



ŻYWNOŚĆ

Nauka Technologia Jakość

FOOD

Science Technology Quality

Nr 5 (102)

Kraków 2015

Rok 22

ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość

Organ naukowy PTTŻ – dwumiesięcznik

Nr 5 (102)

Kraków 2015

Rok 22

SPIS TREŚCI

Od Redakcji.....	3
PIOTR MINKIEWICZ, MAŁGORZATA DAREWICZ, ANNA IWANIAK, JUSTYNA BORAWSKA, JUSTYNA BUCHOLSKA, MONIKA HRYNKIEWICZ: Biologicznie aktywne peptydy pochodzące z białek żywności: badania <i>in silico</i> , <i>in vitro</i> i <i>in vivo</i> , aspekty aplikacyjne oraz ocena bezpieczeństwa	5
KRZYSZTOF SIEMIANOWSKI, JERZY SZPENDOWSKI: Metody włączania białek serwatkowych w technologii niedojrzewających kwasowych serów twarogowych	23
KRYSTYNA PAPPELBAUM, JERZY KASPRZAK, KATARZYNA CZACZYK: Występowanie werotoksycznych <i>Escherichia coli</i> w żywności, ze szczególnym uwzględnieniem serotypu O104:H4.....	33
IZABELA DMYTRÓW: Wpływ probiotycznych bakterii kwasu mlekowego na stabilność przechowalniczą kwasowych serów twarogowych	49
KATARZYNA SKRZYPCZAK, WALDEMAR GUSTAW, ADAM WAŚKO: Wybrane właściwości technologiczne i probiotyczne szczepów z gatunku <i>Lactobacillus helveticus</i>	61
GENOWEFA BONCZAR, KRZYSZTOF MACIEJOWSKI, JACEK DOMAGAŁA, DOROTA NAJGEBAUER-LEJKO, MAREK SADY, MARIA WALCZYCKA, MONIKA WSZOŁEK: Wpływ pasteryzacji i homogenizacji mleka na zawartość cholesterolu w miękkich serach podpuszczkowych typu bundz	73
ANNA KAMIŃSKA-DWÓRZNICKA, KATARZYNA SAMBORSKA, KATARZYNA RYBAK: Wpływ hydrolizatów kappa karagenu na ograniczenie nadmiernego wzrostu kryształów lodu w lodach mlecznych.....	87
WIESŁAW PRZYBYLSKI, MAGDALENA SOT, ELŻBIETA OLCZAK, KINGA BORUSZEWSKA: Wpływ stężenia glukozy i triacylogliceroli w surowicy krwi na jakość tuszy i mięsa tuczników	99
PIOTR JANISZEWSKI, EUGENIA GRZEŚKOWIAK, KAROLINA SZULC, KAROL BORZUTA, DARIUSZ LISIAK: Wpływ krzyżowania towarowego świń rasy złotnickiej pstrej ze świnią rasy Duroc i Wbp na jakość wybranych przetworów mięsnych.....	109
MARTA CHMIEL, KRZYSZTOF DASIEWICZ, MIROŚLAW SŁOWIŃSKI: Wpływ rodzaju zastosowanych preparatów fosforanowych na jakość kielbas homogenizowanych	121
DOMINIKA TOLIK, MIROŚLAW SŁOWIŃSKI, KATARZYNA DESPERAK: Wpływ zastosowania drobiowego mięsa oddzielonego mechanicznie oraz mięsa odświeżonego na jakość pasztetów sterylizowanych	132
DOROTA KUCHARCZAK, ŁUKASZ MASEWICZ, JOANNA LE THANH-BLICHAZ, HANNA MARIA BARANOWSKA: Właściwości molekularne wody hydratacyjnej w żelach acetylowanej skrobi ziemniaczanej	142
ALDONA SOBOTA, ZBIGNIEW RZEDZICKI, PIOTR ZARZYCKI, ANNA WIRKIJOWSKA, EMILIA SYKUT-DOMAŃSKA: Zmiany zawartości tłuszczu wolnego w czasie procesu produkcji makaronu jajecznego	152
RADOSŁAW DEMBCZYŃSKI, WOJCIECH BIAŁAS, ANNA OLEJNIK, PRZEMYSŁAW KOWALCZEWSKI, AGNIESZKA DROŹDŻYŃSKA, TOMASZ JANKOWSKI: Pozyskiwanie antocyjanów z owoców aronii, czarnego bzu, czarnej porzeczki i korzenia czarnej marchwi metodą ekstrakcji	165
ELŻBIETA WSZELACZYŃSKA, JAROSŁAW POBEREŻNY, ANNA J. KEUTGEN, MAŁGORZATA SZCZEPANEK, NATALIA IDASZEWSKA, JULIAN BREWKA: Zmiany jakościowe przetworów z marchwi w zależności od dolistnego nawożenia roślin magnezem oraz wybranych procesów technologicznych	182
ANNA PRUSAK, MAGDALENA SZUMIŁO-KULCZYCKA, TADEUSZ SIKORA: Żywność genetycznie zmodyfikowana (żywność GM) – analiza publikacji w <i>Gazecie Wyborczej</i> w latach 1995 + 2012	198
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA: Interakcje składników żywności	213
GRAŻYNA MORKIS: Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie polskim i unijnym	217
MAGDALENA NIEWCZAS: Nowe książki.....	221
ZBIGNIEW DUDA: „Chemia Żywności” – Recenzja podręcznika	223
TWÓRCY POLSKIEJ NAUKI O ŻYWNOŚCI.....	226
Technolog Żywności.....	230

