a \pm 0,03	1,84 ^a \pm 0,04	1,36 ^b \pm 0,03	0,66 ^a \pm 0,03
'Senga Sengana'	2,38 ^{bc} \pm 0,07	2,14 ^{cd} \pm 0,05	1,15 ^{bc} \pm 0,04	0,78 ^{abc} \pm 0,04
'Camarosa'	2,31 ^b \pm 0,08	2,03 ^{bcd} \pm 0,11	1,42 ^{de} \pm 0,10	0,69 ^{ab} \pm 0,05
'Dukat'	2,53 ^{bcd} \pm 0,08	2,52 ^e \pm 0,10	1,05 ^{ab} \pm 0,04	1,20 ^d \pm 0,10
'Elsanta'	2,82 ^d \pm 0,14	2,02 ^{bcd} \pm 0,09	1,47 ^e \pm 0,06	0,80 ^{abc} \pm 0,07
'Heros'	1,85 ^a \pm 0,06	2,24 ^{de} \pm 0,08	0,87 ^a \pm 0,03	0,64 ^a \pm 0,04
'Honeoye'	2,37 ^b \pm 0,09	2,84 ^f \pm 0,09	0,88 ^a \pm 0,04	0,94 ^{bcd} \pm 0,04
'Kama'	2,43 ^{bc} \pm 0,07	1,76 ^b \pm 0,06	1,43 ^{de} \pm 0,04	0,68 ^{ab} \pm 0,04
'Kent'	3,34 ^e \pm 0,14	2,50 ^e \pm 0,07	1,32 ^{cde} \pm 0,03	1,14 ^d \pm 0,07
'Onebor'	2,81 ^d \pm 0,11	2,23 ^{de} \pm 0,07	1,28 ^{cd} \pm 0,04	0,97 ^{cd} \pm 0,06
'Polka'	2,37 ^b \pm 0,10	1,41 ^a \pm 0,07	1,81 ^f \pm 0,06	0,69 ^{abc} \pm 0,12
'Thuriga'	2,71 ^{cd} \pm 0,14	1,93 ^{bc} \pm 0,09	1,42 ^{de} \pm 0,05	0,93 ^{bcd} \pm 0,12

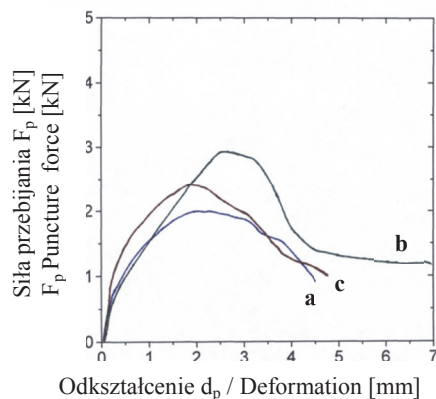
Objaśnienia: / Explanatory notes:

$\bar{x} \pm s / SD$ – wartość średnia \pm odchylenie standardowe / mean value \pm standard deviation; n = 30

a, b, c d – wartości średnie oznaczone w tej samej kolumnie różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) / mean values designated by different letters and placed in the same column differ statistically significantly at $p < 0.05$.

Średnie parametry jędrności badanych owoców w kolejnych okresach badań różniły się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) – w pierwszym okresie badań były wyższe, z wyjątkiem zwięzłości (tab. 2). Ponadto stwierdzono istotne różnice pod względem badanych parametrów pomiędzy odmianami. Maksymalna siła przebijania kształtowała się od 1,85 N w owocach odmiany 'Heros', do 3,34 N – w owocach odmiany 'Kent', które różniły się istotnie ($p < 0,05$) od pozostałych odmian pod względem badanej cechy (tab. 2, rys. 1). Zbliżone do owoców odmiany 'Senga Sengana' wyniki maksymalnej siły przebijania stwierdzono w przypadku owoców odmian: 'Camarosa', 'Dukat', 'Honeoye', 'Kama', 'Polka' i 'Thuriga'. Istotnie większa siła została użyta do przebicia owoców odmian 'Kent', 'Elsanta' oraz 'Onebor'.

Wielkość odształcenia (przesunięcia) uzyskana przy maksymalnej sile przebijania owoców – $d_{p \max}$ – wynosiła od 1,41 mm w owocach odmiany 'Polka' do 2,84 mm – w owocach odmiany 'Honeoye' (tab. 2).



Rys. 1. Krzywe penetracji owoców wybranych odmian truskawek: a – ‘Heros’, b – ‘Kent’, c – ‘Senga Sengana’

Fig. 1. Penetration curves of fruits of selected strawberry varieties: a – ‘Heros’, b – ‘Kent’, c – ‘Senga Sengana’

Zwięzłość struktury owoców, wyrażona jako iloraz wartości maksymalnej siły przebijania i przesunięcia, wynosiła $0,87 \div 1,81$ N/mm (tab. 2). Najmniejszą zwięzłością charakteryzowały się owoce odmian ‘Heros’ i ‘Honeoye’, w których nie przekraczała ona 0,90 N/mm. Statystycznie istotnie większą ($p < 0,05$), aczkolwiek średnią, zwięzłość stwierdzono w owocach ‘Senga Sengana’. Najkorzystniejszą zwięzłością charakteryzowały się owoce odmian: ‘Polka’, ‘Elsanta’, ‘Camarosa’, ‘Kama’, ‘Thuriga’, ‘Kent’ i ‘Onebor’, w których wynosiła ona powyżej 1,28 N/mm i, z wyjątkiem owoców odmiany ‘Kent’ i ‘Onebor’, była istotnie ($p < 0,05$) większa od wartości oznaczonych w owocach odmiany ‘Senga Sengana’ (tab. 2).

Energia przebijania owoców różniła się istotnie w kolejnych okresach badań (tab. 2). Poszczególne odmiany truskawek różniły się istotnie ($p < 0,05$) pod względem energii użytej do przebicia owoców i wahały się od $0,64 \times 10^{-2}$ J (‘Heros’) do $1,20 \times 10^{-2}$ J (‘Dukat’) – tab. 2. Stwierdzono, że w porównaniu z odmianą ‘Senga Sengana’, owoce odmian ‘Dukat’ i ‘Kent’ wymagały użycia istotnie większej energii, natomiast pozostałe nie różniły się istotnie od odmiany kontrolnej pod względem badanego parametru.

Maksymalna siła użyta do ściśnięcia owoców w kolejnych okresach badań różniła się statystycznie istotnie ($p < 0,05$). Otrzymane wartości liczbowe $F_{s \max}$ wynosiły średnio 15,24 N w I okresie badań i 22,08 N – w II okresie (tab. 3). W przypadku odmian wartości liczbowe siły ściskania kształtowały się od 11,44 N (‘Honeoye’) do 28,51 N (‘Kent’). W porównaniu z odmianą wzorcową, istotnie większej siły ściskania użyto do owoców odmian ‘Kent’ i ‘Camarosa’, a mniejszej o połowę przy ścisnaniu

owoców ‘Dukat’, ‘Heros’ oraz ‘Honeoye’. Pozostałe odmiany nie odbiegały od odmiany kontrolnej pod względem omawianego parametru (tab. 3, rys. 2).

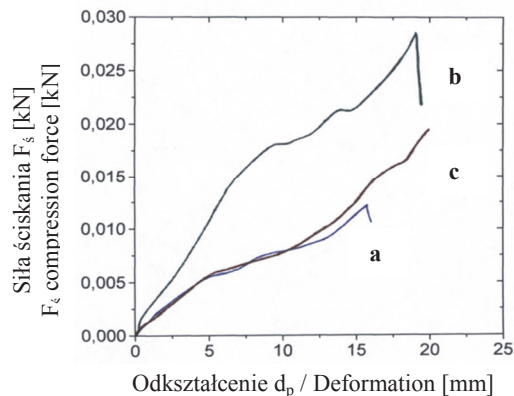
Odształcenie (przesunięcie) odpowiadające maksymalnej sile ściskania ($d_{\text{s max}}$) było wielkością stałą, równą 70 % średnicy, dlatego też nie zostało bliżej opisane.

Tabela 3. Parametry tekstury. Wyniki testu ściskania owoców
Table 3. Texture analysis parameters. Compression test of fruits

Okres uprawy - Odmiany Cultivation period / Cultivars	Maksymalna siła ściskania Maximum com- pression force $F_{\text{s max}}$ [N]	Odształcenie (przesunięcie) Deformation (shift) $d_{\text{s max}}$ [mm]	Zwięzłość struktury Compactness of structure $Z_{\text{s max}}$ [N/mm]	Energia ściskania Compression energy $\times 10^{-2}$ $E_{\text{s max}}$ [J]
	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$
I	15,24 ^a \pm 0,37	18,67 ^b \pm 0,15	0,81 ^a \pm 0,02	16,60 ^a \pm 0,42
II	22,08 ^b \pm 0,51	17,67 ^a \pm 0,12	1,25 ^b \pm 0,03	20,44 ^b \pm 0,49
‘Senga Sengana’	19,81 ^{bcd} \pm 0,79	19,74 ^f \pm 0,03	1,00 ^b \pm 0,04	17,89 ^b \pm 0,51
‘Camarosa’	24,21 ^e \pm 1,67	17,64 ^c \pm 0,25	1,42 ^d \pm 0,12	22,13 ^{cd} \pm 1,26
‘Dukat’	11,76 ^a \pm 0,46	15,79 ^b \pm 0,24	0,76 ^a \pm 0,04	10,53 ^a \pm 0,39
‘Elsanta’	20,01 ^{cd} \pm 0,73	22,25 ^h \pm 0,36	0,91 ^{ab} \pm 0,04	23,92 ^d \pm 0,87
‘Heros’	11,95 ^a \pm 0,55	15,68 ^b \pm 0,11	0,76 ^a \pm 0,03	10,03 ^a \pm 0,37
‘Honeoye’	11,44 ^a \pm 0,50	14,68 ^a \pm 0,06	0,78 ^a \pm 0,03	9,23 ^a \pm 0,40
‘Kama’	16,64 ^b \pm 0,85	18,20 ^d \pm 0,16	0,93 ^{ab} \pm 0,05	18,76 ^b \pm 0,67
‘Kent’	28,51 ^f \pm 1,09	18,30 ^d \pm 0,11	1,55 ^d \pm 0,06	30,27 ^e \pm 0,94
‘Onebor’	22,01 ^{de} \pm 1,03	20,67 ^g \pm 0,10	1,06 ^{bc} \pm 0,05	23,22 ^d \pm 0,92
‘Polka’	17,62 ^{bc} \pm 0,80	19,24 ^e \pm 0,10	0,92 ^{ab} \pm 0,05	17,85 ^b \pm 0,48
‘Thuriga’	21,28 ^{de} \pm 1,03	17,68 ^c \pm 0,05	1,20 ^c \pm 0,06	19,88 ^{bc} \pm 0,91

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

Zwięzłość owoców, analizowana testem ściskania, była zróżnicowana zarówno w poszczególnych okresach uprawy, jak i w zależności od odmian badanych owoców. Wartości $Z_{\text{s max}}$ wahały się od 0,76 N/mm (‘Dukat’ i ‘Heros’), do 1,55 N/mm (‘Kent’) (tab. 3). Stwierdzono, że owoce odmian ‘Kent’, ‘Camarosa’ i ‘Thuriga’ odznaczały się istotnie ($p < 0,05$) większą, a ‘Onebor’, ‘Kama’, ‘Polka’ i ‘Elsanta’ zbliżoną zwięzłością miąższu w porównaniu z owocami odmiany ‘Senga Sengana’. Zaobserwowano istotnie ($p < 0,05$) mniejszą zwięzłość miąższu owoców ‘Dukat’, ‘Heros’ i ‘Honeoye’ – o 20 ÷ 24 % niż truskawek odmiany kontrolnej (tab. 3).



Rys. 2. Krzywe ściskania owoców wybranych odmian truskawek: a – ‘Heros’, b – ‘Kent’, c – ‘Senga Sengana’

Fig. 2. Compression curves of fruits of selected strawberry varieties: a – ‘Heros’, b – ‘Kent’, c – ‘Senga Sengana’

Energia ściskania owoców różniła się istotnie w kolejnych okresach badań, przyjmując średnie wielkości od $16,60 \times 10^{-2}$ J (w I okresie) do $20,44 \times 10^{-2}$ J (w II okresie). Wielkość energii potrzebnej do ściśnięcia owoców badanych odmian wahała się od $9,23 \times 10^{-2}$ J (‘Honeoye’) do $30,27 \times 10^{-2}$ J (‘Kent’) – tab. 3. Porównując energię użytą do ściśnięcia owoców odmiany ‘Senga Sengana’ i pozostałych badanych odmian stwierdzono, że podobną energię użyto w stosunku do owoców odmian: ‘Thuriga’, ‘Kama’ i ‘Polka’. Istotnie większa ($p < 0,05$) energia, o ok. $23 \div 69$ %, była potrzebna do ściśnięcia owoców: ‘Kent’, ‘Elsanta’, ‘Onebor’ oraz ‘Camarosa’. Istotnie mniej ($p < 0,05$) energii (na poziomie $51 \div 59$ % użytej w stosunku do owoców odmiany kontrolnej) wymagało ściśnięcia owoców odmian: ‘Dukat’, ‘Heros’ i ‘Honeoye’ (tab. 3).

Teksturę owoców oceniano za pomocą testu penetracji (ocena twardości skórki i warstwy podskórnej) oraz testu jednoosiowego ściskania między płytkami (ocena miąższu). Wyniki maksymalnej siły przebijania, jaka została użyta do penetracji owoców, były większe w porównaniu z tymi, które przedstawili Cordenunsi i wsp. [8] oraz Żurawicz i Masny [30], co mogło wynikać z różnej średnicy trzpienia zastosowanego w teście. Stwierdzono, że najbardziej jędrnymi owocami charakteryzowały się odmiany: ‘Kent’, ‘Elsanta’, ‘Onebor’, ‘Thuriga’, natomiast jędrność owoców: ‘Camarosa’, ‘Dukata’, ‘Kamy’ i ‘Polki’ była zbliżona do ‘Sengi Sengany’. Zwięzłość owoców odmian ‘Heros’ i ‘Honeoye’ oceniono w teście penetracji istotnie niżej od odmiany kontrolnej.

Tekstura miąższu owoców określona za pomocą testu ściskania była zbieżna z wynikami przedstawionymi wyżej. Parametrem w największym stopniu odzwiercie-

dłużącym twardość miąższu jest energia, która była potrzebna do odkształcenia owocu (równego 70 % jego średnicy). Wyjątek stanowiły truskawki 'Dukat', których miąższ – podobnie jak owoców odmiany 'Heros' i 'Honeoye' – charakteryzował się mniej zwartą strukturą, przez co maksymalna energia ściskania owoców wymienionych trzech odmian była istotnie mniejsza od pozostałych.

Wybrane wyróżniki jakości świeżych owoców truskawek odmian 'Senga Sengana' oraz 'Kama' badali Masny i wsp. [13]. Według nich owoce 'Kamy' charakteryzują się większą jędrnością od owoców odmiany wzorcowej. W rozumieniu jędrności, jako maksymalnej siły potrzebnej do przebicia owocu $F_{p \max}$ [N], badania własne nie potwierdziły powyższych obserwacji. Jeżeli natomiast przez jędrność, jak przytacza Abbott [1], rozumie się zwięzłość $Z_{p \max}$ ($F_{p \max}/d_{p \max}$), można stwierdzić, że owoce odmiany 'Kama' charakteryzowały się istotnie ($p < 0,05$) większą jędrnością niż owoce odmiany 'Senga Sengana'.

Wnioski

1. Zawartość suchej masy w owocach badanych odmian truskawek była istotnie ($p < 0,05$) zróżnicowana. Najmniej suchej masy zawierały owoce odmiany 'Camarosa', najwięcej: 'Heros', 'Elsanta' i 'Senga Sengana'.
2. Podczas testu przebijania stwierdzono istotnie ($p < 0,05$) mniejszą jędrność truskawek odmiany 'Heros' od odmiany 'Senga Sengana'. Natomiast owoce odmian: 'Kent', 'Elsanta' i 'Onebor' charakteryzowały się istotnie większymi wartościami maksymalnej siły przebijania $F_{p \max}$ oraz zwięzłości $Z_{p \max}$. Owoce odmian: 'Polka', 'Kama', 'Thuriga' i 'Camarosa' wyróżniały się dużą jędrnością.
3. Na podstawie wyników uzyskanych w teście jednoosiowego ściskania miąższ owoców odmian: 'Heros', 'Honeoye' i 'Dukat' można jednoznacznie określić jako istotnie ($p < 0,05$) mniej jędrny od miąższu odmiany kontrolnej – 'Senga Sengana'. Najbardziej jędrnym miąższem charakteryzowały się owoce odmian: 'Kent', 'Camarosa', 'Onebor' i 'Elsanta', w przypadku których maksymalna siła ściskania $F_{s \max}$ wynosiła powyżej 20,0 N, a energia ściskania $E_{s \max}$ przekraczała 0,22 J.
4. Wśród badanych truskawek owoce odmian: 'Kent', 'Elsanta', 'Onebor' i 'Thuriga' charakteryzowały się największą jędrnością, podczas gdy 'Heros', 'Dukat' i 'Honeoye' odznaczały się najmniejszą zwięzłością struktury owoców.

Literatura

- [1] Abbott J.A.: Quality measurement of fruits and vegetables. Posthar. Biol. Technol., 1999, **15**, 207-225.

- [2] Basson C.E., Groenewald J.-H., Kossmann J., Cronjé C., Bauer R.: Sugar and acid-related quality attributes and enzyme activities in strawberry fruits: Invertase is the main sucrose hydrolysing enzyme. *Food Chem.*, 2010, **121**, 1156-1162.
- [3] Białas W., Modzelewska A., Grajek W., Jankowski T.: Wpływ powłoki maltodekstrynowej na ubytki masy i jędrność rozmrożonych truskawek (*Fragaria ananassa*). *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **4** (41), 41-51.
- [4] Bourne M.C.: *Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement*. 2nd ed. Food Sci. Technol., Inter. Series, Academic Press, Geneva, NY, 2002, pp. 19-20.
- [5] Cao S., Hu Z., Pang B., Wang H., Xie H., Wu F.: Effect of ultrasound treatment on fruit decay and quality maintenance in strawberry after harvest. *Food Control*, 2010, **21**, 529-532.
- [6] Chen F., Liu H., Yang H., Lai S., Cheng X., Xin Y., Yang B., Hou H., Yao Y., Zhang S., Bu G., Deng Y.: Quality attributes and cell wall properties of strawberries (*Fragaria annanassa* Duch.) under calcium chloride treatment. *Food Chem.*, 2011, **126**, 450-459.
- [7] Chen L., Opara U.L.: Texture measurement approaches in fresh and processed foods – A review. *Food Res. Int.*, 2013, **51**, 823-835.
- [8] Cordenunsi B.R., Nascimento J.R.O., Lajolo F.M.: Physico-chemical changes related to quality of five strawberry fruit cultivars during coolstorage. *Food Chem.*, 2003, **83**, 167-173.
- [9] Fraeye I., Knockaert G., van Buggenhout S., Duvetter T., Hendrickx M., van Loey A.: Enzyme infusion prior to thermal / high pressure processing of strawberries: Mechanistic insight into firmness evolution. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2010, **11**, 23-31.
- [10] Garcia M.A., Martino M.N., Zaritzky N.E.: Composite starch-based coatings applied to strawberries (*Fragaria ananassa*). *Nahrung / Food*, 2001, **4**, 267-272.
- [11] Janowicz M., Krasowicz E.: Zróżnicowanie odmianowe mikrostruktury wewnętrznej truskawek. Materiały z VI Ogólnopolskiej Konferencji Naukowej Technologów Przetwórstwa Owoców i Warzyw „Trendy w technologii owoców, warzyw i grzybów”, Rogów 16-17 maja 2013, s. 19.
- [12] Lara I., Garcia P., Vendrell M.: Modifications in cell wall composition after cold storage of calcium-treated strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) fruit. *Posthar. Biol. Technol.*, 2004, **34**, 331-339.
- [13] Masny A., Markowski J., Żurawicz E.: Wstępna ocena wartości gospodarczej najnowszych klonów truskawki hodowli ISK w Skierniewicach. *Zesz. Nauk. Inst. Sad. Kwiac. w Skierniewicach*, 2000, **8**, 255-261.
- [14] Ochmian I., Grajkowski J.: Influence of storage on mass loss and firmness changes of two strawberry cultivars. *Acta Agrophysica*, 2008, **1** (11), 141-145.
- [15] Ochmian I., Grajkowski J., Popiel J.: Wpływ nawożenia dolistnego na jakość owoców śliw odmian ‘Opal’ i ‘Renkloda Ulena’ w czasie ich przechowywania. *Folia Universitatis Agriculturae Stetinensis. Agricultura*, 2006, **101**, 291-297.
- [16] PN-ISO 1026: 2000. Produkty owocowe i warzywne. Oznaczanie zawartości suchej substancji w wyniku suszenia przy obniżonym ciśnieniu i zawartości wody w wyniku destylacji azeotropowej.
- [17] PN-EN ISO 5492: 2009. Analiza sensoryczna. Terminologia.
- [18] Rasing F., Hulstein J., Maas R.: Firmness of strawberries; improvement of fruit quality through manipulation of texture. 3rd Int. Symp. on Food Rheology and Structure, 2003, February 9-13, Zürich, Switzerland.
- [19] Rocznik statystyki międzynarodowej. GUS, Warszawa 2012.
- [20] Ross C.F.: Sensory science at the human-machine interface. *Trends Food Sci. Technol.*, 2009, **20**, 63-72.
- [21] Seremak-Bulge J. (Red.): Rynek owoców i warzyw – stan i perspektywy, 2014, 45, 10. Cyt. za: Wyniki produkcji roślinnej GUS z kolejnych lat. 2014 r. Przedwysnikowy szacunek GUS z 23 września 2014 r.

- [22] Singh R., Sharma R.R., Tyagi S.K.: Pre-harvest foliar application of calcium and boron influences physiological disorders, fruit yield and quality of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.). *Scientia Horticulturae*, 2007, **2** (112), 215-220.
- [23] Skupień K., Ochmian I., Grajkowski J.: Influence of mineral fertilization on selected physical features and chemical composition of aronia fruit. *Acta Agrophysica*, 2008, **1** (11), 213-226.
- [24] Stanisław A.: *Przystępny kurs statystyki w oparciu o program Statistica PL na przykładach z medycyny*. StatSoft Polska, Kraków 2006.
- [25] Surmacka-Szcześniak A.: Texture is a sensory property. *Food Qual. Pref.*, 2002, **13**, 215-225.
- [26] Szczepańska K., Dolik K.: Ocena tekstury żywności. Wybrane metody mechaniczne. *Przem. Spoż.*, 2012, **5** (66), 38-42.
- [27] Taub I.A., Singh R.P.: *Food storage stability*. CRC Press, Boca Raton 1998, pp. 202-207.
- [28] Verdini R.A., Zoggilla S.E., Rubiolo A.C.: Calcium uptake during immersion of strawberries in CaCl₂ solutions. *J. Food Sci.*, 2008, **73**, C533-539.
- [29] Vicente A.R., Saladié M., Rose J.K.C., Labavitch J.M.: The linkage between cell wall metabolism and fruit softening: Looking to the future. *J. Sci. Food Agric.*, 2007, **87**, 1435-1448.
- [30] Żurawicz E., Masny A.: *Uprawa truskawek w polu i pod osłonami*. Wyd. Plantpress Sp. z o.o., Kraków 2005, ss. 5-6, 10-11, 16-38.

TEXTURE OF FRUITS OF SELECTED STRAWBERRY VARIETIES

Summary

The objective of the research study was to assess the texture of selected varieties of strawberries grown under uniform soil and climatic conditions.

The research material comprised ten varieties of dessert strawberry fruits: 'Camarosa', 'Dukat', 'Elsanta', 'Heros', 'Honeoye', 'Kama', 'Kent', 'Onebor' ('Marmalade'), 'Polka', 'Thuriga', and, also, fruits of 'Senga Sengana' industrial variety, which was deemed a control variety in the research experiment. The fruits originated from the experimental plots set on a commercial plantation in Jaroty near Olsztyn. During two consecutive years, the samples were collected from plants, which were randomly selected from each variety. The content of dry matter was determined. The texture of fresh fruits was measured using a universal testing machine: INSTRON 4301 (USA). To assess the fruit firmness, two tests were applied: a penetration test and a test of uniaxial compression between plates. The measurements were performed at a room temperature of 20±2°C in 30 repetitions.

It was found that the content of dry matter in the fruits of the varieties analyzed varied significantly. The fruits of 'Camarosa' variety (9.75 %) contained the lowest content of dry matter and the highest content was in the 'Heros', 'Elsanta', and 'Senga Sengana' fruits (above 10.87 %). The penetration test performed showed that the fruits of the 'Kent', 'Elsanta', 'Onebor', and 'Thuriga' varieties were characterized by the highest $F_{p \max}$ puncture force (above 2.7 N), whereas the fruits of the 'Heros', 'Dukat', and 'Honeoye' varieties had the lowest compactness of structure (below 1.1 N/mm). The results of the compression test were consistent with the above cited results. The fruits of the 'Kent' variety were characterized by the highest values of the analyzed texture parameters that were obtained in the two tests ($F_{p \max}$, $E_{p \max}$, $F_{s \max}$, $E_{s \max}$).

Key words: strawberry, varieties, texture, puncturing, compression ☒

BARBARA SIONEK, DANUTA KOŁOŻYŃ-KRAJEWSKA,
DANUTA JAWORSKA, MAŁGORZATA BŁAŻEJCZYK

ZASTOSOWANIE BAKTERII KWASU MLEKOWEGO DO PRODUKCJI PROBIOTYCZNEGO SOKU WARZYWNEGO

Streszczenie

Celem pracy było zaprojektowanie i wytworzenie probiotycznego soku warzywnego o właściwej jakości mikrobiologicznej i sensorycznej. Użyto pięciu potencjalnie probiotycznych szczepów bakterii z gatunku *Lactobacillus*, tj. *Lb. plantarum*, *Lb. rhamnosus* (2 szczepy), *Lb. brevis* i *Lb. pentosus* do przeprowadzenia kontrolowanej fermentacji soku z kapusty oraz soku z kapusty z dodatkiem soku jabłkowego. W ocenie sensorycznej najwyżej oceniono sok fermentowany szczepem *Lb. plantarum* K1. Przez cały okres przechowywania liczba komórek bakterii utrzymywała się na poziomie $8,76 \div 9,17 \log \text{ jtk/cm}^3$. W zależności od temperatury przechowywania wartość pH soków stopniowo zmniejszała się z 4,17 do poziomu $3,61 \div 3,34$. Po 16 dniach składowania nastąpiło obniżenie ogólnej jakości sensorycznej soków przechowywanych w temp. 4 i 8 °C, co mogło być spowodowane znacznym stopniem ich zakwaszenia. W sokach przechowywanych w temp. 15 °C po 8 dniach zaobserwowano obniżenie jakości ogólnej do poziomu poniżej 5 j.u. Potwierdzono możliwość zastosowania szczepu *Lb. plantarum* K1 do otrzymania fermentowanego soku z kapusty z dodatkiem soku jabłkowego o zadowalającej jakości sensorycznej, zawierającego odpowiednio dużą (10^8 jtk/cm^3) liczbę komórek bakterii.

Słowa kluczowe: sok z kapusty, probiotyki, fermentacja, bakterie kwasu mlekowego, *Lactobacillus plantarum*

Wprowadzenie

Aspekt prozdrowotny zastosowania probiotyków w żywności wiąże się z pozytywnym oddziaływaniem na mikroflorę przewodu pokarmowego oraz z zapobieganiem chorobom i wpływem na system odpornościowy organizmu [8]. Tradycyjnym i podstawowym źródłem probiotyków są produkty mleczne. Coraz częściej odnotowuje się

Dr inż. B. Sionek, prof. dr hab. D. Kołożyn-Krajewska, dr inż. D. Jaworska, mgr inż. M. Błażejczyk, Katedra Technologii Gastronomicznej i Higieny Żywności, Wdz. Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa. Kontakt: barbara_sionek@sggw.pl

jednak przypadki nietolerancji laktozy i innych alergii pokarmowych, spowodowanych mlecznymi produktami fermentowanymi. Aktywność laktazy zmniejsza się z wiekiem, tym samym obniża się tolerancja na produkty mleczne, zwłaszcza mleko. Nietolerancja laktozy w populacji dorosłych zależy od grupy etnicznej i waha się w granicach 2 ÷ 30 % wśród osób rasy białej do prawie 100 % wśród osób pochodzenia azjatyckiego [5]. Ogranicza to spożycie mlecznych produktów probiotycznych. Uzasadnione jest więc poszukiwanie nowych wyrobów na bazie owoców i warzyw, które oprócz wartości odżywczej, będą cennym źródłem bakterii probiotycznych. Najczęściej do produkcji fermentowanych soków warzywnych stosuje się: pomidory, kapustę, marchew, ogórki i buraki ćwikłowe [9, 14, 16, 23].

Sok z kapusty stanowi bogate źródło witaminy C i mikroelementów [2, 10, 22]. Efektem spontanicznej fermentacji soku z kapusty jest produkt o zmiennej i trudnej do kontrolowania jakości sensorycznej, która zależy przede wszystkim od: substratu oraz naturalnie występujących bakterii, temperatury fermentacji i zawartości soli [15, 20]. Różnice w składzie mikroflory kapusty prowadzą do różnej jakości sensorycznej fermentowanego soku. W celu uzyskania wyrobu prozdrowotnego, o powtarzalnej jakości sensorycznej, kluczowe znaczenie ma dobór szczepów bakterii fermentacji mlekowej o potwierdzonych właściwościach probiotycznych [23]. Zastosowanie kultur startowych umożliwi prowadzenie procesu fermentacji w sposób kontrolowany i ogranicza procesy psucia. Syntetyzowane metabolity hamują wzrost niepożądanych drobnoustrojów, przez co wydłużony zostaje termin przydatności do spożycia takich produktów [8].

Celem pracy było zaprojektowanie i wytworzenie probiotycznego soku warzywnego fermentowanego szczepem bakterii potencjalnie probiotycznych, o właściwej jakości mikrobiologicznej i sensorycznej.

Material i metody badań

Material do badań stanowił sok z kapusty białej oraz sok z kapusty białej z dodatkiem pasteryzowanego soku jabłkowego (Tymbark S.A., Wadowice). Zastosowano kultury startowe szczepów potencjalnie probiotycznych bakterii kwasu mlekowego (LAB): *Lactobacillus plantarum* K1, *Lactobacillus rhamnosus* K3, *Lactobacillus rhamnosus* K4, *Lactobacillus brevis* O16, *Lactobacillus pentosus* O22. Szczepy rodzaju *Lactobacillus* wykazywały wybrane właściwości probiotyczne [24]. Pochodziły one z kolekcji Zakładu Higieny Żywności i Zarządzania Jakością SGGW w Warszawie, a zostały wyizolowane z kapusty lub ogórków, kiszonych metodą spontanicznej fermentacji [24]. Kultury bakterii z dodatkiem 20 % glicerolu były przechowywane w temp. -80 °C. Ożywienie hodowli bakterii kwasu mlekowego polegało na przeniesieniu odpowiedniej ilości zamrożonej hodowli do bulionu MRS (Merck, Niemcy) i poddaniu inkubacji (24 h w 37 °C). Następnie pobierano 1 cm³ hodowli, dodawano do 9 cm³ bulionu MRS i ponownie inkubowano 24 h w temp. 37 °C. Do soku dodawano

24-godzinną hodowlę bakterii potencjalnie probiotycznych, po uprzednim odwirowaniu bulionu i zastąpieniu go sokiem z kapusty. Liczba komórek w hodowli wyjściowej wynosiła 10^9 jtk/cm³.

Kapustę przechowywano w warunkach chłodniczych (4 °C) do czasu użycia. Sok z kapusty z dodatkiem 3 % sacharozy uzyskiwano w warunkach laboratoryjnych, a następnie poddawano pasteryzacji w temp. 90 °C przez 15 min w celu usunięcia bakterii występujących naturalnie. Otrzymany sok chłodzono do 40 °C i zaszczipiano hodowlą bakterii w ilości 1 cm³ na 99 cm³ soku. Liczba komórek wynosiła od 8,29 do 8,63 log jtk/g, w zależności od rodzaju szczepu. Następnie do fermentowanego soku z kapusty dodawano sok jabłkowy w proporcji 1 : 2.

W pierwszym etapie badań prowadzono dobór szczepu bakterii potencjalnie probiotycznych do fermentacji soku na podstawie jego oceny sensorycznej. Po zastosowaniu wybranego szczepu prowadzono ocenę jakości fermentowanego soku podczas przechowywania w różnych warunkach temperaturowych, również metodami sensorycznymi. Sok fermentowano przez 24 h w temp. 30 °C i przechowywano w temp. 4, 8 i 15 °C. Wyboru szczepu do badań zasadniczych dokonywano z zastosowaniem metody kolejności (szeregowania) [6] oraz skalowania [13]. Do określenia zmian jakości sensorycznej soku z kapusty z dodatkiem soku jabłkowego podczas przechowywania zastosowano metodę Ilościowej Analizy Opisowej (QDA) [7, 12]. Każdorazowo w ocenie sensorycznej brało udział 23 - 30 osób przeszkolonych w zakresie metod stosowanych w analizie sensorycznej.

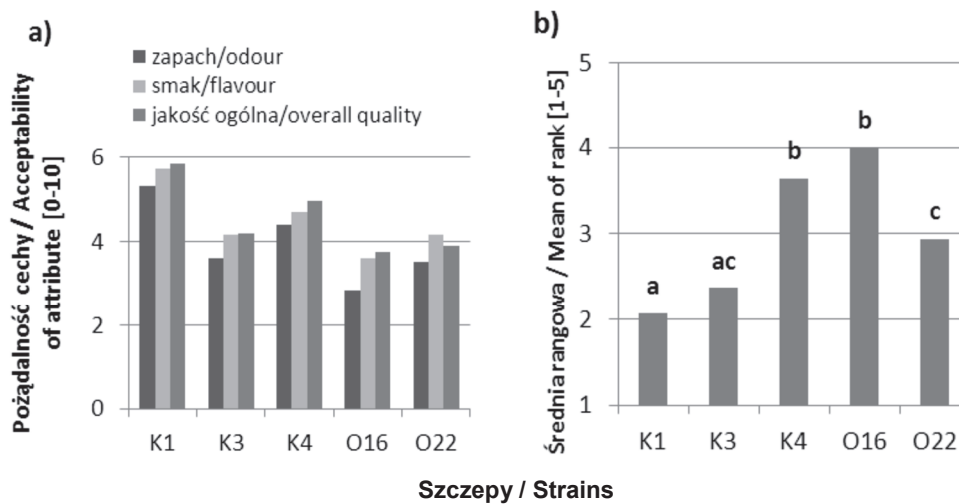
Liczbę komórek bakterii fermentacji mlekowej oznaczano metodą płytkową przez posiew wgłębny na podłożu wybiórczym MRS (Biokar Diagnostic, Francja), inkubację prowadzono w temp. 37 °C przez 48 h. Wyniki podano w jednostkach tworzących kolonie na 1 cm³ soku (jtk/cm³). Pomiaru pH dokonywano pH-metrem Elmetron CP551, z uwzględnieniem temperatury soku.

Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu programu komputerowego Statistica 10. Zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA). Istotność różnic między wartościami średnimi weryfikowano testem dla prób zależnych t-Studenta. Do analizy ocen sensorycznych metodą szeregowania zastosowano test Friedmana i test dla prób zależnych t-Studenta. Przyjęto poziom istotności $p = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

W badaniu dotyczącym doboru szczepu do fermentacji zastosowano sensoryczną metodę skalowania, jako sposób oceny preferencji konsumentckiej produktu. Nie stwierdzono statystycznie istotnych ($p > 0,05$) różnic pod względem pożądalności zapachu, smaku i jakości ogólnej fermentowanego soku z kapusty w zależności od użytych szczepów bakterii (rys. 1a). Natomiast w metodzie szeregowania, która wymusza zaznaczenie kolejności próbek i jest tym samym czulszym narzędziem badawczym,

stwierdzono wyższą pożądalność soku z zastosowaniem szczepu *Lb. plantarum* K1. Jakość sensoryczna soków z kapusty fermentowanych pozostałymi szczepami nie różniła się statystycznie istotnie ($p = 0,05$) (rys. 1b).



Objaśnienia: / Explanatory notes:

kod szczepu / strain code: K1 – *Lactobacillus plantarum* K1, K3 – *Lactobacillus rhamnosus* K3, K4 – *Lactobacillus rhamnosus* K4, O16 – *Lactobacillus brevis* O16, O22 – *Lactobacillus pentosus* O22;

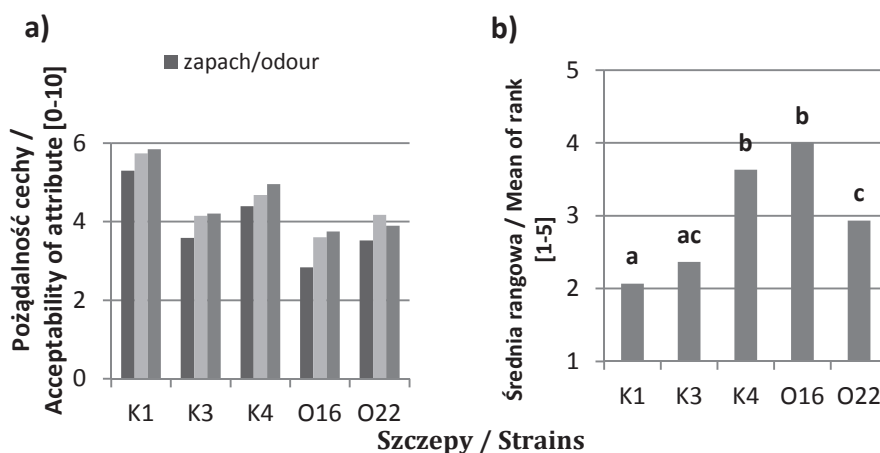
a, b – wartości średnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie istotnie ($p = 0,05$) / mean values denoted by the same letters do not differ statistically significantly ($p = 0.05$).

Rys. 1. Wyniki oceny pożądalności fermentowanego soku z kapusty z 3-procentowym dodatkiem sacharozy, determinowane użytym szczepem LAB: a) metoda skalowania ($n = 30$), b) metoda szeregowania (1 – najlepszy, 5 – najgorszy, $p < 0,05$)

Fig. 1. Results of acceptability assessment of fermented cabbage juice with 3 % saccharose added as determined by LAB strain applied: a) Scaling method ($n = 30$); b) ranking method (1 – the best, 5 – the worse, $p < 0.05$)

W porównaniu z fermentowanym sokiem z kapusty, podobny produkt z dodatkiem soku jabłkowego został wyżej oceniony pod względem sensorycznym za smak i zapach. Oceniający wskazali również na najwyższą pożądalność soku zaszczepionego bakteriami *Lb. plantarum* K1 (rys. 2a i rys. 2b). Stwierdzono statystycznie istotnie ($p = 0,05$) wyższą ocenę pożądalności sensorycznej (najniższa wartość średniej rangowej) zarówno w przypadku soku z kapusty, jak i soku z kapusty z dodatkiem soku jabłkowego i z użyciem szczepu *Lb. plantarum* K1. Nie wykazano różnic pod względem pożądalności sensorycznej soku z kapusty z dodatkiem soku jabłkowego fermentowanego szczepami *Lb. rhamnosus* K3 i *Lb. pentosus* O22. Najniższą oceną pożądalności sensorycznej charakteryzował się sok fermentowany szczepami o symbolach: K4 i O16

(rys. 2b). Różnice jakości sensorycznej soków z użyciem badanych szczepów bakterii mogą się wiązać ze zdolnością danego szczepu do metabolizowania składników odżywczych i do wytwarzania związków kształtujących zapach i smak. Wyniki uzyskane metodą szeregowania i skalowania dowiodły najlepszej jakości sensorycznej soku fermentowanego szczepem *Lb. plantarum* K1. Na tej podstawie zdecydowano się zastosować ten szczep do etapu badań zasadniczych.