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 5 (102)

Kraków 2015

Vol. 22

CONTENTS

From the Editor.....	3
PIOTR MINKIEWICZ, MAŁGORZATA DAREWICZ, ANNA IWANIAK, JUSTYNA BORAWSKA, JUSTYNA BUCHOLSKA, MONIKA HRYNKIEWICZ: Biologically active peptides from food proteins: <i>in silico</i> , <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> studies, application aspects, and safety evaluation	5
KRZYSZTOF SIEMIANOWSKI, JERZY SZPENDOWSKI: Methods of incorporating whey proteins in technology of unripened acid curd cheeses	23
KRYSTYNA PAPPELBAUM, JERZY KASPRZAK, KATARZYNA CZACZYK: Occurrence of verotoxic <i>Escherichia coli</i> in food with particular focus on serotype O104:H4.....	33
IZABELA DMYTRÓW: Effect of lactic acid probiotic bacteria on storage stability of acid curd cheeses (tvarog).....	49
KATARZYNA SKRZYPCZAK, WALDEMAR GUSTAW, ADAM WAŚKO: Selected technological and probiotic characteristics of strains of <i>Lactobacillus helveticus</i> species.....	61
GENOWEFA BONCZAR, KRZYSZTOF MACIEJOWSKI, JACEK DOMAGAŁA, DOROTA NAJGEBAUER-LEJKO, MAREK SADY, MARIA WALCZYCKA, MONIKA WSZOŁEK: Effect of pasteurization and homogenization of milk on cholesterol content in soft rennet bundz-type cheeses.....	73
ANNA KAMIŃSKA-DWÓRZNIKA, KATARZYNA SAMBORSKA, KATARZYNA RYBAK: Effect of kappa carrageenan hydrolysates on limiting excessive ice crystals growth in ice creams.....	87
WIESŁAW PRZYBYLSKI, MAGDALENA SOT, ELZBIETA OLCZAK, KINGA BORUSZEWSKA: Effect of glucose and triglyceride levels in blood serum on carcass and meat quality of porkers	99
PIOTR JANISZEWSKI, EUGENIA GRZEŚKOWIAK, KAROLINA SZULC, KAROL BORZUTA, DARIUSZ LISIAK: Effect of crossing Złotnicka spotted pigs with Duroc and Polish large white breeds on quality of selected meat products	109
MARTA CHMIEL, KRZYSZTOF DASIEWICZ, MIROŚLAW SŁOWIŃSKI: Effect of types of phosphate preparations used on the quality of emulsion-type sausages.....	121
DOMINIKA TOLIK, MIROŚLAW SŁOWIŃSKI, KATARZYNA DESPERAK: Effect of using mechanically deboned and desinewed poultry meat on quality of sterilized Pâtés.....	132
DOROTA KUCHARCZAK, ŁUKASZ MASEWICZ, JOANNA LE THANH-BLICHAZ, HANNA MARIA BARANOWSKA: Molecular properties of hydration water in gels of acetylated starch	142
ALDONA SOBOTA, ZBIGNIEW RZEDZICKI, PIOTR ZARZYCKI, ANNA WIRKIJOWSKA, EMILIA SYKUT-DOMAŃSKA: Changes in content of free fat during egg pasta manufacturing process	152
RADOSŁAW DEMBZYŃSKI, WOJCIECH BIAŁAS, ANNA OLEJNIK, PRZEMYSŁAW KOWALCZEWSKI, AGNIESZKA DROŹDŻYŃSKA, TOMASZ JANKOWSKI: Obtaining anthocyanins from chokeberry, blackcurrant and elderberry fruits, and from roots of black carrot using extraction method.....	165
ELŻBIETA WSZELACZYŃSKA, JAROSŁAW POBEREŻNY, ANNA J. KEUTGEN, MAŁGORZATA SZCZEPANEK, NATALIA IDASZEWSKA, JULIAN BREWKA: Qualitative changes in carrot preserves depending on foliar fertilization of plants with magnesium and on selected technological processes.....	182
ANNA PRUSAK, MAGDALENA SZUMIŁO-KULCZYCKA, TADEUSZ SIKORA: Genetically modified food (GM food) – analysis of publications in <i>Gazeta Wyborcza</i> in 1995 - 2012	198
HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA: Interactions among food components.....	213
GRAŻYNA MORKIS: Food problems in Polish and EU legislation	217
MAGDALENA NIEWCZAS: Book reviews	221
ZBIGNIEW DUDA: „Chemia Żywności” – Recenzja Podręcznika	223
Creators of the Polish food science.....	226
The Food Technologist.....	230

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

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

WYDAWCA: POLSKIE TOWARZYSTWO TECHNOLOGÓW 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 **5 (102)** 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, październik 2015 r.

Redaktor Naczelny



Tadeusz Sikora

PIOTR MINKIEWICZ, MAŁGORZATA DAREWICZ, ANNA IWANIAK,
JUSTYNA BORAWSKA, JUSTYNA BUCHOLSKA, MONIKA HRYNKIEWICZ

**BIOLOGICZNIE AKTYWNE PEPTYDY POCHODZĄCE Z BIAŁEK
ŻYWNOŚCI: BADANIA *IN SILICO*, *IN VITRO* I *IN VIVO*, ASPEKTY
APLIKACYJNE ORAZ OCENA BEZPIECZEŃSTWA**

Streszczenie

Bioaktywne peptydy obecne w żywności mogą przyczynić się do zmniejszenia występowania chorób przewlekłych. W produktach spożywczych peptydy zazwyczaj są uwalniane poprzez hydrolizę enzymatyczną białek. W pracy przedstawiono wybrane metody analityczne, chemometryczne i bioinformatyczne, stosowane w badaniach molekularnych i biologicznych właściwości peptydów pochodzących z białek żywności. Opisano także metody zwiększania biodostępności peptydów oraz wybrane aspekty oceny ich bezpieczeństwa. Zrozumienie aspektów molekularnych biologicznej aktywności peptydów stwarza podstawy postępu w wykorzystaniu tych związków jako składników żywności zapobiegających chorobom dietozależnym.