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

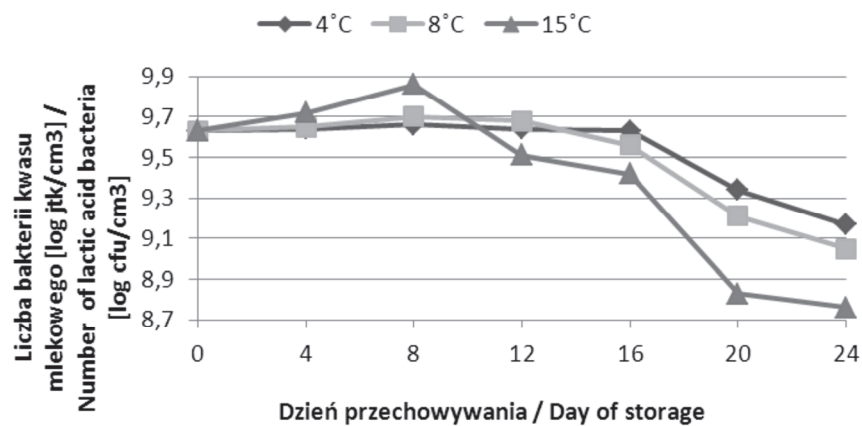
Rys. 2. Wyniki oceny pożądalności fermentowanego soku z kapusty z udziałem soku jabłkowego (2 : 1) i z 3-procentowym dodatkiem sacharozy, determinowane użytym szczepem LAB: a) metoda skalowania, b) metoda szeregowania (1 – najlepszy, 5 – najgorszy, $p < 0,05$)

Fig. 2. Results of acceptability assessment of fermented cabbage juice with apple juice (2:1) and 3 % saccharose added: a) Scaling method; b) ranking method (1 – the best, 5 – the worst, $p < 0.05$)

Na rys. 3. przedstawiono zmiany liczby komórek *Lb. plantarum* K1 w soku podczas przechowywania. Stwierdzono, że liczba bakterii uległa zmniejszeniu z $9,63 \log \text{ jtk/cm}^3$ po fermentacji, do $8,76 - 9,17 \log \text{ jtk/cm}^3$, w zależności od temperatury przechowywania. Liczba komórek LAB była na wysokim poziomie podczas całego okresu przechowywania (powyżej 10^8 jtk/cm^3), co może świadczyć o odpowiedniej ilości składników odżywczych w soku z kapusty i dobrej adaptacji szczepu do warunków środowiska (niskiego pH). Zgodnie z wytycznymi FAO/WHO, dotyczącymi zarówno mikroflory podstawowej i dodatkowej (mikroflory probiotycznej), liczba żywych komórek bakterii fermentacji mlekowej w ostatnim dniu przydatności produktu do spożycia nie powinna być niższa niż 10^6 jtk/cm^3 [3]. Wymóg dotyczący minimalnej liczby bakterii został więc spełniony.

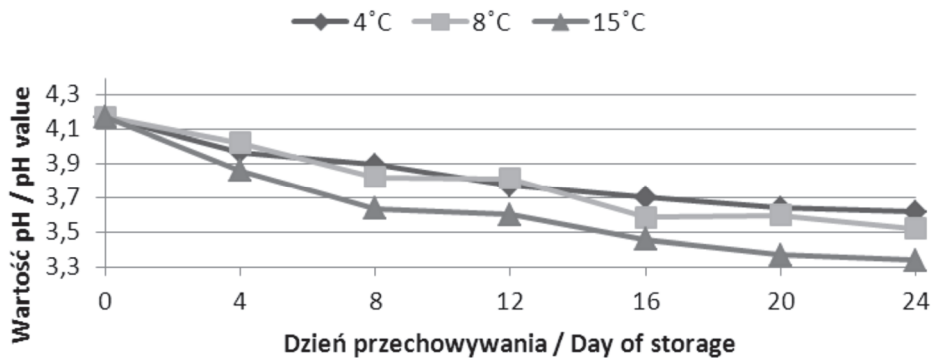
We wszystkich ocenianych temperaturach (4, 8 i 15 °C) zaobserwowano wzrost liczby bakterii do 8. dnia przechowywania soku – do wartości odpowiednio: 9,66, 9,70

i $9,86 \log \text{ jtk/cm}^3$. Statystycznie istotny ($p < 0,05$) wzrost dotyczył jedynie soku przechowywanego w temp. 15°C , co może świadczyć o niezakończonyj fazy logarytmicznego wzrostu. W celu stabilizacji liczby komórek należałoby określić warunki przetrzymywania produktu bezpośrednio po fermentacji, a przed przechowywaniem, co umożliwiłoby utrzymanie stałej liczby bakterii w czasie przechowywania.



Rys. 3. Zmiany liczby komórek *Lb. plantarum* K1 w fermentowanym soku z kapusty z udziałem soku jabłkowego (2 : 1) i 3-procentowym dodatkiem sacharozy, podczas przechowywania

Fig. 3. Changes in *Lb. plantarum* K1 counts in fermented cabbage juice with apple juice (2 : 1) and 3 % saccharose added, during storage



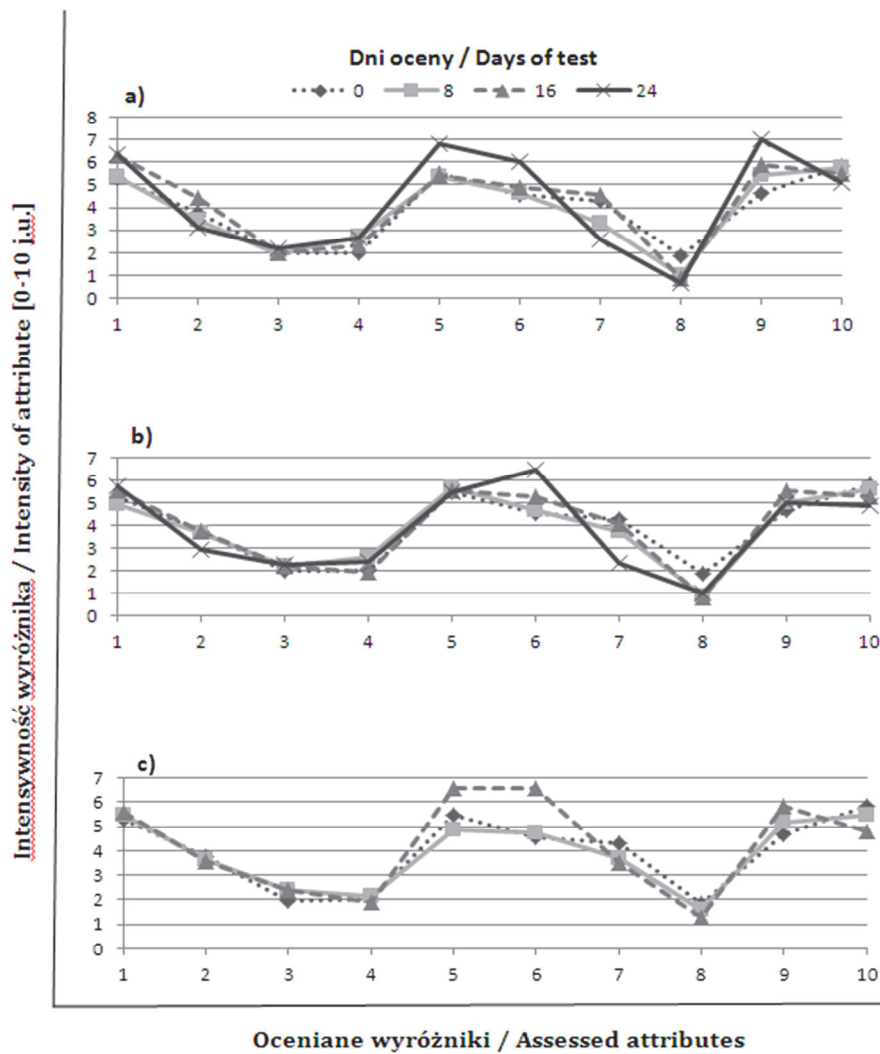
Rys. 4. Zmiany pH fermentowanego soku z kapusty z udziałem soku jabłkowego (2 : 1) i 3-procentowym dodatkiem sacharozy, podczas przechowywania

Fig. 4. Changes in pH of fermented cabbage juice with apple juice (2:1) and 3 % saccharose added, during storage

Nieznacznemu zwiększeniu liczby komórek do 8. dnia przechowywania towarzyszyło obniżenie pH, szczególnie intensywne w soku przechowywanym w temp. 15 °C (rys. 4). Po okresie początkowego wzrostu w sokach przechowywanych w 15 °C zaobserwowano szybsze zamieranie komórek w porównaniu z sokami przechowywanymi w niższej temperaturze. Może być to wynikiem przyspieszonego metabolizmu bakterii i nagromadzenia produktów przemiany materii, mających wpływ na zahamowanie ich wzrostu.

Przeżywalność przechowalnicza bakterii kwasu mlekowego, w tym szczepów potencjalnie probiotycznych, zależy od środowiska i rodzaju użytego szczepu. Penas i Frijas [11] zaobserwowali stały wzrost liczby bakterii mlekowych, w tym szczepów *Lb. plantarum* i *Lb. mesenteroides* użytych do fermentacji soku z kapusty, podczas 3 miesięcy przechowywania w temp. 4 °C [11]. Natomiast Gardner i wsp. [4], w 90. dniu przechowywania soków z kapusty, buraka i marchwi w temp. 4 °C, fermentowanych mieszaniną szczepów rodzaju *Lactobacillus*, *Leuconostoc* i *Pediococcus*, stwierdzili zmniejszenie liczby bakterii z 10^9 jtk/cm³ po fermentacji do 10^6 jtk/cm³. Podczas przechowywania pH soków nie ulegało zmianie. Najmniejszą redukcję żywych komórek bakterii stwierdzili oni w soku marchwiowym. Zdaniem autorów, żywotność kultur bakterii może wynikać ze specyfiki użytego szczepu oraz rodzaju matrycy żywości (warzywa, z których otrzymano sok). Yoon i wsp. [22] stwierdzili, że sok z kapusty fermentowany probiotycznymi szczepami *Lb. plantarum* C3, *Lb. casei* C3, *Lb. delbruecki* D7 może być przechowywany w warunkach chłodniczych przez kilka tygodni. Po 4 tygodniach przechowywania w temp. 4 °C liczba komórek *Lb. plantarum* i *Lb. delbruecki* wynosiła odpowiednio $4,1 \times 10^7$ i $4,5 \times 10^5$. Nie stwierdzili obecności żywych komórek *Lb. casei* C3 po 2 tygodniach przechowywania. Yoon i wsp. [21] badali przeżywalność szczepów LAB (*Lb. plantarum* C3, *Lb. casei* C3, *Lb. delbruecki* D7, *Lb. acidophilus* LA 39) w fermentowanym (72 h, temp. 30 °C) soku z buraka ćwikłowego, przechowywanego w temp. 4 °C przez 4 tygodnie. Stwierdzono przeżywalność ww. szczepów na poziomie $10^6 \div 10^8$, z wyjątkiem *Lb. acidophilus* LA39. Przeżywalność bakterii probiotycznych może zależeć od kwasowości środowiska, poziomu tlenu, obecności substratów odżywczych i od obecnych w produkcie substancji, wpływających hamująco na ich wzrost [1, 17, 18].

W czasie przechowywania soku w temp. 4 i 8 °C pH ulegało stopniowemu obniżeniu, nie przekraczając wartości 3,5 (rys. 4). Niskie pH, szczególnie poniżej 4, może mieć hamujący wpływ na wzrost niektórych szczepów bakterii fermentacji mlekowej [4]. Zastosowany szczep *Lb. plantarum* K1 był zdolny do przeżycia w niskim pH we wszystkich temperaturach przechowywania.



Wyróżniki / Attributes: 1. zapach kapusty / odour of cabbage; 2. z. słodki / sweet o.; 3. z. obcy / unfamiliar o.; 4. gęstość / thickness; 5. smak kapusty / flavour of cabbage; 6. s. kwaśny / sour f.; 7. s. słodki / sweet taste.; 8. s. gorzki / bitter t.; 9. s. orzeźwiający / refreshing f.; 10. jakość ogólna / overall quality

Rys. 5. Wyniki oceny intensywności wyróżników sensorycznych fermentowanego soku z kapusty z udziałem soku jabłkowego (2 : 1) i 3-procentowym dodatkiem sacharozy, podczas przechowywania w temp.: a) 4 °C, b) 8 °C, c) 15 °C (metoda QDA, n = 23)

Fig. 5. Results of intensity of sensory attributes assessment of fermented cabbage juice with apple juice (2:1) and 3% saccharose added, during storage at temperatures: a) 4 °C; b) 8 °C; c) 15 °C (QDA method, n = 23)

Pomimo obniżenia liczby bakterii można stwierdzić, że fermentowany sok z kapusty z dodatkiem soku jabłkowego jest dobrym środowiskiem rozwoju bakterii kwasu mlekowego. Przez cały okres przechowywania produkt zawierał ponad 10^8 komórek, a więc może być uznany za probiotyczny.

Wyniki oceny sensorycznej (rys. 5) pozwoliły na ustalenie czasu i temperatury optymalnych dla przechowywania soku. Analiza uzyskanych danych wskazuje, że czas i temperatura miały istotny wpływ na zmiany wybranych wyróżników jakościowych. W soku przechowywanym w temp. 4 °C największe zmiany obserwowano w odniesieniu do wyróżników takich, jak: smak soku z kapusty, kwaśny i orzeźwiający, których intensywność wzrastała z czasem przechowywania (rys. 5a). Istotne różnice ($p < 0,05$) pod względem intensywności smaku kwaśnego stwierdzono w 24. dniu, co znajduje odzwierciedlenie w niskim pH ($< 3,60$). Intensywność smaku słodkiego była odwrotnie skorelowana z odczuciem smaku kwaśnego. Wyróżniki uznane za negatywne: zapach obcy i smak gorzki, były słabo wyczuwalne do końca okresu przechowywania. W odniesieniu do gęstości soków, nie stwierdzono różnic niezależnie od czasu i temperatury przechowywania. Obniżenie jakości ogólnej wystąpiło po 16 dniach przechowywania, jednak różnice nie były statystycznie istotne. Sok przechowywany w temp. 4 °C przez 16 dni charakteryzował się dobrą jakością sensoryczną i stabilną liczbą badanych komórek bakterii.

Podwyższenie temperatury przechowywania do 8 °C nie spowodowało istotnych zmian jakości ogólnej do 16 dni (rys. 5b). Po tym czasie wyżej oceniono jakość ogólną soku przechowywanego w temp. 4 °C. Jakość soku utrzymywała się na odpowiednim poziomie - powyżej 5 j.u. – przez 16 dni w obu analizowanych temperaturach. W sokach przechowywanych w wyższej temperaturze (15 °C), szybciej następowały niekorzystne zmiany jakościowe, w związku z czym badania sensoryczne zakończono po 16 dniach. Po 8 dniach przechowywania zaobserwowano istotne obniżenie jakości ogólnej do poziomu poniżej 5 j.u. Jednocześnie nastąpił znaczący wzrost smaku gorzkiego (rys. 5c). Warmińska-Radyko i wsp. [19] także stwierdzili wpływ czasu przechowywania na zmiany sensoryczne fermentowanych soków wielowarzywnych z użyciem szczepów *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*. Do 10. dnia przechowywania w temp. 5 °C autorzy nie zaobserwowali zmian jakości sensorycznej soków. W 21. dniu przechowywania średnia ocena smaku, zapachu i barwy zmniejszyła się do $2,5 \div 3,6$ j.u. Długość czasu przechowywania roślinnych produktów fermentowanych z udziałem bakterii probiotycznych jest determinowana zmianą intensywności wyróżników jakościowych, takich jak: smak gorzki, kwaśny, które w przypadku różnych produktów oceniane są jako krytyczne. Zmienność wyróżników jakości sensorycznej w czasie przechowywania zależy może od zastosowanego inokulum, rodzaju soku oraz użytych szczepów do fermentacji [16, 19].

Wnioski

1. Uwzględniając kryterium jakości sensorycznej, wybrano szczep bakterii potencjalnie probiotycznych *Lactobacillus plantarum* K1 do fermentacji soku z kapusty białej z dodatkiem soku jabłkowego.
2. Stwierdzono, że czas i temperatura przechowywania miały wpływ na jakość mikrobiologiczną i sensoryczną fermentowanego soku z kapusty białej z dodatkiem soku jabłkowego. Najwyższą jakością sensoryczną charakteryzował się produkt przechowywany w temperaturze 4 i 8 °C przez 16 dni.
3. Liczba komórek bakterii kwasu mlekowego *Lactobacillus plantarum* K1 utrzymywała się w badanym soku na wysokim poziomie (od 8,76 do 9,17 log jtk/cm³) przez cały okres przechowywania.
4. Stwierdzono, że istnieje możliwość otrzymania fermentowanego soku z kapusty o właściwej jakości sensorycznej i o liczbie komórek pozwalającej na uznanie go za produkt probiotyczny, pod warunkiem spełnienia pozostałych wymagań FAO/WHO.

Literatura

- [1] Buruleanu L., Nicolescu C.L., Avram D., Bratu M.G., Manea I.: Survival of probiotic bacteria during lactic acid fermentation of vegetable juices. J. Agroalim. Proc. Technol., 2009, **1** (15), 132-139.
- [2] Chu Y.F., Sun J., Wu X., Liu R.H.: Antioxidants and antiproliferative activities of vegetables. J. Agric. Food Chem., 2002, **50**, 6910-6916.
- [3] Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Report a Joint FAO / WHO Working Group, 2002.
- [4] Gardner N.J., Savard T., Obermeier P., Caldwell G., Champagne C.P.: Selection and characterization of mixed starter cultures for lactic acid fermentation of carrot, cabbage, beet and onion vegetable mixtures. Int. J. Food Microbiol., 2001, **64**, 261-275.
- [5] Heyman M.B.: Lactose intolerance in infants, children, and adolescents. Pediatrics, 2006, **3** (118), 1279-1286.
- [6] ISO 8987:1988. Sensory analysis. Methodology. Ranking.
- [7] ISO 13299:2003. Sensory analysis. Methodology. General guidance for establishing a sensory profile.
- [8] Kapka-Skrzypczak L., Niedźwiecka J., Wojtyła A., Kruszewski M.: Probiotyki i prebiotyki jako aktywny składnik żywności funkcjonalnej. Pediatric Endocrin., Diabet. Metab., 2012, **2** (18), 79-83.
- [9] Karovičová J., Drdák M., Greif G., Hybenova E.: The choice of strains of *Lactobacillus* species for the lactic acid fermentation of vegetable juices. Eur. Food Res. Technol., 1999, **210**, 53-56.
- [10] Karovičová J., Kohajdova Z.: Lactic acid fermented vegetable juices. Hort. Sci. (Prague), 2003, **4** (30), 152-158.
- [11] Peñas E., Frias J., Sidro B, Vidal-Valverde C.: Impact of fermentation condition and refrigerated storage on microbial quality and biogenic amine content of sauerkraut. Food Chem., 2010, **123**, 143-150.

- [12] PN-EN ISO 8586-2:2008. Analiza sensoryczna. Ogólne wytyczne wyboru, szkolenia i monitorowania oceniających. Część 2: Eksperci oceny sensorycznej.
- [13] PN-ISO 4121:1998. Analiza sensoryczna. Metodologia. Ocena produktów żywnościowych przy użyciu metod skalowania.
- [14] Prado F.C., Parada J.C., Pandey A., Soccol C.R.: Trends in non-dairy probiotic beverages. *Food Res. Int.*, 2008, **41**, 111-123.
- [15] Pundir R.K., Pranay J.: Change in microflora of sauerkraut during fermentation and storage. *World J. Dairy Food Sci.*, 2010, 221-225.
- [16] Rivera-Espinoza T., Gallardo-Navarro Y.: Non-dairy probiotic products. *Food Microbiol.*, 2010, **27**, 1-11.
- [17] Shah N.P.: Functional foods from probiotics and prebiotics. *Food Technol.*, 2001, **11 (55)**, 46-53.
- [18] Trzaskowska M.: Probiotyki w produktach pochodzenia roślinnego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, **4 (89)**, 5-20.
- [19] Warmińska-Radyko I., Łaniewska-Trokenheim Ł., Gerlih J.: Fermented multi-vegetable juice supplemented with *Propionibacterium* cell biomass. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2006, **15 (56)**, 433-436.
- [20] Wiander B., Ryhänner E.L.: Laboratory and large-scale fermentation of white cabbage sauerkraut juice by using starters in combination with mineral salt with a low NaCl content. *Eur. Food Res. Technol.*, 2005, **220**, 191-195.
- [21] Yoon K.Y., Woodams E., Hang D.Y.: Fermentation of beet by beneficial lactic acid bacteria. *Lebensm.-Wiss. U. Technol.*, 2005, **38**, 73-75.
- [22] Yoon K.Y., Woodams E., Hang D.Y.: Production of probiotic cabbage juice by lactic acid bacteria. *Bioresour. Technol.*, 2006, **97**, 1427-1430.
- [23] Zaręba D., Ziarno M.: Alternatywne, probiotyczne napoje warzywne i owocowe. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2011, **2 (XLIV)**, 160-168.
- [24] Zielińska D., Rzepkowska A., Radawska A., Zieliński K.: *In vitro* screening of selected probiotic properties of *Lactobacillus* strains isolated from traditional fermented cabbage and cucumber. *Curr. Microbiol.*, article accepted: 13.08.2014 r.

APPLICATION OF LACTIC ACID BACTERIA TO PRODUCE PROBIOTIC VEGETABLE JUICE

S u m m a r y

The objective of the research study was to design and produce a probiotic vegetable juice of a proper microbiological and sensory quality. Five potentially probiotic bacterial strains were used, i.e.: *Lactobacillus plantarum*, *Lb. rhamnosus* (two strains), *Lb. brevis*, and *Lb. pentosus* to perform a controlled fermentation of cabbage juice and cabbage juice with apple juice added. The sensory assessed juice that was fermented using an *Lb. plantarum* K1 strain was rated the highest. During the entire storage, the count of lactic acid bacteria was at the same level, which ranged from 8.76 to 9.17 log jtk/cm³. Depending on the storage temperature, the pH value decreased gradually from 4.17 to a level of 3.61 ÷ 3.34. After a 16 day period of storage, the overall sensory quality of juices stored at 4 and 8 °C declined; this could probably be caused by a considerable degree of their acidity. In the juices stored at 15 °C, after the 8th day of storage, a reduction below a level of 5 j.u. was reported in the overall sensory quality. It was confirmed that there was a possibility of using the *Lb. plantarum* K1 strain to produce a fermented cabbage juice with apple

juice added; such fermented juice would have an acceptable sensory quality and would contain a sufficient count (10^8 cfu/cm³) of lactic acid bacteria.

Key words: cabbage juice, probiotics, fermentation, lactic acid bacteria, *Lactobacillus plantarum* 

ALENA TICHA, ANNA M. SALEJDA, RADOMÍR HYŠPLER, ALES MATEJICEK,
FRANTISEK PAPERSTEIN, ZDENEK ZADAK

SUGAR COMPOSITION OF APPLE CULTIVARS AND ITS RELATIONSHIP TO SENSORY EVALUATION

Summary

The increasing consumption of sugars is one of the factors contributing to the obesity epidemic. Our research was carried out on the sugar composition of apples. The purpose of the study was to determine the quantitative and qualitative composition of sugars of different apple varieties from the East Bohemia region. In this study dry matter content and sensory characteristics were also evaluated. Apples contain fructose, glucose and sucrose. Fructose is known to be a highly lipogenic sugar that has profound metabolic effects in the liver, and has been associated with many of the components of the metabolic syndrome (insulin resistance, elevated waist circumference, dyslipidemia, and hypertension). Fructose, glucose and sucrose in different apple cultivars were extracted with ethanol, derivatized, and determined by gas chromatography. 17 cultivars of apple were analysed. The average fructose content was 6.52 ± 1 g/100 g of apple (8.1 – ‘Golden Delicious’, 4.8 – ‘Selena’), glucose content 1.46 ± 0.55 g/100 g of apple (3 – ‘Red Delicious’, 0.9 – ‘Ontario’), and sucrose content 4.75 ± 1.35 g/100 g of apple (7.2 – ‘Opal’, 2.1 – ‘Melrose’). The cultivars suitable for nutrition of patients with metabolic syndrome are ‘Selena’ and ‘Ontario’.

Key words: apple cultivars, glucose, fructose, sucrose, dry matter

Introduction

A healthy and sustainable diet is based on high consumption of fresh vegetables, fruits and whole grains, with limited intake of saturated fat, trans fatty acids, sugar and salt [20]. Evidence suggests that a diet high in fruits and vegetables may decrease the risk of chronic diseases such as cardiovascular disease or cancer [13].

*Dr., Ph.D A. Ticha, MD., Ph.D R. Hyšpler, prof., MD., Ph.D Z. Zadak, Department of Research and Development, University Hospital Hradec Kralove, Czech Republic, Ing., Ph.D. A. M. Salejda, Department of Animal Products Technology and Quality Management, Wrocław University of Environmental and Life Sciences, ul. Chelmońskiego 37/41, 51-630 Wrocław, Ing., Ph.D. A. Matejicek, Ing., Ph.D. F. Paprstein, Research and Breeding Institute of Pomology, Holovousy, Ltd., Czech Republic.
Contact: alena.ticha@fnhk.cz*

The average fruit and vegetable intake in 2012 for the EU-28 was estimated to be 386.96 g/person per day. In Poland for example, the mean consumption of fruit and vegetables and their products amounted to just 275 g per person a day, which is below the WHO 400 g/day minimum recommendation [4, 17].

There is no universally accepted recommendation on the fruit percentage in that daily target, but diabetics or overweight people are often discouraged from eating fruits because of their high energy content. The lack of clarity over the status of the more controversial foods such as dried fruit or pulses can lead to confusion and uncertainty amongst consumers.

One apple (approximately 125 g) has 65 Calories (272 kJ), the main part of which comes from carbohydrates – 260 kJ. Apples (and most other fruits) contain fructose, glucose and sucrose. The larger apple of about 200 g contains about 20 - 25 g of sugars with fructose/glucose ratio close to 2. The increasing consumption of sugars is one of the factors contributing to the obesity epidemic [3]. Previously, fructose was recommended as a sweetener for diabetic patients. It is now known that fructose, in contrast to glucose, is a potent stimulator of lipogenesis. Unlike glucose it can be converted to glycerol 3-phosphate (required for triacylglycerol synthesis) without passing through the phosphofructokinase pathway, which is an important rate-limiting pathway in glycolysis [11]. Lipogenesis by fructose has negative effects in many diseases, such as diabetes mellitus or metabolic syndrome, and in obesity [15, 16].

The purpose of the study was to determine the quantitative and qualitative composition of sugars of different apple varieties from the East Bohemia region. In this study dry matter content and sensory characteristics were also evaluated.

Materials and methods

The 17 cultivars of apples (Tab. 1) were collected from the Research and Breeding Institute of Pomology. Research at the Institute includes breeding research of apples, collection of regional and primitive varieties of local origin, and the introduction of foreign varieties. Apples were picked at the optimum harvest maturity for storage, as measured by starch test.

Chemicals and reagents were of analytical grade and all were obtained from Sigma Aldrich (St. Louis, USA). Glucose, fructose, sucrose and malic acid were used as standards. Phenyl b-D-glucopyranoside 50 mg in 5 ml sodium azide solution was used as internal standard. All standard solutions were prepared in 0.1 % (w/w) sodium azide solution for stabilization. Ethanol was used for extraction of the apple samples.

A mixture of hydroxylamine hydrochloride in pyridine was used for the first step of derivatization. Dimethylaminoethanol was used for stabilization of the derived oxime. *N,O*-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide (BSTFA) was used for the second step of derivatization, and was obtained from Supelco (Bellefonte, USA).

Dry matter content was determined by moisture analyzer (MB 25, Ohaus, USA). Approximately 3 g of apple homogenate was dried at 105 °C.

Samples of different apple cultivars (50 g) containing malic acid and the sugars fructose, glucose and sucrose were homogenized with 250 ml of ethanol by laboratory homogenizer (Waring 8010, Slovakia). Samples were transferred to Erlenmeyer flasks and the sugars extracted for 1h at 80 °C. After this extraction, the samples were centrifuged and the supernatant was purified by centrifugal filters (Amicon Ultra 30K, Merck Millipore, Ireland). 10 µl of internal standard and 10 µl of sample filtrate were evaporated in a vacuum concentrator at 60 °C (Concentrator 5305, Eppendorf, Germany).

Samples were derivatized with 50 µl of hydroxylamine hydrochloride solution (1 g in 100 ml of pyridine) with dimethylaminoethanol (20 : 1) at 75 °C for 30 min. The second derivatization was accomplished by adding 50 µl BSTFA for 15 min at 75 °C. The glucose and fructose derivatives are depicted in Fig. 1.

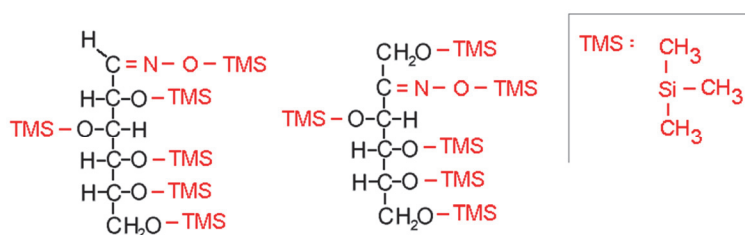


Fig. 1. Derivatives of sugar

Rys. 1. Formy derywatyzowane cukrów

Trimethylsilyl oxime derivatives of the sugar were determined by gas chromatography with flame ionization detection (Fisons Instrument, Great Britain). Injector temperature was 280 °C, detector temperature 330 °C and the oven was programmed as follows: initial temperature 100 °C for 1 min, rate of temperature rise 10 °C/min to 280 °C. Pressure at the column head was 175 kPa. The chromatogram of an apple sample is shown in Fig. 2.

Apple cultivars were stored in ULO (Ultra Low Oxygen) atmosphere 1 % O₂ + 1 % CO₂ at temperature 1 - 1.5 °C. Experimental chambers with ULO technology were established in 2005. Each chamber consists of 6 air-tight ULO boxes with a capacity of 24 standard plastic boxes for fruits with 15 kg carrying capacity [2]. The technology also includes nitrogen generator with active filters, compressor and regulating and control unit with a computer and software for storage under controlled variables.

Sugar content and dry matter changes after 3 months and 6 months of storage were determined using the methods described above.

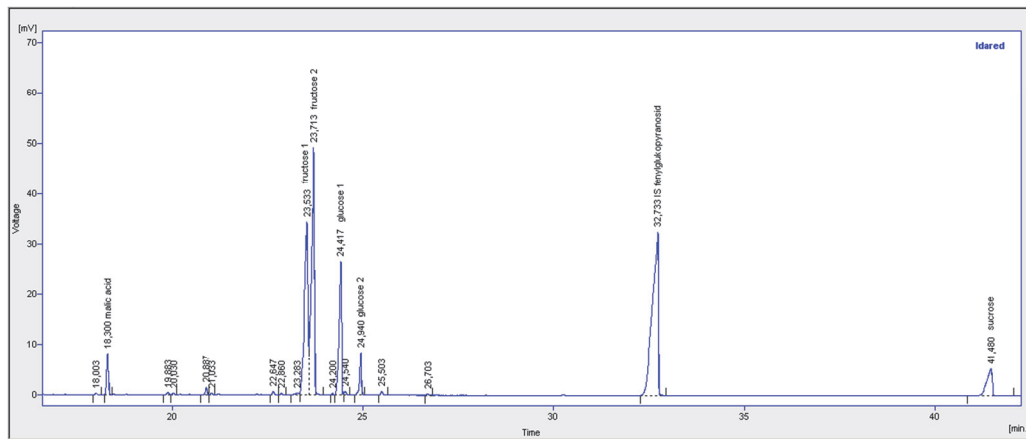


Fig. 2. Chromatogram (GC) of apple sugar samples

Rys. 2. Chromatogram (GC) cukrów w próbkach jabłek

Selected cultivars were tested one day after removal from ULO storage. Evaluated traits were sensory characteristics such as juiciness, acidity and overall taste, and were evaluated according to a nine-point evaluation scale, where nine represents the highest level of the trait:

- juiciness: dry (1) – very juicy (9),
- acidity: acidic (1) – very sweet (9),
- overall taste: very bad (1) – excellent (9).

Sensory evaluation was performed by a fully-trained panel composed of 6 judges, and the results are expressed as an average.

The total sugar, the ratio of fructose to glucose, and the sweetness relative to sucrose were calculated:

Ratio fru/glu = $(\text{fructose} + 0.5 \times \text{sucrose}) / (\text{glucose} + 0.5 \times \text{sucrose})$ – includes the fructose and glucose from sucrose after hydrolysis in the gut.

Sweetness = $1.5 \times \text{fructose} + 0.75 \times \text{glucose} + \text{sucrose}$ – relative to sucrose.

The obtained data were evaluated by One Way Repeated Analysis of Variance and Pearson Product Moment Correlation by Sigmasat software (Systat, USA). The data are presented as mean \pm standard deviation.

Results and discussion

The variety is one of the most important factors that have a direct impact on and relationship with the content of both the biologically active components and the other chemical components of apples [19]. Data obtained for the estimation of dry matter and

sugar content of individual varieties of fresh apples are presented in Tab. 1. The average dry matter content of material under investigation was 15.56 ± 1.85 % (20 % – ‘Boskopske’, 12.4 % – ‘Ontario’). Similar results have been reported by Łata [10] for apples of different cultivars grown in Poland, with dry matter content between 13.6 and 19.3 %. Sugars are important compounds for quality evaluation of apple fruits, and in terms of sugar composition, fructose and glucose are the predominant sugars for most apple varieties [12, 21]. In the experimental material the respective sugars were estimated overall as follows: fructose content 6.52 ± 1 g/100 g of apple (8.1 – ‘Golden Delicious’, 4.8 – ‘Selena’); glucose 1.46 ± 0.55 g/100 g of apple (3 – ‘Red Delicious’, 0.9 – ‘Ontario’); sucrose 4.75 ± 1.35 g/100 g of apple (7.2 – ‘Opal’, 2.1 – ‘Melrose’). Total sugar content was 12.73 ± 1.72 g/100g of apple (16.1 – ‘Boskopske’, ‘Opal’, 10.1 – ‘Selena’, ‘Ontario’). The average sweetness was calculated as 15.64 ± 2 g/100 g of apple. The highest sweetness was observed for varieties of high total sugar content (19.5 – ‘Boskopske’ and ‘Opal’) and the lowest for ‘Selena’ and ‘Ontario’ (12.2).

The next important step was to evaluate the sugar content during storage. The change in sugar content and dry matter during storage is presented in Tab. 2. Data after storage were compared by one-way Anova Repeated Measurement. Results are presented in Tab. 3. and Fig. 3 - 6. The dry matter of apple decreased from 15.6 % to 13.9 % during the period of storage under study. The decrease of dry matter could be explained by weight and moisture loss. Post-harvesting losses increased linearly with increase in storage duration due to water loss and respiration [5]. The intensity of this process depends on external and internal factors [6]. In the presented study a significant increase in glucose content and a decrease in sucrose and total sugar content were observed in line with the storage maturity of the apples. Regardless of the quantitative losses in weight and chemical components, quality changes occur that reduce the consumer and nutritional value of the fruit. The ageing rate of apples depends on many factors, and one of the ways of minimising it is to maintain appropriate conditions during storage [9].

The results of sensory evaluation and the correlation with obtained data are presented in Tab. 4. and Fig. 7.

The term sensory quality of fruits and apples is mainly related to their visual appearance (e.g. colour, gloss, size), smell, texture and palatability, and can be affected by many factors including genotype, cultivation system, picking date, postharvest handling and storage duration and conditions [1, 7, 8]. The quality of apples changes after harvesting and decreases during storage [18]. The results of the sensory evaluation are an interesting finding of the presented study. No correlation was found between the judged sweetness and the measured sugar concentration. A search for the determinant

Table 1. Sugar content and dry matter in apple cultivars without storage
 Tabela 1. Zawartość cukrów i suchej masy w nieprzechowywanych odmianach jabłek

Cultivar Odmiana	Fructose [g/100 g of apple] Fruktoza [g/100 g.jablka]	Glucose [g/100 g of apple] Glukoza [g/100 g.jablka]	Sucrose [g/100 g of apple] Sacharozza [g/100 g.jablka]	Ratio fru/glu Stosunek fru/glu	Total sugars [g/100g of apple] Cukry ogółem [g/100 g.jablka]	Sweetness [g/100g of apple] Słodkość [g/100 g.jablka]	Dry matter [%] Sucha masa [%]
'Boskopske	7.7	1.9	6.5	2.13	16.1	19.5	20.0
Florina	6.5	1.2	5.4	2.36	13.1	16.1	15.7
Golden Delicious	8.1	0.9	4.5	3.29	13.5	17.3	17.3
Chodske	4.9	0.9	5.3	2.13	11.1	13.3	14.5
Idared	6	1.4	3.9	2.37	11.3	14	14.2
Jarka	7.1	2.1	4.4	2.16	13.6	16.6	15.8
Jonagold	6.4	1.2	5.6	2.3	13.2	16.1	15.4
Melrose	6.7	2	2.1	2.54	10.8	13.7	14.1
Ontario	5.6	0.9	3.6	2.74	10.1	12.7	12.4
Opal	7.5	1.4	7.2	2.22	16.1	19.5	18.9
Rajka	7.4	1.8	3.1	2.67	12.3	15.6	14.8
Red Delicious	7.3	3	4	1.86	14.3	17.2	15.1
Rubinola	5.9	1.5	5.3	2.06	12.7	15.3	14.4
Selena	4.8	1.2	4.1	2.11	10.1	12.2	13.5
Sampion	7.8	1.5	3.4	2.97	12.7	16.2	16.8
Topaz	5.4	0.9	7	2.02	13.3	15.8	15.3
Zvonkove	5.8	1	5.3	2.32	12.1	14.8	16.2

Explanatory notes: / Objaśnienia:
 fru – fructose / fruktoza, glu – glucose/ glukoza.

Table 2. Descriptive statistic of sugar content and dry matter in apples during storage
 Tabela 2. Statystyka opisowa zawartości cukrów i suchej masy w jabłkach podczas przechowywania

Feature Wyróżnik	\bar{x}	SD / s	Max	Min	Median Mediana	25 %	75 %	Skewness Wsp. skośności	Kurtosis Kurtoza
Dry matter 0m Sucha masa 0m	15.561	1.905	20.035	12.415	15.29	14.354	16.347	0.891	0.98
Dry matter 3m Sucha masa 3m	14.157	1.483	17.76	11.285	13.875	13.466	14.8	0.409	1.571
Dry matter 6m Sucha masa 6m	13.875	1.354	15.625	11.78	14.23	12.672	14.915	-0.265	-1.52
Fructose 0m Fruktoza 0m	6.524	1.034	8.1	4.8	6.5	5.75	7.425	-0.159	-1.163
Fructose 3m Fruktoza 3m	6.294	1.055	8.6	5.1	6	5.4	7.1	0.841	-0.257
Fructose 6m Fruktoza 6m	6.975	1.643	11.2	5.1	6.9	5.7	7.7	1.538	3.399
Glucose 0m Glukoza 0m	1.459	0.562	3	0.9	1.4	0.975	1.825	1.338	2.164
Glucose 3m Glukoza 3m	1.629	0.584	2.9	1	1.4	1.2	1.975	0.904	-0.288
Glucose 6m Glukoza 6m	1.783	0.595	2.9	1	1.65	1.35	2.25	0.572	-0.513
Ratio fru/glu 0m Stosunek fru/glu 0m	2.368	0.371	3.29	1.86	2.3	2.125	2.572	1.154	1.107
Ratio fru glu 6m Stosunek fru/glu 3m	3.148	1.649	8.29	2.33	2.695	2.39	3.03	3.245	10.885
Ratio fru/glu 3m Stosunek fru/glu 6m	2.439	0.319	3.16	2.04	2.38	2.17	2.672	0.685	-0.18

Sucrose 0m Sacharoza 0m	4.747	1.391	7.2	2.1	4.5	3.825	5.45	0.123	-0.376
Sucrose 3m Sacharoza 3m	3.388	1.274	5.8	1.2	3.2	2.375	4.225	0.216	-0.608
Sucrose 6m Sacharoza 6m	1.9	1.312	3.8	0.4	1.45	0.75	3.2	0.519	-1.429
Total sugars 0m Cukry ogółem 0m	12.729	1.769	16.1	10.1	12.7	11.25	13.525	0.394	-0.0635
Total sugars 3m Cukry ogółem 3m	11.312	1.596	15.1	8.6	11.3	10.575	12.1	0.259	0.978
Total sugars 6m Cukry ogółem 6m	10.658	1.471	13	8.4	10.6	9.45	11.9	0.16	-1.026

Explanatory notes: / objaśnienia:

0m – without storage / nieprzechowywane; 3m – after 3 months of storage / po 3. miesiącach przechowywania; 6m – after 6 months of storage / po 6. miesiącach przechowywania; \bar{x} – mean value / wartość średnia; SD s – standard deviation / s – odchylenie standardowe; fru – fructose / fruktoza; glu – glucose / glukoza; Wsp. – współczynnik.

Table 3. One way Anova Repeated Measurement - comparison of data during storage of apple cultivars (p-value)

Tabela 3. Jednoczynnikowa analiza wariancji Anova – porównanie danych podczas przechowywania odmian jabłek (poziom istotności p)

Item Wyszczególnienie	0 months/3 months 0 miesięcy/3 miesiące	3 months/6 months 3 miesiące/6 miesięcy	0 months/6 months 0 miesięcy/6 miesięcy
Dry matter Sucha masa	<0.001	ns	<0.001
Fructose Fruktoza	ns	ns	ns
Glucose Glukoza	ns	ns	0.036
Sucrose Sacharoza	<0.001	<0.001	<0.001
Ratio fru/glu Stosunek fru/glu	ns	ns	ns
Total sugars Cukry ogółem	<0.001	ns	<0.001

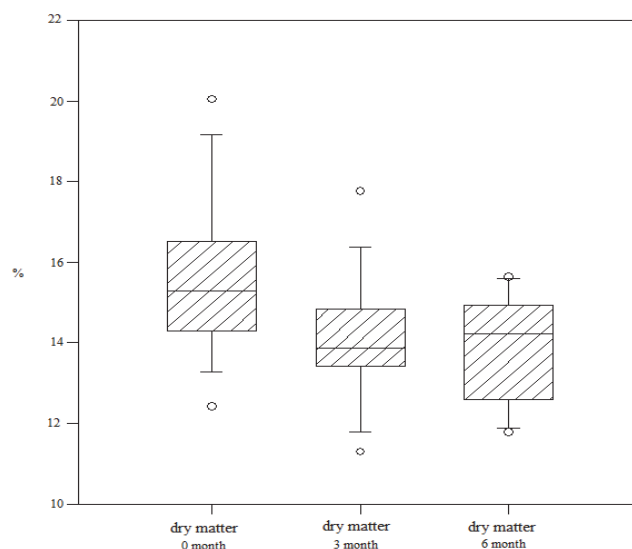


Fig. 3. Box plot – dry matter content of apple cultivars during storage

Rys. 3. Wykres pudełkowy – zawartość suchej masy w odmianach jabłek podczas przechowywania

of sweetness identified it as malic acid; its content was determined in the apple cultivars (Fig. 7). Malic acid is the characteristic acid of apple, and plays an important role in the sour sensation of the apple taste [14].

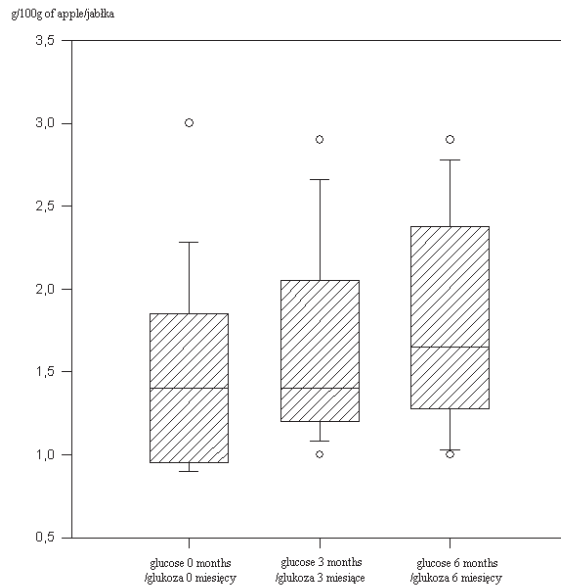


Fig. 4. Box plot – glucose content in apple cultivars during storage

Rys. 4. Wykres pudełkowy – zawartość glukozy w odmianach jabłek podczas przechowywania

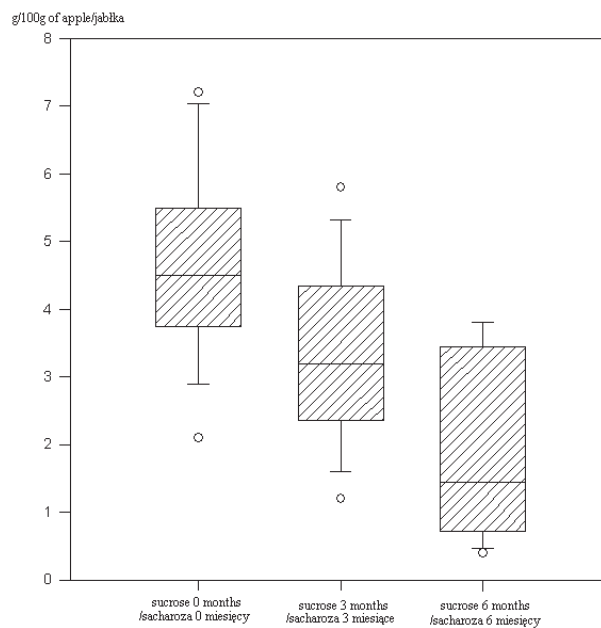


Fig. 5. Box plot – sucrose content in apple cultivars during storage

Rys. 5. Wykres pudełkowy – zawartość sacharozy w odmianach jabłek podczas przechowywania

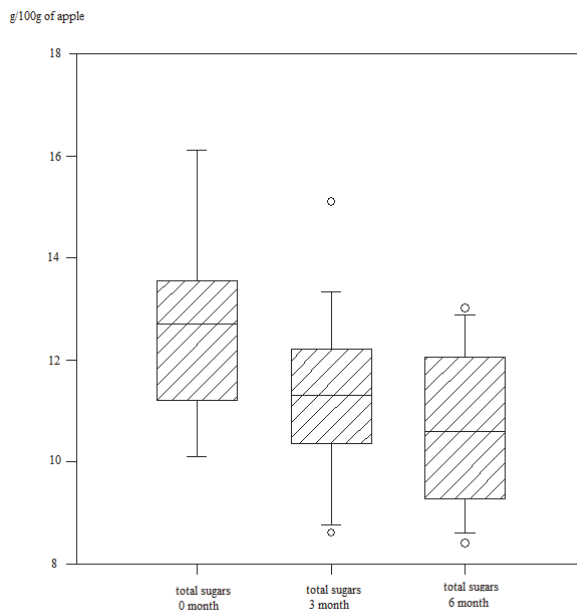


Fig. 6. Box plot – total sugars in apple cultivars during storage

Rys. 6. Wykres pudełkowy – zawartość cukrów ogółem w odmianach jabłek podczas przechowywania

Table 4. Pearson Correlation Coefficients of sensory evaluation and glucose, fructose, malic acid and dry matter content in apple cultivars

Tabela 4. Współczynniki korelacji Pearsona dotyczące zależności między oceną sensoryczną i zawartością fruktozy, glukozy, kwasu jabłkowego i suchej masy w odmianach jabłek

Sensory evaluation vs: Ocena sensoryczna vs:	Pearson Correlation Coefficient Współczynnik korelacji Pearsona	P value Wartość p
Glucose / Glukoza	0.287	0.391
Fructose / Fruktaza	0.574	0.0646
Total sugars / Cukry ogółem	0.163	0.632
Malic acid / Kwas jabłkowy	- 0.743	0.00878
Dry matter / Sucha masa	0.153	0.653

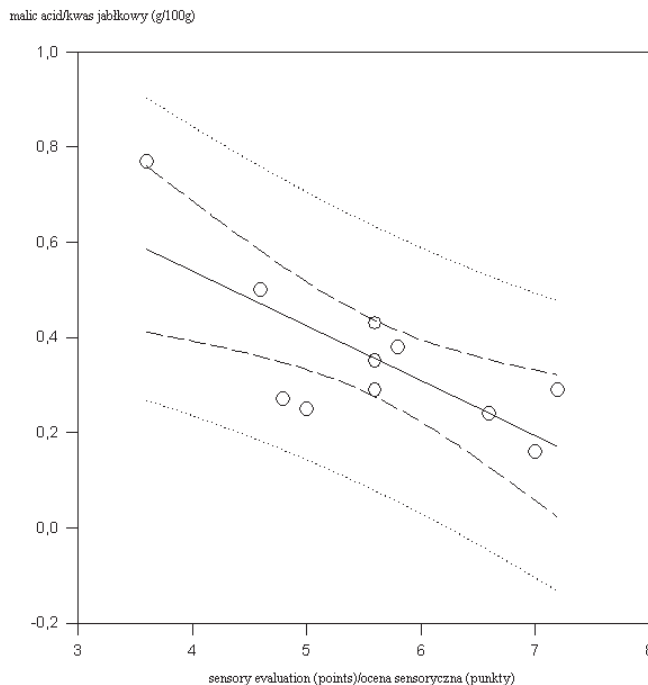


Fig. 7. Regression of malic acid content in apple cultivars vs sensory evaluation

Rys. 7. Zależność pomiędzy zawartością kwasu jabłkowego a oceną sensoryczną odmian jabłek

Conclusions

1. According the obtained results, the cultivars suitable for nutrition of patients with metabolic syndrome and diabetes mellitus are Selena and Ontario.
2. Due to the high energy and sugar content, only a single apple a day can be recommended as a part of a nutritional regimen. The acquired data provide information concerning apple cultivars grown in Czech Republic, and may be used to prepare chemical composition tables.

Acknowledgement

This study was financially supported by MH CZ – DRO (UHHK, 00179906) and RO 0614. Infrastructure of the project CZ.1.05/2.1.00/03.0116 was also used. The authors thank Dr. Ian McColl for excellent language assistance and proof reading of the manuscript.

References

- [1] Adamczyk M., Rembiałkowska E., Wasiak-Zys G.: Porównanie jakości sensorycznej jabłek z produkcji ekologicznej i konwencjonalnej oraz po przechowywaniu. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **2 (47) Supl.**, 11-19.
- [2] Blazek J., Pistekova I., Matejcek A., Hnatek M.: Hmotnostni ztraty u vybranych odrud jablek behem dlouhodobeho skladovani v podminkach ULO. *Inovace pestovani ovocnych plodin*, 2007, 77-83.
- [3] Dianne A, Hyson A.: Comprehensive review of apples and apple components and their relationship to human health. *Adv. Nutr.*, 2011, **2**, 408-420.
- [4] Freshfel Consumption Monitor: Fresh fruit and vegetable production, trade, supply & consumption monitor in the EU28, 2013.
- [5] Ghafir S.A.M., Gadalla S.O., Murajei B.N., El-Nady M.F.: Physiological and anatomical comparison between four different apple cultivars under cold-storage conditions. *Afric. J. Plant Sci.*, 2009, **3**, 133-138.
- [6] Jan I., Rab A.: Influence of storage duration on physico-chemical changes in fruit of apple cultivars. *J. Anim. Plant Sci.*, 2012, **22 (3)**, 708-714.
- [7] Jha S.N., Rai D.R., Shrama R.: Physico-chemical quality parameters and overall quality index of apple during storage. *J. Food Sci. Technol.*, 2012, **49 (5)**, 594-600.
- [8] Kabir Y., Sidhu J.S.: Flavor of fruits and fruit products and their sensory qualities. In: *Handbook of fruits and fruit processing*, Eds. Sinha N., Sidhu J., Barta, Wu J., Pilar Cano M., John Wiley & Sons, Ltd. USA, 2012, pp. 35-51.
- [9] Łapczyńska-Kordon B., Krzysztofik B.: Wpływ sposobów i czasu przechowywania na wybrane właściwości fizyczne jabłek. *Inżynieria Rolnicza*, 2008, **2 (100)**, 179-185.
- [10] Lata, B.: Relationship between apple peel and the whole fruit antioxidant content: year and cultivar variation. *J. Agric. Food Chem.*, 2007, **55**, 663-671.
- [11] Kelishadi R, Mansourian M, Heidari-Beni M.: Association of fructose consumption and components of metabolic syndrome in human studies: a systematic review and meta-analysis. *Nutrition*, 2014, **30 (5)**, 503-10.
- [12] Muresan A.E., Musts S., Borsa A., Vlaic R.A., Muresan V.: Evaluation of Physical-Chemical Indexes, Sugars, Pigments and Phenolic Compounds of Fruits from Three Apple Varieties at the End of Storage Period. *Bulletin UASVM Food Science and Technology*, 2014, **71 (1)**, 45-50.
- [13] Oguntibeju O.O., Truter E.J., Esterhuysen A.J.: The Role of Fruit and Vegetable Consumption in Human Health and Disease Prevention, Diabetes Mellitus - Insights and Perspectives, Ed. Oguntibeju O., InTech, 2013. DOI: 10.5772/50109.
- [14] Róth E., Berna A., Beullens K., Yarramraju S., Lammertyn J., Schenk A., Nicolaï B.: Postharvest quality of integrated and organically produced apple fruit. *Postharvest Biol. Tec.*, 2007, **45**, 11-19.
- [15] Samuel V.T.: Fructose induced lipogenesis: from sugar to fat to insulin resistance. *Trends Endocrin. Met.*, 2011, **22 (2)**, 60-65.
- [16] Tappy L., Le K.A., Tran C., Paquot N.: Fructose and metabolic diseases: New findings, new questions. *Nutrition*, 2010, **26**, 1044-104.
- [17] Trajer M., Dyngus M.: Krajowa produkcja, spożycie oraz promocja owoców i warzyw. *Biul. Inf. ARR*, 2013, **3**, 14-25.
- [18] Vieira F., Borges G., Copetti C., Amboni R., Denardi F., Fett R.: Physico-chemical and antioxidant properties of six apple cultivars (*Malus domestica* Borkh.) grown in southern Brazil. *Scientia Horti* – Amsterdam, 2009, **122 (3)**, 421-425.

- [19] Wojdyło A., Oszmiański J., Bielicki P.: Zawartość wybranych wyróżników chemicznych w owocach trzech odmian jabłoni z uprawy ekologicznej i konwencjonalnej. *J. Res. Appl. Agric. Eng.*, 2010, **55** (4), 173-177.
- [20] World Health Organisation. European action plan for food and nutrition policy 2015–2020. Copenhagen, Denmark: Regional Committee for Europe, 64th session, 15-18 September 2008.
- [21] Wu J., Gao H., Zhao L., Liao X., Chen F., Wang Z., Hu X.: Chemical compositional characterization of some apple cultivars. *Food Chem.*, 2007, **103**, 88-93.

SKŁAD CUKRÓW W JABŁKACH RÓŻNYCH ODMIAN I ICH WPŁYW NA CECHY SENSORYCZNE

Streszczenie

Zwiększenie spożycia cukrów jest jednym z czynników mających wpływ na epidemię otyłości. Prezentowane wyniki badań dotyczą składu cukrów w jabłkach. Celem badań był wybór odmian jabłek odpowiednich pod względem zdrowego odżywiania, tj. ilościowego i jakościowego składu cukrów. Jabłka zawierają fruktozę, glukozę i sacharozę. Dla przykładu fruktoza jest cukrem wysoce lipogennym, który ma istotny wpływ na metabolizm w wątrobie i wiąże się z wieloma czynnikami zespołu metabolicznego (oporność na insulinę, otyłość brzuszna, dyslipidemia i nadciśnienie). Fruktoza, glukoza i sacharoza z jabłek różnych odmian zostały wyekstrahowane etanolem, derywatyzowane i oznaczane metodą chromatografii gazowej. Analizie poddano 17 odmian jabłek. Zawartość fruktozy kształtowała się na poziomie $6,52 \pm 1$ g/100 g jabłek (8,1 – ‘Golden Delicious’, 4,8 – ‘Selena’). Zawartość glukozy wynosiła $1,46 \pm 0,55$ g/100 g jabłek (3,0 – ‘Red Delicious’, 0,9 – ‘Ontario’), a sacharozy – $4,75 \pm 1,35$ g/100 g jabłek (7,2 – ‘Opal’, 2,1 – ‘Melrose’). Odmiany jabłek ‘Selena’ i ‘Ontario’ okazały się jako najbardziej odpowiednie do stosowania w żywieniu pacjentów z zespołem metabolicznym.

Słowa kluczowe: odmiana jabłek, fruktoza, glukoza, sacharoza, sucha masa ☒

MACIEJ BILEK, AGNIESZKA SIEMBIDA, KINGA STAWARCZYK,
EWA CIEŚLIK

AKTYWNOŚĆ PRZECIWRODNIKOWA SOKÓW DRZEWNYCH Z TERENU PODKARPACIA

Streszczenie

W pracy oznaczono zawartość związków fenolowych ogółem oraz zdolność do wygaszania wolnego kationorodnika ABTS^{•+} soków drzewnych ośmiu gatunków drzew: brzozy zwisłej in. brodawkowatej (*Betula pendula* Roth.), brzozy omszonej (*Betula pubescens* Ehrh.), grabu pospolitego (*Carpinus betulus* L.), klonu zwyczajnego (*Acer platanoides* L.), klonu jesionolistnego (*Acer negundo* L.), orzecha czarnego (*Juglans nigra* L.), olszy czarnej (*Alnus glutinosa* Gaertn.) i wierzby białej (*Salix alba* L.). Największą średnią zawartość sumy związków fenolowych (3,7 mg GAE/100 ml), jak również najwyższą średnią aktywność przeciwrodnikową (8,82 % RSA) oznaczono w soku orzecha czarnego. Z kolei najmniejszą średnią zawartość sumy związków fenolowych (1,56 mg GAE/100 ml) i najniższą średnią aktywność przeciwrodnikową (1,36 % RSA) stwierdzono w soku z grabu pospolitego. Wykazano także korelację pomiędzy zawartością związków fenolowych w soku z klonu jesionolistnego a jego aktywnością przeciwrodnikową. W przypadku sześciu gatunków drzew wykazano zależność pomiędzy ich wiekiem a sumą związków fenolowych w analizowanych sokach. Większa zawartość tych związków występowała w sokach starszych drzew. Tym niemniej dowiedziono, że soki drzewne, w porównaniu z innymi produktami spożywczymi, są stosunkowo ubogim źródłem związków o charakterze przeciwutleniającym.

Słowa kluczowe: soki drzewne, związki fenolowe, aktywność przeciwrodnikowa, żywność prozdrowotna

Wprowadzenie

Soki drzewne pozyskiwane są na terenie Ameryki Północnej, Europy Wschodniej i Północnej oraz Azji [5, 9, 11, 19]. Najczęściej zbierane są z klonów (*Acer* ssp.) oraz brzozy (*Betula* ssp.) i zwykle spożywane w świeżej postaci. Mogą również służyć do

Dr n. farm. M. Bilek, Katedra Inżynierii Produkcji Rolno-Spożywczej, Wydz. Biologiczno-Rolniczy, Uniwersytet Rzeszowski, ul. Zelwerowicza 4, 35-601 Rzeszów, mgr inż. A. Siembida, prof. dr hab. inż. E. Cieślak, Katedra Technologii Gastronomicznej i Konsumpcji, Wydz. Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków, mgr K. Stawarczyk, Zakład Botaniki, Pozawydziałowy Zamiejscowy Instytut Biotechnologii Stosowanej i Nauk Podstawowych, Uniwersytet Rzeszowski, Werynia 502, 36-100 Kolbuszowa. Kontakt: mbilek@univ.rzeszow.pl

wytwarzania napojów fermentowanych lub do produkcji syropów [9, 19]. Sokom drzewnym przypisuje się właściwości prozdrowotne [5, 15, 19]. Dotychczasowe badania z udziałem zwierząt oraz linii komórkowych potwierdziły moczopędne działanie soków drzewnych [17], zdolność do hamowania proliferacji komórek [10] oraz właściwości nawilżające i utrzymujące homeostazę skóry [16].

W literaturze przedmiotu przedstawia się dane na temat zawartości składników decydujących o możliwości przemysłowego zastosowania soków drzewnych, głównie do produkcji syropów: klonowego, brzozonego i orzechowego [11, 13]. Soki drzewne zostały przebadane pod względem obecności w nich substancji o charakterze prozdrowotnym, w tym m.in. mikro- i makroelementów oraz witamin [9, 26, 28]. Za jedną z najważniejszych właściwości prozdrowotnych soków drzewnych uznaje się ich aktywność przeciwutleniającą. Potwierdzona została aktywność soków pochodzących z brzozy zwisłej m.in. brodawkowatej (*Betula pendula* Roth.) [9, 26], klonu polnego (*Acer campestre* L.) [9], klonu cukrowego (*A. sacharum* Marsh.) [27, 28], klonu czerwonego (*A. rubrum* L.) [10, 28] i klonu ginnala (*A. ginnala* Maxim.) [2]. Związana jest ona z zawartością w sokach m.in. związków fenolowych [2], które oznaczono dotychczas w sokach najpopularniejszych przedstawicieli rodzaju klon (*Acer* ssp.) [28] i brzoza (*Betula* ssp.) [26]. Brak jest natomiast danych dotyczących aktywności przeciwutleniającej soków z olszy czarnej (*Alnus glutinosa* Gaertn.), grabu pospolitego (*Carpinus betulus* L.), wierzby białej (*Salix alba* L.) czy też orzecha czarnego (*Juglans nigra* L.). W literaturze występują jedynie wzmianki o wyżej wymienionych gatunkach, często o charakterze historycznym [13, 15, 19].

Celem niniejszej pracy było określenie aktywności przeciwrodnikowej soków drzewnych z ośmiu gatunków drzew.

Material i metody badań

Materiałem doświadczalnym były soki z drzew bez widocznych oznak występowania chorób. Zbiór dokonywano od 26 lutego do 16 marca 2014 r., w województwie podkarpackim. Zbiór soków rozpoczynano po 7 - 9 dniach (w zależności od gatunku) od zaobserwowania ich płynięcia. Z 40 drzew należących do 8 gatunków pobrano po 5 próbek. Analizie poddawano soki: brzozy zwisłej m.in. brodawkowatej (*Betula pendula* Roth.), brzozy omszonej (*B. pubescens* Ehrh.), grabu pospolitego (*Carpinus betulus* L.), klonu zwyczajnego (*Acer platanoides* L.), klonu jesionolistnego (*A. negundo* L.), orzecha czarnego (*Juglans nigra* L.), olszy czarnej (*Alnus glutinosa* Gaertn.) i wierzby białej (*Salix alba* L.). Na terenie, na którym rosły drzewa, nie stosowano żadnych zabiegów z użyciem chemicznych środków ochrony roślin. Nie prowadzono także nawożenia oraz innych zabiegów agrotechnicznych. Obszar pobierania soków wytypowano w oddali od zabudowań oraz szlaków komunikacyjnych. Drzewa, z których pobierano soki, rosły na tym samym stanowisku, w odległości maksymalnie 10 m od siebie. Każ-

dy osobnik wytypowany do poboru soku miał obwód większy niż 25 cm [1]. Wiek drzew określano metodą bezinwazyjną na podstawie wymiaru pierśnicy mierzonej na wysokości 1,3 m i tabeli wiekowej drzew Majdeckiego [12]. Poboru soków każdorazowo dokonywano w godzinach 10 - 14, według metody opisanej w literaturze [1].

W sokach oznaczano zawartość związków fenolowych oraz określano aktywność przeciwutleniającą.

Zawartość związków fenolowych ogółem oznaczano metodą spektrofotometryczną z użyciem odczynnika Folina-Ciocalteu'a [20], a wynik końcowy wyrażano w przeliczeniu na ekwiwalenty kwasu galusowego (GAE, ang. *Gallic Acid Equivalent*). Z kolei aktywność przeciwrodnikową oznaczano metodą wygaszania wolnego kationo-rodnika ABTS^{•+} według Re i wsp. [18], a wynik końcowy wyrażano w przeliczeniu na procentową zdolność 100 ml soków drzewnych do wygaszania wolnego rodnika ABTS^{•+} (% RSA, ang. *Radical Scavenging Activity*). Pomiaru absorbancji w obydwu zastosowanych metodach dokonywano z dokładnością do 0,0001 przy wykorzystaniu spektrofotometru UV-VIS Cary 50, przy długości fali $\lambda = 760$ nm (suma zw. fenolowych) i $\lambda = 734$ nm (aktywność przeciwrodnikowa). Oznaczenia każdej próbki wykonywano w dwóch powtórzeniach i obliczano wartość średnią.

Wyniki opracowano statystycznie za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji (czynnikiem różnicującym grupy były gatunek lub wiek drzewa, z którego pobierano soki) w programie Statistica v. 10.0. W celu wykazania istotnych różnic pomiędzy badanymi grupami zastosowano test *post hoc* rozsądnej istotnej różnicy (RIR) Tukeya. Różnice uznawano za statystycznie istotne przy $p < 0.05$.

Wyniki i dyskusja

W tab. 1. przedstawiono wiek drzew, z których pobrano próbki soków. Najstarszymi drzewami były: wierzba biała i orzech czarny.

Zawartość związków fenolowych w próbkach soków była zróżnicowana (tab. 2). Statystycznie istotną różnicę ($p < 0,05$) pomiędzy zawartością związków fenolowych w 100 ml soku drzewnego stwierdzono w przypadku soku z orzecha czarnego (3,7 mg GAE/100 ml) oraz soku z grabu pospolitego (1,56 mg GAE/100 ml). Uzyskane wyniki są zbieżne z rezultatami innych autorów. Viškelis i wsp. [26] identyczną metodą analizowali zawartość związków fenolowych w soku brzożowym i oznaczyli 1,45 mg GAE/100 g soku. Z kolei Yuan i wsp. [28] w soku klonu cukrowego wykazali 0,25 mg sumy związków fenolowych w 100 g produktu.

Tabela 1. Przybliżony wiek drzew, z których pobrano próbki soków [lata]
Table 1. Approximate age of trees, from which sap samples were taken [years]

Wierzba biała White willow	Olsza czarna Black alder	Grab pospolity Hornbeam	Orzech czarny Black walnut	Brzoza omszona Downy birch	Brzoza zwięta Silver birch	Klon jesionolistny Boxelder	Klon zwyczajny Norway maple
80	60	20	70	20	20	60	50
50	40	30	60	30	20	50	30
80	50	20	90	20	20	50	20
120	70	30	90	30	30	40	20
100	60	30	70	30	30	40	20
86*	56	26	76	26	24	50	28

Objaśnienie: / Explanatory note:

* – w ostatnim wierszu podano średni wiek poszczególnych rodzajów drzew / in the last line, the average age of individual types of trees is indicated.

Tabela 2. Zawartość związków fenolowych w badanych sokach drzewnych [mg GAE/100 ml]
Table 2. Content of phenolic compounds in tree saps analyzed [mg GAE/100 ml]

Wierzba biała White willow	Olsza czarna Black alder	Grab pospolity Hornbeam	Orzech czarny Black walnut	Brzoza omszona Downy birch	Brzoza zwięta Silver birch	Klon jesionolistny Boxelder	Klon zwyczajny Norway maple
2,40 ± 0,0019	2,04 ± 0,00005	1,27 ± 0,00007	2,50 ± 0,0001	2,10 ± 0,00006	1,84 ± 0,00009	4,23 ± 0,0001	1,58 ± 0,00005
1,71 ± 0,00003	1,23 ± 0,00001	1,76 ± 0,00009	2,08 ± 0,00006	2,52 ± 0,0002	2,27 ± 0,00009	2,75 ± 0,0002	1,80 ± 0,00006
2,50 ± 0,0029	1,27 ± 0,00005	1,52 ± 0,00004	4,64 ± 0,0002	1,85 ± 0,00004	1,56 ± 0,0001	2,31 ± 0,0002	1,76 ± 0,00007
4,48 ± 0,0002	2,69 ± 0,0002	1,63 ± 0,00008	6,42 ± 0,0002	3,66 ± 0,0002	2,99 ± 0,0001	1,04 ± 0,0002	1,72 ± 0,00009
3,26 ± 0,0002	1,56 ± 0,0007	1,60 ± 0,00006	2,87 ± 0,0001	1,61 ± 0,00005	3,32 ± 0,0001	1,11 ± 0,0001	1,86 ± 0,00003
2,87 ^{ab*}	1,76 ^{ab}	1,56 ^a	3,70 ^b	2,35 ^{ab}	2,39 ^{ab}	2,29 ^{ab}	1,74 ^{ab}

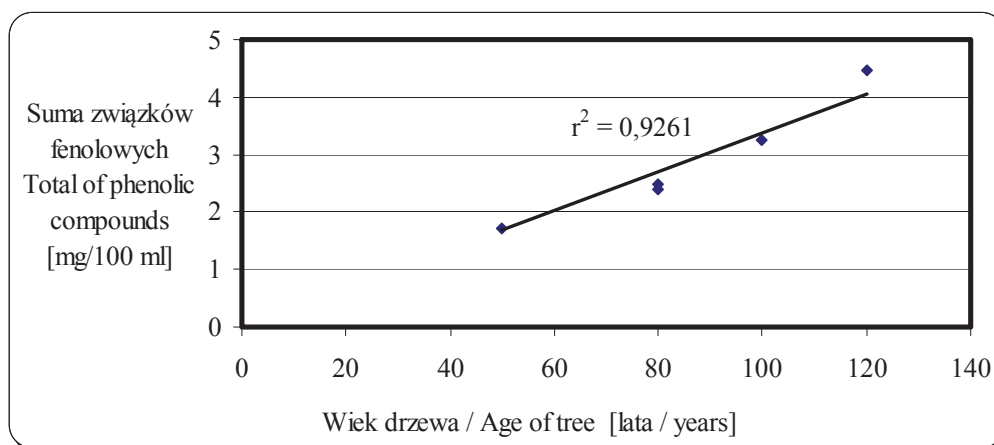
Objaśnienia: / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviations; n = 2;

* – w ostatnim wierszu przedstawiono wartości średnie z pięciu próbek soków poszczególnych drzew / in the last line, average values of five juice samples from individual trees are indicated; n = 2 × 5 = 10

a, b – te same litery oznaczają brak różnic statystycznie istotnych pomiędzy wartościami średnimi grup eksperymentalnych (p < 0,05) / the same letters mean no statistically significant differences among mean values of experimental groups (p < 0.05).

Zawartość związków fenolowych w materiale roślinnym może być determinowana wieloma czynnikami, m.in. warunkami klimatycznymi i glebowymi, zastosowanymi chemicznymi środkami ochrony roślin i nawozami, a także nasłonecznieniem terenu [7, 24, 25]. Może być również cechą indywidualną danego osobnika, związaną ze stanem zdrowotnym drzewa i aktywnością bariery wytwarzanej przeciw mikroorganizmom oraz grzybom [24]. Karolewski i wsp. [7] wykazali, że wiek drzew może różnicować zawartość tej grupy substancji w igłach, natomiast Verdecia i wsp. [25] opisali istotną korelację pomiędzy wiekiem *Neonotonia wightii* a zawartością związków fenolowych w roślinie. W opisanych przypadkach zawartość związków fenolowych zwiększała się wprost proporcjonalnie do wieku badanych roślin. W analizie zależności zawartości związków fenolowych w badanych sokach od przybliżonego wieku drzewa wykazano, że większe ilości tych związków występowały w sokach z drzew starszych. Dopasowanie bardzo dobre dotyczyło wyłącznie próbek soku pozyskanego z wierzby białej (*Salix alba* L.) – rys. 1. Stwierdzono również statystycznie istotne ($p < 0,05$) różnice pod względem zawartości związków fenolowych w sokach drzewnych osobników, których wiek wynosił 90 lat a sokami z młodszych oraz starszych osobników (rys. 2).

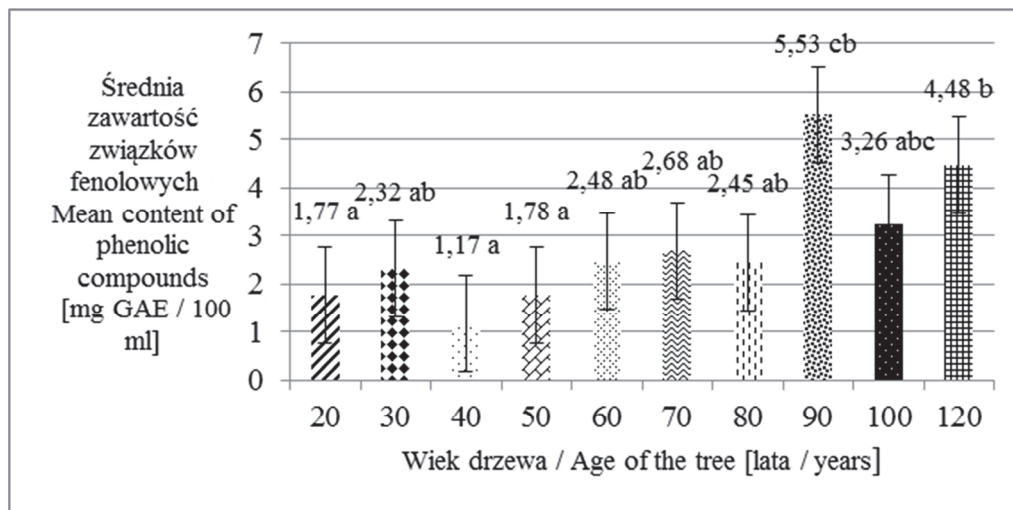


Rys. 1. Zależność zawartości związków fenolowych od wieku drzewa na przykładzie próbek soku z wierzby białej (*Salix alba* L.)

Fig. 1. Correlation between content of phenolic compounds and age of tree exemplified by sap samples from white willow tree

W przypadku aktywności przeciwutleniającej soków drzewnych, mierzonej metodą wygaszania wolnego rodnika ABTS^{•+} (tab. 3), również stwierdzono zróżnicowanie pomiędzy badanymi próbkami. Najwyższą aktywność (8,82 %) wykazywał sok z orzecha czarnego, a najniższą (1,36 %) – sok z grabu pospolitego i różnica między

tymi aktywnościami była statystycznie istotna ($p < 0,05$). Z kolei pod względem zdolności wygaszania wolnego rodnika ABTS⁺ w zależności od wieku drzew, z których pobrano próbki soków (rys. 3), stwierdzono statystycznie istotną zależność ($p < 0,05$) pomiędzy sokami pozyskanymi z drzew 70- i 90-letnich a 40-letnich.



Objaśnienie: / Explanatory note:

a, b, c – te same litery oznaczają brak różnic statystycznie istotnych pomiędzy wartościami średnimi grup eksperymentalnych ($p < 0,05$) / the same letters mean no statistically significant differences among mean values of experimental groups ($p < 0.05$).

Rys. 2. Średnia zawartość związków fenolowych w sokach w zależności od wieku drzew, z których pobrano próbki

Fig. 2. Average content of phenolic compounds in the studied tree saps depending on the age of the trees

Stwierdzono dobre dopasowanie między aktywnością przeciwutleniającą a zawartością związków fenolowych w soku z klonu jesionolistnego (rys. 4). W pozostałych próbkach nie wykazano tak silnej zależności między badanymi parametrami. Można zatem przypuszczać, że o aktywności przeciwutleniającej tych soków decydują – poza związkami fenolowymi – także inne substancje o charakterze przeciwutleniaczy, np. witaminy [2, 9, 26, 28].

Określenie aktywności przeciwutleniającej żywności, na którą składają się m.in. związki fenolowe, pozwala oszacować jej pozytywny wpływ na organizm człowieka. Produkty bogate w związki fenolowe charakteryzują się właściwościami prozdrowotnymi, przeciwdziałając chorobom sercowo-naczyniowym, nowotworowym oraz chorobie wrzodowej żołądka i dwunastnicy [29]. Działanie to tłumaczy się wzrostem pojemności przeciwutleniającej osocza krwi, bezpośrednią dezaktywacją wolnych

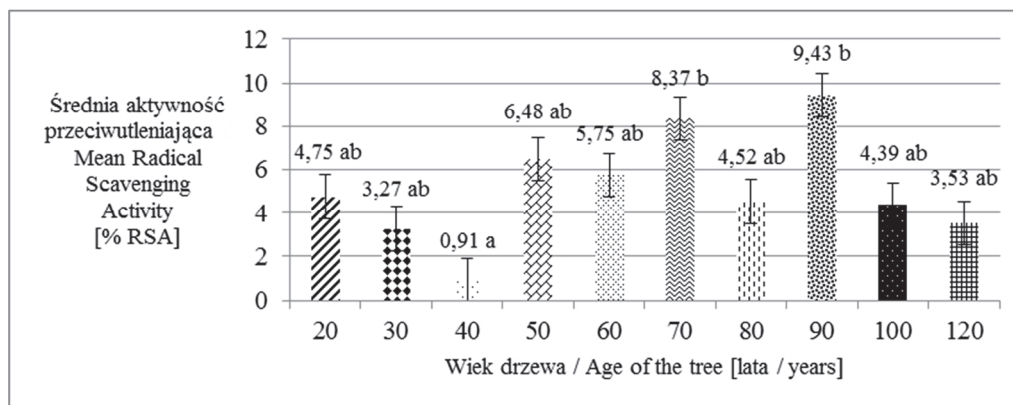
rodników, hamowaniem reakcji tlenu singletowego i aktywności enzymów utleniających oraz tworzeniem kompleksów z metalami katalizującymi reakcje utleniania [21].

Tabela 3. Aktywność przeciwrodnikowa badanych soków drzewnych [% RSA]

Table 3. Radical Scavenging Activity of tree saps analyzed [% RSA]

Wierzba biała White willow	Olsza czarna Black alder	Grab pospolity Hornbeam	Orzech czarny Black walnut	Brzoza omszona Downy birch	Brzoza zwisła Silver birch	Klon jesionolistny Boxelder	Klon zwyczajny Norway maple
6,1277 ± 0,0641	0,63 ± 0,0104	1,84 ± 0,1162	8,34 ± 0,1075	13,39 ± 0,1917	5,25 ± 0,0361	10,59 ± 0,0057	11,34 ± 0,0017
4,6411 ± 0,1681	0,67 ± 0,052	1,78 ± 0,1057	7,23 ± 0,7015	9,78 ± 0,0131	2,78 ± 0,2577	10,39 ± 0,0352	2,82 ± 0,6574
2,9138 ± 0,0762	3,95 ± 0,0502	1,22 ± 0,0573	12,61 ± 1,0104	2,68 ± 0,0968	1,89 ± 0,087	5,57 ± 0,0304	2,65 ± 0,0031
3,5260 ± 0,0271	7,10 ± 0,0039	0,08 ± 0,0195	6,25 ± 0,1107	5,38 ± 0,0775	2,39 ± 0,8501	3,04 ± 0,0208	5,14 ± 0,0251
4,3902 ± 0,1047	4,57 ± 0,0277	1,90 ± 0,0364	9,68 ± 1,757	2,55 ± 0,0106	2,78 ± 0,1576	1,15 ± 0,0298	10,69 ± 0,710901
4,32 ^{ab}	3,38 ^{ab}	1,37 ^a	8,82 ^b	6,76 ^{ab}	3,02 ^{ab}	6,15 ^{ab}	6,53 ^{ab}

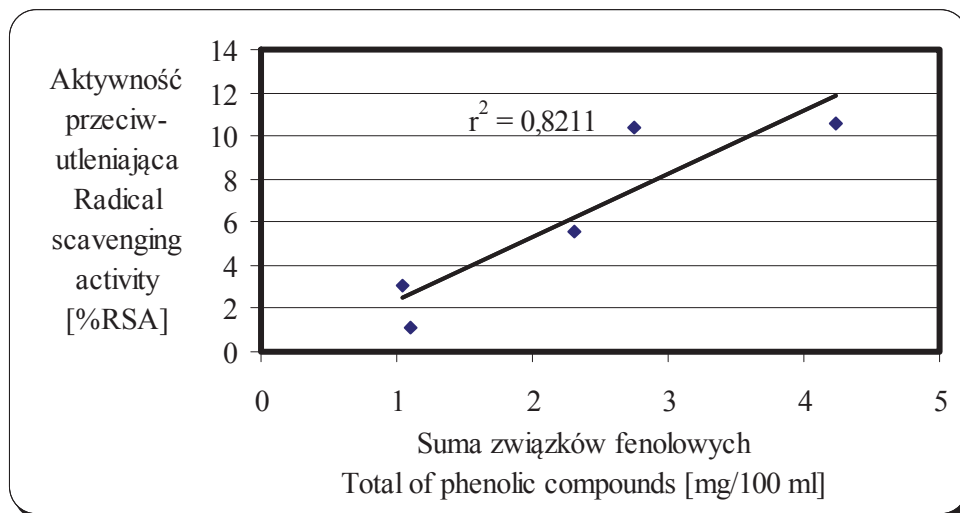
Objaśnienia jak pod tab. 2 / Explanatory notes as in Tab. 2.



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

Rys. 3. Średnia aktywność przeciwutleniająca soków w zależności od wieku drzew, z których pobrano próbki

Fig. 3. Mean Radical Scavenging Activity of saps depending on age of trees, from which samples were taken



Rys. 4. Zależność pomiędzy aktywnością przeciwutleniającą soku z klonu jesionolistnego (*Acer negundo* L.) a zawartością w nim związków fenolowych

Fig. 4. Correlation between Radical Scavenging Activity of sap from maple ash tree (*Acer negundo* L.) and content of phenolic compounds in it

W produktach żywnościowych znajdują się zróżnicowane ilości związków fenolowych: świeży sok cytrynowy zawiera 47,20 mg GAE w 100 ml, sok jabłkowy – 15,8 mg GAE/100 ml, a sok z czarnej porzeczki – 36,72 mg GAE/100 ml [8]. Napary herbat owocowych to źródło 13,9 ÷ 37,3 mg GAE w 100 ml naparu [22], a piwo 15 ÷ 30 mg GAE/100 ml [23]. Badane soki drzewne, zawierające 1,04 ÷ 6,42 mg związków fenolowych (GAE) w 100 ml, są zatem stosunkowo ubogim źródłem tych substancji.