Słowa kluczowe: peptydy bioaktywne żywności, metody analityczne, komputerowe bazy sekwencji, chemometria, biodostępność, bezpieczeństwo

Wprowadzenie

Białka pochodzące z żywności są głównie źródłem aminokwasów. Ich wartość oceniana jest także według kryteriów żywieniowych, np. strawności, obecności związków przeciwwyżnieniowych lub właściwości alergennych [18]. Nowe, dodatkowe kryterium oceny białek dotyczy ich potencjalnej aktywności biologicznej oraz możliwości uwalniania z ich struktury aktywnych peptydów za pomocą enzymów lub czynników fizykochemicznych. Schlimme i Meisel [87] definiują bioaktywne peptydy jako fragmenty białek, które pozostają nieaktywne w ich sekwencji, natomiast po uwolnieniu

Prof. dr hab. P. Minkiewicz, prof. dr hab. M. Darewicz, dr hab. A. Iwaniak, prof. nadzw., dr inż. J. Borawska, dr inż. J. Bucholska, mgr inż. M. Hrynkiewicz, Katedra Biochemii Żywności, Wdz. Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, pl. Cieszyński 1, 10-726 Olsztyn. Kontakt: minkiew@uwm.edu.pl

przez enzymy proteolityczne mogą oddziaływać z odpowiednimi receptorami w organizmie, regulując jego funkcje. Minkiewicz i wsp. [62] zdefiniowali pojęcie peptydomu żywności jako puli peptydów obecnych w surowcu lub produkcie żywnościowym. Struktura molekularna peptydów żywności wpływa na mechanizmy wchłaniania tych związków, jakość surowców i produktów spożywczych, kondycję psychofizyczną konsumentów oraz profilaktykę chorób dietozależnych [21, 62]. Zrozumienie zależności między strukturą molekularną peptydów a funkcją biologiczną żywności wymaga stosowania zaawansowanych metod badań o charakterze analitycznym i komputerowym. [39, 55, 85, 106, 110]. W celu ograniczenia kosztów i czasochłonności tych badań stosuje się metody oraz techniki bioinformatyczne, a także chemometryczne [73, 84, 85, 98]. Jedną z najważniejszych metod analizy białek i produktów ich degradacji jest wysokosprawna chromatografia cieczowa w układzie odwróconych faz (RP-HPLC). Kolumnową chromatografię cieczową bardzo często stosuje się do izolowania peptydów i białek na skalę przemysłową [1]. Najbardziej precyzyjną metodą identyfikacji peptydów i białek jest spektrometria mas (MS) bądź tandemowa spektrometria mas (MS/MS) [71]. Narzędzia bioinformatyczne umożliwiają przeprowadzenie symulacji procesu hydrolizy białek oraz ułatwiają identyfikację bioaktywnych peptydów przy wykorzystaniu wyników badań otrzymanych za pomocą spektrometrii mas [6, 85]. Programy oraz algorytmy służące do identyfikacji peptydów na podstawie wyników takich badań przedstawili Forner i wsp. [28]. Ostateczną weryfikacją i potwierdzeniem badań *in silico* są eksperymentalne oznaczenia aktywności biologicznej hydrolizatów i peptydów.

Metody oznaczania wybranych rodzajów aktywności biologicznej peptydów żywności

Metody oznaczania aktywności biologicznej peptydów pochodzących z białek żywności przedstawiono na przykładzie peptydów inhibitorów konwertazy angiotensyny I oraz peptydów antyoksydacyjnych.

Konwertaza angiotensyny I (ACE) [EC 3.4.15.1] odgrywa wiodącą rolę w systemach odpowiedzialnych za regulację ciśnienia krwi [39, 40]. Wiele znanych peptydów z żywności może być inhibitorami ACE [47]. Aktywność inhibitorów ACE jest określana za pomocą parametru IC_{50} , którego wartość odpowiada stężeniu peptydu powodującego zmniejszenie aktywności enzymu o 50 %. Określenie aktywności inhibitorów ACE polega na spektrofotometrycznym pomiarze zawartości kwasu hipurowego (HA), powstającego na skutek działania konwertazy angiotensyny na hipurylo-L-histydylo-L-leucynę (HHL) w obecności wyizolowanych peptydów lub hydrolizatów białek o różnym stężeniu [14]. Jimsheena i Gowda [41] opracowali metodę, która pomija etap ekstrakcji HA z mieszaniny reakcyjnej. Innym sposobem jest pomiar zawartości HA z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej z odwróconymi fazami

(RP-HPLC) [80]. Stosowanie odmiennych metod utrudnia porównywanie wartości IC_{50} otrzymywanych w różnych badaniach. Niektórzy autorzy nie podają istotnych szczegółów dotyczących oznaczeń [68]. Według różnych autorów dipeptyd AP charakteryzuje się wartością IC_{50} w przedziale $29 \div 230 \mu\text{M}$, natomiast IC_{50} peptydu AVYPYQR wynosi $15 \div 274 \mu\text{M}$ [2].