Również aktywność przeciwutleniająca badanych soków drzewnych (0,08 ÷ 13,39 %) była niska w stosunku do aktywności niektórych produktów żywnościowych, np. naparów herbat: Pu-erh (67,1 ÷ 67,5 %), Oolong (do 70 %), zielonych (53,7 ÷ 61 %) [4] oraz soków: pomarańczowego (18,69 %) i z czarnych porzeczek (76,19 %) [3].

Wnioski

1. Soki drzewne charakteryzują się stosunkowo niskimi wartościami aktywności przeciwutleniającej i zawartością związków fenolowych w porównaniu z innymi produktami spożywczymi.
2. Największą zawartością związków fenolowych oraz najwyższą zdolnością do wygaszania wolnego rodnika ABTS⁺ odznacza się sok pozyskany z drzewa orzecha czarnego.

3. Zależność między zawartością związków fenolowych w sokach a wiekiem drzewa wskazuje, że optymalne do pobierania soków drzewnych są osobniki starsze.
4. Z wyjątkiem soku z klonu jesionolistnego, nie stwierdzono korelacji pomiędzy zawartością związków fenolowych a aktywnością przeciwutleniającą.

Literatura

- [1] A Handbook of Best Management Practices for Massachusetts Maple Syrup Farms [online]. Dostęp w Internecie [12.07.2014.]: [http://ag.umass.edu/sites/ag.umass.edu/files/pdf - doc - ppt/maple_bmp_final.pdf](http://ag.umass.edu/sites/ag.umass.edu/files/pdf_-_doc_-_ppt/maple_bmp_final.pdf).
- [2] Choi Y.H., Han S.S., Hyun Ok Lee H.O., Baek S.W.: Biological activity of bioactive components from *Acer ginnala* Max. Bull. Korean Chem. Soc., 2005, **9** (26), 1450-1452.
- [3] Człapka-Matyasik M., Fejfer M., Gramza-Michałowska A., Kostrzewa-Tarnowska A., Jeszka J.: Właściwości antyrodnikowe wybranych soków owocowych dostępnych na rynku polskim. Probl. Hig. Epidemiol., 2011, **4** (92), 991-993.
- [4] Fik M., Zawisłak A.: Porównanie właściwości przeciwutleniających wybranych herbat. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2004, **3** (40), 98-105.
- [5] Jeong-Jeong S., Jeong H.S., Woo S. H., Shin Ch.S.: Consequences of ultrafiltration and ultraviolet on the quality of white birch (*Betula platyphylla* var. japonica) sap during storage. Aust. J. Crop. Sci., 2013, **7** (8), 1072-1077.
- [6] Kallio H., Ahtonen S., Raulo J., Linko R.R.: Identification of the sugars and acids in birch sap. J. Food Sci., 1985, **1** (50), 257-267.
- [7] Karolewski P., Jagodziński A.M., Grzebyta J.: Wpływ wieku drzew oraz wieku i lokalizacji igieł w koronie na zawartość związków fenolowych w igłach młodych sosen. Sylwan, 2011, **12** (155), 797-807.
- [8] Keskin-Šašić I., Tahirović I., Topčagić A., Klepo L., Salihović M., Ibragić S., Toromanović J., Ajanović A., Velispahić E.: Total phenolic content and antioxidant capacity of fruit juices. Bulletin of the Chemists and Technologists of Bosnia and Herzegovina, 2012, **39**, 25-28.
- [9] Kūka M., Čakste I., Geršebeka E.: Determination of bioactive compounds and mineral substances in latvian birch and maple saps. Proc. Latv. Acad. Sci. B Nat. Exact. Appl. Sci., 2013, **4-5** (67), 437-441.
- [10] Legaut J., Girard-Lalancette K., Grenon C., Dussault C., Pichette A.: Antioxidant activity, inhibition of nitric oxide (NO) production and in vitro antiproliferative effect of maple sap and syrup from *Acer saccharum*. J. Med. Food, 2010, **2** (13), 1-9.
- [11] Łuczaj Ł., Bilek M., Stawarczyk K.: Sugar content in the sap of birches, hornbeams and maples in southeastern Poland. Cent. Eur. J. Biol., 2014, **4** (9), 410-416.
- [12] Majdecki L.: Ochrona i konserwacja zabytkowych założeń ogrodowych. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 1993.
- [13] Matta Z., Chambers E., Naughton G.: Consumer and descriptive sensory analysis of black walnut syrup. J. Food Sci., 2005, **9** (70), 609-613.
- [14] Miller A.E., Chambers D.H.: Descriptive analysis and consumer acceptance of black walnut cultivars in a sugar cookie base. LWT- Food Sci. Technol., 2013, **53**, 139-145.
- [15] Moerman, D.E.: Native American Ethnobotany Database: Foods, drugs, dyes and fibers of native North American Peoples. The University of Michigan, Dearborn 1999.

- [16] Moriyama M., Naru E., Misaki Y., Hayashi A.: Effect of birch (*Betula platyphylla* Sukatchev var. *japonica* Hara) sap on cultured human epidermal keratinocyte differentiation. *Int. J. Cosmet. Sci.*, 2009, **31**, 159-161.
- [17] Peev C., Dehelean C., Mogosanu C., Feflea F., Corina T.: Spring drugs of *Betula pendula* Roth.: Biologic and pharmacognostic evaluation. *Studia Universitatis "Vasile Goldiř", Seria řtiinętele Vietii*, 2010, **3 (20)**, 41-43.
- [18] Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C.: Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.*, 1999, **9-10 (26)**, 1231-1237.
- [19] Svanberg I., Sõukand R., Luczaj Ł., Kalle R., Zyryanova O., Dènes A., Papp N., Nedelcheva A., řeřkauskaite D., Kołodziejska-Degõrska I., Kolosova V.: Uses of tree saps in northern and eastern parts of Europe. *Acta Soc. Bot. Pol.*, 2012, **4 (81)**, 343-357.
- [20] Swain T.: Hillis W.E.: The phenolic constituents of *Purmus domestica*. I. The quantitative analysis of phenolic constituents. *J. Sci. Food Agric.*, 1959, **10**, 63-68.
- [21] Szajdek A., Borowska J.: Właściwości przeciwutleniająca żywności pochodzenia roślinnego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **4 (41)**, 5-28.
- [22] Szlachta M., Małecka M.: Właściwości przeciwutleniające herbatek owocowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **1 (56)**, 92-102.
- [23] řledziński T., Kwařniewska D., Zieliński R.: Aktywność przeciwrodnikowa piwa. *Probl. Hig. Epidemiol.*, 2013, **3 (94)**, 648-652.
- [24] Tattar T.A., Rich A.E.: Extractable phenols in clear, discolored, and decayed woody tissues and bark of sugar maple and red maple. *Phytopathology*, 1973, **63**, 167-169.
- [25] Verdecia L., Herrera R.S., Ramirez J.L., Leonard I., Bodas R., Prieto N., Andrés S., Giráldez F.J., González F.J., Arceo Y., Paumier M., Alvarez Y., López S.: Effect of re-growth age in the content of secondary metabolites from *Neonotonia wightii* in the Valle del Cauto, Cuba. *Cuban J. Agr. Sci.*, 2014, **2 (48)**, 149-154.
- [26] Viřkelis P., Rubinskienė M.: Beręų sulos cheminė sudėtis. Lietuvos agrarinių ir miřkų mokslų centro filialo sodininkystės ir daręininkystės instituto ir Lietuvos žemės ūkio universiteto mokslo darbai. *Sodininkystė ir Daręininkystė* 2011, **3-4 (30)**, 63-73.
- [27] Yoshikawa K., Kawahara Y.: Aromatic compounds and their antioxidant activity of *Acer saccharum*. *J. Nat. Med.*, 2011, **65**, 191-193.
- [28] Yuan T., Li T., Zhang Y., Seeram N.P.: Pasteurized and sterilized maple sap as functional beverages: Chemical composition and antioxidant activities. *J. Funct. Foods*, 2013, **5**, 1582-1590.
- [29] Zalega J., Szostak-Węgierek D.: Żywnienie w profilaktyce nowotworów. Część I. Polifenole roślinne, karotenoidy, błonnik pokarmowy. *Probl. Hig. Epidemiol.*, 2013, **1 (94)**, 41-49.

RADICAL SCAVENGING ACTIVITY OF TREE SAPS FROM THE PODKARPACIE REGION

Summary

In the study, there were determined the content of total phenolic compounds in and the Radical Scavenging Activity of ABTS^{•+} of tree saps of eight tree species: silver birch (*Betula pendula* Roth.), downy birch (*B. pubescens* Ehrh.), hornbeam (*Carpinus betulus* L.), Norway maple (*Acer platanoides* L.), boxelder (*A. negundo* L.), black walnut (*Juglans nigra* L.), black alder (*Alnus glutinosa* Gaertn.), and white willow (*Salix alba* L.). The highest mean concentration of total phenolic compounds (3.7 mg/GAE/100 ml) as well as the highest Radical Scavenging Activity (8.82 % RSA) were determined in the sap of black walnut tree. The lowest mean content of total phenolic compounds (1.56 mg

GAE/100 ml) and the lowest average Radical Scavenging Activity (1.36 % RSA) were determined in the hornbeam sap. Moreover, a correlation was proved to exist between the content of phenolic compounds in the Norway maple tree sap and its antioxidant activity. In the case of six tree species, a dependence was proved to exist between the age of the trees and the content of total phenolic compounds in the saps analyzed. A higher content of those compounds was in the older trees. However, it was shown that the tree saps were a relatively poor source of antioxidant compounds compared to other food products.

Key words: tree saps, phenolic compounds, Radical Scavenging Activity, health foods ☒

BEATA KRÓL, ANNA KIELTYKA-DADASIEWICZ

**WPLYW METODY SUSZENIA NA CECHY SENSORYCZNE ORAZ
SKŁAD OLEJKU ETERYCZNEGO TYMIANKU WŁAŚCIWEGO
(*THYMUS VULGARIS* L.)**

Streszczenie

Suszenie jako metoda utrwalania żywności, w tym ziół przyprawowych, ogranicza rozwój mikroorganizmów i przebieg reakcji biochemicznych w surowcu, ale równocześnie wpływa na zmianę jej cech sensorycznych oraz skład chemiczny. Ziele tymianku właściwego (*Thymus vulgaris* L.) suszono czterema metodami: naturalną, konwekcyjną (w temperaturze: 40, 50 i 60 °C), mikrofalowo oraz sublimacyjnie. W analizie sensorycznej oceniano intensywność zapachu i jego 4 deskryptory (świeży, zielny, korzenny, balsamiczny) oraz barwę (zielona, żółtozielona, żółtooliwkowa, brunatnooliwkowa). W świeżym i suszonym ziele oznaczano zawartość i skład olejku eterycznego (metodą GC-MS).

Stwierdzono, że najkorzystniejszymi cechami sensorycznymi charakteryzowało się ziele suszone sublimacyjnie oraz mikrofalowo, które wykazywało wysoką intensywność zapachu oraz korzystną barwę. Najniżej pod względem aromatu i barwy oceniono tymianek suszony konwekcyjnie w temp. 50 i 60 °C. Największy udział olejku eterycznego stwierdzono w świeżym ziele tymianku (3,04 ml·100 g⁻¹ s.m). Suszenie spowodowało ubytek olejku od 8 ÷ 50,9 %. Największe straty olejku wystąpiły w surowcu suszonym konwekcyjnie w temp. 60 °C oraz w suszu liofilizowanym, zaś najwięcej olejku zachowało się w ziele suszonym naturalnie oraz konwekcyjnie w temp. 40 °C. Suszenie wpłynęło także na zmniejszenie zawartości aromatycznych związków lotnych w olejku. Największy ubytek tych związków nastąpił pod wpływem suszenia gorącym powietrzem oraz liofilizacji. Metody suszenia spowodowały różnice w składzie olejku eterycznego. Najmniejszą zawartością głównego składnika – tymolu charakteryzował się olejek z ziele suszonego naturalnie (50,8 %), a największą – suszonego sublimacyjnie (59,1 %) i mikrofalowo (58,3 %). Pod wpływem suszenia zmniejszyła się także zawartość E-kariofilenu oraz linalolu, natomiast zwiększył się udział p-cymenu i karwakrolu.

Słowa kluczowe: tymianek, suszenie: naturalne, konwekcyjne, mikrofalowe, sublimacyjne, barwa, zapach, tymol

Wprowadzenie

Rośliny zielarskie są nie tylko środkami leczniczymi, ale także aromatycznymi przyprawami [19]. Poza wzbogacaniem walorów sensorycznych, przyprawy mogą wykazywać działanie przeciwutleniające i bakteriobójcze, co związane jest z występowaniem specyficznych związków chemicznych, takich jak: olejki eteryczne, związki fenolowe oraz związki siarki, alkaloidy i inne [24]. Wzrost zużycia przypraw wymaga doskonalenia ich jakości, dostosowanej do wymagań konsumentów i nowoczesnych procesów technologicznych [18].

Tymianek (*Thymus vulgaris* L.) to roślina zielarska uprawiana w wielu rejonach świata, która w przemyśle spożywczym wykorzystywana jest jako przyprawa wzbogacająca smak i aromat produktów. Ziele tymianku jest źródłem olejku eterycznego, flawonoidów, garbników, fenolokwasów, związków triterpenowych, substancji goryczkowych, saponin, witamin i związków mineralnych [24]. Olejek eteryczny, który stanowi główny produkt wtórnego metabolizmu tymianku, uważany jest za jeden z najważniejszych wyróżników jakości surowca. Jego zawartość i skład chemiczny są uzależnione od czynników biologicznych, agrotechnicznych oraz warunków przetwarzania i przechowywania [11, 24].

Sezonowa dostępność ziół stwarza konieczność ich utrwalania. Suszenie, jako metoda utrwalania produktów, ogranicza wzrost mikroorganizmów i przebieg reakcji biochemicznych, przy czym może wpływać na zmianę cech sensorycznych oraz skład chemiczny [47]. Także metoda suszenia ziół w znacznym stopniu wpływa na zmianę postaci i właściwości materiału wyjściowego [42]. Suszenie prowadzone w warunkach naturalnych (na otwartej przestrzeni lub pod zadaszeniem) jest najstarszym sposobem utrwalania surowca zielarskiego, lecz obecnie odchodzi się od tej metody, ponieważ proces jest długotrwały i nie pozwala na regulację parametrów suszenia, co powoduje, że jakość otrzymanego suszu jest niska. Najczęściej stosowaną metodą utrwalania ziół i warzyw przyprawowych w Polsce jest suszenie gorącym powietrzem, a kluczowym parametrem tego procesu jest temperatura. Niewłaściwa temperatura suszenia może powodować niepożądane zmiany profilu sensorycznego przypraw oraz straty termolabilnych związków, co wynika z dużej wrażliwości tych substancji na destrukcyjne działanie podwyższonej temperatury [42]. Poszukuje się więc alternatywnych metod suszenia, pozwalających na skrócenie czasu i łatwą kontrolę procesu oraz uzyskanie suszu o wysokiej jakości [27]. Liofilizacja jest procesem polegającym na usunięciu wody z zamrożonego produktu w wyniku sublimacji lodu. Podczas tego procesu większość reakcji biochemicznych i mikrobiologicznych zostaje zahamowana, dzięki czemu uzyskuje się produkt o dobrej jakości i trwałości [34]. Innym sposobem utrwalania produktów jest zastosowanie promieniowania mikrofalowego. Ta metoda suszenia wpływa korzystnie na wiele właściwości produktów, m.in. na zachowanie barwy

i aromatu, jak również składu chemicznego, w tym składników biologicznie aktywnych [27, 43].

Celem pracy było określenie wpływu metody suszenia tymianku na cechy sensoryczne ziela oraz zawartość i skład olejku eterycznego.

Materiał i metody badań

Materiał doświadczalny stanowiło ziele tymianku właściwego (*Thymus vulgaris* L.) odmiany 'Słoneczko', pochodzącego z uprawy doświadczalnej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, prowadzonej w 2013 r. Materiał roślinny zbierano w pierwszej dekadzie września, dzielono na cztery części i suszono czterema metodami: naturalnie, konwekcyjnie, mikrofalowo oraz sublimacyjnie (liofilizacja). Suszenie naturalne wykonywano w zacienionym pomieszczeniu w temperaturze ok. 20 - 22 °C przez 5 dni. Proces suszenia konwekcyjnego prowadzono w suszarce laboratoryjnej (ED/FD, firmy Binder GmbH, Niemcy), w strumieniu powietrza o temp. 40, 50 i 60 °C, przepływającego równoległe do warstwy materiału z prędkością 0,5 m·s⁻¹. Suszenie sublimacyjne prowadzono w liofilizatorze laboratoryjnym (Christ LOC-1m firmy ALPHA 1-4) przy stałych parametrach: temperatura półki – 30 °C, ciśnienie – 63 Pa. Próbki tymianku zamrażano uprzednio konwekcyjnie w zamrażarce komorowej w powietrzu o temp. -24°C. Suszenie mikrofalowe prowadzono w laboratoryjnej suszarce mikrofalowej (Plazmotronika SM-200), stosując moc mikrofal 360 W, przy prędkości przepływu powietrza o temp. 20 °C wynoszącej 0,5 m·s⁻¹.

Świeży (zebrany bezpośrednio przed oceną) i wysuszony materiał poddawano analizie sensorycznej, zgodnie z PN-ISO 6658:1998 [29], przez 8-osobowy, przeszkolony zespół o sprawdzonej wrażliwości sensorycznej [15]. Ocenę przeprowadzono metodą profilowania z wykorzystaniem jednobiegunowych skal kategorii (ocena barwy i zapachu) [8, 22]. W metodzie profilowania zastosowano 6-punktową skalę, w której najwyższe noty oznaczały największą intensywność badanej cechy. W ziele tymianku określano barwy: zieloną, żółtozieloną, żółtooliwkową i brunatnooliwkową. W próbkach określano intensywność zapachu oraz wyróżniono 4 deskryptory zapachu: świeży, zielny, balsamiczny i korzenny. Jako wynik oceny przyjmowano wartości średnie z oceny poszczególnych cech sensorycznych.

Zawartość olejku eterycznego w ziele świeżym i suszonym oznaczano metodą hydrodestylacji według PN-ISO 6571 [30]. Metoda polegała na oddestylowaniu z parą wodną olejku z próbek materiału, zebraniu destylatu w części pomiarowej aparatu i odczycie objętości zebranego olejku. Wyniki przeliczano na suchą masę ziela i poddawano analizie wariancji ANOVA, w programie SAS (8.2 SAS Institute, Cary, N.C.). Analizę ilościową i jakościową olejków lotnych wykonywano metodą chromatografii gazowej (GC/MS) z detektorem masowym Varian 4000 MS/MS (zakres skanowania:

40 - 1000 u, czas skanowania 0,8 s, kolumna: 30 m × 0,25 mm średnicy wewnętrznej × 0,25 mm grubości, Varian, USA). Temperatura dozownika wynosiła 280 °C. Stosowano gradient temperatury: 35 °C przez 2 min, a następnie przyrost o 4 °C do 280 °C. Analizę jakościową prowadzono na podstawie widm MS, porównując je z widmami z biblioteki NIST/EPA/NIH [26]. Tożsamość związków potwierdzono indeksami retencji na podstawie danych literaturowych [1].

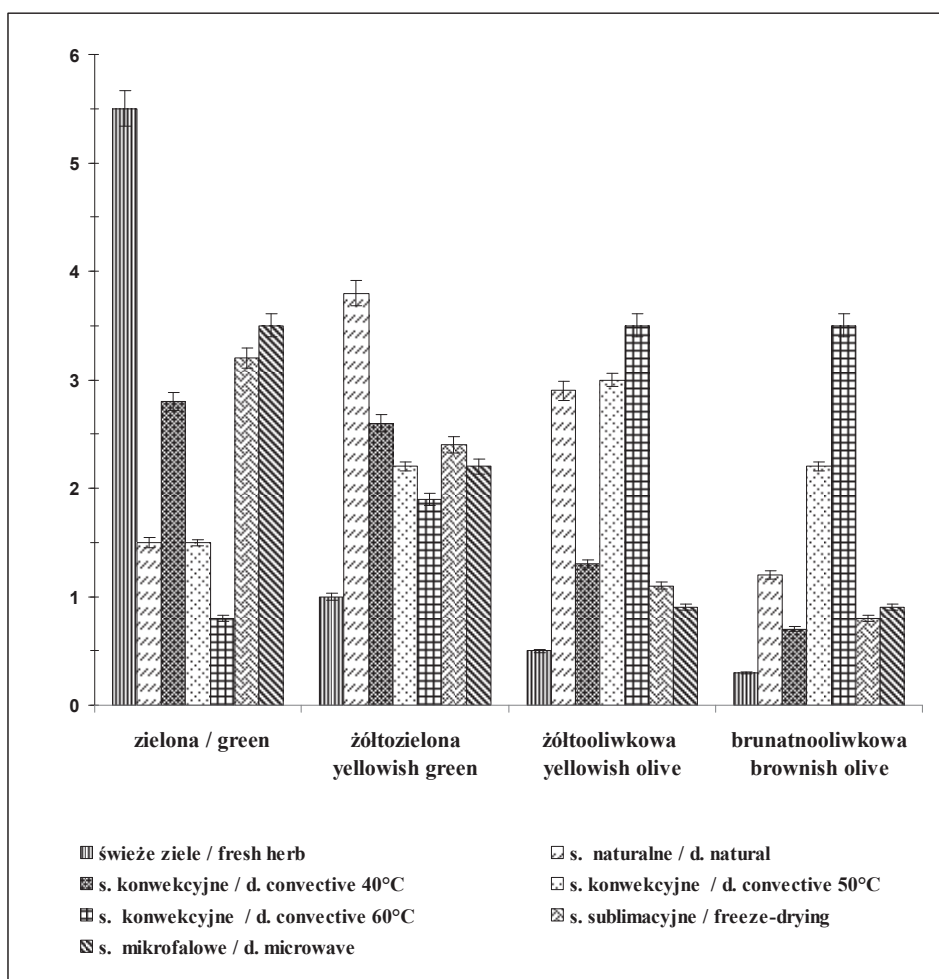
Wyniki i dyskusja

Pierwszym wyróżnikiem sensorycznym ocenianym przez konsumenta jest barwa, która może decydować o zaakceptowaniu lub odrzuceniu produktu [36]. Podczas suszenia surowca roślinnego następuje degradacja chlorofilu a i b, a tym samym zmiana barwy [47]. Barwa produktu jest w znaczący sposób zależna od zastosowanej metody suszenia, szczególnie wysoka temperatura i długi czas suszenia są przyczyną jej utraty [20]. W badaniach własnych tymianek suszony mikrofalowo w największym stopniu zachował zieloną barwę, charakterystyczną dla surowca świeżego (rys. 1).

Jak podają Nowacka i wsp. [27], w wyniku suszenia z zastosowaniem mikrofal uzyskuje się produkt o barwie w większym stopniu zbliżonej do surowca nieprzetworzonego niż podczas suszenia konwekcyjnego. Potwierdziły to także badania innych gatunków ziół: lebiodki [12, 47], mięty [7], bazylii [47] i rozmarynu [6]. W badaniach własnych suszenie sublimacyjne również pozwoliło na zachowanie zielonych barwników, dzięki czemu ziele miało korzystniejszą barwę niż suszone konwekcyjnie. W przypadku suszenia konwekcyjnego najsilniejsze brunatnienie ziela stwierdzono w najwyższej temperaturze (60 °C). Obniżanie temperatury suszenia ograniczało stratę barwników chlorofilowych wywołanych degradacją termiczną, a tym samym udział niekorzystnej barwy brunatnej i oliwkowej. Ziele suszone w warunkach naturalnych zawierało znaczny udział barwy żółtozielonej i żółtooliwkowej, co, jak podaje Arabhosseini i wsp. [4], może wynikać z rozkładu chlorofilu na skutek długiego czasu trwania tego procesu.

W produkcji żywności ważne jest zachowanie odpowiedniego zapachu produktu, o którym w przypadku przypraw decydują m.in. olejki eteryczne. W badaniach własnych największą intensywnością zapachu charakteryzowało się ziele świeże (rys. 2). W przypadku próbek utrwalanych, surowiec suszony mikrofalowo i liofilizowany został oceniony jako najbardziej aromatyczny, pomimo że zawartość w nim olejku była mała (rys. 2, tab. 1). Prawdopodobnie na ocenę intensywności zapachu wpływał wyższy udział tymolu w olejku eterycznym tych próbek (tab. 1). Wysoka retencja aromatu jest jedną z ważnych zalet suszenia mikrofalowego i sublimacyjnego [27]. Wysoką intensywność aromatu w wyniku zastosowania tych metod utrwalania w porównaniu z suszeniem konwekcyjnym osiągnięto w przypadku lebiodki [14], rozmarynu [41] oraz bazylii [10]. W badaniach własnych ziele suszone konwekcyjnie

w temp. 50 i 60 °C oceniono najniżej za intensywność zapachu. Lotne związki aromatyczne olejku eterycznego są bardzo wrażliwe na działanie podwyższonej temperatury [27]. Jak podają Śledź i Witrowa-Rajchert [42], w przypadku wielu gatunków ziół niższa temperatura procesu (zbliżona do temperatury pokojowej) skutkuje zachowaniem znacznej ilości związków odpowiedzialnych za aromat ziół, co znalazło potwierdzenie także w niniejszych badaniach.



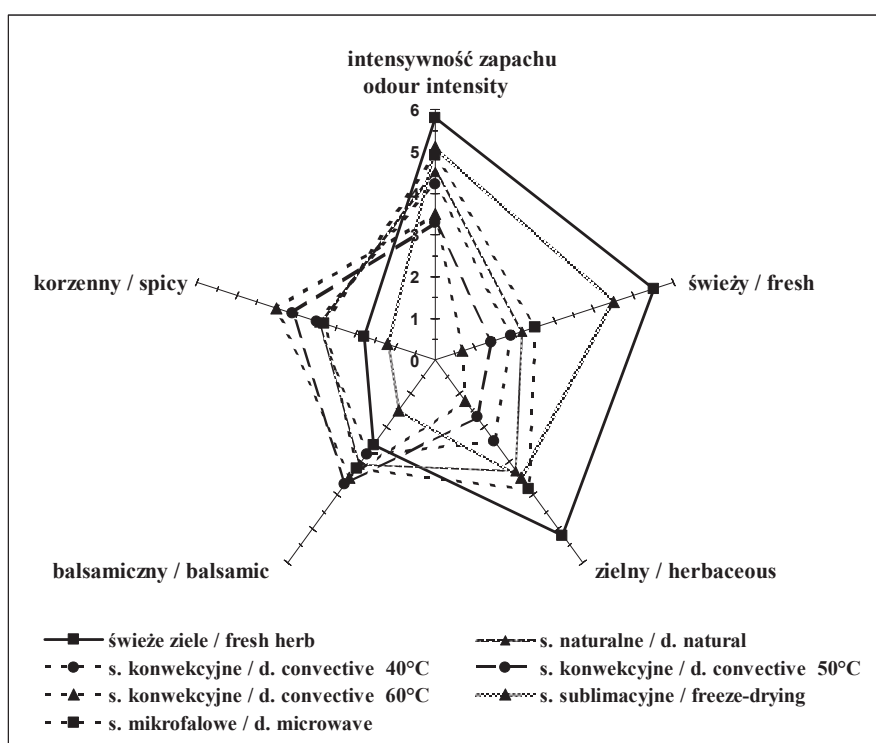
Objaśnienia: / Explanatory notes:

Na rysunku przedstawiono wartości średnie (w postaci słupków) \pm odchylenia standardowe / The Figure shows mean values (as bar graphs) \pm standard deviations.

Rys. 1. Barwa ziela tymianku suszonego różnymi metodami

Fig. 1. Colour of thyme herb dried using different methods

Metoda suszenia znacząco wpływała na intensywność głównych cech sensorycznych tymianku. W świeżym ziele najwyższej oceniono deskryptory zapachu: świeży (5,5) i zielny (5,2), które są uznawane za wskaźniki świeżości (rys. 2). Po odwodnieniu ziela intensywność tych wyróżników zmniejszyła się, stąd najniżej oceniono próbki suszone konwekcyjnie w temperaturze 60 °C (świeży – 0,7; zielny – 1,2). Wyróżniki zapachu: balsamiczny i korzenny były charakterystyczne dla surowca wysuszonego w temp. 50 i 60 °C. Surowiec suszony sublimacyjnie uważany jest za produkt o wysokich walorach aromatycznych [34].



Rys. 2. Intensywność i wyróżniki zapachu ziela tymianku w zależności od metod suszenia
Fig. 2. Intensity and descriptors of odour of thyme herb depending on drying methods

W badaniach własnych tymianek wysuszony sublimacyjnie oceniono wysoko za cechy zapachowe: świeży (4,5) i zielny (3,5). Próbkę wysuszoną mikrofalowo charakteryzowały się średnim poziomem intensywności cech zapachowych typowych dla wysuszonego surowca (zapach balsamiczny – 3,2, korzenny – 2,8), przy czym zachowały także korzystny poziom cech zapachowych typowych dla surowca świeżego (świeży – 2,5, zielny – 3,8) – rys 2. Ziele suszone w warunkach naturalnych uzyskało noty pośrednie pomiędzy próbkami świeżymi i suszonymi mikrofalowo (rys. 2).

Zawartość olejku eterycznego w preparatach tymianku wahała się w granicach $1,49 \div 3,04 \text{ ml} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \text{ s.m.}$ i była zbliżona do wyników Kołodziej [17] oraz Marzec i wsp. [23], ale znacznie większa od podawanej przez Sharafzadeh i wsp. [39] oraz Syamasundar i wsp. [40]. Najwięcej olejku eterycznego oznaczono w świeżym ziele tymianku. Suszenie spowodowało ubytek olejku o $8 \div 50,9 \%$ (tab. 1). W surowcu utrwalonym najwięcej olejku zachowało ziele suszone naturalnie oraz konwekcyjnie w temp. $40 \text{ }^\circ\text{C}$, natomiast największe straty olejku wystąpiły pod wpływem wysokiej temperatury ($60 \text{ }^\circ\text{C}$). Podobne wyniki uzyskali Sárosi i wsp. [37]. Dodatnią korelację między temperaturą suszenia a ubytkiem olejku wykazano również w przypadku bazylii [10], lebiodki [12], szalwii [45], melisy [5] oraz mięty [9]. Jak podają Argyropoulos i Müller [5], straty olejku na skutek działania wysokiej temperatury mogą wynikać m.in. z destrukcji komórek skórki organów roślinnych. W badaniach własnych suszenie sublimacyjne spowodowało zmniejszenie zawartości olejku eterycznego o $38,8 \%$, co może wynikać z uszkodzenia gruczołów olejkowych powodowanego tą techniką suszenia [2, 13]. Także suszenie mikrofalowe wywołało znaczącą stratę (o $24,7 \%$) lotnych związków tymianku.

Zachowanie się substancji lotnych pod wpływem metody i temperatury suszenia zależy od gatunku surowca. Sellami i wsp. [39] stwierdzili, że suszenie konwekcyjne liści wawrzynu szlachetnego w temp. 45 lub $65 \text{ }^\circ\text{C}$ przyczyniło się do znacznej utraty olejków eterycznych. Suszenie konwekcyjne estragonu w temp. 45 , 60 i $90 \text{ }^\circ\text{C}$ wykazało większe straty zawartości olejków w temp. 45 i $60 \text{ }^\circ\text{C}$ niż w $90 \text{ }^\circ\text{C}$ [3]. Podobnie w kwiatostanach rumianku pospolitego wykazano niewielkie straty olejku pod wpływem temp. $80 \text{ }^\circ\text{C}$ [25]. W przypadku *Thymys daenensis* subsp. *daenensis*, Rahimmalek i Goli [33] stwierdzili, że największe straty olejku powoduje suszenie w warunkach naturalnych i mikrofalami, podczas gdy liofilizacja pozwoliła zachować jego dużą zawartość. Różnice reakcji różnych gatunków na warunki i temperaturę suszenia mogą być spowodowane przez rodzaj i lokalizację gruczołów olejkowych oraz skład olejku, tak więc, aby określić najlepszy sposób suszenia niezbędna jest indywidualna analiza każdego gatunku roślin zawierających olejki.

Analiza GC/MS pozwoliła na zidentyfikowanie od $95,15$ do $99,23 \%$ składników olejku eterycznego tymianku. Łącznie zidentyfikowano 38 związków, w większości należących do grupy monoterpenoidów oraz ich estrów, a także związki seskwiterpenoidowe oraz ich tlenowe pochodne. Inne związki, takie jak: aldehydy, estry, alkohole, były obecne w nieznacznym stężeniu (tab. 1). Suszenie konwekcyjne, szczególnie w wysokich temperaturach, najbardziej zmniejszyło łączną zawartość związków lotnych w tymianku w porównaniu ze świeżym ziele. Podobnie Venskutonis [45] stwierdził ubytek związków lotnych tymianku pod wpływem suszenia gorącym powietrzem. Wykazał on także więcej substancji lotnych w liofilizowanym ziele tymianku niż w suszonym naturalnie. Zdaniem tego autora liofilizacja surowca zapewnia naj-

wyższą jakość produktu. W badaniach własnych próbki suszone sublimacyjnie zawierały mniej związków lotnych niż suszone w warunkach naturalnych, co jest zgodne z wynikami uzyskanymi przez Raghavana i wsp. [32]. Podobnie Usai i wsp. [44] uważają, że suszenie w temperaturze pokojowej powoduje zachowanie substancji lotnych tymianku w większym stopniu niż liofilizacja.

Dominującym składnikiem badanego olejku tymiankowego był tymol, którego zawartość wahała się w przedziale 50,8 ÷ 59,5 %. Drugim pod względem ilościowym był *p*-cymen – 11,24 ÷ 21,45 %. Suma czterech głównych składników (tymol, *p*-cymen, γ -terpinen i karwakrol) w badanym oleju tymianku kształtowała się na poziomie 79,95 ÷ 82,83 %.

Tymianek pospolity jest rośliną wykazującą dużą zmienność składu chemicznego olejku. Raal i wsp. [31] podają, że w oleju pochodzącym z Holandii i Estonii dominował tymol, natomiast olejki z Francji, Węgier, Rosji i Szkocji były bogate także w *p*-cymen. Włoski tymianek poza tymolem zawierał też w większych ilościach γ -terpinen [44], a w oleju z tymianku ze wschodniego Maroka stwierdzono wysoki udział kamfory (38,5 %) [16]. Viuda-Martos i wsp. [46] oznaczyli terpinen-4-ol jako związek dominujący w oleju tymiankowym pochodzącym z Hiszpanii, a Lisi i wsp. [21] wykazali 58-procentowy udział linalolu w oleju roślin rosnących we Włoszech, zaś Raal i wsp. [31] – 83,5 % karwakrolu w oleju z Grecji. Te dane dowodzą istotnego wpływu czynników genetycznych i środowiskowych na skład ilościowy i jakościowy olejku eterycznego. Niemniej w większości prac, dotyczących składu jakościowego olejku eterycznego tymianku pochodzącego z różnych rejonów świata, wskazuje się na tymol jako składnik dominujący.

Suszenie istotnie wpływa na skład i proporcje poszczególnych składników olejku eterycznego [11, 35]. W badaniach własnych udział najważniejszego składnika – tymolu uległ zmniejszeniu w procesie suszenia, przy czym ubytek był najmniejszy podczas suszenia sublimacyjnego i mikrofalowego. Venskutonis [45] oraz Sarosi i wsp. [37] stwierdzili największą zawartość tymolu w próbkach liofilizowanych. Także Usai i wsp. [44] podają, że olejek pozyskany z ziela suszonego sublimacyjnie zawierał więcej tymolu niż z suszonego konwekcyjnie. Natomiast Calín-Sánchez i wsp. [11] najwięcej tego składnika wykazali w suszu mikrofalowym. W badaniach własnych najmniej tymolu stwierdzono w oleju z surowca suszonego w warunkach naturalnych, co jest zgodne z wynikami Usaia i wsp. [44] oraz Raghavana i wsp. [32], którzy uważają, że dłuższy czas suszenia może spowodować zmniejszenie ilości tego związku. Podobną zależność stwierdzono także w badaniach dotyczących *Thymus daenensis* subsp. *daenensis* Cleak, w których najmniejszym udziałem tymolu charakteryzował się olejek z próbek suszonych w sposób naturalny, w cieniu, w porównaniu z suszeniem mikrofalowym oraz powietrzem o temp. 50 i 70 °C i sublimacyjnym [33]. Niemniej Roch

i wsp. [35] nie wykazali istotnych różnic pod względem zawartość tymolu w surowcu suszonym w warunkach naturalnych i konwekcyjnie (w zakresie temp. 30 ÷ 70 °C).

Tabela 1. Zawartość [ml·100 g⁻¹ s.m.] i skład olejku eterycznego [%] w tymianku, w zależności od metody suszenia

Table 1. Content [ml·100 g⁻¹ d.m.] of essential oil in thyme and its composition [%] depending on drying method

Lp. No.	Związek Compound	Indeks retencji RI*	Ziele świeże Fresh herb	Suszenie Drying					
				natu- ralne natural	konwekcyjne convective [°C]			sublima- cyjne freeze- drying	mikro- falowe micro- wave
					40	50	60		
1	α -thujon	926	0,61	0,52	0,43	0,34	0,28	0,40	0,51
2	α -pinen	936	0,31	0,54	0,72	0,86	0,95	0,56	0,45
3	kempfen	951	0,38	0,41	0,47	0,59	0,46	0,78	0,63
4	β -pinen	980	0,20	0,17	0,15	0,21	0,13	0,25	0,18
5	1-okten-3-ol	984	0,17	0,18	0,29	0,15	0,14	0,16	0,22
6	myrcen	994	1,50	1,04	1,63	1,86	1,38	0,98	1,69
7	3-oktanol	1002	0,17	0,13	0,29	0,16	0,15	0,14	0,22
8	α -felandren	1009	0,25	0,21	0,23	0,18	0,15	0,12	0,28
9	δ -2-karen	1014	0,12	0,08	0,11	0,15	0,12	0,10	0,05
10	α -terpinen	1021	0,95	1,26	1,09	1,29	1,47	1,12	1,05
11	<i>p</i> -cymen	1028	11,24	21,45	14,69	17,21	17,53	11,97	12,02
12	limonen	1032	0,31	0,24	0,29	0,25	0,21	0,2	0,23
13	β -felandren	1034	0,01	0,04	0,03	0,05	0,03	0,06	0,02
14	1,8-cyneol	1036	0,77	0,52	0,63	0,67	0,69	0,48	0,45
15	β -E-ocimen	1050	0,01	0,02	0,04	0,03	0,02	0,06	0,01
16	γ -terpinen	1060	7,71	6,23	6,19	5,46	5,24	4,38	7,13
17	<i>cis</i> -hydrat sabinenu	1071	0,79	0,68	0,76	0,72	0,71	0,81	0,63
18	terpinolen	1184	0,1	0,09	0,09	0,08	0,07	0,03	0,11
19	linalol	1199	1,98	1,75	1,54	1,42	1,49	1,89	1,46
20	<i>trans</i> -hydrat sabinenu	1104	0,65	0,49	0,57	0,52	0,45	0,37	0,77
21	kamfora	1152	0,42	0,33	0,31	0,29	0,21	0,54	0,42
22	borneol	1180	1,19	1,25	1,21	1,2	1,22	1,13	1,18
23	terpinen-4-ol	1187	0,18	0,34	0,31	0,26	0,32	0,19	0,20
24	α -terpineol	1205	0,11	0,13	0,16	0,14	0,12	0,2	0,11
25	metylotymol	1234	0,77	0,84	0,82	0,88	0,93	0,85	0,72
26	metylokarwakrol	1243	0,35	0,38	0,33	0,25	0,24	0,31	0,30
27	tymol	1303	59,5	50,8	54,1	52,3	51,0	59,1	58,3
28	karwakrol	1310	4,38	4,02	4,67	4,56	5,54	5,89	4,61
29	α -kopaen	1381	0,11	0,10	0,12	0,15	0,14	0,16	0,13
30	E-kariofilen	1426	2,65	2,25	2,55	2,13	2,01	2,18	2,60
31	α -humulen	1462	0,15	0,18	0,13	0,11	0,12	0,17	0,16
32	γ -muurolen	1485	0,11	0,13	0,18	0,17	0,12	0,19	0,12
33	germakren D	1494	0,12	0,14	0,15	0,13	0,11	0,10	0,15
34	α -muurolen	1509	0,09	0,15	0,14	0,15	0,11	0,14	0,10

35	γ -kadinen	1525	0,31	0,24	0,21	0,25	0,20	0,18	0,22
36	tlenek kariofilenu	1593	0,25	0,31	0,46	0,48	0,92	0,52	0,41
37	α -kadinol	1671	0,16	0,10	0,12	0,09	0,08	0,13	0,18
38	Z,E-farnezol	1711	0,15	0,16	0,17	0,11	0,09	0,15	0,13
Suma związków / Total			99,23	97,90	96,38	95,94	95,15	96,99	98,15
Zawartość olejku Content of essential oil			3,04 ^a	2,84 ^{ab}	2,68 ^b	2,10 ^{cd}	1,49 ^e	1,86 ^d	2,29 ^c

Objaśnienia: / Explanatory notes:

* - indeks retencji wyliczony według Kovatsa / Retention Index according to Kovats calculation;

a - e – wartości średnie oznaczone tymi samymi literami w obrębie różnych próbek nie różnią się statystycznie istotnie ($p > 0,05$) / mean values denoted by the same letters within different samples do not differ statistically significantly ($p > 0,05$)

W surowcu odwodnionym zmniejszył się także udział E-kariofilenu oraz linalolu, a wzrósł – karwakrolu (z wyjątkiem suszenia naturalnego). Biorąc pod uwagę sumę podstawowych składników olejku (tymol, *p*-cymen, γ -terpinen i karwakrol) zauważono, że próbki suszone w warunkach naturalnych i mikrofalami miały udział tych związków zbliżony do uzyskanych ze świeżego ziela.

W badaniach własnych stwierdzono ujemną zależność między udziałem *p*-cymenu, (prekursora tymolu) a głównym składnikiem olejku – tymolem, co jest zgodne z danymi literaturowymi [28, 38].

Wnioski

1. Porównując kilka metod suszenia tymianku stwierdzono, że najkorzystniejszymi cechami sensorycznymi charakteryzowało się ziele suszone sublimacyjnie i mikrofalowo. Obydwie metody pozwoliły na zachowanie intensywnego zapachu oraz korzystnej barwy. Najniżej pod względem aromatu i barwy oceniono tymianek suszony konwekcyjnie w temp. 50 i 60 °C.
2. Największe straty olejku wystąpiły w surowcu suszonym konwekcyjnie w temp. 60 °C oraz w liofilizowanym, a najwięcej olejku zachowało ziele suszone naturalnie oraz konwekcyjnie w temp. 40 °C.
3. Suszenie zmniejszyło całkowitą zawartość związków lotnych w olejku tymiankowym w porównaniu ze świeżym ziele. Największy ubytek związków aromatycznych stwierdzono pod wpływem suszenia gorącym powietrzem oraz podczas liofilizacji.
4. Dominującym związkiem w olejku tymiankowym był tymol, który ilościowo stanowił ponad 50 % ogółu związków lotnych. Spośród porównywanych metod suszenia najbardziej sprzyjające zachowaniu zawartości olejku było suszenie sublimacyjne oraz mikrofalowe. Największe ubytki stwierdzono natomiast podczas suszenia w warunkach naturalnych i konwekcyjnego w temp. 60 °C. W trakcie su-

szenia następował także ubytek E-kariofilenu i linalolu, natomiast zwiększał się udział: p-cymenu i karwakrolu.

5. W przypadku wykorzystania tymianku w przemyśle spożywczym najkorzystniejsze jest suszenie konwekcyjne w temperaturze 40 °C, które powoduje małe straty olejku i tymolu. Natomiast pod względem właściwości sensorycznych (barwa, zapach), które są istotne dla przypraw, najkorzystniej na jakość ziela wpływało suszenie sublimacyjne oraz mikrofalami.

Literatura

- [1] Adams R.P.: Identification of essential oil compounds by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. Allured Pub. Crop., Carol Stream, IL, 2004.
- [2] Antal T., Kerekes B., Sikolya L.: Effect of vacuum freeze-drying on quality of lemon balm leaves (*Melissa officinalis*, L.). Analele Universităţii din Oradea, Fascicula: Protecţia Mediului, 2012, **19**, 1-10.
- [3] Arabhosseini A., Huisman W., van Boxtel A., Müller J.: Long-term effects of drying conditions on the essential oil and color of tarragon leaves during storage. J. Food Eng., 2007, **79**, 561-566.
- [4] Arabhosseini A., Padhye S., Huisman W., van Boxtel A., Müller J.: Effect of drying on the color of tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) leaves. Food Bioprocess Technol., 2011, **4(7)**, 1281-1287.
- [5] Argyropoulos D., Müller J.: Effect of convective-, vacuum- and freeze drying on sorption behaviour and bioactive compounds of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). J. Appl. Res. Med. Aromat. Plants 2014, **1**, 59-69.
- [6] Arslan D., Özcan M.M.: Evaluation of drying methods with respect to drying kinetics, mineral content and colour characteristics of rosemary leaves. Energ. Convers. Manage., 2008, **49**, 1258-1264.
- [7] Arslan D., Özcan M.M., Okyay Mengeş H.: Evaluation of drying methods with respect to drying parameters, some nutritional and colour characteristics of peppermint (*Mentha x piperita* L.). Energ. Convers. Manage., 2010, **51**, 2769-2775.
- [8] Barylko-Pikielna N., Matuszewska I.: Sensoryczne badania żywności. Podstawy. Metody. Zastosowania. Wyd. II. Wyd. Nauk. PTTŻ, Kraków 2014.
- [9] Blanco M.C.S.G., Ming L.C., Marques M.O.M., Bovi O.A.: Drying temperature effects in peppermint essential oil content and composition. Acta Hort., 2002, 569, 95.
- [10] Calín-Sánchez A., Lech K., Szumny A., Figiel A., Carbonell-Barrachina A.A.: Volatile composition of sweet basil essential oil (*Ocimum basilicum* L.) as affected by drying method. Food Res. Int., 2012, **48**, 217-22.
- [11] Calin-Sanchez A., Figiel A., Lech K., Szumny A., Carbonell-Barrachina A.A.: Effects of drying methods on the composition of Thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oil. Dry. Technol., 2013, **2(31)**, 224-235.
- [12] Di Cesare L.F., Forni E., Viscardi D., Nani R.C.: Influence of drying techniques on the volatile phenolic compounds, chlorophyll and colour of oregano (*Origanum vulgare* L. ssp. *prismaticum* Gaudin). Ital. J. Food. Sci., 2004, **2(16)**, 165-175.
- [13] Díaz-Maroto M.C., Pérez-Coello M.S., Gonzalez Vinas M.A., Cabezudo M.D.: Influence of drying on the flavour quality of spearmint (*Mentha spicata* L.). J. Agric. Food Chem., 2003, **50**, 1265-1269.
- [14] Figiel A., Szumny A., Gutiérrez-Ortiz A., Carbonell-Barrachina Á.A.: Composition of oregano essential oil (*Origanum vulgare*) as affected by drying method. J. Food Eng., 2010, **98**, 240-247.

- [15] Gawęcka J., Jędryka T.: Analiza sensoryczna, wybrane metody i przykłady zastosowań. Wyd. AE, Poznań 2001, ss. 160-163.
- [16] Imelouane B., Amhamdi H., Wathelet J.P., Ankit M., Khedid K., El Bachiri A.: Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of thyme (*Thymus vulgaris*) from Eastern Morocco. Int. J. Agric. Biol., 2009, **2** (11), 205-208.
- [17] Kołodziej B.: The effect of plantation establishment method and foliar fertilization on the yields and quality of thyme. Annales UMCS, Sec. E, 2009, **2** (64), 1-7.
- [18] Korczak J.: Przyprawy i ich rola w kształtowaniu jakości sensorycznej produktów spożywczych i potraw. W: Zmysły a jakość żywności i żywienia. Red. Gawęcki J., Baryłko-Pikielna N. Wyd. AR, Poznań 2007, 111-128.
- [19] Kostrzewa E.: Przyprawy ziołowe stosowane w przemyśle spożywczym. Przem. Spoż. 1999, **3**, 14-16.
- [20] Krokida M.K., Maroulis Z.B.: Effect of microwave drying on some quality properties of dehydrated products. Dry. Technol., 1999, **17**, 449-466.
- [21] Lisi A.D., Tedone L., Montesano V., Sarli G., Negro D.: Chemical characterization of *Thymus* populations belonging from Southern Italy. Food Chem., 2011, **4** (125), 1284-1286.
- [22] Matuszewska I.: Przydatność sensorycznej metody profilowej w interpretacji preferencji konsumenckich wybranych produktów. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 1998, **1** (14), 5-21.
- [23] Marzec M., Polakowski C., Chilczuk R., Kołodziej B.: Evaluation of essential oil content, its chemical composition and price of thyme (*Thymus vulgaris* L.) raw material available in Poland. Herb. Pol., 2010, **3** (56), 37-52.
- [24] Mewes S., Krüger H., Pank F.: Physiological, morphological, chemical and genomic diversities of different origins of thyme (*Thymus vulgaris* L.). Gen. Res. Crop Evol. 2008, **8** (55), 1303-1311.
- [25] Müller J., Köll-Weber M., Kraus W., Mühlbauer W.: Trocknungsverhalten von Kamille (*Chamomilla recutita* L. Rauschert). Z. Arznei Gewürzpfl., 1996, **1**, 104-110.
- [26] NIST/EPA/NIH. Mass Spectral Library, USA, 2008.
- [27] Nowacka M., Śledź M., Wiktor A., Witrowa-Rajchert D.: Fizyczne i chemiczne właściwości produktów spożywczych suszonych z wykorzystaniem mikrofal. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2012, **6** (85), 5-20.
- [28] Piccaglia R., Marotti M.: Composition of the essential oil of an Italian *Thymus vulgaris* L. ecotype. Flavour Fragr. J., 1991, **6**, 241-244.
- [29] PN-ISO 6658:1998 Analiza sensoryczna. Metodologia. Wytyczne ogólne.
- [30] PN-ISO 6571: 2009. Przyprawy i zioła. Oznaczanie zawartości olejku eterycznego.
- [31] Raal A., Arak E., Orav A.: Comparative chemical composition of the essential oil of *Thymus vulgaris* L. from different geographical sources. Herba Pol., 2005, **1/2**, 10-17.
- [32] Raghavan B., Abraham K.O., Koller W.D.: Flavour quality of fresh and dried Indian thyme *Thymus vulgaris* L. Pafai J., 1995, **4** (17), 9-14.
- [33] Rahimmalek M., Goli S.A.H.: Evaluation of six drying treatments with respect to essential oil yield, composition and color characteristics of *Thymys daenensis* subsp. *daenensis*. Celak leaves. Ind. Crops Prod., 2013, **42**, 613-619.
- [34] Ratti C.: Hot air and freeze drying of high value foods. J. Food Eng., 2001, **49**, 311-319.
- [35] Rocha R.P., Melo E.C., Barbosa L.C.A., Corbin J.B., Berbet P.A.: Influência do processo de secagem sobre os principais componentes químicos do óleo essencial de tomilho (en. Influence of the drying process on the quality of thyme essential oil). Rev. Ceres, Viçosa, 2012, **5** (59), 731-737.
- [36] Rożnowski J.: Ocena barwy produktów spożywczych. Laboratorium, 2006, **5**, 36-43.
- [37] Sárosi S., Sipos L., Kókai Z., Pluhár Z., Szilvássy B., Nová K.I.: Effect of different drying techniques on the aroma profile of *Thymus vulgaris* analyzed by GC-MS and sensory profile methods. Ind. Crops Prod., 2013, **46**, 210-216.

- [38] Sharafzadeh S., Alizadeh O., Vakili M.: Effect of nitrogen sources and levels on essential oil components of *Thymus vulgaris* L. Aust. J. Basic Appl. Sci., 2011, **5** (10), 885-889.
- [39] Sellami I.H., Wannan W.A., Bettaieb I., Berrima S., Chahed T., Marzouk B., Limam F.: Qualitative and quantitative changes in the essential oil of *Laurus nobilis* L. leaves as affected by different drying methods. Food Chem., 2011, **126**, 691-697.
- [40] Syamasundar K.V., Srinivasulu B., Stephen A., Ramesh, S., Rao R.R.: Chemical composition of volatile oil of *Thymus vulgaris* L. from Western Ghats of India. J. Spices Aroma. Crops., 2011, **3** (17), 255-258.
- [41] Szumny A., Figiel A., Gutiérrez-Ortiz A., Carbonell-Barrachina Á.A.: Composition of rosemary essential oil (*Rosmarinus officinalis*) as affected by drying method. J. Food Eng., 2010, **97**, 253-260.
- [42] Śledź M., Witrowa-Rajchert D.: Składniki biologicznie czynne w suszonych ziołach – czy ciągle aktywne? Kosmos, 2012, **2** (61), 319-329.
- [43] Śledź M., Witrowa-Rajchert D.: Kinetics of microwave-convective drying of some herbs. Food Bioprod. Process., 2013, **4** (91), 421-428.
- [44] Usai M., Marchetti M., Foddai M., Del Caro A., Desogus R., Sanna I., Piga A.: Influence of different stabilizing operations and storage time on the composition of essential oil of thyme (*Thymus officinalis* L.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). LWT – Food Sci. Technol., 2011, **44**, 244-249.
- [45] Venskutonis P.R.: Effect of drying on the volatile constituents of thyme (*Thymus vulgaris* L.) and sage (*Salvia officinalis* L.). Food Chem., 1997, **59**, 219-227.
- [46] Viuda-Martos M., Ruíz-Navajas Y., Fernández-López J., Pérez-Álvarez J.A.: Chemical composition of the essential oils obtained from some spices widely used in Mediterranean region. Acta Chim. Slov., 2007, **4** (54), 921.
- [47] Witrowa-Rajchert D., Hankus M., Pawlak E.: Wpływ metody suszenia na zawartość chlorofilu i barwę oregano oraz bazylii. Inż. Ap. Chem., 2009, **1** (48), 70-71.

EFFECT OF DRYING METHOD ON SENSORY CHARACTERISTICS AND ESSENTIAL OIL COMPOSITION OF THYME (*THYMUS VULGARIS* L.)

S u m m a r y

As a method of preserving food including herbs, the drying process limits the development of microorganisms and the course of biochemical reactions in the raw material, but, at the same time, it affects the change in its sensory characteristics and chemical composition. A thyme herb (*Thymus vulgaris* L.) was dried using four methods: natural, convective (at a temperature of 40, 50, and 60°C), with the use of microwave, and freeze-drying. A sensory analysis was applied to evaluate the intensity of odour and its four descriptors (fresh, herbaceous, spicy, balsamic) and colour (green, yellowish green, yellowish olive, brownish olive). The content and composition of essential oil were determined in the fresh and dried thyme (by a GC-MS method). It was found that the freeze- and microwave dried thyme was characterized by the most favourable sensory characteristics; this herb had a high odour intensity and a favourable colour. The flavour and colour of the thyme dried convectively at higher temperatures (50 and 60 °C) were rated the lowest. The highest content of essential oil was found in the fresh thyme herb (3.04 ml·100g⁻¹ of dry mass). The drying caused the content of essential oil to decrease in the range between 8 % and 50.9 %. The largest losses of essential oil were recorded in the material that was dried convectively at a temperature (60 °C) and in the freeze-dried herb, whereas the naturally dried herb and that convectively dried at a temperature of 40°C had the highest amounts of essential oil. Additionally, the drying process

caused the content of aromatic compounds in the essential oil to decrease. The highest loss of those compounds occurred in the hot-air dried and freeze-dried thyme. The drying methods caused the composition of essential oil to become different. The essential oil in the naturally dried thyme was characterized by the lowest amount of the main component, i.e. of thymol, (50.8%) and the essential oil in the freeze-dried and microwave-dried thyme – by the highest amount of thymol (59.1 % and 58.3%, respectively). Also, the drying process caused the E-caryophyllene and linalool contents to decrease and the contents of p-cymene and carvacrol to decrease.

Key words: thyme, drying: natural, convective, microwave, freeze-drying, colour, odour, thymol ☒

ROBERT WITKOWICZ, ELŻBIETA PISULEWSKA, TERESA LESZCZYŃSKA,
EWA PIĄTKOWSKA, AGNIESZKA KIDACKA

PODSTAWOWY SKŁAD CHEMICZNY ORAZ AKTYWNOŚĆ PRZECIWRODNIKOWA ZIELA WYBRANYCH GENOTYPÓW OWSA SIEWNEGO (*AVENA SATIVA*)

Streszczenie

Ziele roślin zbożowych, w tym szczególnie owsa, uznawane jest za potencjalny składnik suplementów diety. Celem pracy było określenie podstawowego składu chemicznego oraz zawartości związków polifenolowych w ziele trzynastu genotypów owsa. Z przeprowadzonych badań wynika, że ziele badanych genotypów owsa nie było zróżnicowane pod względem zawartości suchej masy i tłuszczu. Zakresy zmienności wynosiły odpowiednio [%]: 93,1 ÷ 96,6 i 2,15 ÷ 3,55. Wykazano natomiast zróżnicowanie pod względem zawartości białka w ziele różnych genotypów oraz potwierdzono to statystycznie w przypadku form: tradycyjnej – 21,1 % i nagoziarnistej – 23,1%. Zawartość polifenoli ogółem w suchej masie ziela owsa różniła się statystycznie istotnie, ale nie miało to odzwierciedlenia w zróżnicowaniu aktywności przeciwrodnikowej, która wahała się w zakresie 52,80 ÷ 67,65 % RSA (Radical Scavenging Activity). Największą zawartością polifenoli ogółem w suchej masie ziela cechowała się odmiana ‘Kasztan’ (85,40 mg/100 g s.m.), a najmniejszą – ród MHR-PO-0512 (72,85 mg/100 g s.m. w przeliczeniu na kwas chlorogenowy). Potwierdzono również wzrost zawartości polifenoli ogółem w suchej masie ziela wraz ze wzrostem zawartości suchej masy.

Słowa kluczowe: ziele owsa, skład chemiczny, aktywność przeciwrodnikowa

Wprowadzenie

Ważną grupą surowców w gospodarce żywnościowej są rośliny zbożowe, w tym owies. Wysoką wartość odżywczą ziarna tego gatunku potwierdzono w wielu opracowaniach [3, 6, 9, 12, 15, 24]. Ważnym składnikiem ziarna są polifenole, będące wtór-

Dr hab. inż. R. Witkowicz, prof. dr hab. inż. E. Pisulewska, Instytut Produkcji Roślinnej, Wydz. Rolniczo-Ekonomiczny, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, al. Mickiewicza 21, 31-120 Kraków, prof. dr hab. inż. T. Leszczyńska, dr n. med. E. Piątkowska, Katedra Żywnienia Człowieka, Wydz. Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków, dr inż. A Kidacka, Małopolska Hodowla Roślin HBP Sp. z o.o., Polanowice, 32-090 Słomniki. Kontakt: rrwitkow@cyf-kr.edu.pl

nymi metabolitami roślinnymi. Związki te pełnią istotną funkcję zarówno w przebiegu ontogenezy roślin, jak i w kształtowaniu właściwości prozdrowotnych i cech sensorycznych surowca, a w konsekwencji żywności [14, 25]. Do chwili obecnej zidentyfikowano ponad 8 tys. związków zaliczanych do tej grupy, a ocena ich działania dotyczy głównie ochrony organizmu przed szkodliwym wpływem nadtlenków i rodników inicjujących procesy oksydacji, a w konsekwencji zwiększających ryzyko chorób układu krążenia, nowotworowych i innych. Jak podaje Klepacka [16], dzienne zalecane pobranie polifenoli ogółem szacuje się na $0,5 \div 1$ g na osobę. Dużą zawartość tych związków w ziarnie potwierdzili m.in. Wołoch i wsp. [31], Gani i wsp. [10], Fardet i wsp. [8], Peterson [22], Brindzova i wsp. [5] oraz Perez-Jimenez i Saura-Calixto [21]. Piątkowska i wsp. [25] oznaczyli zawartość polifenoli ogółem w całym ziarnie owsa na poziomie $142 \div 223$ mg/100 g s.m. w przeliczeniu na kwas chlorogenowy, natomiast we frakcjach młynarskich zawartość tych związków była zróżnicowana [23]. Niewiele jest danych na temat zawartości polifenoli w ziele owsa, zalecanym do spożycia m.in. w postaci naparu. Gruenwald i wsp. [13] podają, że ziele zawiera flawonoidy, takie jak: witeksyna, izowiteksyna, apigenina, izoorientyna i glikozydy trycyny. Lipiec i wsp. [17] stwierdzili znaczną ilość tych związków ($336 \div 727$ mg katechin/100 g) w kielkach owsa odmiany 'Akt', co może sugerować ich występowanie w ziele późniejszych faz rozwojowych. Nasiona i kielki owsa są na liście surowców, które mogą być składnikami suplementów diety [1]. Produkcja ziele owsa jest prosta i polega na suszeniu. Odpowiednio przeprowadzony proces zapewnia wymaganą jakość mikrobiologiczną surowca, który może zostać wykorzystany do produkcji innych wyrobów, będących nośnikami substancji o charakterze bioaktywnym. Obuchowski i wsp. [19] zaproponowali wprowadzanie suszu roślinnego (perzu, jarmużu i pokrzywy) do makaronu w celu biofortyfikacji jego składu i zwiększenia aktywności przeciwutleniającej.

Celem pracy było określenie i porównanie podstawowego składu chemicznego, zawartości polifenoli i aktywności przeciwrodnikowej ziele wybranych rodów i odmian owsa (*Avena sativa*).

Materiał i metody badań

Materiał doświadczalny stanowiło ziele genotypów owsa siewnego (*Avena sativa*), pochodzące z eksperymentu polowego przeprowadzonego w Stacji Doświadczalnej MHR HBP w Polanowicach w roku 2013. Zastosowane działania agrotechniczne nie odbiegały od przyjętych w uprawie owsa.

W badaniach uwzględniono trzynaście genotypów owsa siewnego:

- 1) formy nagoziarniste: 'Nagus' – Danko Hodowla Roślin, 'Siwek' – Małopolska Hodowla Roślin Hodowla Buraka Pastewnego (MHR HBP),
- 2) rody: MHR-PO-0111, MHR-PO-0412, MHR-PO-0512, MHR-PO-0612 (biała plewka), MHR-PO-0712,

3) odmiany tradycyjne: ‘Bingo’ – Hodowla Roślin Strzelce; ‘Borowiak’, ‘Celer’, ‘Grajcar’ i ‘Kasztan’ – MHR HBP; ‘Ivory’ (biała plewka) – Saaten Union GmbH. Genotypy, przy których nie wpisano barwy, miały plewkę żółtą.

Część zielną owsa zebrano 23 maja 2013 roku w fazie 23 BBCH (Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt und Chemische Industrie) i wysuszono w temperaturze otoczenia przy ograniczonym dostępie promieniowania rozproszonego.

W ziele owsa oznaczano zawartość suchej masy metodą wagowo-suszarkową, a w suchej masie zawartość: związków mineralnych w postaci popiołu oraz białka i tłuszczu. Skład chemiczny materiału badawczego oznaczano standardowymi metodami AOAC [2]. Oznaczano także zawartość związków polifenolowych oraz aktywność przeciwrodnikową.

Zawartość polifenoli oznaczano według Swain i Hillis [28], z odczynnikiem Foli-na-Ciocalteu’a. Wysuszone ziele mielono w młynku laboratoryjnym (QG 109), a następnie próbkę o masie 5 g ekstrahowano 40 ml 0,08 M HCl w 80-procentowym metanolu w temp. 18 ÷ 22 °C przez 2 h. Ekstrakt odwirowywano przy 1500 g przez 15 min. Pozostałość ponownie ekstrahowano 40 ml 70-procentowego acetonu przez 2 h i wirowano jak wyżej. Ekstrakty łączono i oznaczano zawartość polifenoli. Wyniki wyrażano w mg kwasu chlorogenowego w 100 g produktu.

Zdolność uzyskanych ekstraktów do eliminacji wolnych rodników określano według Re i wsp. [26], z wykorzystaniem wolnego rodnika ABTS^{•+}. Kationorodniki ABTS^{•+} rozpuszczano w roztworze nadsiarczanu potasu i rozcieńczano tak, aby absorbancja mierzona przy $\lambda = 734$ nm wynosiła 0,740 ÷ 0,750. Ekstrakt metanolowo-acetonowy (0,8 ml) uzupełniano do 1 ml mieszaniną aceton : metanol (1 : 1), a następnie dodawano 2 ml roztworu wolnego rodnika ABTS^{•+}. Ekstrakt inkubowano w temp. 30 °C przez 6 min, po czym mierzono absorbancję przy $\lambda = 734$ nm, w odniesieniu do mieszaniny metanol : aceton (1 : 1). Do oznaczenia absorbancji wykorzystano spektrofotometr Rayleigh UV-1800, Beifen-Ruili Analytical Instrument, Beijing, China. Zdolność do eliminacji wolnych rodników RSA [%] (Radical Scavenging Activity) obliczano z równania:

$$RSA = \frac{(A_1 - A_2) * 100}{A_1}$$

gdzie: A_1 - absorbancja próbki przed inkubacją, A_2 - absorbancja próbki po inkubacji.

Wszystkie cechy mierzalne poddano jednoczynnikowej analizie wariancji, ujmującej zmienność blokową oraz wykonano analizę korelacji i regresji pomiędzy wybranymi składnikami ziela owsa. Statystycznie istotne zróżnicowanie efektów potwierdzono wartościami NIR, obliczonymi po zastosowaniu testu Tukeya. Na rys. 1 - 4 podano ponadto przynależność genotypów do grup jednorodnych za pomocą małych liter alfabetu (a do j w nawiasach po nazwie genotypu). Genotypy oznaczone różnymi literami różniły się zawartością danego składnika w ziele. Podział ten dotyczy tego

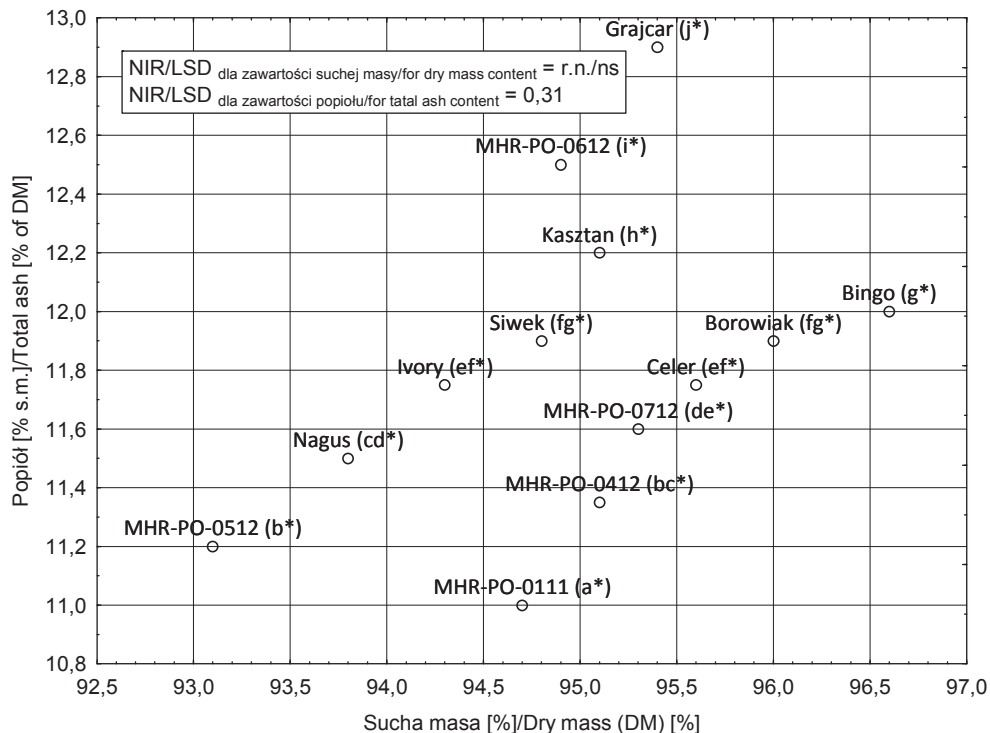
składnika, w przypadku którego wykazano statystycznie istotne zróżnicowanie pomiędzy genotypami (potwierdzone wartościami NIR). Podano również poziomy istotności dla współczynników korelacji w odniesieniu do par cech przedstawionych na rys. 3 i 4. Do obliczeń zastosowano pakiet Statistika oraz Excel.

Wyniki i dyskusja

Przeprowadzona analiza zawartości suchej masy w ziele owsa nie pozwala na wskazanie form różniących się statystycznie istotnie ($p > 0,05$) pod względem tej cechy (rys. 1). Średnia zawartość suchej masy wynosiła 95,0 %, przy obszarze zmienności $93,1 \div 96,6$ % i odchyleniu standardowym – 0,9. Na podstawie analizy wykresu można jednak stwierdzić występowanie tendencji do nieznacznie większej zawartości suchej masy w ziele zarejestrowanych, tradycyjnych odmian owsa, za wyjątkiem odmiany niemieckiego pochodzenia ‘Ivory’. Odmiana owsa ‘Nagus’ i ród MHR-PO-0512 wykazywały tendencję do gromadzenia mniejszej zawartości suchej masy w części zielnej. Pozostałe rody MHR HBP oraz formy nagoziarniste wykazywały przeciętną zawartość suchej masy w ziele. Piątkowska i wsp. [24], w badaniach obejmujących czternaście odmian owsa, również stwierdzili niewielką zmienność tej cechy, zarówno w odniesieniu do całego ziarna (formy nagoziarniste i tradycyjne), jak i do jego frakcji (otręby, bielmo, plewka).

Ziele badanych genotypów owsa cechowało się znacznym zróżnicowaniem zawartości związków mineralnych w postaci popiołu. Średnia ich zawartość wynosiła 11,81 % s.m. i obejmowała zakres zmienności $10,90 \div 12,90$ % s.m., przy odchyleniu standardowym – 0,51. Zróżnicowania statystycznego zawartości popiołu w ziele różnych genotypów dowodzi wartość NIR (rys. 1). Na podstawie wartości NIR wyznaczono dziesięć grup jednorodnych, oznaczonych literami od „a” do „j”. Genotypem o statystycznie najmniejszej zawartości popiołu był ród MHR-OP-0111. Grupę o nieznacznie większej zawartości popiołu stanowiły genotypy MHR-HBP-0512 i MHR-HBP-0412. Grupę jednorodną rodów o średniej zawartości popiołu w suchej masie ziela stanowiły odmiany ‘Ivory’, ‘Celer’, ‘Siwek’ i ‘Borowiak’. Największą zawartością popiołu charakteryzowały się odmiany ‘Kasztan’ i ‘Grajcar’ oraz ród MHR-PO-0612, tworząc zarazem odrębne grupy jednorodne. W literaturze brak jest danych na temat składu ziela roślin zbożowych w omawianym stadium rozwojowym. Skład ziela jęczmienia, ale prawdopodobnie w stadium 10-11 BBCH, podają Biezanowska-Kopeć i wsp. [4]. W tak wczesnej fazie rozwojowej roślin oznaczyli oni zawartość popiołu na poziomie 10,42 g/100 g s.m. Jest to wartość niższa od oznaczonych w ziele owsa. Wiadomo jednak, że wraz ze wzrostem roślin na ogół zwiększa się w nich zawartość suchej masy, a zarazem popiołu. Zmniejszenie zawartości popiołu i suchej masy w ziele może się ujawnić tylko w krytycznym okresie wzrostu rośliny, który u zbóż obejmuje zakres 31-49 BBCH i charakteryzuje się maksymalnym względnym przyro-

stem suchej masy [30]. Stan taki często nazywa się stanem rozcieńczenia składników, bowiem okres ten cechuje się również większą zawartością wody w tkankach. Około 1,5-procentowa różnica zawartości popiołu w ziele, po uwzględnieniu fazy rozwojowej roślin, może być więc tłumaczona tym zjawiskiem.



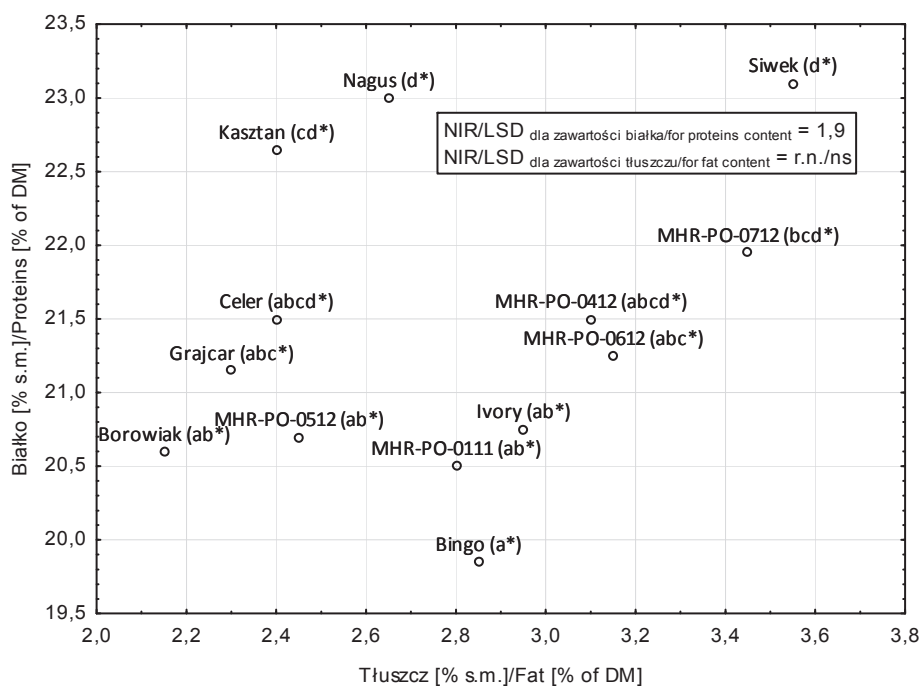
* – zob./see Materiał i metody badań

Rys. 1. Zawartość suchej masy w ziele owsa oraz zawartość popiołu ogółem w suchej masie ziela owsa
Fig. 1. Content of dry mass (d.m.) in oat grass and content of total ash in dry mass of oat grass

Zawartość białka w ziele owsa była statystycznie zróżnicowana, czego dowodzi wartość NIR (rys. 2). Wartość ta pozwala na wyodrębnienie czterech grup jednorodnych, przy czym najistotniejsze pod względem poznawczym jest porównanie skrajnych grup, gdyż tylko dwa genotypy stanowią ich część wspólną ('Celer' i MHR-PO-0412). Oprócz tych dwóch genotypów owsa do pierwszej grupy można zaliczyć odmiany 'Bingo', 'Borowiak', 'Ivory', 'Grajcar' oraz rasy MHR-PO-0111, MHR-PO-0512 i MHR-PO-0612. Drugą odrębną grupę, oprócz dwóch wcześniej wspomnianych genotypów, tworzą odmiany 'Kasztan', 'Nagus', 'Siwek' oraz ród MHR-PO-0712. Taki rozkład średnich sugerował wykonanie analizy kontrastu ortogonalnego, porównującego formy tradycyjne i nagoziarniste. W jej wyniku wykazano statystyczne zróżnicowa-

nie zawartości białka w suchej masie ziela pomiędzy formami nagoziarnistymi (23,1 %) i tradycyjnymi (21,1 %), gdyż różnica wynosiła aż 2 %, co może stanowić ważną przesłankę dla producentów i konsumentów produktów z ziela. Biezanowska-Kopeć i wsp. [4] stwierdzili wyraźnie większą zawartość białka w siewkach jęczmienia, która wynosiła 25,69 g/100 g s.m. Wartość ta jest o 2,59 g/100 g większa od największej, obserwowanej w ziele owsa. Pamiętać jednak należy o różnicy nie tylko gatunkowej, ale i wiekowej roślin.

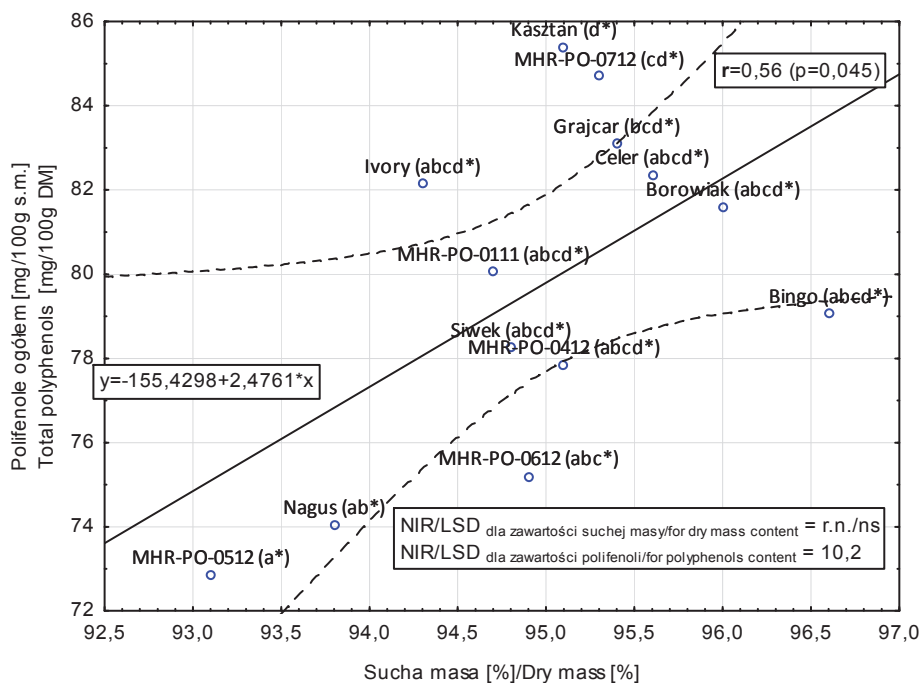
Pomiędzy próbkami ziela badanych genotypów owsa siewnego nie stwierdzono zróżnicowania pod względem zawartości tłuszczu. Średnio wynosiła ona 2,8 % s.m., przy obszarze zmienności 2,0 ÷ 4,1 % i odchyleniu standardowym – 0,59. Można jednak wskazać pewne tendencje, które w przyszłości będą wymagać potwierdzenia statystycznego, a mianowicie odmiany pochodzące z MHR HBP cechowały się mniejszą zawartością tłuszczu w ziele niż odmiany wzorcowe, a rody pochodzące z MHR HBP zawierały więcej tłuszczu niż odmiany hodowlane tej spółki.



* – zob./see Material i metody badań

Rys. 2. Zawartość białka i tłuszczu w suchej masie ziela owsa

Fig. 2. Content of proteins and fat in dry mass of oat grass



* – zob./see Materiał i metody badań

Rys. 3. Zawartość polifenoli ogółem w suchej masie ziela owsa i zawartość suchej masy w ziele

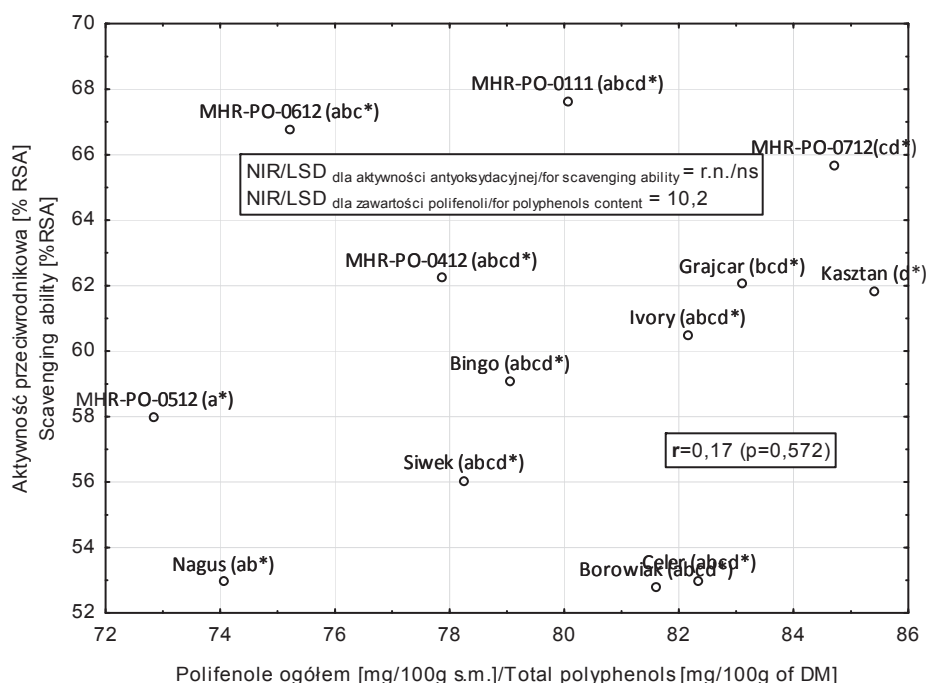
Fig. 3. Content of total polyphenols in dry mass of oat grass and content of dry mass in oat grass

Zależność pomiędzy zawartością suchej masy a zawartością w niej polifenoli ogółem była statystycznie istotna, co potwierdza współczynnik korelacji $r = 0,56$ ($p = 0,045$) (rys. 3). Zależność ta może ułatwić hodowcom selekcję pożądanych genotypów. Poza opisaną zależnością regresyjną zaobserwowano również zróżnicowanie zawartości polifenoli w ziele różnych genotypów owsa. Oznacza to występowanie form o zróżnicowanej zawartości tych składników, co potwierdza wartość NIR (rys. 3). Teoretycznie można wyodrębnić cztery grupy jednorodnej, ale w skład każdej z nich wchodzi następujący zestaw genotypów (w ujęciu wzrastającej wartości cechy): MHR-PO-0412, 'Siwek', 'Bingo', MHR-PO-0111, 'Borowiak', 'Ivory' i 'Celer'. Aby utworzyć grupę jednorodną, o najmniejszej zawartości polifenoli ogółem, należy do wymienionych powyżej dołączyć genotypy: MHR-PO-0512, 'Nagus' i MHR-PO-0612. Natomiast do powstania grupy jednorodnej o największej zawartości polifenoli ogółem w ziele, część wspólną należy poszerzyć o genotypy: 'Grajcar', MHR-PO-0712 i 'Kasztan'. Obecność tych związków w ziele owsa w postaci glikozydów potwierdza Collins [cyt. za 22]. Stwierdził on w ziele owsa obecność epigeniny, luteoliny i trycyny w postaci glikozydów, ale głównie były to 6-C i 8-C glikozydy apigeniny. Aktywność

związków fenolowych, w tym flawonoidów, uzależniona jest od liczby oraz położenia w cząsteczce grup hydroksylowych i metoksylowych [20, 27]. W przypadku wymienionych glikozydów apigeniny wspomniane grupy niemetyloksylowe nie występują, a w porównaniu z luteoliną brak grupy hydroksylowej w pozycji 3'. Szczegółową analizę aktywności przeciwutleniającej flawonoidów przedstawili Rice-Evans i wsp. [27]. Lipiec i wsp. [17] w kielkach ciemniowych owsa oznaczyli $336 \div 727$ mg katechin w 100 g s.m. Według ww. autorów zastosowane oscylacyjne pole magnetyczne spowodowało wzrost zawartości polifenoli i aktywności przeciwutleniającej kielków owsa nagoziarnistego. Motomura i wsp. [18] porównali zawartość polifenoli ogółem (w przeliczeniu na kwas galusowy), m.in. w kielkach traw (pszenicy, owsa, życicy) oraz koniczyny czerwonej. Stwierdzili większą zawartość tych związków w kielkach pszenicy niż owsa, szczególnie w ekstrakcie wodnym. Najmniej polifenoli było w kielkach życicy. Oznacza to, że ziele tej grupy roślin cechuje się zmienną zawartością polifenoli. Wymienieni autorzy twierdzą też, że wyciągi etanolowe ziela owsa, bez względu na poziom drugiego czynnika doświadczalnego (selenianu sodu), nie różnią się na ogół zawartością polifenoli. W przypadku pszenicy i koniczyny czerwonej wzrost stężenia selenu (do pewnego poziomu) powodował wzrost zawartości polifenoli. Gawlik-Dziki [11] podkreśla obecność kwasów hydroksycynamonowych w kielkach żyta w połączeniach estrowych z kwasem 4-metoksyaldarowym oraz hydroksycytrynowym (w roślinach). W kielkujących ziarniakach pszenicy występował również ester kwasu synapinowego i choliny, czyli synapina. Fenolokwasy w roślinach pozostają najczęściej w formie związanej, jako składowe lignin, tanin, estrów czy też glikozydów.