Pomiar aktywności przeciwnadciśnieniowej inhibitorów ACE w układzie *in vivo* prowadzony jest z udziałem ludzi lub zwierząt [40]. Doświadczenia prowadzi się najczęściej na czterotygodniowych szczurach rasy Wistar (ang. WKR, *Wistar Kyoto rats*) o normotensyjnym ciśnieniu krwi oraz szczepu SHR (ang. *spontaneously hypertensive rats*), tj. szczurach z predyspozycjami do rozwoju nadciśnienia [50]. Szczury karmione są raz dziennie określoną dawką peptydu przeliczoną na kilogram masy ciała. Peptyd podany w formie roztworu wodnego jest intubowany bezpośrednio do żołądka szczurów, a następnie co kilka godzin dokonywany jest pomiar ciśnienia krwi [70]. Badania ludzi obejmują pacjentów w łagodnym stadium nadciśnienia tętniczego. Pacjenci otrzymują określoną dawkę peptydu w formie ekstraktu lub produktu żywnościowego, a następnie w odpowiednich przedziałach czasowych dokonywany jest pomiar skurczowego oraz rozkurczowego ciśnienia krwi [40].

Właściwości antyoksydacyjne białek i peptydów są różnie definiowane, a do ich pomiaru wykorzystuje się wiele metod. Między innymi wykorzystywana jest zdolność antyoksydantów do dezaktywacji wolnych rodników. Reakcje te mogą przebiegać według dwóch mechanizmów: przeniesienia pojedynczego elektronu, tzw. SET (ang. *single electron transfer*) oraz przeniesienia atomu wodoru, tzw. HAT (ang. *hydrogen atom transfer*) [86]. W metodach z zastosowaniem mechanizmu typu SET mieszaninę reakcyjną stanowią przeciwutleniacz i oksydant zmieniający barwę wskutek redukcji. Uzyskane wyniki przelicza się często na równoważniki Troloxu, TEAC (ang. *Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*) [86]. Metoda z użyciem roztworu DPPH[•] (1,1-difenylo-2-pikrylohydrazyl) wykorzystuje mechanizm SET [74, 86]. W badaniach stosuje się m.in. etanolowy roztwór DPPH[•] o barwie purpurowej (maksimum absorpcji - $\lambda_{\text{max}} = 517 \text{ nm}$) [109]. W czasie reakcji redukcji barwa roztworu zmienia się na żółtą. Metoda ta jest szeroko stosowana do pomiarów zdolności antyoksydacyjnej naturalnych surowców. Jest szybka i dokładna, a otrzymane wyniki są odtwarzalne [15]. Kolejna metoda oznaczania aktywności antyoksydacyjnej wykorzystuje wolny rodnik ABTS^{•+} [2,2'-azobis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonian)]. Zastosowanie ABTS^{•+} umożliwia pomiar całkowitej aktywności antyoksydacyjnej próbek żywności [15]. Rodniki ABTS^{•+} tworzone są podczas reakcji chemicznych, np. z nadsiarczanem potasu (nadtlenosiarczanem(VI) dipotasu), elektrochemicznych lub enzymatycznych. Utlenienie ABTS^{•+} następuje natychmiast, jednak maksymalną wartość absorpcji i pełną stabilność rodnik uzyskuje po upływie 6 h. Rodniki generowane podczas reakcji mają barwę niebieskozieloną (np. $\lambda_{\text{max}} = 734 \text{ nm}$) [111]. Antyoksydanty powodują redukcję katio-