W badaniach własnych czynnik doświadczalny, jakim był genotyp owsa siewnego, nie powodował statystycznego zróżnicowania średnich opisujących aktywność przeciwrodnikową, bowiem parametr ten cechował się znaczną zmiennością, wynoszącą 27,3 % RSA ($47,9 \div 75,2$ % RSA), przy średniej 59,9 % RSA i odchyleniu standardowym – 6,6. Przy tak znacznym zróżnicowaniu można jedynie wskazać genotypy z tendencją do mniejszej, jak i większej aktywności przeciwrodnikowej. Do pierwszej grupy można zaliczyć nagoziarniste odmiany owsa 'Nagus' i 'Siwek' oraz odmiany tradycyjne – 'Borowiak' i 'Celer'. Do grupy odmian z tendencją do większej aktywności przeciwrodnikowej można natomiast zaliczyć genotypy MHR-PO-0111, MHR-PO-0612 i MHR-PO-0712. Pozostałe genotypy cechowały się pośrednią aktywnością przeciwrodnikową. Należy również podkreślić brak związku pomiędzy zawartością polifenoli w suchej masie ziela owsa a aktywnością przeciwrodnikową, na co wskazuje bardzo mała wartość współczynnika korelacji pomiędzy tymi cechami ($r = 0,17$) (rys. 4). Na ogół stwierdza się dodatnią korelację pomiędzy tymi cechami, co potwierdzają Emmons i Peterson [7], którzy udowodnili tę zależność statystycznie w odniesieniu do nasion z wykorzystaniem rodnika DPPH'. Zastosowana w badaniach własnych metoda

oznaczania aktywności przeciwrodnikowej może różnicować wyniki, ale nie wydaje się, aby była sprzeczna z innymi, bowiem Thaipong i wsp. [29] wykazali dużą zgodność ocen właściwości przeciwutleniających wykonanych różnymi metodami (ABTS, DPPH, FRAP, ORAC), bez względu na zastosowany sposób ekstrakcji. Bieżanowska-Kopeć i wsp. [4] potwierdzają wysoki potencjał przeciwutleniający kielków jęczmienia, ale nie zamieszczają wartości liczbowych tej cechy. Lipiec i wsp. [17] wykazali zdolność wygaszania rodnika DPPH⁺ w zależności od zastosowanego w badaniach oscylacyjnego pola magnetycznego, w zakresie 28,5 ÷ 47,5 %. Podobne wartości RSA wykazali również Piątkowska i wsp. [23] w przypadku frakcji młynarskich ziarna owsa, ale nie przypisali jednoznacznie wartości wygaszania badanym rodnikom.



* – zob./see Materiał i metody badań

Rys. 4. Zawartość polifenoli ogółem w suchej masie ziela owsa i aktywność przeciwrodnikowa ziela
Fig. 4. Content of total polyphenols in dry mass of oat grass and scavenging activity of oat grass

Najwyższą aktywnością RSA cechowała się plewka i ziarno, a pozostałe frakcje młynarskie wykazywały mniejszą aktywność. Należy podkreślić, że w obrębie frakcji młynarskich owsa nie sposób wskazać frakcji, która nie różniłaby się znacząco pod względem zawartości chociaż jednego z oznaczonych składników – w odniesieniu do ziela owsa. Oznacza to, że ziele owsa powinno być traktowane w badaniach jako od-

rębny surowiec, z możliwością zastosowania do różnych produktów np. makaronów. Możliwości takie potwierdzili Obuchowski i wsp. [19], którzy z powodzeniem wprowadzili susz z innej trawy (rozłogi perzu) do makaronu przygotowanego z mąki pszennej razowej.

Wnioski

1. Nie stwierdzono zróżnicowania statystycznego pod względem zawartości suchej masy i tłuszczu w ziele różnych genotypów owsa ($p > 0,05$), stwierdzono natomiast zróżnicowanie zawartości popiołu w suchej masie ziela ($p = 0,001$).
2. Ziele różnych genotypów owsa różniło się statystycznie istotnie ($p = 0,001$) zawartością białka w suchej masie, a różnica pomiędzy wartościami średnimi form tradycyjnych i nagoziarnistych wyniosła 2 %.
3. Zawartość polifenoli w suchej masie ziela różnych genotypów owsa była zróżnicowana statystycznie ($p = 0,005$). Udokumentowano również statystycznie wzrost zawartości polifenoli w suchej masie ziela wraz ze wzrostem zawartości w nim suchej masy ($p = 0,045$).
4. Aktywność przeciwrodnikowa ziela różnych genotypów owsa nie była zróżnicowana statystycznie ($p > 0,05$). Nie zaobserwowano również zależności pomiędzy zawartością polifenoli w suchej masie ziela a aktywnością przeciwrodnikową.

Badania wykonano w ramach grantu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego nr 3115.

Literatura

- [1] Anonim: Lista roślin, z których surowce lub ich przetwory mogą być składnikami suplementów diety. *Postępy Fitoterapii*, 2013, **2**, 146-156.
- [2] AOAC: Official methods of analysis of AOAC Int. 17th ed. Gaithersburg 2012.
- [3] Bartnikowska E., Lange E., Rakowska M.: Ziarno owsa – niedocenione źródło składników odżywczych. Cz. II. Polisacharydy i włókno pokarmowe, składniki mineralne i witaminy. *Biul. IHAR*, 2000, **215**, 223-237.
- [4] Bieżanowska-Kopeć R., Leszczyńska T., Duliński R.: Ocena zawartości składników odżywczych i nieodżywczych o właściwościach prozdrowotnych w młodym jęczmieniu. *Mat. XLI Sesji Nauk. KNoŻ PAN*, Kraków, 2-3 lipca 2013, s. 267.
- [5] Brindzova L., Certik M., Rapta P., Zalibera M., Mikulajova A., Takacsova M.: Antioxidant activity, β -glukan and lipid contents of oat varieties. *Czech J. Food Sci.*, 2008, **3 (26)**, 163-173.
- [6] Butt Mas. S., Tahir-Nadeem M., Shabir R., Butt Meh. S.: Oat: unique among the cereals. *Eur. J. Nutr.*, 2008, **47**, 68-79.
- [7] Emmons C.L., Peterson D.M.: Antioxidant activity and phenolic content of oat groats and hulls. *Cereal Chem.*, 1999, **6 (76)**, 902-906.

- [8] Fardet A., Rock E., Remesy Ch. Is the in vitro antioxidant potential of whole-grain cereals and cereal products well reflected in vivo? *J. Cereal Sci.*, 2008, **48**, 258-276.
- [9] Gambuś H., Gibiński M., Pastuszka D., Mickowska B., Ziobro R., Witkowicz R.: The application of residua oats flour in bread production in order to improve its quality and biological value of protein. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 2011, **3 (10)**, 313-325.
- [10] Gani A., Wani SM., Masoodi FA., Hameed G.: Whole-grain cereal bioactive compounds and their health benefits: A review. *J. Food Proc. Technol.*, 2012, **3 (3)**, 146, 1-10.
- [11] Gawlik-Dziki U.: Fenolokwasy jako bioaktywne składniki żywności. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.*, 2004, **4 (41)**, 29-40.
- [12] Gibiński M., Gumul D., Korus J.: Prozdrowotne właściwości owsa i produktów owsianych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.*, 2005, **4 (45)**, 49-60.
- [13] Gruenwald J., Brendler T., Jaenicke Ch.: PDR for Herbal Medicines. Medical Economics Company, Inc. at Montvale, NJ 07645-1742, 2000, 551-554.
- [14] Jeszka M., Flaczyk E., Kobus-Cisowska J., Dziedzic K.: Związki fenolowe – charakterystyka i znaczenie w technologii żywności. *Nauka. Przyroda. Technologie*, 2010, **2 (4)**, 1-13.
- [15] Kashin V.K., Ubugunow L.: Microelement accumulation barrier in cereal grain. *Biological Sciences*, 2008, **425**, 151-153.
- [16] Klepacka A.: Przeciwnikotywne właściwości ekstraktów roślinnych bogatych w polifenole. *Postępy Fitoterapii*, 2013, **2**, 127-131.
- [17] Lipiec J., Barabasz W., Pysz M., Pisulewski P.: Effects of oscillating magnetic field pulses on selected oat sprouts used for food purposes. *Acta Agrophysica*, 2005, **2 (5)**, 357-365.
- [18] Motomura Y., Reyes-Diaz M., Luz Mora Gil M.: Effect of selenite on the total polyphenol content and antioxidative activity of aqueous and ethanolic extracts in sprouts of four agronomic species. *J. Soil Sci. Plant Nutr.*, 2008, **1 (8)**, 55-67.
- [19] Obuchowski W., Majcher M., Makowska A., Kołodziejczyk P., Chalcarz A., Paschke H.: Makaron jako źródło i nośnik substancji o charakterze bioaktywnym. *Brom. Chem. Toksykol.*, 2013, **3**, 232-330.
- [20] Ostrowska J., Skrzydlewska E.: Aktywność biologiczna flawonoidów. *Postępy Fitoterapii*, 2005, **3-4**, 71-79.
- [21] Perez-Jimenez J., Saura-Calixto F.: Literature data may underestimate the actual antioxidant capacity of cereals. *J. Agric. Food Chem.*, 2005, **53**, 5036-5040.
- [22] Peterson D.M.: Oat antioxidant. *J. Cereal Sci.*, 2001, **33**, 115-129.
- [23] Piątkowska E., Kopeć A., Kidacka A., Leszczyńska T., Pisulewska E.: Zawartość składników odżywczych i właściwości antyoksydacyjne różnych frakcji ziarna wybranych odmian i rodów owsa. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.*, 2013, **6 (91)**, 91-105.
- [24] Piątkowska E., Witkowicz R., Pisulewska E.: Podstawowy skład chemiczny wybranych odmian owsa siewnego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.*, 2010, **3 (70)**, 88-99.
- [25] Piątkowska E., Witkowicz R., Pisulewska E.: Właściwości antyoksydacyjne wybranych odmian owsa siewnego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.*, 2010, **3 (70)**, 100-107.
- [26] Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C.: Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.*, 1999, **9-10 (26)**, 1231-1237.
- [27] Rice-Evans C.A., Miller N.J., Paganga G.: Structure – antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Rad. Biol. Med.*, 1996, **7 (20)**, 933-956.
- [28] Swain T., Hillis W.E.: The phenolic constituents of *Prunus domestica*. The quantitative analysis of phenolic constituents. *J. Sci. Food Agric.*, 1959, **10**, 63-68.

- [29] Thaipong K., Boonprakob U., Crosby K., Cisneros-Zevallos L., Byrne D.H.: Comparison of ABTS, DPPH, FRAP and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *J. Food Comp. Anal.*, 2006, **19**, 669-675.
- [30] Witkowicz R.: Wpływ zabiegów agrotechnicznych na plon, morfologię i wzrost owsa siewnego nagoziarnistego (*Avena sativa* L.). *Zesz. Nauk. UR w Krakowie*, 2012, **492**, 154.
- [31] Wołoch R., Pysz M., Bieżanowska-Kopeć R.: Potencjał antyoksydacyjny owsa badany trzema różnymi metodami. *Biuletyn IHAR*, 2007, **243**, 109-117.

BASIC CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF DIFFERENT GENOTYPE OF OAT (AVENA SATIVA)

S u m m a r y

Cereal grasses, in particular oat grass, are considered to be a potential component of nutritional supplements. The objective of the research study was to determine the basic chemical composition and contents of total polyphenolic compounds in the grass of thirteen oat genotypes. Based on the research analyses performed, it was found that the grass of the oat genotypes analyzed did not differ in the contents of dry mass and fat. The ranges of variability were $93.1 \div 96.6$ and $2.15 \div 3.55$, respectively. However, it was reported that the content of protein in grass of various oat genotypes differed and this fact was confirmed statistically with regard to the traditional form: 21.1 % and the naked form: 23.1 %. The content of total polyphenols in dry mass of the oat grass differed statistically significantly, but it was not reflected in the differentiation of antioxidant activity, which ranged from 52.80 to 67.65 % of RSA. The 'Kasztan' cultivar was characterized by the highest content of total polyphenols in dry mass (85.40 mg/100 g d.m.), and the MHR-PO-0512 strain was characterized by the lowest: 72.85 mg/100 g d.m. expressed as the chlorogenic acid equivalent. Moreover, the increase was confirmed in the content of total polyphenols in dry mass of the grass along with the increase in the content of dry mass.

Key words: oat grass, chemical composition, antioxidant activity ☒

JUSTYNA KIEWLICZ, HENRYK SZYMUSIAK, RYSZARD ZIELIŃSKI

OTRZYMYWANIE, STABILNOŚĆ TERMICZNA I WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWUTLENIAJĄCE DŁUGOŁAŃCUCHOWYCH ESTRÓW KWASU FERULOWEGO

Streszczenie

Tłuszcze naturalne bogate w jedno- i wielonienasycone kwasy tłuszczowe są podstawowymi składnikami żywności, które w istotny sposób wpływają na prawidłowe funkcjonowanie organizmu człowieka. Niestety tłuszcze te charakteryzują się niską stabilnością, głównie ze względu na dużą podatność na procesy utleniania. Stosuje się wiele zabiegów w celu wyeliminowania tych niekorzystnych przemian. Wykorzystywane obecnie przeciwutleniacze komercyjne, pomimo licznych zalet, mogą wzbudzać kontrowersje związane z niepożądaną aktywnością biologiczną lub niską stabilnością w warunkach przetwarzania żywności. Z tego powodu dąży się do poszukiwania nowych przeciwutleniaczy, które mogłyby stanowić alternatywę dla obecnie stosowanych przeciwutleniaczy.

Celem niniejszej pracy było opracowanie metody otrzymywania wybranych, długołańcuchowych estrów kwasu ferulowego. Dokonano identyfikacji otrzymanych przeciwutleniaczy na podstawie wyników badań spektroskopowych i analizy elementarnej. Przeprowadzono analizę termiczną estrów, która obejmowała analizę termogravimetryczną (TG) oraz skaningową kalorymetrię różnicową. Uzyskane wyniki porównano z wynikami uzyskanymi dla wolnego kwasu ferulowego oraz danymi literaturowymi dotyczącymi popularnych przeciwutleniaczy komercyjnych. W pracy dokonano również wstępnego porównania właściwości przeciwutleniających ferulanu tetradcyłu i BHT.

Słowa kluczowe: przeciwutleniacze, kwas ferulowy, długołańcuchowe estry kwasu ferulowego, stabilność termiczna, przeciwutleniacze syntetyczne

Wprowadzenie

Butylohydroksytoluen (BHT) jest przeciwutleniaczem syntetycznym, stosowanym w wielu gałęziach przemysłu. W przemyśle spożywczym BHT wykorzystywany jest do stabilizowania olejów roślinnych, tłuszczów zwierzęcych, przypraw, orzechów,

Dr inż. J. Kiewlicz, prof. dr hab. H. Szymusiak, prof. dr hab. inż. R. Zieliński, Katedra Technologii i Analizy Instrumentalnej, Wydz. Towaroznawstwa, Uniwersytet Ekonomiczny w Poznaniu, Al. Niepodległości 10, 61-875 Poznań. Kontakt: justyna.kiewlicz@ue.poznan.pl

przetworzonego mięsa, chrupek oraz elastomerów, gumy estrowej i środków zmięczających, wchodzących w skład gumy do żucia. Ze względu na potwierdzoną aktywność biologiczną i potencjalną szkodliwość, tak szeroka ekspozycja na wymieniony składnik dodatkowy oraz inne przeciwutleniacze syntetyczne, takie jak BHA i TBHQ budzi uzasadnione obawy [13, 25].

Wolny kwas ferulowy i jego pochodne są związkami naturalnie występującymi w przyrodzie [7, 5, 12]. Wykazują one udowodnione działanie przeciwzapalne i antyproliferacyjne w organizmach zwierzęcych [9]. Szczególną uwagę zwraca się jednak na właściwości przeciwutleniające tych związków, które w znacznym stopniu determinują ich aktywność biologiczną oraz potencjalne właściwości użytkowe [1].

Silne właściwości przeciwdrobnoustrojowe wolnego kwasu ferulowego i jego pochodnych wynikają z ich zdolności do tworzenia stabilnych rodników fenoksylowych dzięki obecności w ich strukturze grup hydroksylowych w pozycji *para* [2]. Dezaktywacja wolnych rodników przez te przeciwutleniacze może następować na drodze przekazywania przez nie elektronów przyłączanych przez wolne rodniki lub poprzez reakcję cząsteczki rodnika i przeciwutleniacza z wytworzeniem adduktu. Związki te mogą także pełnić rolę donorów atomów wodoru, przyczyniając się do redukcji wolnych rodników [1, 17]. W rezultacie wolny kwas ferulowy i jego pochodne (AH), jako przeciwutleniacze pierwotne, mogą chronić nienasycone kwasy tłuszczowe, będące składnikami żywności, przed niepożądanymi procesami autooksydacji poprzez bezpośrednie przekazywanie wolnym rodnikom (ROO[•], RO[•]) atomów wodoru. Utworzone w ten sposób rodniki fenoksyłowe (A[•]) są relatywnie stabilne i utrudniają zainicjowanie reakcji łańcuchowej [22]. Wolny kwas ferulowy i jego pochodne mogą być klasyfikowane również jako przeciwutleniacze wtórne dzięki ich zdolności do chelatowania jonów metali przejściowych, wygaszania tlenu singletowego oraz pochłaniania promieniowania w zakresie UV [1, 2, 3, 14, 17].

Dzięki obecności długich łańcuchów węglowodorowych w cząsteczkach, opisywane w pracy, nowe długołańcuchowe estry kwasu ferulowego są przeciwutleniaczami rozpuszczalnymi w tłuszczach. Charakter hydrofobowy badanych estrów zwiększa ich efektywność, szczególnie w układach heterofazowych, takich jak emulsje spożywcze. Wynika to ze zdolności tych związków do gromadzenia się wewnątrz fazy tłuszczowej i na granicy faz olej-woda, gdzie następują interakcje pomiędzy składnikami fazy tłuszczowej, nadtlenkami lipidowymi i proutleniaczami zawartymi w fazie wodnej [8, 20, 21]. Połączenie stwierdzonych właściwości przeciwutleniających z szerokimi właściwościami promienioochronnymi może być również wykorzystane do ochrony tłuszczów roślinnych i faz olejowych w emulsjach, zawsze zawierających śladowe ilości pigmentów, przed utlenianiem fotosensybilizowanym. Kompleksowe działanie przeciwutleniające oraz potencjalne właściwości międzyfazowe wynikające ze struktury opisywanych związków wskazują na ich wielofunkcyjność, co sprzyja poszukiwaniom

nowych możliwości ich zastosowań. Z tego powodu długołańcuchowe estry kwasu ferulowego mogą być rozpatrywane i badane jako związki mogące zastąpić obecnie stosowane w przemyśle spożywczym przeciwutleniacze syntetyczne o potencjalnej szkodliwości [13].

Bardzo istotne jest również, aby stosowane przeciwutleniacze nie ulegały odparowaniu lub degradacji w zakresie temperatur stosowanych w przetwórstwie spożywczym. Z tego powodu właściwe i efektywne wykorzystanie wspomnianych dodatków do żywności w dużej mierze zależy od ich stabilności termicznej.

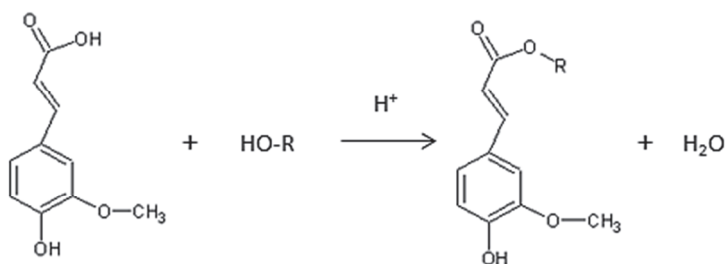
Celem niniejszej pracy było opracowanie metody otrzymywania wybranych długołańcuchowych estrów kwasu ferulowego, które mogą mieć potencjalne zastosowanie jako przeciwutleniacze w żywności. Na podstawie wyników analizy termogravimetrycznej (TG) i skaningowej kalorymetrii różnicowej (DSC) określono stabilność termiczną oraz temperatury topnienia otrzymanych związków. Ponadto w pracy dokonano wstępnego porównania właściwości przeciwutleniających ferulanu tetradecylu i BHT.

Material i metody badań

Odczynniki i otrzymywanie

W badaniach zastosowano odczynniki: kwas ferulowy 99-procentowy (Aldrich, Niemcy), 1-tetradekanol > 97 %, 1-heksadekanol 98-procentowy i 1-oktadekanol 97-procentowy (Alfa Aesar, Niemcy), bezwodny siarczan(VI) magnezu, wodorowęglan sodu (Chempur, Polska), kwas p-toluenosulfonowy (Aktyn, Polska), węgiel aktywny, toluen, metanol, octan etylu (POCH S.A., Gliwice, Polska).

Metoda otrzymywania długołańcuchowych estrów kwasu ferulowego polega na estryfikacji Fishera, która jest reakcją substytucji nukleofilowej grupy acylowej w środowisku kwaśnym (rys. 1).



Rys. 1. Reakcje otrzymywania długołańcuchowych estrów kwasu ferulowego R: C₁₄H₂₉, C₁₆H₃₃, C₁₈H₃₇
 Fig. 1. The reaction for preparation of long-chain alkyl esters of ferulic acid, R: C₁₄H₂₉, C₁₆H₃₃, C₁₈H₃₇

Do całkowitego rozpuszczenia ogrzewano 0,015 mola odpowiedniego alkoholu i 0,001 mola (0,1959 g) kwasu p-toluenosulfonowego w 30 ml toluenu. Do uzyskanej mieszaniny odważano 0,015 mola (2,9 g) kwasu ferulowego. Całość ogrzewano w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika przez 36 - 50 h w zależności od rodzaju alkoholu. Po zakończeniu reakcji odparowywano rozpuszczalnik, a wydzielony olej ekstrahowano octanem etylu. Ekstrakt przemywano nasyconym roztworem wodorowęglanu sodu. Fazę organiczną osuszano nad bezwodnym siarczanem(VI) magnezu oraz odbarwiano węglem aktywnym. Rozpuszczalnik odparowywano i otrzymywano produkt w postaci oleju, który poddawano dalszemu oczyszczaniu na drodze krystalizacji z metanolu [16, 24]. Otrzymano 3 estry.

Metody analityczne

Struktury otrzymanych przeciwutleniaczy potwierdzano na podstawie wyników badań spektroskopowych i analizy elementarnej. Przeprowadzono analizę widm protonowego i węglowego magnetycznego rezonansu jądrowego (^1H NMR i ^{13}C NMR). Rejestracji widm dokonywano przy użyciu spektrometru Varian VNMR-S 400 MHz. Próbkę rozpuszczano w deuterowanym chloroformie (CDCl_3). Wartości przesunięć chemicznych (δ) przedstawiano w odniesieniu do tetrametylosilanu (TMS). Analizę elementarną wykonywano przy użyciu aparatu Elemental, model Vario EL III. Badania zostały wykonane przez Środowiskowe Laboratorium Unikalnej Aparatury Chemicznej UAM w Poznaniu. Do rejestracji widm IR wykorzystywano spektroskop FT-IR, zaopatrzone w przystawkę odbiciową ATR Spectrum 100, firmy Perkin Elmer. Odpowiednią porcję oczyszczonej próbki w formie proszku nanoszono bezpośrednio na kryształ, po czym dociskano do kryształu z określoną siłą. Zakres liczb falowych promieniowania wynosił $4000 - 380 \text{ cm}^{-1}$ i odpowiadał podstawowej podczerwieni.

Stabilność termiczną otrzymanych przeciwutleniaczy określano za pomocą analizy termogravimetrycznej (TGA) przy użyciu aparatu Jupiter STA 449F3 firmy Netzsch GmbH, Niemcy. Zastosowana metoda polegała na pomiarze zmian masy próbek ogrzewanych w kontrolowanej atmosferze azotu. Próbki o masie ok. 10 mg umieszczano w tyglach z Al_2O_3 , w piecu połączonym z termowagą. Badania przeprowadzono w atmosferze azotu, przy jednoczesnej zmianie temperatury w przedziale $40 \div 550 \text{ }^\circ\text{C}$, z szybkością przyrostu temp. $10 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ i objętościowym natężeniem przepływu gazu $40 \text{ ml}/\text{min}$. Jako próbkę odniesienia zastosowano pusty tygiel. W celu ułatwienia interpretacji wyników wyznaczono różniczkową krzywą termogravimetryczną (DTG), która jest wynikiem numerycznego różniczkowania krzywej TG względem temperatury i dostarcza informacji dotyczących szybkości zmian masy. Temperatury przemian fazowych związków określano na podstawie krzywych DSC, rejestrowanych przy użyciu skaningowego kalorymetru różnicowego NETZSCH DSC 200 (Netzsch GmbH). Próbki o masie ok. 7 mg ogrzewano z szybkością $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ w atmosferze

argonu w zakresie temperatur $40 \div 400$ °C, stosując objętościowe natężenie przepływu gazu 30 ml/min. Jako próbkę odniesienia zastosowano pusty tygiel.

Wstępnego porównania właściwości przeciwutleniających ferulanu tetradecylu i BHT dokonywano na podstawie oceny zmian oksydacyjnych próbek oleju z pestek winogron, zawierających dodatek wspomnianych przeciwutleniaczy w stężeniu $4,5 \mu\text{moli}/100$ g oleju i przechowywanych przez 6 miesięcy zgodnie z metodyką przedstawioną przez Kiewlicz i Malinowską [11]. Jako miarę aktywności przeciwutleniaczy w próbkach oleju przyjęto współczynnik ochronny (WO), będący stosunkiem czasów, w których liczba nadtlenkowa próbki badanej i próbki kontrolnej osiągnęła wartość $10 \text{ mEq O}_2/\text{kg}$.

Wyniki i dyskusja

Otrzymano 3 estry kwasu ferulowego. Charakterystykę otrzymanych związków przedstawiono w tab. 1. Przeciwutleniacze te były nierozpuszczalne w wodzie, bardzo dobrze rozpuszczały się natomiast w rozpuszczalnikach organicznych, takich jak: chloroform, aceton i octan etylu.

Na widmach $^1\text{H NMR}$ zaobserwowano obecność wyraźnych pików świadczących o występowaniu określonych równocennych grup protonów w cząsteczkach. Zgodnie z zakresami przesunięć chemicznych wyodrębniono kilka układów charakterystycznych dla budowy badanych związków. Sygnały protonów zarejestrowane jako intensywne piki w zakresie $1,254 \div 1,257$ ppm odpowiadały atomom wodoru wchodzącym w skład grup $-\text{CH}_2-$, należących do długich łańcuchów węglowodorowych. Sygnały w zakresie $6,912 \div 7,628$ ppm świadczyły o obecności układu aromatycznego w cząsteczkach badanych związków. Pojedyncze piki pojawiające się w zakresie $6,274 \div 6,312$ ppm pochodziły od sygnałów atomu wodoru grupy $-\text{OH}$ przy pierścieniu aromatycznym.

Przeprowadzona analiza widm $^{13}\text{C NMR}$ i IR oraz wyniki analizy elementarnej umożliwiły uzupełnienie informacji uzyskanych na podstawie interpretacji widm $^1\text{H NMR}$, co stanowiło dodatkowe potwierdzenie budowy otrzymanych związków. Przykładowe widma $^1\text{H NMR}$ i $^{13}\text{C NMR}$ przedstawiono na rys. 2 i 3.

Analiza termogravimetryczna wykazała, że rozkład termiczny badanych długołańcuchowych estrów kwasu ferulowego przebiegał w trzech etapach (rys. 4 - 6). Wszystkie otrzymane związki wykazywały stabilność termiczną do 200 °C. Po przekroczeniu tej temperatury obserwowano początkowe zmniejszenie masy próbek o ok. $4,4 \div 10,5$ %. Pierwszy wyraźny i zarazem największy ubytek masy próbki ferulanu tetradecylu, który wynosił ok. $80,1$ %, stwierdzono w zakresie $267,9 \div 371,5$ °C. Powyżej tej temperatury procesy prowadzące do termicznego rozkładu próbki uległy znacznemu spowolnieniu. Etap ten trwał do osiągnięcia temp. $426,3$ °C i towarzyszył

mu ok. 12,1-procentowy ubytek masy. Temperatura maksymalnej szybkości rozkładu ferulanu tetradecylu wynosiła 340,9 °C.

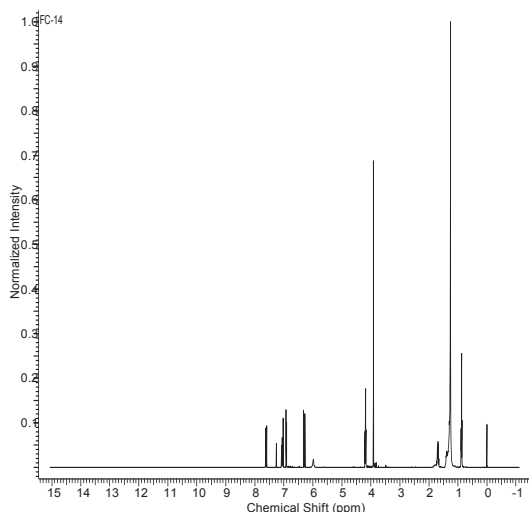
Tabela 1. Charakterystyka otrzymanych przeciwutleniaczy
Table 1. Characteristics of obtained antioxidants

Wydajność	Ferulan tetradecylu Tetradecyl ferulate	Ferulan heksadecylu Hexadecyl ferulate	Ferulan oktadecylu Octadecyl ferulate	
	29,43 %	27,12 %	29,10 %	
¹ H NMR (CDCl ₃), δ, ppm	0,895 (3H, CH ₃), 1,257 (24H, CH ₂), 1,713 (2H, CH ₂), 3,919 (3H, CH ₃), 6,274 (1H, OH), 7,033 (1H, CH), 7,078 (1H, CH), 7,628 (1H, CH)	0,895 (3H, CH ₃), 1,255 (28H, CH ₂), 1,676 (2H, CH ₂), 3,873 (3H, CH ₃), 4,187 (2H, CH), 5,952 (1H, CH), 6,311 (1H, OH), 6,923 (1H, CH), 7,028 (1H, CH)	0,861 (3H, CH ₃), 1,254 (30H, CH ₂), 1,438 (2H, CH ₂), 3,944 (3H, CH ₃), 4,117 (2H, CH ₂), 5,927 (1H, CH), 6,312 (1H, OH), 6,912 (1H, CH), 7,029 (2H, CH), 7,628 (1H, CH)	
¹³ C NMR (CDCl ₃), δ, ppm	14,084; 22,652; 25,956; 28,723; 29,266; 29,321, 29,509; 29,558; 29,616; 29,639; 29,655; 31,884; 32,635; 55,871; 64,602; 109,260; 114,632; 115,568; 122,997; 126,976; 144,632; 147,874; 167,422	14,094; 22,665; 25,868; 25,969; 28,593; 28,736; 29,279; 29,334; 29,519; 29,571; 29,629; 29,668; 30,480; 31,731; 31,897; 55,874; 64,599; 109,247; 114,678; 115,594; 123,006; 126,989; 144,623; 146,728; 147,871 167,399	14,100; 22,672; 25,715; 25,975; 28,531; 28,603; 28,746; 29,288; 29,344; 29,415; 29,529; 29,581; 29,639; 29,678; 30,415; 31,903; 32,777; 55,884; 64,599; 109,244; 114,675; 115,620; 123,013; 127,008; 144,613; 146,728; 147,871; 167,382	
IR, cm ⁻¹	715.2; 836.4; 1033.6; 1180.1; 1253.3; 1278.7; 1467.5; 1512.5; 1591.4; 1684.4; 2847.4; 2909.6; 3531,0	715.2; 842.0; 1030.8; 1154.7; 1253.3; 1467.5; 1512.5; 1591.4; 1704.1; 2847.4; 2915.2; 3418,0	718.0; 842.0; 1028.0; 1151.9; 1264.6; 1464.6; 1512.5; 1588.6; 1706.9; 2847.4; 2915.2; 3406.7	
Analiza elementarna: (wartości obliczone/zmierzone)	C	73,86% 73,87%	74,58 % 74,77 %	75,35% 75,24%
	H	9,83% 9,79%	10,13 % 10,67 %	10,40% 10,89%
	O	16,39% 16,34%	15,29 % 14,56 %	15,29% 14,36

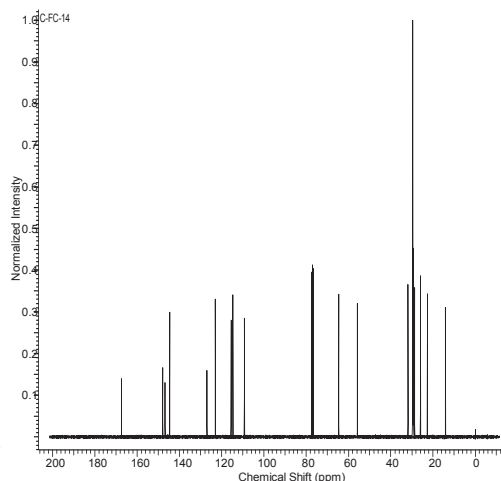
Źródło: badania własne / Source: authors' own studies

Z analizy termogramu ferulanu heksadecylu wynika, że najbardziej znaczący ubytek masy próbki tego estru nastąpił po przekroczeniu temp. 265,4 °C i trwał do osiągnięcia 371,4 °C. W tym zakresie zaobserwowano ok. 81,8-procentowy ubytek masy

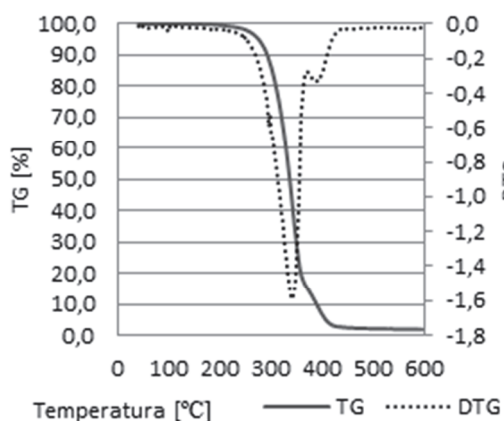
estru. Kolejny etap, prowadzący do prawie całkowitej degradacji próbki, trwał do osiągnięcia temp. 421,3 °C. Zaobserwowany ubytek masy stanowił ok 13,8 % masy początkowej. Temperatura maksymalnej szybkości rozkładu ferulanu heksadecylu była taka sama, jak w przypadku ferulanu tetradecylu i wynosiła 340,9 °C.



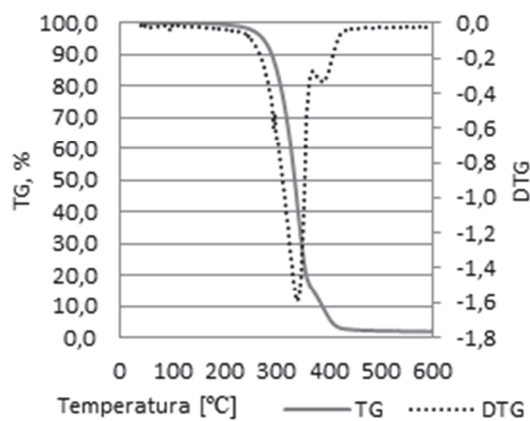
Rys. 2. Widmo ^1H NMR ferulanu tetradecylu
Fig. 2. ^1H NMR spectrum of tetradecyl ferulate
Źródło: badania własne/Source: authors' own studies



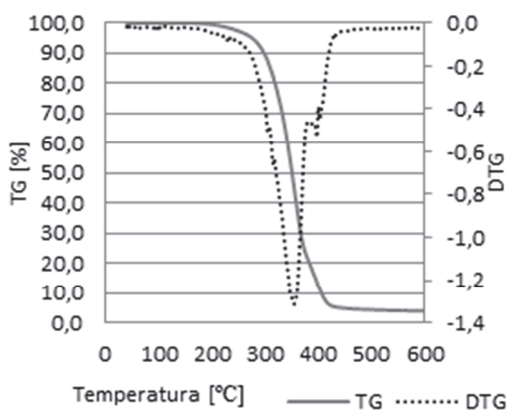
Rys. 3. Widmo ^{13}C NMR ferulanu tetradecylu
Fig. 3. ^{13}C NMR spectrum of tetradecyl ferulate
Źródło: badania własne/Source: authors' own studies



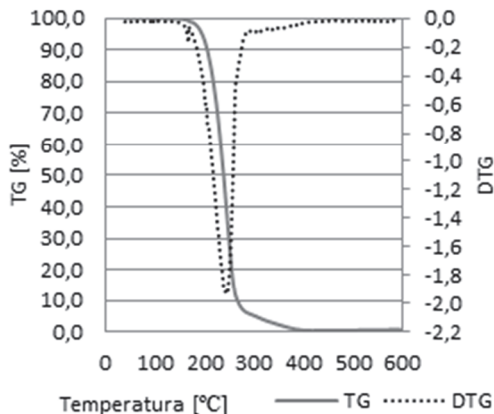
Rys. 4. Krzywe TG/DTG ferulanu tetradecylu
Fig. 4. TG/DTG curve of tetradecyl ferulate
Źródło: badania własne/Source: authors' own studies



Rys. 5. Krzywe TG/DTG ferulanu heksadecylu
Fig. 5. TG/DTG curves of hexadecyl ferulate
Źródło: badania własne/Source: authors' own studies



Rys. 6. Krzywe TG/DTG ferulanu oktadecylu
Fig. 6. TG/DTG curve of octadecyl ferulate
Źródło: badania własne/Source: authors' own studies



Rys. 7. Krzywe TG/DTG kwasu ferulowego
Fig. 7. TG/DTG curves of ferulic acid
Źródło: badania własne/Source: authors' own studies

Najbardziej stabilną termicznie pochodną kwasu ferulowego był ferulan oktadecylu. Największy ubytek masy tego estru, który wyniósł ok. 75,7 %, zaobserwowano w zakresie temp. 275,0 ÷ 383,8 °C. Drugi etap termicznej degradacji próbki był łagodniejszy i trwał do osiągnięcia temp. 426,6 °C. Odnotowano wówczas 13,8-procentowy ubytek masy próbki. Temperatura maksymalnej szybkości rozkładu ferulanu oktadecylu wynosiła 355,4 °C.

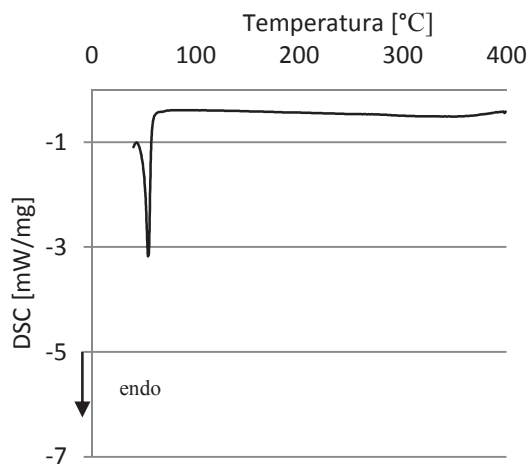
Kwas ferulowy (rys. 7) był dużo bardziej wrażliwy na oddziaływanie wysokich temperatur niż jego pochodne. Związek ten pozostawał stabilny termicznie do temp. 164,5 °C. Masa próbki tego związku została zredukowana o ok. 92,3 % w zakresie 180,7 ÷ 288,6 °C. Następnie procesy prowadzące do termicznej degradacji związku uległy znacznemu spowolnieniu. Etap ten trwał do temp. 416,2 °C i skutkował 5,8-procentowym ubytkiem masy. Temperatura maksymalnej szybkości rozkładu kwasu ferulowego wynosiła 245,4 °C.

Tabela 2. Temperatury topnienia

Table 2. Melting points

Związek / Compound	T _{onset} , °C	T _{peak} , °C
Ferulan tetradecylu / Tetradecyl ferulate	41	54
Ferulan heksadecylu / Hexadecyl ferulate	46	60
Ferulan oktadecylu / Octadecyl ferulate	50	63
Kwas ferulowy / Ferulic acid	173	178

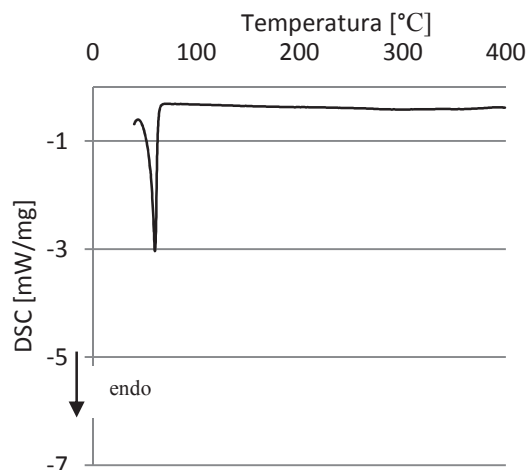
Źródło: badania własne / Source: own studies



Rys. 8. Krzywa DSC ferulanu tetradecylu

Fig. 8. DSC curve of tetradecyl ferulate

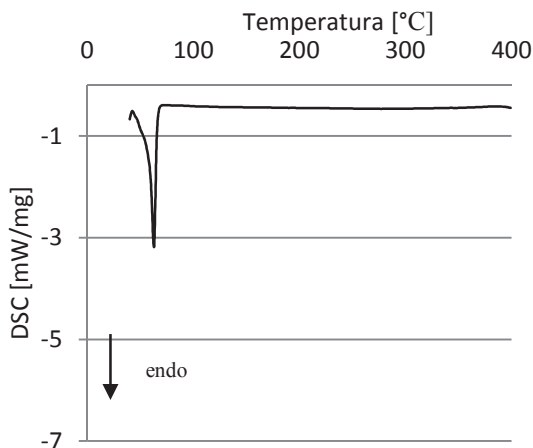
Źródło: badania własne/Source: authors' own studies



Rys. 9. Krzywa DSC ferulanu heksadecylu

Fig. 9. DSC curve of hexadecyl ferulate

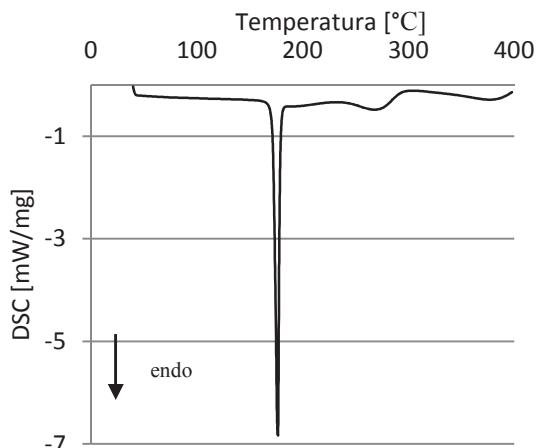
Źródło: badania własne/Source: authors' own studies



Rys. 10. Krzywa DSC ferulanu oktadecylu

Fig. 10. DSC curve of octadecyl ferulate

Źródło: badania własne/Source: authors' own studies



Rys. 11. Krzywa DSC kwasu ferulowego

Fig. 11. DSC curve of ferulic acid

Źródło: badania własne/Source: authors' own studies

Na krzywych DSC ferulanu tetradecylu, ferulanu heksadecylu, ferulanu oktadecylu i kwasu ferulowego (rys. 8 - 11) zaobserwowano obecność pojedynczych ostrych pików wskazujących na przemiany o charakterze endotermicznym. Są to sygnały odpowiadające topnieniu próbek, niezwiązane ze zmianami ich masy. Temperatury topnienia poszczególnych związków podano w tab. 2. W przypadku kwasu ferulowego zaobserwowano ponadto obecność sygnału odpowiadającego przemianom egzotermicznej, rozpoczynającego się powyżej 245 °C. Jest on prawdopodobnie wynikiem proce-

sów rozkładu próbki w wyższych temperaturach. Warto odnotować, że pierwszy wyraźny ubytek masy wszystkich badanych estrów występował znacznie powyżej ich temperatur topnienia, co w zakresie temperatur do 200°C wiąże się z niższymi stratami wynikającymi z parowania, w odróżnieniu od komercyjnego przeciwutleniacza syntetycznego BHT, który charakteryzuje się relatywnie wyższą lotnością [15,19].

Tabela 3. Właściwości termiczne wybranych przeciwutleniaczy naturalnych i syntetycznych
Table 3. Thermal properties of selected natural and synthetic antioxidants

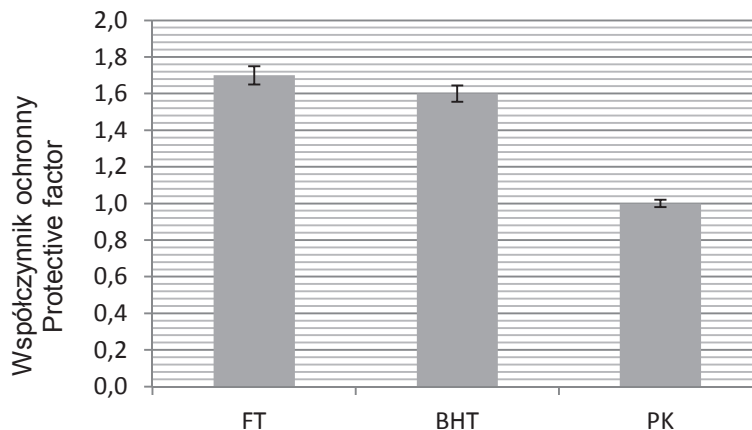
Związek Compound	T _m [°C]	T _b [°C]	Etap rozkładu Decomposition stage	Zakres temperatury Temperature range [°C]	Δm [%]
BHA	48,0 - 65,0	264 - 270	I	85 - 239	100
BHT	69,7	265	I	71 - 235	100
TBHQ	126,5 - 128,5	273	I	98 - 272	100
α-tokoferol	2,5 - 3,5	200 - 220	I	199 - 432	99
			II	432 - 800	1

Objaśnienia: / Explanatory notes:

BHA – butylohydroksyanizol / butylated hydroxyanisole; BHT – butylohydroksytoluen / butylated hydroxytoluene; TBHQ – tert-butylohydrochinon / tert-butylhydroquinone; T_m – temperatura topnienia / melting point; T_b – temperatura wrzenia / boiling point; Δm – ubytek masy / loss in weight

Źródło: opracowanie własne [15, 18] / Source: own study [15, 18]

Według danych literaturowych [4, 19], BHT pozostaje stabilny termicznie do temp. 100 °C. Wykazuje on ponadto wysoką lotność w temperaturach wrzenia olejów roślinnych, co wiąże się ze zmniejszeniem efektywności jego zastosowania w układach, w których oleje roślinne stosowane są jako rozpuszczalniki lub media smażalnice. Aktualnie wskazuje się również na możliwą toksyczność produktów termicznego rozkładu BHT [4, 23], co może wywierać negatywny wpływ na jakość żywności przetworzonej, stabilizowanej tym związkiem. TBHQ charakteryzuje się nieznacznie wyższą stabilnością w temperaturach głębokiego smażenia oraz wykazuje wyższe właściwości *carry-through* niż BHT i BHA. Charakteryzuje się on jednak udowodnionym działaniem cytotoksycznym, genotoksycznym i kancerogennym, co może wzbudzać poważne kontrowersje w kontekście stosowania tego przeciwutleniacza w przemyśle spożywczym [6, 10]. Na podstawie wartości parametrów określających właściwości termiczne przeciwutleniaczy komercyjnych (tab. 3) można zatem stwierdzić, że długołańcuchowe estry kwasu ferulowego wykazują wyższą odporność na działanie wysokich temperatur niż rozpatrywane przeciwutleniacze syntetyczne. Otrzymane estry charakteryzują się natomiast porównywalną stabilnością termiczną z α-tokoferolem, który jest stosowany jako przeciwutleniacz w połączeniu z β, γ i δ homologami [18].



Objaśnienia: / Explanatory notes:

FT – ferulan tetradecylu / tetradecyl ferulate, BHT – butylohydroksytoluen / butylated hydroxytoluene, PK – próba kontrolna / control sample; n = 3.

Rys. 12. Wartości współczynnika ochronnego wyznaczone dla ferulanu tetradecylu i BHT

Fig. 12. Protective factor values determined for tetradecyl ferulate and BHT

Źródło / Source: opracowanie własne na podstawie: [11] / author's own compilation based on: [11]

Badania przechowalnicze próbek oleju z pestek winogron zawierających dodatek przeciwutleniaczy w stężeniu 4,5 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ oleju wykazały, że efekt ochronny działania ferulanu tetradecylu był porównywalny do tego, jaki wykazywał BHT. Wartości współczynnika ochronnego (rys. 12) ferulanu tetradecylu oraz BHT były większe od 1,0. Wynosiły odpowiednio: 1,7 oraz 1,6, co potwierdza właściwości przeciwutleniające badanych związków [11].

Wnioski

1. Otrzymane i poddane badaniom długołańcuchowe estry kwasu ferulowego charakteryzują się wyższą stabilnością termiczną w porównaniu z przeciwutleniaczami syntetycznymi.
2. Proponowane przeciwutleniacze są bardziej stabilne w wysokich temperaturach niż wolny kwas ferulowy. Świadczy to o tym, że wprowadzona modyfikacja wpłynęła nie tylko na rozpuszczalność nowych związków w tłuszczach, ale także przyczyniła się do poprawy ich stabilności termicznej w porównaniu ze związkiem wyjściowym.
3. Otrzymane długołańcuchowe estry kwasu ferulowego wykazują właściwości przeciwutleniające porównywalne z BHT, dlatego mogą stanowić alternatywę dla stosowanych obecnie przeciwutleniaczy syntetycznych. Ewentualne zastosowanie

opisywanych pochodnych kwasu ferulowego powinno jednak zostać poprzedzone przeprowadzeniem odpowiednich badań toksykologicznych.

4. Dzięki swoim właściwościom badane przeciwutleniacze mogą w bezpośredni sposób wpływać na zwiększenie trwałości żywności bogatej w nienasycone kwasy tłuszczowe i tym samym powodować poprawę jej jakości.

Dziękujemy pracownikom Instytutu Technologii i Inżynierii Chemicznej Politechniki Poznańskiej za umożliwienie przeprowadzenia części badań.

Literatura

- [1] Andjelkovic M., van Camp J., De Meulenaer B., Depaemelaere G., Socaciu C., Verloo M., Verhe R.: Iron-chelation properties of phenolic acids bearing catechol and galloyl groups. *Food Chem.*, 2006, **1** (98), 23-31.
- [2] Anselmi C., Centini M., Andreassi M., Buonocore A., La Rosa C., Maffei Facino R., Segal A., Tsuno F.: Conformational analysis: a tool for the elucidation of the antioxidant properties of ferulic acid derivatives in membrane models. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2004, **5** (35), 1241-1249.
- [3] Campton D.L., Laszlo J.A.: 1,3-Diferuloyl-sn-glycerol from the biocatalytic transesterification of ethyl 4-hydroxy-3-methoxy cinnamic acid (ethyl ferulate) and soybean oil. *Biotechnol. Lett.*, 2009, **6** (31), 889-896.
- [4] EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS), Scientific Opinion on the re-evaluation of butylated hydroxytoluene BHT (E 321) as a food additive. *EFSA J.* 2012, **3** (10).
- [5] El-Seedi H. R.: New long-chained feruloyl ester from the bark of *Cedrelinga catenaeformis*. *Chem. Nat. Compd.*, 2007, **3** (43), 256-258.
- [6] Eskandani M., Hamishehkar H., Dolatabadi J.E.N.: Cytotoxicity and DNA damage properties of tert-butylhydroquinone (TBHQ) food additive. *Food Chem.*, 2011, **153**, 315-320.
- [7] Gawlik-Dziki U.: Fenolokwasy jako bioaktywne składniki żywności. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **4** (41), 29-40.
- [8] Hunneche C.S., Lund M. N., Skibsted L. H., Nielsen J.: Antioxidant activity of a combinatorial library of emulsifier – antioxidant bioconjugates. *J. Agric. Food Chem.*, 2008, **19** (56), 9258-9268.
- [9] Jayaprakasam B., Vanisree M., Zhang Y., Dewitt D.L., Nair M.G.: Impact of alkyl esters of caffeic and ferulic acids on tumor cell proliferation, cyclooxygenase enzyme, and lipid peroxidation. *J. Agric. Food Chem.*, 2006, **15** (54), 5375-5381.
- [10] Kashanian S., Dolatabadi J.E.N.: DNA binding studies of 2-tert-butylhydroquinone (TBHQ) food additive. *Food Chem.* 2009, **3** (116), 743-747.
- [11] Kiewlicz J., Malinowska P.: Ocena właściwości przeciwutleniających długołańcuchowych estrów kwasów fenolowych w oleju z pestek winogron. W: Czynniki determinujące jakość produktów i procesów. Red. K. Wybieralska. Wyd. UE w Poznaniu, Poznań 2012, ss. 47-60.
- [12] Kiewlicz J., Malinowska P., Szymusiak H.: Kwasy fenolowe i ich długołańcuchowe alkilowe estry jako przeciwutleniacze. W: Wybrane aspekty jakości kosmetyków i wyrobów chemii gospodarczej. Red. R. Zieliński, J. Żuchowski. Wyd. Nauk. Inst. Technol. Eksp. – PIB, Radom 2012, ss. 62-69.
- [13] Kiewlicz J., Szymusiak H.: The controversy regarding the use of butylated hydroxytoluene as an antioxidant. In: *Current Trends in Commodity Science: Household and Personal Care Products*. Ed. D. Wieczorek. Poznań University of Economics Faculty of Commodity Science 2013, pp. 89-99.
- [14] Laguerre M., Lecomte J., Villeneuve P.: Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. *Prog. Lipid Res.*, 2007, **5** (46), 244-282.
- [15] Madhavi D.L., Singhal R.S., Kulkarni P.R.: Technological aspects of food antioxidants. In: *Food antioxidants. Technological, toxicological and health perspectives.*, Ed. Madhavi D.L., Deshpande S.S., Salunkhe D.K., New York: Marcel Dekker Inc., 1996, pp. 159-197.
- [16] McMurry J., *Chemia organiczna cz.I*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2003, s. 818-831.

- [17] Rice-Evans C., Miller N.J., Paganga G.: Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Sci.*, 1997, **2** (4), 152-159.
- [18] Rossi M., Alamprese C., Ratti S.: Tocopherols and tocotrienols as free radical-scavengers in refined vegetable oils and their stability during deep-fat frying. *Food Chem.*, 2007, **3** (102), 812-817.
- [19] Santos A.N., Cordeiro A.M.T.M., Damasceno S.S., Aguiar R.T., Rosenhaim R., Filho J.R., Santos I.M.G., Maia A.S., Souza A.G.: Commercial antioxidants and thermal stability evaluations. *Fuel* 2012, **97**, 638-643.
- [20] Sasaki K., Alamed J., Weiss J., Villeneuve P., Giraldo L.J., Lecomte J., Figueroa-Espinoza M-C., Decker E.A.: Relationship between the physical properties of chlorogenic acid esters and their ability to inhibit lipid oxidation in oil-in-water emulsions. *Food Chem.*, 2010, **3** (118), 830-835.
- [21] Schwarz K., Huang S.-W., German J.B., Tiersch B., Hartmann J., Frankel N.E.: Activities of antioxidants are affected by colloidal properties of oil-in-water and water-in-oil emulsions and bulk oils. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, **10** (48), 4874-4882.
- [22] Shahidi, F.; Naczk, M.: Phenolics in food and nutraceuticals. CRC Press by Taylor & Francis Group, LLC, Boca Raton 2004, pp. 408-411.
- [23] Shearn C.T., Fritz K.S., Thompson J.A.: Protein damage from electrophiles and oxidants in lungs of mice chronically exposed to the tumor promoter butylated hydroxytoluene. *Chem-Biol. Interact.*, 2011, **3** (192), 278-286.
- [24] Vogel A.I.: *Preparatyka organiczna*. Wydawnictwa Naukowo-Techniczne. Warszawa 1984, s. 85, 430-434.
- [25] Yamaki K., Taneda S., Yanagisawa R., Inoue K., Takano H., Yoshino S.: Enhancement of allergic responses in vivo and in vitro by butylated hydroxytoluene, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 2007, **2** (223), 164-172.

SYNTHESIS, THERMAL STABILITY, AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF LONG-CHAIN ALKYL ESTERS OF FERULIC ACID

S u m m a r y

Natural lipids, rich in mono- and polyunsaturated fatty acids, are basic components of food; they significantly impact the accurate functioning of human organism. Unfortunately, those lipids are characterized by instability owing to their high susceptibility to oxidation processes. Many treatment procedures are applied to eliminate those adverse changes. In spite of their many advantages, the currently used commercial antioxidants may arouse controversy attributed to the undesirable biological activity or low stability under the food processing conditions. Therefore, there are attempts at searching for new antioxidants that might be an alternative to the presently used antioxidants.

The objective of the research study was to develop a method to synthesize long-chain alkyl esters of ferulic acid. The antioxidants produced were identified based on the results of spectroscopic investigations and elemental analysis. A thermal analysis of esters was performed, which comprised thermogravimetry (TG) and differential scanning calorimetry (DSC). The results obtained were compared with the results obtained for the free ferulic acid and with data in the reference literature on commercial antioxidants. In the research study, the antioxidant activity of tetradecyl ferulate and of BHT were pre-compared.

Key words: antioxidants, ferulic acid, long-chain alkyl esters of ferulic acid, thermal stability, synthetic antioxidants ☒

HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA

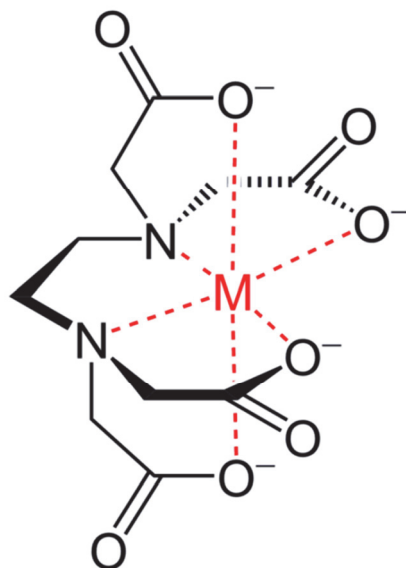
INTERAKCJE SKŁADNIKÓW ŻYWNOŚCI

Prezentujemy 28. część cyklu nt.: „Interakcje składników żywności”. Druk materiałów z tego cyklu rozpoczęliśmy w Żywności nr 1 (74), 2011.

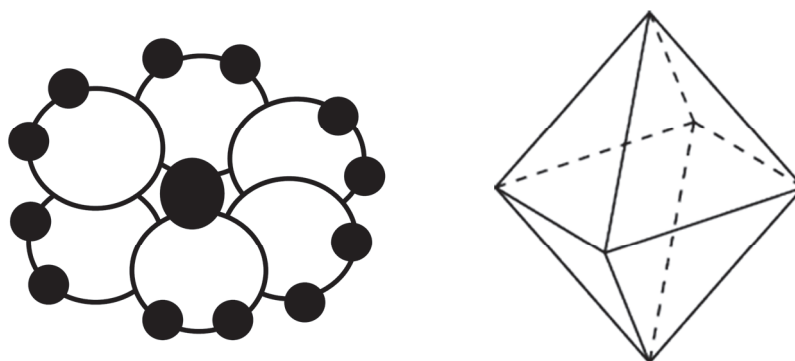
Do prawidłowego funkcjonowania organizmu człowieka niezbędne są określone jony pochodzące ze związków nieorganicznych. By jednak stały się one aktywnymi biologicznie składnikami metabolizmu muszą być biodostępne. Powstają wtedy, gdy w wyniku dysocjacji związku mineralnego w kwaśnym pH soku żołądkowego jon ulega związaniu przez składniki organiczne. By zrozumieć istotę fizykochemiczną tego pozornie prostego mechanizmu, konieczne jest przybliżenie wiedzy o powstawaniu związków kompleksowych, a w szczególności chelatów. Chelaty są to związki kompleksowe, w których organiczny ligand (jon lub cząsteczka, która jest donorem pary elektronów, tworząc związek koordynacyjny z atomem lub jonem metalu), łączy się z jonem centralnym za pomocą więcej niż jednego wiązania koordynacyjnego. Jonem centralnym chelatowego związku kompleksowego jest najczęściej dwu- lub trójwartościowy kation metalu (rys. 1). Chelaty pełnią dwie funkcje: dostarczają do organizmu jony związków nieorganicznych oraz usuwają z niego toksyny, np. metale ciężkie. W przyrodzie najbardziej znane są dwa chelaty, tj. hemoglobina wiążąca we krwi tlen oraz chlorofil zdolny w procesie fotosyntezy przekształcić ditlenek węgla w tlen. Najbardziej pospolitą strukturą jonów kompleksowych jest geometria oktaedryczna. Przykładem takiej geometrii jest jon $[Al(H_2O)_6]^{3+}$, którego strukturę przedstawiono na rys. 2. Kompleksy oktaedryczne z pierwiastkami istnieją w całym układzie okresowym, nawet w przypadku pierwiastków nieprzejściowych. Możliwe jest również powstawanie kompleksów o mniejszej niż sześć liczbie przyłączonych ligandów, lecz zawsze kończących się sześcioma najbliższymi sąsiednimi. Przykładem takiego kompleksu jest triszcawianożelazian(III) – $Fe(C_2O_4)_3^{3-}$ (rys. 3). Ma on tylko trzy grupy szczawianowe ($C_2O_4^{2-}$) na jeden atom żelaza. Każda grupa

Prof. dr hab. H. Kostyra, Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN, Oddział Nauki o Żywności, 10-747 Olsztyn, ul. Tuwima 10, prof. dr hab. E. Kostyra, Wydz. Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, ul. Oczapowskiego 7, 10-957 Olsztyn

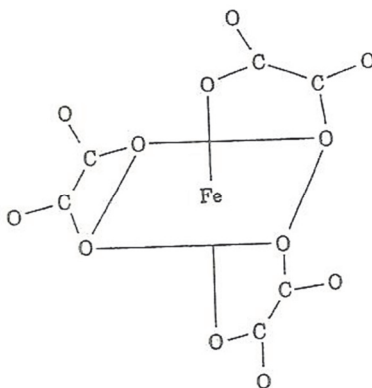
szczawianowa przyłącza się w dwóch miejscach do centralnego atomu żelaza. Taka grupa nazywa się dwukleszczową. Atom żelaza jest otoczony sześcioma sąsiednimi atomami tlenu, umieszczonymi w narożach oktaedru, lecz atomy tlenu są połączone ze sobą mostkowo poprzez atomy węgla. Oddziaływania między atomem centralnym a otaczającymi go ligandami mają charakter czysto elektrostatyczny. Oddziaływanie ligandów na jon centralny powoduje zmianę poziomu energetycznego elektronów d i jego rozszczepienie na podpoziomy.



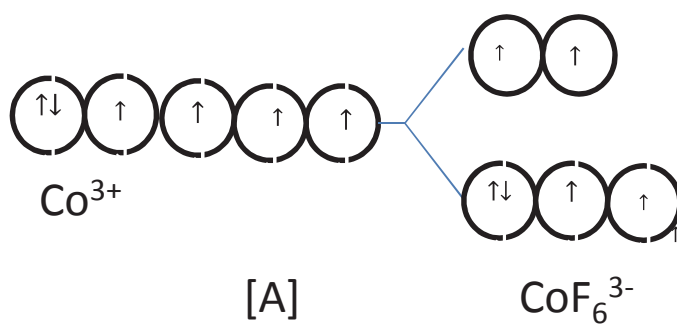
Rys. 1. Chelat metalu z EDTA



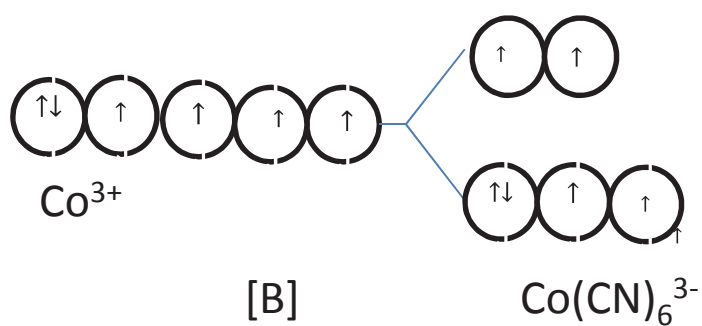
Rys. 2. Ośmiościan i jon $[\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ (czarna kula w środku oznacza Al^{3+}); małe kule zewnętrzne są atomami H związanymi z atomami O



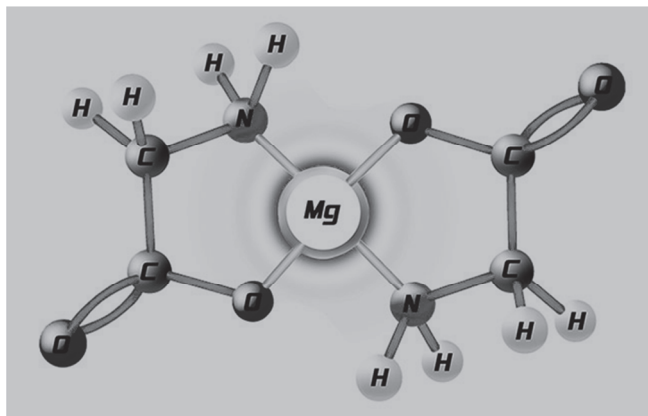
Rys. 3. Jon kompleksowy $\text{Fe}(\text{C}_2\text{O}_4)_3^{3-}$ z oktaedrycznym układem najbliższych sąsiadujących atomów tlenu



Rys. 4. Schemat rozszczępienia poziomu energetycznego elektronów jonu Co^{3+} (d^6) pod wpływem słabego ligandu F - (A), silnych ligandów CN - ($12\bar{e}$)



Rys. 5. Schemat rozszczępienia poziomu energetycznego elektronów jonu Co^{3+} (d^6) pod wpływem (B), silnych ligandów CN⁻



Rys. 6. Chelat diglicynianu z magnezem

Rozszczepienie poziomu d i rozkład elektronów d na powstałych podpoziomach zależy od właściwości ligandów i jonu centralnego. Im silniejszy jest wpływ ligandów, tym większe jest rozszczepienie poziomu d i większa energia wiązania. Duże rozszczepienie poziomów elektronowych powoduje, że elektrony d jonu centralnego lokują się najpierw na niższym poziomie elektronowym, nawet parami (rys. 4). Małe rozszczepienie poziomów d powoduje, że elektrony wypełniają pojedynczo orbitale na obu poziomach orbitalu d (rys. 5). Niesparowane elektrony na orbitalach d powodują powstanie paramagnetycznych właściwości chelatu, czyli obecność orbitalnych lub spinowych momentów magnetycznych, które mogą ustawiać się zgodnie z kierunkiem przyłożonego pola magnetycznego. Na zakończenie przykład chelatu aminokwasowego, w którym kation magnezu został zchelatowany dwoma cząsteczkami aminokwasu – glicyny (rys. 6). Cechą tego kompleksu jest stabilność w pH żołądka, brak podrażnień przewodu pokarmowego i dobre wchłanianie w jelicie. Po wchłonięciu w jelicie następuje hydroliza chelatu na glicynę i magnez elementarny. Czasami tworzenie chelatów jest niestety zaburzane przez niekorzystne czynniki. ☒

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 30 czerwca 2015 r.

Polskie akty prawne

1. Ustawa z dn. 22 czerwca 2001 r. o mikroorganizmach i organizmach genetycznie zmodyfikowanych (tekst jednolity) (Dz. U. 2015 r., p. 806).
Ogłoszono jednolity tekst ustawy z dn. 22 czerwca 2001 r. o mikroorganizmach i organizmach genetycznie zmodyfikowanych.
Ustawa określa zasady:
 - zamkniętego użycia mikroorganizmów genetycznie zmodyfikowanych,
 - zamkniętego użycia organizmów genetycznie zmodyfikowanych,
 - zamierzonego uwalniania organizmów genetycznie zmodyfikowanych do środowiska,
 - wprowadzania do obrotu produktów genetycznie zmodyfikowanych.
2. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 21 maja 2015 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie szczegółowych wymagań weterynaryjnych w handlu bydłem i świnią (Dz. U. 2015 r., poz. 771).
W rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 10 stycznia 2006 r. w sprawie szczegółowych wymagań weterynaryjnych w handlu bydłem i świnią (Dz. U. Nr 11, poz. 58) wprowadzono zmianę, która dotyczy wzoru świadectwa zdrowia, w które zaopatruje się bydło i świnię przeznaczone do handlu.
3. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 6 lutego 2009 r. w sprawie zwalczania chorób zakaźnych zwierząt akwakultury (tekst jednolity) (Dz. U. 2015 r., poz. 781).

Ogłoszono jednolity tekst rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 6 lutego 2009 r. w sprawie zwalczania chorób zakaźnych zwierząt akwakultury. Rozporządzenie określa szczegółowy sposób i tryb zwalczania chorób zakaźnych zwierząt akwakultury, których wykaz jest określony w załączniku do rozporządzenia, a w szczególności:

- sposób i tryb postępowania przy podejrzeniu wystąpienia oraz stwierdzeniu wystąpienia tych chorób,
 - rodzaj próbek pobieranych do badań diagnostycznych oraz sposób ich pobierania i wysyłania,
 - środki stosowane przy zwalczaniu tych chorób,
 - procedury czyszczenia i odkażania,
 - wymagania niezbędne do uznania terytorium Rzeczypospolitej Polskiej, strefy lub enklawy położonych na tym terytorium za wolne od nieegzotycznej choroby zakaźnej zwierząt akwakultury oraz szczegółowy tryb tego uznawania, a także warunki i tryb zawieszania, cofnięcia oraz ponownego uznania terytorium Rzeczypospolitej Polskiej, strefy lub enklawy położonych na tym terytorium, w stosunku do których cofnięto to uznanie,
 - wykonywanie szczepień przeciwko tym chorobom.
4. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 26 maja 2015 r. w sprawie laboratoriów urzędowych i referencyjnych oraz zakresu analiz wykonywanych przez te laboratoria (Dz. U. 2015 r., poz. 795).

W rozporządzeniu określono laboratoria będące:

- laboratoriami urzędowymi, o których mowa w art. 12 rozporządzenia (WE) nr 882/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r. w sprawie kontroli urzędowych przeprowadzanych w celu sprawdzenia zgodności z prawem paszowym i żywnościowym oraz regułami dotyczącymi zdrowia zwierząt i dobrostanu zwierząt,
- laboratoriami referencyjnymi, o których mowa w art. 33 rozporządzenia nr 882/2004.

Określony został zakres analiz wykonywanych przez ww. laboratoria.

Załączniku nr 1 do rozporządzenia zawiera wykaz 31 laboratoriów urzędowych, a załącznik nr 2 wykaz 4 laboratoriów referencyjnych wraz z zakresem analiz wykonywanych przez te laboratoria.

5. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 29 maja 2015 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie szczegółowych wymagań w zakresie jakości handlowej soków i nektarów owocowych (Dz. U. 2015 r., poz. 798).

Wprowadzona zmiana w rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 30 września 2003 r. w sprawie szczegółowych wymagań w zakresie jakości handlowej soków i nektarów owocowych (Dz. U. z 2014 r. poz. 494) dotyczy białka

roślinnego uzyskanego z pszenicy, grochu i ziemniaków używanego do klarowania.

6. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 26 maja 2015 r. w sprawie ogólnych odstępstw od warunków produkcji ekologicznej (Dz. U. 2015 r., poz. 799).

Rozporządzenie określa ogólne odstępstwa od warunków produkcji ekologicznej w zakresie systemu utrzymywania bydła. Dopuszcza się utrzymywanie bydła na uwięzi w gospodarstwach, w których m.in. utrzymuje się do 40 sztuk dorosłych bydła.

7. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 29 maja 2015 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie szczegółowych wymagań w zakresie jakości handlowej miodu (Dz. U. 2015 r., poz. 850).

Rozporządzenie określa szczegółowe wymagania w zakresie jakości handlowej miodu, o którym mowa w § 15 ust. 1 rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 23 grudnia 2014 r. w sprawie znakowania poszczególnych rodzajów środków spożywczych (Dz. U. z 2015 r. poz. 29).

Wprowadzone zmiany dotyczą m.in. miodu piekarniczego (przemysłowego).

Główne rodzaje miodu to:

- w zależności od pochodzenia: kwiatowy lub nektarowy (otrzymany z nektaru roślinnego), spadziowy (uzyskany głównie z wydalin owadów wysysających (*Hemiptera*) żywe części roślin lub wydzielin żywych części roślin).
- w zależności od sposobu pozyskiwania lub konfekcjonowania: sekcyjny (zgromadzony przez pszczoły w komórkach świeżo zbudowanego plastra bez czerwiu lub w komórkach świeżo zbudowanych na węzie wytworzonej wyłącznie z wosku pszczelego i sprzedawany w plastrach zasklepionych lub częściach takich plastrów), z plastrami (zawierający jedną lub więcej części plastra), odsączony (uzyskany przez odsączenie odkrytych plastrów bez czerwiu), odwirowany (otrzymany przez odwirowanie odkrytych plastrów bez czerwiu), wytłoczony (uzyskany przez wyciskanie plastrów bez czerwiu, nawet z zastosowaniem umiarkowanego podgrzewania nieprzekraczającego 45 °C), przefiltrowany (uzyskany przez usunięcie obcych substancji organicznych lub nieorganicznych, w tym usunięcie znaczącej ilości pyłku).

Pyłek kwiatowy lub inny specyficzny komponent miodu nie został z niego usunięty, z wyjątkiem miodu przefiltrowanego, chyba że było to nieuniknione w procesie usuwania obcych substancji organicznych lub nieorganicznych.

Załącznik do rozporządzenia zawiera szczegółowe wymagania fizykochemiczne miodu.

8. Rozporządzenie Ministra Obrony Narodowej z dn. 25 maja 2015 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie organizacji oraz warunków i trybu wykonywania zadań przez Wojskową Inspekcję Sanitarną (Dz. U. 2015 r., poz. 810).

W rozporządzeniu Ministra Obrony Narodowej z dnia 14 czerwca 2002 r. w sprawie organizacji oraz warunków i trybu wykonywania zadań przez Wojskową Inspekcję Sanitarną (Dz. U. Nr 97, poz. 872) wprowadza się następujące zmiany:

- Głównego Inspektora Sanitarnego Wojska Polskiego oraz pozostałych wojskowych inspektorów sanitarnych powołuje i odwołuje Minister Obrony Narodowej na wniosek dyrektora departamentu Ministerstwa Obrony Narodowej właściwego do spraw zdrowia,
- Wojskową Inspekcją Sanitarną kieruje Główny Inspektor Sanitarny Wojska Polskiego, podległy dyrektorowi departamentu Ministerstwa Obrony Narodowej właściwego do spraw zdrowia.

Unijne akty prawne

1. Rozporządzenie Wykonawcze Komisji (UE) 2015/949z dnia 19 czerwca 2015 r. zatwierdzające przedwywozowe kontrole niektórych rodzajów żywności przeprowadzane przez niektóre państwa trzecie w odniesieniu do obecności niektórych mikotoksyn (Tekst mający znaczenie dla EOG) (Dz. Urz. UE L, 2015 r. nr 156, s. 2).

Rozporządzenie zawiera zatwierdzenie kontroli przedwywozowych:

- zatwierdza się kontrole przedwywozowe przeprowadzane przed wywozem do Unii przez właściwy organ, którym jest Canadian Grain Commission, w odniesieniu do obecności ochratoksyny A w pszenicy i mące pszennej wyprodukowanych na terytorium Kanady,
- zatwierdza się kontrole przedwywozowe przeprowadzane przed wywozem do Unii przez właściwy organ, którym jest United States Department of Agriculture (USDA) w odniesieniu do obecności aflatoksyn w orzeszkach ziemnych i migdałach wyprodukowanych w USA.

2. Rozporządzenie Komisji (UE) 2015/1005 z dn. 25 czerwca 2015 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1881/2006 w odniesieniu do najwyższych dopuszczalnych poziomów ołowiu w niektórych środkach spożywczych (Tekst mający znaczenie dla EOG) (Dz. Urz. UE L, 2015 r. nr 161, s. 9).

W załączniku do rozporządzenia (WE) nr 1881/2006 wprowadza się zmiany zgodnie z załącznikiem do niniejszego rozporządzenia.

Najwyższe dopuszczalne poziomy ołowiu ustanowione w załączniku do rozporządzenia (WE) nr 1881/2006 i zmienione niniejszym rozporządzeniem stosuje się od dnia 1 stycznia 2016 r. Środki spożywcze, które nie są zgodne ze wspomnianymi najwyższymi dopuszczalnymi poziomami i które zostały zgodnie z prawem wpro-

- wadzone do obrotu przed dniem 1 stycznia 2016 r., mogą być nadal przedmiotem obrotu po tej dacie do upływu ich daty minimalnej trwałości lub terminu przydatności do spożycia.
3. Rozporządzenie Komisji (UE) 2015/1006 z dn. 25 czerwca 2015 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1881/2006 w odniesieniu do najwyższych dopuszczalnych poziomów nieorganicznego arsenu w środkach spożywczych (Tekst mający znaczenie dla EOG) (Dz. Urz. UE L, 2015 r. nr 161, s. 14).
W załączniku do rozporządzenia (WE) nr 1881/2006 wprowadza się zmiany zgodnie z załącznikiem do niniejszego rozporządzenia.
Najwyższe dopuszczalne poziomy arsenu określone w pkt 3.5 (Arsen (nieorganiczny)) załącznika do rozporządzenia (WE) nr 1881/2006 i zmienione niniejszym rozporządzeniem stosuje się od dnia 1 stycznia 2016 r.
Środki spożywcze, które nie są zgodne ze wspomnianymi najwyższymi dopuszczalnymi poziomami i które zostały zgodnie z prawem wprowadzone do obrotu przed datą rozpoczęcia stosowania, mogą być przedmiotem obrotu po tej dacie do upływu ich daty minimalnej trwałości lub przydatności do spożycia.
4. Rozporządzenie Wykonawcze Komisji (UE) 2015/1012 z dn. 23 czerwca 2015 r. zmieniające załącznik I do rozporządzenia (WE) nr 669/2009 w sprawie wykonania rozporządzenia (WE) nr 882/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady w sprawie zwiększonego poziomu kontroli urzędowych przywozu niektórych rodzajów pasz i żywności nie pochodzących od zwierząt (Tekst mający znaczenie dla EOG) (Dz. Urz. UE L, 2015 r. nr 161, s. 26).
Wprowadzona zmiana dotyczy pasz i żywności nie pochodzących od zwierząt, podlegających zwiększonemu poziomowi kontroli urzędowych w wyznaczonych miejscach wprowadzenia.
Załącznik I do rozporządzenia (WE) nr 669/2009 zastępuje się tekstem znajdującym się w załączniku do niniejszego rozporządzenia. ☒

NOWE KSIĄŻKI

Genetically Modified Foods: Basics, Applications, and Controversy

[Żywność genetycznie zmodyfikowana: Podstawy, zastosowania i kontrowersje]

Mahgoub S. E. O.