norodnika w stopniu zależnym od czasu trwania reakcji, stężenia przeciwutleniacza oraz jego aktywności [15]. Zaletami metody są duża szybkość reakcji kationorodnika ABTS^{•+} z przeciwutleniaczami (zwykle w ciągu 30 min) oraz rozpuszczalność ABTS^{•+} zarówno w wodzie, jak i w rozpuszczalnikach organicznych [15]. Inną metodą pomiaru aktywności antyoksydacyjnej jest test na siłę redukcji jonów żelaza (ang. *reducing power* lub *ferric-reducing power*), który pozwala na bezpośrednie określenie właściwości redukujących badanej próbki. Metoda polega na pomiarze redukcji heksacyjanożelazianu(III) potasu pod wpływem działania antyoksydanta i detekcji zmiany zabarwienia substratu ($\lambda_{\text{max}} = 700 \text{ nm}$) [6]. Należy podkreślić, że żadna z metod oznaczania właściwości antyoksydacyjnych nie jest uznana za oficjalnie zstandaryzowaną. Stąd sugeruje się wykorzystywanie różnych metod w różnych warunkach utlenienia do oznaczania aktywności antyoksydacyjnej [86].

Zastosowanie spektrometrii mas, wysokosprawnej chromatografii ciekowej oraz elektroforezy kapilarnej w analizie biologicznie aktywnych peptydów żywności

Do identyfikacji i ilościowego oznaczania peptydów stosowane są metody rozwijane na potrzeby badań proteomicznych. Najważniejszą z nich jest spektrometria mas (MS) [94]. Opublikowano wiele prac przeglądowych opisujących rozwój metod analitycznych (głównie MS) w badaniach peptydów oraz peptydomów danego organizmu, tkanki, organu lub produktu żywnościowego [9, 29, 62, 71, 73, 85]. Spektrometria mas jest łączona z wysokosprawną chromatografią ciekową z odwróconymi fazami (RP-HPLC) [26, 109] lub elektroforezą kapilarną (CE) [37, 43]. Główną zaletą CE jest możliwość miniaturyzacji sprzętu oraz małe zużycie odczynników, co zgodne jest z filozofią „zielonej chemii”, zalecającą poszukiwanie metod analitycznych najmniej obciążających środowisko [105]. Z kolei RP-HPLC umożliwia rozdzielanie peptydów w skali preparatywnej.

Biologicznie aktywne peptydy pochodzące z żywności powstają głównie w wyniku hydrolizy białek przez enzymy o różnej specyficzności [73]. W takiej sytuacji polecaną strategią może być sekwencjonowanie peptydów *de novo* na podstawie ich widm MS/MS [57]. Zastosowanie spektrometrii mas pozwala też na identyfikację enzymatycznych modyfikacji peptydów [56]. Peptydy w żywności ulegają także innym reakcjom chemicznym [100]. MS jest uniwersalną metodą, mogącą służyć do identyfikacji produktów takich reakcji.

Alternatywą sekwencjonowania *de novo* może być strategia badawcza naśladująca tzw. „proteomikę kierowaną hipotezą” [88]. Strategia ta polega na identyfikacji i obserwacji powstawania, degradacji, modyfikacji czy zmian zawartości wytypowanych białek lub peptydów będących markerami występowania lub zmian zawartości tych białek. Białka lub peptydy mogą być typowane m.in. na podstawie badań bioinformatycznych. Metody badawcze stosowane do badań peptydowych markerów bia-

łek mogą być także używane w badaniach biologicznie aktywnych peptydów [90]. W peptydach tych można poszukiwać fragmentów identycznych ze znanymi wcześniej sekwencjami aminokwasowymi zgromadzonymi w bazach danych [62, 63, 64] lub przewidywać aktywność fragmentów białek za pomocą programów, takich jak PeptideRanker [66].

Dodatkowe informacje ułatwiające identyfikację peptydu metodą RP-HPLC w połączeniu ze spektrometrią mas można uzyskać, wykorzystując przewidywanie czasów retencji za pomocą oprogramowania dostępnego w Internecie [48]. Jeśli przepis stosowany w danym laboratorium różni się od użytego przy opracowaniu programu, należy wprowadzić poprawkę w obliczeniach. W celu dostosowania przewidywań teoretycznych do metod analitycznych stosowanych w poszczególnych laboratoriach (rodzaj kolumn, gradient fazy ruchomej itd.) można zastosować strategię obejmującą obliczenie przewidywanych czasów retencji zbioru peptydów, zmierzenie czasów retencji tych samych peptydów oraz obliczenie równania opisującego zależność między teoretycznym czasem retencji obliczonym za pomocą dostępnego programu a rzeczywistym czasem retencji peptydów [24].

Tandemową spektrometrię (MS/MS) mas w połączeniu z wysokosprawną chromatografią cieczą z odwróconymi fazami zastosowano do identyfikacji oraz analizy ilościowej biologicznie aktywnych peptydów uwalnianych z białek mleka przez enzymy trawienne przewodu pokarmowego człowieka. Podczas analizy peptydy identyfikowano przy użyciu strategii sekwencjonowania *de novo*. Uzyskane sekwencje aminokwasowe stosowano jako zapytania do przeszukiwania bazy danych biologicznie aktywnych peptydów [8]. Podobną strategię zastosowano w analizie peptydomu mleka ludzkiego [17] i produktów hydrolizy białek ryb za pomocą trypsyny [10]. Sekwencjonowanie *de novo* stosowane jest przy poszukiwaniu nowych, biologicznie aktywnych peptydów. Wówczas produkty proteolizy białek rozdzielane są np. za pomocą chromatografii wykluczania na podstawie ich rozmiarów. Składniki frakcji aktywnych są następnie identyfikowane metodą MS/MS (RP-HPLC-MS/MS). Ostatni etap obejmuje syntezę zidentyfikowanych peptydów i badanie ich aktywności. Powyższa strategia została zastosowana do poszukiwania nowych peptydów hamujących aktywność ACE, pochodzących z grzybów [54, 55]. Syntetyczne peptydy zostały użyte w wymienionych wyżej eksperymentach także do symulacji enzymatycznej hydrolizy w przewodzie pokarmowym człowieka [54, 55]. Strategia naśladująca „proteomikę kierowaną hipotezą” może obejmować np. wyszukiwanie fragmentów łańcuchów białkowych o potencjalnej biologicznej aktywności, symulację proteolizy *in silico*, tworzenie symulowanych widm MS/MS oraz poszukiwanie peptydów w hydrolizatach białkowych przy wykorzystaniu uzyskanych danych [39].

Bazy danych biologicznie aktywnych peptydów

Sposobem prezentacji informacji z dziedziny biologii oraz chemii są internetowe bazy danych [38, 65]. Do grup związków opisywanych w bazach należą m.in. peptydy. Wśród baz peptydów istnieją takie, które zawierają dane na temat związków o różnych rodzajach aktywności biologicznej np. BIOPEP [64], EROP-Moscow [112] czy PepBank [91]. Tworzone są także specjalistyczne bazy danych peptydów wykazujących poszczególne rodzaje aktywności, np. bazy peptydów antybakteryjnych: CAMP [103] i MilkAMP [95], antywirusowych: AVPdb [79] czy hemolitycznych (niszczących czerwone ciała krwi): Hemolytik [30]. Typowa baza danych zawiera sekwencje aminokwasowe peptydów, informacje na temat ich aktywności biologicznej oraz odnośniki literaturowe. Bazom danych towarzyszą narzędzia do wyszukiwania peptydów identycznych lub o wysokim stopniu podobieństwa do sekwencji użytych jako zapytania. Możliwe są dwa sposoby przeszukiwania baz. Pierwszy z nich zakłada użycie sekwencji białka lub polipeptydu jako zapytania i wyszukiwanie krótkich fragmentów wykazujących aktywność biologiczną [64]. Zapytaniami przy przeszukiwaniu baz mogą być także sekwencje peptydów [8, 10, 11, 17]. Drugi sposób [20, 61] zakłada użycie krótkiej sekwencji jako zapytania i przeszukiwanie baz danych białek, np. bazy UniProt [96]. Zapytaniami mogą być sekwencje zawierające więcej niż pięć reszt aminokwasowych.