Wydawnictwo: CRC Press, 2015, stron 411, ISBN 9781482242812, cena 84,15 £

Zamówienia: www.crcpress.com

W książce podjęto temat, który budzi wiele wątpliwości wśród konsumentów. Przedstawiono wyważone porównanie zalet i wad żywności genetycznie zmodyfikowanej, rozważając argumenty jej zwolenników i przeciwników. Oprócz tego zwrócono uwagę na wymagania w zakresie znakowania tej żywności. Zawarto definicje biotechnologii, różne jej techniki, scharakteryzowano nowe i starsze metody inżynierii genetycznej. Wzięto również pod uwagę obowiązek, lub jego brak, informowania konsumentów o żywności/składnikach genetycznie zmodyfikowanych.

Antioxidants in Health and Disease

[Antyoksydanty – w zdrowiu i w chorobie]

Zampelas A., Micha R.

Wydawnictwo: CRC Press, 2015, stron 340, ISBN 9781466580039, cena 69,70 £

Zamówienia: www.crcpress.com

Autorzy dokonali charakterystyki wpływu antyoksydantów na zdrowie, przedstawiając wyniki najnowszych badań z tej dziedziny. Dokonano oceny antyoksydantów oraz ich roli w zapobieganiu takim chorobom, jak: nowotwory, choroby układu krążenia, HIV/AIDS.

The Perception of Quality

[Postrzeganie jakości]

Kenyon G. N., Sen, K. C.

Wydawnictwo: Springer, 2015, stron 340, ISBN 978-1-4471-6626-9, cena 130,09 €

Zamówienia: www.springer.com

W monografii przedstawiono całościowy model opisujący postrzeganie jakości przez konsumentów. Sposób postrzegania jakości powinien być uwzględniony przy projektowaniu nowych produktów, aby spełniały one oczekiwania konsumentów. Książka składa się z 17 rozdziałów, w których scharakteryzowano m.in. filozofię jakości, proces spostrzegania, aspekty jakości, planowanie i wprowadzanie zmian organizacyjnych, metody doskonalenia jakości, metody planowania i komercjalizacji produktów. Książka jest polecana dla osób zajmujących się jakością oraz studentów kierunków związanych z zarządzaniem jakością, projektowaniem produktów.

Handbook of Mineral Elements in Food

[Związki mineralne w żywności]

Wydawnictwo: Wiley, 2015, stron 792, ISBN 978-1-118-65436-1, cena 250,00 €

Zamówienia: eu.wiley.com

Związki mineralne występują w różnych rodzajach żywności i napojów, od wody pitnej aż do mleka matki. Dzięki analizie i ocenie tych związków, można poznać ich właściwości oraz zastosowanie. Analiza związków mineralnych wymaga stosowania wielu metod, ponieważ pewne metody mogą być odpowiednie dla jednych rodzajów żywności, a dla innych nie. Przedstawiono również wymagania prawne w tym zakresie.

Książka polecana jest dla osób zajmujących się analizą żywności, żywieniem, chemików oraz osób zajmujących się prawem żywnościowym.

Opracowała: Magdalena Niewczas

XXV LAT POLSKIEGO TOWARZYSTWA TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI

W tym roku obchodzimy srebrną rocznicę powstania Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności (PTTŻ). Powstanie PTTŻ nawiązywało do tradycji towarzystw naukowych w zakresie nauk przyrodniczych, które tworzone w XIX i w XX wieku. Było efektem zmian społeczno-ekonomicznych, jakie zapoczątkowano pod koniec lat 80. minionego stulecia. Wywarły one swój wpływ nie tylko na działalność przemysłową, ale także na działalność w sferze nauki, szkolnictwa i organizacji, których celem było rozwijanie społecznej działalności naukowej, dydaktycznej, a także upowszechnianie osiągnięć naukowych i wymiana doświadczeń z uwzględnieniem potrzeb i pożytku gospodarki narodowej. Te zmiany przejawiały się w zasadach finansowania nauki i towarzystw naukowych, a także wiązały się z postępem naukowo-technicznym w przemyśle, który poszukiwał wsparcia również ze strony nauki.

Inicjatorem powstania Towarzystwa był prof. dr dr h.c. Antoni Rutkowski, jedna z najważniejszych postaci w Polsce działających w sferze nauk związanych z technologią żywności. Profesor skupił wokół siebie osoby z tego środowiska z całej Polski i to oni 23 czerwca 1990 r. powołali do życia komitet założycielski Towarzystwa. W skład tej grupy weszli profesorowie: Janusz Budny, Stanisław Bujak, Zbigniew Duda, Tadeusz Gołębiowski, Tadeusz Haber, Adolf Horubała, Mirosława Klepacka, Edward Kołakowski, Henryk Niewiadomski, Mieczysław Pałasiński, Zdzisław Sikorski, Gustaw Sobkowicz, Adam Sroczyński, Stanisław Tyszkiewicz i dr Tomasz Wawrzyniak. Dwa miesiące później nastąpiła rejestracja Towarzystwa w Sądzie Wojewódzkim w Warszawie, a następnie ukonstytuował się Zarząd Główny PTTŻ. Stosownie do prawa funkcjonującego w Polsce działalność ta była i jest ciągle modyfikowana. Działania te mają pozwalać na pełniejszą realizację celów Towarzystwa, do których było powołane i które są zapisane w statucie, ale również na to, aby to była działalność transparentna dla wszystkich, tym bardziej, że jest organizacją pożytku publicznego.

Pod koniec 1990 r. Towarzystwo liczyło 203 członków, działało 5 oddziałów regionalnych, choć nie wszystkie z nich były wówczas zarejestrowane w sposób formal-

ny. Wydano pierwszy numer kwartalnika informacyjnego PTTŻ „Technolog Żywności”, którego redaktorem był doc. dr hab. Stanisław Gwiazda.

W skład pierwszego Zarządu Głównego PTTŻ weszli: prof. Antoni Rutkowski (prezes), prof. Stanisław Tyszkiewicz, prof. Jadwiga Wilska-Jeszka (wiceprezesi), doc. Stanisław Gwiazda (sekretarz), mgr Katarzyna Ratusz (zastępca sekretarza), prof. Mirosława Klepacka (skarbnik), dr Barbara Kłossowska (zastępca skarbnika) oraz jako członkowie: prof. Janusz Budny, prof. Bronisław Drozdowski, prof. Edward Kołakowski, prof. Adam Niewiarowicz, prof. Mieczysław Pałasiński, prof. Teresa Skrabka-Błotnicka, prof. Helena Zaorska. Profesor Antoni Rutkowski pełnił tę funkcję jeszcze przez dwie dalsze kadencje (lata 1990 - 1997). Jego następcami byli kolejno: prof. dr hab. dr h.c. Nina Baryłko-Pikielna (1998 - 2000 kadencja IV), prof. dr hab. Tadeusz Sikora (2001 - 2006 kadencja V - VI), prof. dr hab. Danuta Kołożyn-Krajewska (2007 - 2012 kadencja VII - VIII) oraz współautor niniejszego opracowania, prof. dr hab. Edward Pospiech (od 2013 kadencja IX).

Dzisiejszy PTTŻ to 10 oddziałów regionalnych (Gdański, Lubelski, Łódzki, Małopolski, Olsztyński, Podkarpacki, Szczeciński, Warszawski, Wielkopolski i Wrocławski), 6 sekcji specjalistycznych (Ekonomiczna, Chemii i Technologii Tłuszczów, Młodej Kadry Naukowej, Technologii Mięsa, Technologii Owoców i Warzyw oraz Technologii Węglowodanów) i Wydawnictwo Naukowe. Członkowie Towarzystwa aktywnie uczestniczą w pracach inicjowanych przez Towarzystwo, jak i włączają się w działalność najbliższego środowiska. PTTŻ działa głównie na uczelniach, ale nie tylko. Swoją aktywność zawdzięczamy nie tylko pracy członków Towarzystwa, ale także jego sympatyków i wsparciu od sponsorów. Finansowanie naszej działalności opiera się również na dotacjach pozyskiwanych z różnych źródeł, w tym przede wszystkim z Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego, ale także z Narodowego Centrum Badań i Rozwoju. Szczegóły działań i osiągnięć poszczególnych organów PTTŻ można znaleźć w najnowszym opracowaniu podsumowującym nasze 25-lecie, które znajduje się na naszej stronie internetowej. Zawiera ono informacje o działaniach podejmowanych przez poszczególne Oddziały i Sekcje, a także Zarząd Główny. Dane te przedstawione są w bardzo urozmaicony sposób. Ciekawym rozwiązaniem podsumowującym działalność PTTŻ jest kalendarium. O tym co działo się przez 25 lat w Polskim Towarzystwie Technologów Żywności można byłoby długo pisać. Do najważniejszych inicjatyw podejmowanych przez nas należą cykliczne seminaria, konferencje lub sesje. W ich organizacji wyróżniają się Oddziały: Warszawski, Wrocławski, Małopolski i Wielkopolski. Od szeregu lat uczestniczymy w organizacji najważniejszego spotkania technologów żywności, którym są sesje Komitetu Nauk o Żywności PAN. Niektóre z cyklicznych sesji organizowane są przy wsparciu Zarządu Głównego PTTŻ.

Działalność Towarzystwa ożywia Sekcja Młodej Kadry Naukowej (SMKN), która skupia głównie doktorantów. Spotykają się oni co roku. Dotychczas odbyło się 20 konferencji, przy czym ich zasięg powiększa się i od 4 lat mają one charakter międzynarodowy. Ostatnia konferencja SMKN została zorganizowana wspólnie z sekcją Chemii Żywności Polskiego Towarzystwa Chemicznego. Kontakt z zagranicą ma nie tylko SMKN, ale także Towarzystwo i jego poszczególne Oddziały. W zasadzie od samego początku istnienia PTTŻ jest afiliowane przy Institute of Food Technologists w USA. Szczególnie szeroką współpracę ma Sekcja Chemii i Technologii Tłuszczów, która jest członkiem Europejskiej Federacji Tłuszczowej (EuroFedLipid). Ciekawie rozwija się współpraca z niemieckim i słowackim odpowiednikiem naszego towarzystwa. Przy wsparciu środków Unii Europejskiej uczestniczyliśmy w realizacji programu FLAIR-FLOW IV. Celem projektu było szerzenie rezultatów projektów naukowych UE wśród małych i średnich przedsiębiorstw przemysłu żywnościowego, profesjonalistów żywieniowców i grup konsumenckich poprzez system sieci 24 krajów. Międzynarodowy charakter ma najnowszy projekt związany z programem „Wiem, co wybieram”, w którym także uczestniczymy. Pod akronimem MOST realizowany jest obecnie czteroletni projekt, który jest wspierany finansowo przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju, a dotyczy problematyki ograniczania strat i marnowania żywności z korzyścią dla społeczeństwa. Bardzo ożywioną działalność prowadzi Sekcja Technologii Owoców i Warzyw, która powstała 7 lat temu. Nawiązuje do początków działań Sekcji Technologii Mięsa.

Nasze działania staramy się łączyć z działaniami podejmowanymi przez inne organizacje mające podobne cele i zamierzenia do naszych. Szczególnie mocno zacieśnia się współpraca z Komitetem Nauk o Żywności Polskiej Akademii Nauk. Staramy się być bliżej przemysłu i stowarzyszeń działających na rzecz zdrowego odżywiania i produkcji żywności bioaktywnej.

Wydarzenia najnowsze odnoszące się do ostatniej kadencji to nie tylko realizacja przez Towarzystwo ww. projektów, ale także powołanie Oddziału Podkarpackiego. Wdrażamy nowe formy spotkań, obok klasycznych, wykorzystujemy do tego celu możliwości Internetu i staramy się nasze zebrania prowadzić w formie telekonferencji. Klasyczne spotkania są jednak również organizowane. Przebudowujemy stronę internetową. Podjęliśmy się nowelizacji statutu, dostosowując ją do zmian w naszym funkcjonowaniu i finansowaniu. Zachowując „profil technologiczny” Towarzystwa staramy się zwracać uwagę na nowe trendy w badaniach, nowe technologie dla przemysłu oraz na oczekiwania konsumentów – wobec nowości, które mają sprawić, że żywność będzie lepsza, powstaną nowe bardziej funkcjonalne i wygodne produkty, dające nadzieje na dłuższe życie w pełnym zdrowiu.

Działania w tym kierunku staramy się nagradzać w bardzo zróżnicowany sposób, począwszy od nagradzania najlepszych prac doktorskich, publikacji w naszym dwu-

miesięczniku „Żywność. Nauka. Technologia. Jakość”, a także przydzielania stypendiów, które mają wspomagać młodą kadrę w realizacji ich badań.

Przy podsumowaniu działalności Towarzystwa nie sposób nie wspomnieć naszego Wydawnictwa. Początki jego działalności związane są z wydawanymi przez Oddział Małopolski opracowaniami wykładów prezentowanych na zebraniach Oddziału w formie „Biblioteczki Oddziału Małopolskiego”, a także z biuletynem informacyjnym PTTŻ „Technolog Żywności”. Od 1997 r. biuletyn został włączony do kwartalnika „Żywność. Nauka. Technologia. Jakość”. Pierwszy jego zeszyt pojawił się w grudniu 1994 r. Od nr 1(10)/1997 kwartalnik Oddziału Małopolskiego PTTŻ „Żywność. Nauka. Technologia. Jakość” stał się organem Towarzystwa. Pierwszą dotację wspierającą redakcję otrzymaliśmy z Komitetu Badań Naukowych w 1997 r. Od nr 1(18)/1999 kwartalnik zmienił nazwę na „Żywność. Nauka. Technologia. Jakość”, a od nr 1(56)/2008 stał się dwumiesięcznikiem. Stałe działy w nim to np. *Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie krajowym i unijnym*, *Technolog żywności*, *Nowe książki*, czy *Współczesny leksykon wiedzy o żywności i Flair-Flow Europe IV* – dział prowadzony od 27. do 37. numeru kwartalnika.

W 2011r. „Żywność. Nauka. Technologia. Jakość” została wymieniona na *liście filadelfijskiej* czasopism naukowych i w związku z tym znalazł się na najważniejszej liście rankingowej „A” czasopism opracowywanej przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego. Od ubiegłego roku jest ciągle na tej liście z tym jednak, że nie posiada już wskaźnika *Impact Factor*. Mamy nadzieję na jego odzyskanie w niedalekiej przyszłości tym bardziej, że utrata wskaźnika była związana ze zbyt dużą liczbą cytowań, a nie z inną przyczyną. Wydawnictwo, poprzez swą aktywną działalność, jest swoistym rejestratorem i świadectwem dokonań PTTŻ. Za tę działalność szczególne słowa podziękowania należą się redaktorowi naczelnemu czasopisma, prof. dr hab. Tadeuszowi Sikorze, pełniącemu tę funkcję od początków powołania czasopisma.

Jak sprawy formalne są ważne również w działalności Towarzystwa odczuwamy codziennie. Towarzystwo, jako organizacja pożytku publicznego zobowiązana jest do składania określonych sprawozdań merytorycznych i finansowych. Wymaga to wsparcia kompetentnych osób, bez których nasza działalność byłaby niemożliwa. Pracy jest dużo. Stąd też dzieląc czas naszych członków między pracę zawodową i społeczną, a także pamiętając o naszych najbliższych, staramy się włączać do pracy osoby spoza Towarzystwa, a także czerpać z doświadczeń i czasu naszych seniorów.

PTTŻ jako organizacja pożytku publicznego, ale będąc zakorzeniona w sferze naukowej, stanowi potencjalnie bardzo dobrą platformę do podejmowania szerszych działań. Pozwala jej członkom stosunkowo łatwo działać w sferze dydaktycznej, popularyzatorskiej i upowszechniania osiągnięć naukowych. Zakres tych działań wynika z naszej aktywności i postrzegania nas przez innych, którzy potrzebują takiego wsparcia. Staramy się im pomóc, wyznając zasadę, że razem możemy się uzupełniać i doko-

nać więcej. Czyni to nas w pełni Towarzystwem pożytku publicznego, a więc takim, jak to definiują naszą działalność przepisy prawne i urzędnicy, którzy coraz mocniej obligują nas do wypełniania określonych formularzy i sprawozdań stanowiących w wielu przypadkach nie lada wyzwanie.

PTTŻ, działając głównie w środowisku naukowym, pokazuje często, że sprawy niemożliwe stają się możliwe. Wymaga to jednak bardzo dużego zaangażowania, otwarcia, woli tworzenia czegoś nowego, przydatnego nie tylko dla siebie, ale i innych, służenia nauce i ludziom, jest wyrazem empatii jej członków i środowiska, w którym działa z pomocą innych. Nasze niekiedy drobne działania przyczyniają się do powstawania rzeczy wielkich. Są wyrazem tego, że nam „nie jest wszystko jedno”.

XXV rocznica powstania Towarzystwa to okazja do podziękowania za pracę na rzecz Towarzystwa wszystkim jego członkom, sponsorom, wolontariuszom i sympatykom. W zasadzie nie wymieniano nazwisk przy tym krótkim omawianiu dokonań naszego 25-lecia. Jest niewielka liczba osób, która została już wyróżniona wcześniej poprzez przyznanie Złotej Odznaki PTTŻ i honorowego członkostwa. Pierwsze z tych wyróżnień otrzymało dotychczas 25 osób, a drugie – 18.

Na ostatniej Sesji Naukowej Komitetu Nauk o Żywności Polskiej Akademii Nauk zostały wręczone medale i dyplomy 25-lecia, które przyznał Zarząd Główny PTTŻ osobom, które wywarły swoje piętno na naszej działalności, są ciągle aktywnymi członkami Towarzystwa i wspierają naszą działalność. W gronie wyróżnionych znajdują się nasi najbardziej wytrwali sponsorzy.

Medale 25-lecia PTTŻ otrzymali: prof. dr hab. dr h.c. Nina Baryłko-Pikielna, prof. dr hab. Janusz Czapski, prof. dr hab. Grażyna Jaworska, prof. dr hab. Agnieszka Kita, prof. dr hab. Danuta Kołożyn-Krajewska, prof. dr hab. Bogusław Król, prof. dr hab. Krzysztof Krygier, prof. dr hab. dr h.c. Waław Leszczyński, prof. dr hab. dr h.c. Mieczysław Pałasiński, prof. dr hab. dr h.c. multi Antoni Rutkowski, prof. dr hab. Tadeusz Sikora, prof. dr hab. Krzysztof Surówka, prof. dr hab. Zdzisław Targoński, prof. dr hab. Stanisław Tyszkiewicz, prof. dr hab. Jadwiga Wilska-Jeszka, prof. dr hab. Dorota Witrowa-Rajchert, dr hab. Małgorzata Wroniak i dr Ladisław Staruch.

W gronie osób, którym przyznano Dyplom 25-lecia PTTŻ znaleźli się: prof. dr hab. Barbara Baraniak, prof. dr hab. Piotr Bykowski, prof. dr hab. Roman Grzybowski, dr inż. Karol Krajewski, prof. dr hab. Katarzyna Majewska, dr hab. Jan Kłobukowski, prof. dr hab. Lucjan Krala, prof. dr hab. Grażyna Lewandowicz, dr inż. Katarzyna Marciniak-Lukasiak, mgr inż. Maria Małuszyńska, prof. dr hab. Stanisław Mleko, mgr inż. Ewa Mrówka, prof. dr hab. Małgorzata Nogala-Kałużka, prof. dr hab. Teresa Skrabka-Błotnicka, prof. dr hab. dr h.c. multi Zdzisław Edmund Sikorski, prof. dr hab. Teresa Smolińska, prof. dr hab. Barbara Szeke i prof. dr hab. Maria Wojtatowicz.

W gronie odznaczonych sponsorów znalazły się takie firmy, jak: Zakłady Tuszczone Bielmar Sp.z o.o. z Bielsko-Białej, Bunge Polska Sp. z o.o. z Karczewa,

HORTIMEX PLUS Sp. z o.o. Sp. komandytowa z Konina i firma Tchibo – Warszawa Sp. z o.o.

Na tej Sesji KNoŻ został wręczony także Specjalny Dyplom PTTŻ dla prof. dr Katsuyoshi Nishinari, Prezydenta Japońskiego Towarzystwa Nauk o Żywności i Technologii, w podziękowaniu za dotychczasową jego bardzo owocną działalność na rzecz współpracy naukowej między Polską a Japonią. Życie pokazuje, że taka działalność jaką prowadzi PTTŻ jest potrzebna. Postaramy się ją kontynuować i czynić to jak najlepiej, tak abyśmy byli obecni w nauce skoro jesteśmy towarzystwem naukowym. Równocześnie musimy być blisko ludzi, którzy tej wiedzy potrzebują i chcą ją od nas, jako ekspertów otrzymywać. Jesteśmy bowiem towarzystwem pożytku publicznego. Ważne jest jednak i to, abyśmy byli wiarygodni, a w konsekwencji także godni zaufania.

Edward Pospiech i Dorota Piasecka-Kwiatkowska

XLII Sesja Naukowa Komitetu Nauk o Żywności PAN
”ŻYWNOŚĆ – ZDROWIE – PRZYSZŁOŚĆ”
LUBLIN, 25-26 CZERWCA 2015 R.

W dniach 25 - 26 czerwca 2015 r. w Centrum Kongresowym Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie odbyła się XLII Sesja Naukowa Komitetu Nauk o Żywności Polskiej Akademii Nauk nt. ”Żywność – Zdrowie – Przyszłość”. Jej Organizatorami byli: Komitet Nauk o Żywności PAN, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii UP w Lublinie oraz Polskie Towarzystwo Technologów Żywności. Honorowy patronat nad Sesją objął JM Rektor Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, prof. dr hab. Marian Wesołowski oraz Marszałek Województwa Lubelskiego, Sławomir Sosnowski. Patronem medialnym Sesji było Radio Lublin, a patronat prasowy objęło czasopismo branżowe Przemysł Spożywczy. Sesje Naukowe KNoŻ PAN odbywają się co 2 lata i stanowią największe w skali kraju forum prezentacji najnowszych osiągnięć w dziedzinie nauk o żywności. Również tegoroczna Sesja cieszyła się dużym zainteresowaniem, gdyż wzięło w niej udział 345 uczestników reprezentujących 38 uczelni, instytucji i zakładów przemysłowych.

W przededniu Sesji, w Bibliotece Głównej – Regionalnym Ośrodku Rolniczej Informacji Naukowej UP w Lublinie, odbyło się zebranie Członków Komitetu Nauk o Żywności Wydziału II Nauk Biologicznych i Rolniczych PAN. W trakcie posiedzenia wykład „Zmiany bioaktywności jako efekt interakcji związków fenolowych ze składnikami matrycy żywności” wygłosiła dr hab. Urszula Gawlik-Dziki z Katedry Biochemii i Chemii Żywności Wydziału Nauk o Żywności i Biotechnologii UP w Lublinie. Po zakończeniu zebrania dyrektor dr Marian Butkiewicz wprowadził gości po budynku biblioteki.

Obrady Sesji poprzedził jubileusz gospodarza – Wydziału Nauk o Żywności i Biotechnologii, który w bieżącym roku obchodzi 10-lecie działalności. W trakcie uroczystości, którym przewodniczyło kolegium dziekańskie, Dziekan Wydziału, prof. dr hab. Izabella Jackowska, przedstawiła historię Wydziału w prezentacji „10 lat doświadczeń”. JM Rektor UP w Lublinie, prof. dr hab. Marian Wesołowski, pogratulował

pracownikom Wydziału dotychczasowych osiągnięć i pozycji wśród krajowych jednostek zajmujących się naukami o żywności. Wspomniął prof. dr dr h.c. multi Stanisława Bujaka, który był pierwszym orędownikiem powstania w ówczesnej Akademii Rolniczej Wydziału zajmującego się dyscypliną naukową technologia żywności i żywienia. Prof. dr hab. Zdzisław Targoński przedstawił główne kierunki badań prowadzonych na Wydziale. Na ręce kolegium dziekańskiego przedstawiciele władz państwowych i samorządowych oraz instytucji naukowych złożyli gratulacje i wyrazy uznania. Dopełnieniem uroczystości jubileuszowych był występ lubelskiego zespołu Berberys, nawiązującego swoją muzyką do tradycji klezmerskiej.

Obrady XLII Sesji Naukowej KNoŻ PAN zainauguowała Dziekan Wydziału Nauk o Żywności i Biotechnologii UP w Lublinie, prof. dr hab. Izabella Jackowska, serdecznie witając wszystkich Uczestników. Następnie głos zabrał Przewodniczący Komitetu Nauk o Żywności PAN, prof. dr hab. Andrzej Lenart, życząc wszystkim owocnych obrad. W trakcie pierwszej Sesji plenarnej, której przewodniczyli prof. dr hab. Andrzej Lenart i prof. dr hab. Barbara Baraniak, wielowątkowy wykład „Food science and technology from a Japanese perspective” wygłosił prof. Katsuyoshi Nishinari, President of the Japanese Society for Food Science and Technology.

Pierwszy dzień Sesji upłynął pod znakiem jubileuszy jej Organizatorów, gdyż oprócz Wydziału-Gospodarza, swoją rocznicę powstania obchodziło również Polskie Towarzystwo Technologów Żywności. W prezentacji podsumowującej 25-lecie działalności prezes PTTŻ, prof. dr hab. Edward Pospiech, przedstawił najważniejsze wydarzenia z historii Towarzystwa. Zasłużonym Członkom Towarzystwa i Członkom Wspierającym wręczono jubileuszowe medale oraz dyplomy. Szczególного wymiaru uroczystościom rocznicowym Towarzystwa nadała obecność jego założyciela, prof. dr dr h.c. multi Antoniego Rutkowskiego.

Po uroczystościach jubileuszowych PTTŻ odbyła się Sesja referatowa, w trakcie której wygłoszono 23 komunikaty w trzech równoległych sekcjach: „Procesy technologiczne i biotechnologiczne w produkcji żywności (I)”, „Bezpieczeństwo zdrowotne żywności” oraz „Żywienie człowieka”. Tematyka wystąpień koncentrowała się na doskonaleniu procesów przetwarzania żywności, jak i opracowywaniu nowych produktów, zagrożeniach bezpieczeństwa zdrowotnego żywności wynikających z jej zanieczyszczenia lub niewłaściwego oznakowania oraz zagadnieniach związanych z szeroko pojętym żywieniem człowieka.

Zwieńczeniem pierwszego dnia Sesji była uroczysta kolacja w Centrum Kongresowym UP w Lublinie, będąca okazją do towarzyskich spotkań i nawiązywania nowych znajomości w gronie osób związanych zawodowo z naukami o żywności.

Drugi dzień konferencji rozpoczął się od Sesji plenarnej, której przewodniczyli prof. dr hab. Edward Pospiech i prof. dr hab. Zdzisław Targoński. W jej trakcie uczestnicy wysłuchali wykładu „Związki zapachowe żywności – wyzwania analityczne”,

który przedstawił prof. dr hab. Henryk Jeleń z Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Kolejny wykład „Probiotyczne bakterie *Lactobacillus rhamnosus* E/N jako źródło biotechnologicznie użytecznego egzopolisacharydu” wygłosiła dr hab. Magdalena Polak-Berecka z Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie.

W trakcie piątkowej Sesji referatowej wygłoszono 24 komunikaty w trzech równoległych sekcjach tematycznych: „Procesy technologiczne i biotechnologiczne w produkcji żywności (II)”, „Jakość mikrobiologiczna żywności” oraz „Bioaktywne składniki żywności”. Prezentowane prace dotyczyły optymalizacji procesów technologicznych i modyfikacji właściwości produktów spożywczych, bezpieczeństwa mikrobiologicznego żywności i oceny towaroznawczej rynkowych produktów spożywczych oraz żywności funkcjonalnej i wzbogaconej w związki bioaktywne.

Zarówno w pierwszym, jak i w drugim dniu Sesji odbywały się sesje posterowe, w trakcie których zaprezentowano łącznie 167 komunikatów naukowych w 6 sekcjach tematycznych: „Procesy technologiczne i biotechnologiczne w produkcji żywności (I) i (II)”, „Bezpieczeństwo zdrowotne żywności”, „Żywnienie człowieka”, „Jakość mikrobiologiczna żywności”, „Bioaktywne składniki żywności”.

Na zakończenie konferencji Przewodniczący Sesji referatowych i posterowych przedstawili krótkie podsumowania prezentowanych komunikatów i wnioski płynące z dyskusji. W imieniu Prezydium Komitetu Nauk o Żywności PAN głos zabrała sekretarz naukowy, prof. dr hab. Dorota Witrowa-Rajchert, która podziękowała gospodarzom za trud włożony w organizację konferencji oraz zaprosiła wszystkich do udziału w kolejnej, XLIII Sesji Naukowej KNoŻ PAN, która odbędzie się w 2017 r. w Uniwersytecie Przyrodniczym we Wrocławiu. Obrady XLII Sesji Naukowej KNoŻ PAN uroczyście zakończyła Dziekan Wydziału Nauk o Żywności i Biotechnologii UP w Lublinie, prof. dr hab. Izabella Jackowska, dziękując wszystkim uczestnikom za aktywny udział w Sesji.

Pokłosie konferencji stanowią materiały konferencyjne oraz monografie zawierające pełne teksty prac prezentowanych podczas Sesji, wydane przez Wydawnictwo Naukowe PTTŻ:

- Bezpieczeństwo zdrowotne żywności: Aspekty mikrobiologiczne, chemiczne i ocena towaroznawcza; red. Joanna Stadnik i Izabella Jackowska;
- Technologiczne kształtowanie jakości żywności; red. Karolina M. Wójciak i Zbigniew J. Dolatowski;
- Trendy w żywieniu człowieka; red. Małgorzata Karwowska i Waldemar Gustaw.

Organizację Sesji dofinansowało Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach działalności upowszechniającej naukę. Wsparcia rzeczowego i finansowego udzieliło wiele firm: Eurocontrol Sp. z o.o., Spółdzielnia Pszczelarska APIS, Bank BGŻ S.A., Spółdzielnia Mleczarska BIELUCH, Wydawnictwo CABI, Stowarzyszenie Partnerstwo Producentów Cebularza Lubelskiego, Chemagra Sp. z o.o., ZL Nałęczów

Zdrój Sp. z o.o. Sp. k., Producent Cydru Lubelskiego AMBRA S.A., Cukiernia Staropolska Tomasz Machoń, EUROPIEK Sp. z o.o., GEOMAX Misztal-Stateczny Sp. j., Cukiernia Grela, Indykpol Brand Management Sp. z o.o. Sp. k., Zakład Mięсны „Jasiołka”, Konica Minolta Sensing Europe B.V. Sp. z o.o., Okręgowa Spółdzielnia Mleczarska w Krasnymstawie, Linegal Chemicals Sp. z o.o., Makarony Polskie S.A., Okręgowa Spółdzielnia Mleczarska w Piaskach, POL-MAK S.A., RADWAG Wagi Elektroniczne, SHIM-POL A.M. Borzymowski Sp. j., Stoczek Natura, Kompania Piwowska S.A., Piekarnia Cukiernia MIELNIK, Lubelski Rynek Hurtowy S.A. którym składamy serdeczne podziękowania za przychylność i zaangażowanie w przygotowanie tak ważnego dla środowiska naukowego wydarzenia.

dr hab. inż. Joanna Stadnik
prof. dr hab. Izabella Jackowska

TWÓRCY POLSKIEJ NAUKI O ŻYWNOSCI

POLSCY UCZENI PO II WOJNIE ŚWIATOWEJ PROF. DR HAB. JERZY RYSZARD WARCHALEWSKI (1940–2012)



Jerzy Ryszard Warchalewski urodził się 9 lutego 1940 roku w Poznaniu. W 1958 roku ukończył III Liceum Ogólnokształcące w Poznaniu, a w 1963 roku studia na Wydziale Technologii Rolno-Spożywczej Wyższej Szkoły Rolniczej w Poznaniu. W trakcie studiów działał w Radzie Uczelnianej Zrzeszenia Studentów Polskich. Był również kapitanem drużyny koszykarskiej AZS WSR.

Po ukończeniu studiów rozpoczął pracę asystenta w Katedrze Technologii Rolnej Wyższej Szkoły Rolniczej w Poznaniu, kierowanej przez prof. dra Józefa Janickiego. W 1971 roku, na podstawie dysertacji wykonanej pod kierunkiem doc. dr hab. Janusza Skupina „Właściwości antyproteolityczne frakcji białkowych ziarna jęczmienia i kaszy jęczmiennej” uzyskał stopień doktora nauk technicznych.

W latach 1972 - 1973 odbył staż naukowy w Grain Research Laboratory, Winnipeg, Manitoba, jako stypendysta National Research Council of Canada. W 1979 roku przebywał na 10-dniowej misji naukowej w Instytucie Superiore di Sanita w Rzymie, na zaproszenie rządu włoskiego, a w 1981 roku przez dwa miesiące przebywał w ośrodkach naukowych USA i Kanady celem konsultacji naukowych i wygłoszenia wykładów. W latach 1982 - 1985 pracował jako profesor kontraktowy na University of Maiduguri, Department of Food Science and Technology w Nigerii.

W 1988 roku po przedstawieniu rozprawy habilitacyjnej „Purification and characterization of an endogenous α -amylase and trypsin inhibitor from wheat seeds” uzyskał stopień doktora habilitowanego nauk rolniczych w zakresie technologii żywności.

W lutym 1991 roku, gdy powoływano Oddział Wielkopolski PTTŻ, doc. dr hab. Jerzy R. Warchalewski był jednym z głównych promotorów jego powstania. Jako

pierwszy prezes Oddziału Wielkopolskiego PTTŻ podjął szeroką działalność wydawniczą, której celem była popularyzacja wybranych dziedzin przetwórstwa żywności w sposób dostępny dla różnych grup odbiorców. Zapraszał ekspertów, którzy zapewniaли odpowiedni poziom merytoryczny opracowań. Pozyskiwał też sponsorów na ich wydanie. Był redaktorem dwóch serii wydawnictw, obejmujących 21 popularnonaukowych monografii oraz 6-tomowej serii pt. „Stan aktualny i perspektywy rozwoju wybranych dziedzin produkcji żywności i pasz”. Temu ostatniemu wydawnictwu towarzyszyły, w ramach międzynarodowych targów POLAGRA i POLEKO, seminaria zatytułowane „Związki nauki z praktyką”, których prof. Warchalewski był głównym organizatorem.

W 1992 roku w ramach stypendium IREX wizytował Brown University w Providence, Rhode Island i University of California, Davis. W 1996 roku realizując program Tempus wyjeżdżał do Francji i Wielkiej Brytanii.

W roku 2000 prezydent RP nadał Jerzemu R. Warchalewskiemu tytuł profesora nauk rolniczych.

Działalność naukowa Profesora związana była głównie z aktywnymi biologicznie białkami zbóż, takimi jak enzymy amylolytyczne i proteolityczne oraz ich białkowymi inhibitorami. Związki te badał pod względem ich wpływu na kształtowanie przydatności technologicznej oraz naturalnej odporności ziarna zbóż na zagospodarowanie przez owadzie szkodniki magazynowe. Podejmował także badania nad możliwością zastosowania fizycznych metod obróbki ziarna, takich jak promieniowanie gamma i mikrofalowe, do ograniczania rozwoju owadzych szkodników magazynowanego ziarna. Jego badania obejmowały też ocenę wartości odżywczej układów białkowych w różnych surowcach roślinnych oraz doskonalenie metod automatycznej analizy aminokwasów.

Dorobek naukowy prof. Jerzego Warchalewskiego obejmuje: 6 książek i podręczników akademickich, 92 oryginalne prace twórcze, w tym 23 z tzw. listy filadelfijskiej, 25 artykułów naukowych i popularnonaukowych, 85 prac i streszczeń konferencyjnych (krajowych i międzynarodowych).

Był członkiem rad programowych czasopism: *Die Nahrung-Food and International Journal of Food Research* (1995 - 2004), *Więści Akademickich* (1997 - 2008) i *Przemysłu Spożywczego* (2003 - 2009).

Profesor Warchalewski aktywnie uczestniczył w działalności licznych towarzystw naukowych, m.in. Komitetu Agrofizyki PAN, Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności, gdzie pełnił funkcję prezesa i redaktora wydawnictwa Oddziału Wielkopolskiego oraz członka Zarządu Głównego. Od 1989 roku był członkiem honorowym The International Biographical Centre, Advisory Council, Cambridge, Anglia, a od 1993 roku czynnym działaczem The New York Academy of Sciences.

W latach 1991 - 2009 Profesor kierował Zakładem Biochemii Żywności, a w latach 2003 - 2009 Katedrą Biochemii i Analizy Żywności Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.

Pan Profesor był cenionym dydaktykiem o znaczących zasługach w kształceniu kadr. Był promotorem 15 prac magisterskich i czterech doktorskich. Prowadził zajęcia z biochemii i enzymologii żywności, głównie dla studentów kierunku Technologia Żywności i Żywnienie Człowieka. Był również recenzentem prac doktorskich, dorobków przy ubieganiu się o stopień doktora habilitowanego i o tytuł profesora.

W 2010 roku Profesorowi przyznano Medal Edukacji Narodowej, w 1989 roku Złoty Krzyż Zasługi, a w 2004 roku za szczególnie aktywną działalność na rzecz PTTŻ został odznaczony Złotą Odznaką Towarzystwa.

W pracy Profesor Jerzy R. Warchalewski nigdy nie zadowalał się półśrodkami, wszystko musiało być dopracowane w najdrobniejszych szczegółach – tego wymagał od siebie oraz od swoich uczniów i współpracowników. Formułował kryteria i przestrzegał ich, nie znosił kompromisów. Jako człowiek był uczciwy i rzetelny, a przy tym obdarzony kulturą i poczuciem humoru.

Profesor Jerzy Ryszard Warchalewski zmarł 12 sierpnia 2012 roku w Poznaniu, został pochowany na cmentarzu parafialnym w Puszczykowie pod Poznaniem.

Dorota Piasecka-Kwiatkowska

TECHNOLOG ŻYWNOŚCI

INFORMATOR POLSKIEGO TOWARZYSTWA TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI

Rok 25 Nr 4

sierpień 2015

DZIAŁALNOŚĆ TOWARZYSTWA

Zarząd Główny

W dniu 25 czerwca 2015 r., podczas XLII Sesji KNoŻ PAN w Lublinie, odbyła się uroczysta Sesja poświęcona 25-leciu działalności PTTŻ. Prezes Towarzystwa, prof. dr hab. Edward Pospiech, przedstawił najważniejsze wydarzenia z tego okresu, a następnie wręczył medale i dyplomy 25-lecia. Zostały one przyznane przez ZG PTTŻ osobom, które miały znaczący wkład w działalność Towarzystwa.

Wykaz wyróżnionych osób znajduje się w tym numerze czasopisma na stronie 216.

Oddział Małopolski

W dniu 10 lipca 2015 r. odbyło się Walne Zebranie Delegatów Oddziału Małopolskiego PTTŻ. Członkowie Walnego zebrania przyjęli sprawozdania z działalności Oddziału i udzieliли absolutorium ustępującym władzom Oddziału. Następnie wybrano nowy Zarząd Oddziału i Komisję Rewizyjną. Prezesem Oddziału Małopolskiego ponownie wybrany został prof. UR dr hab. Lesław Juszcak.

WAŻNIEJSZE MIĘDZYKRAJOWE I KRAJOWE KONFERENCJE NAUKOWE W 2015 r.

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 4 (101)/2015 Biuletynu podano według stanu informacji do 15 sierpnia 2015 r. Materiały do Nr 5 (102)/2015 prosimy nadsyłać do 1 października 2015 r. na adres Redakcji Czasopisma.

KOMUNIKAT

Informujemy P.T. Autorów, że *Informacje dla Autorów oraz wymagania redakcyjne* publikujemy na stronie <http://www.pttz.org/zyw/index.html>

**Adresy Zarządu Głównego, Oddziałów i Sekcji
Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności**

PREZES / ODDZIAŁ	ADRES
Prof. dr hab. Edward Pospiech Prezes PTTŻ	UP, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ Tel.: 61 848 72 60; e-mail: pospiech@up.poznan.pl
Dr hab. Dorota Piasecka-Kwiatkowska Sekretarz PTTŻ	UP, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ e-mail: dorotapk@up.poznan.pl
Prof. dr hab. Maria Śmiechowska Oddział Gdański	AM, ul. Morska 81-87, 81-225 GDYNIA Tel.: 58 690 15 62; e-mail: smiemari@am.gdynia.pl
Dr hab. inż. Joanna Stadnik Oddział Lubelski	UP, ul. Skromna 8, 20-704 LUBLIN Tel.: 81 462 33 41; e-mail: joanna.stadnik@up.lublin.pl
Dr hab. Joanna Leszczyńska Oddział Łódzki	PL, ul. Stefanowskiego 4/10, 90-924 ŁÓDŹ e-mail: joanna.leszczynska@p.lodz.pl
Dr hab. inż. Lesław Juszcak, 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. Chelmońskiego 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. Chelmońskiego 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 Młodej Kadry Naukowej	UP, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ e-mail: m.przeor@au.poznan.pl