Baza Quorumpeps [108], oprócz sekwencji aminokwasowych podanych za pomocą kodu jednoliterowego, zawiera struktury peptydów zapisane w kodzie SMILES [104]. Kod ten umożliwia opis struktury związków chemicznych należących do dowolnych grup. Związki zawierające elementy struktury wspólne z peptydami i wykazujące podobną aktywność biologiczną są określane jako peptydomimetyki. Są one często wykorzystywane jako leki [27]. Kod SMILES umożliwia porównanie struktury związków należących do różnych grup i ilościowe określenie podobieństwa między nimi [59]. Struktury peptydów zapisane w kodzie SMILES, który jest bardziej uniwersalny niż zapis sekwencji przy użyciu kodu jednoliterowego, mogą służyć jako zapytania przy przeszukiwaniu baz danych związków chemicznych o małej masie cząsteczkowej. Taka strategia może służyć zarówno do poszukiwania peptydomimetyków, jak i do przewidywania aktywności peptydu, którego struktura służyła jako zapytanie. Obecnie obserwuje się rozwój informatyki chemicznej, obejmujący m.in. tworzenie baz związków o małej masie cząsteczkowej [38, 60, 65, 93].

Analiza chemometryczna biologicznie aktywnych peptydów żywności

Chemometria jest dziedziną nauki wykorzystującą analizę matematyczną oraz statystyczną w celu pozyskiwania użytecznych informacji pochodzących z wielowymiarowych danych pomiarowych. Metodami stosowanymi w praktyce chemometrycznej,

służącymi do analizowania, budowy i identyfikacji modeli, są m.in. sztuczne sieci neuronowe (ANN, ang. *artificial neural networks*), analiza głównych składowych (PCA, ang. *principal component analysis*), metoda cząstkowych najmniejszych kwadratów (PLS, ang. *partial least squares*) [3]. Metody te stosowano do analizy bioaktywnych peptydów, np. sztuczne sieci neuronowe zastosowano do opracowania modelu przeznaczonego do przewidywania aktywności antybakteryjnej peptydów i programu AntiBP, działającego na podstawie tego modelu [53]. Wymieniona metoda została z sukcesem zastosowana do przewidywania aktywności peptydów antywirusowych [12].

Analizę głównych składowych zastosowano do określenia wpływu właściwości fizykochemicznych poszczególnych reszt aminokwasowych na aktywność biologiczną di- i tripeptydowych inhibitorów ACE [39]. Właściwości poszczególnych aminokwasów opisano za pomocą parametrów ilościowych znajdujących się w bazie danych AAindex [44]. Na podstawie PCA wykazano wpływ m.in. hydrofobowości, masy cząsteczkowej aminokwasów, obecności reszt aromatycznych lub alifatycznych na aktywność badanych peptydów. Stwierdzono ponadto, że o aktywności inhibitorów ACE decydowała obecność proliny [39]. PCA zastosowano także do poszukiwania nowych wskaźników definiujących strukturę aminokwasów. Wskaźniki te posłużyły następnie do określenia zależności pomiędzy strukturą a aktywnością 58 sekwencji inhibitorów ACE oraz 46 peptydów o smaku gorzkim [35].

Przykładem zastosowania chemometrii w badaniach peptydów bioaktywnych jest ustalanie ilościowej zależności między strukturą a aktywnością biologiczną (QSAR, ang. *quantitative structure-activity relationship*) [60] i/lub ilościowej zależności między strukturą a czasem retencji peptydów (QSRR, *quantitative structure-retention relationship*) [3, 4]. Modele matematyczne określające ilościowe zależności „struktura – właściwość” budowane są głównie na założeniach PLS [25]. Bez względu na rodzaj zależności „struktura – odpowiedź”, właściwości charakteryzujące strukturę badanych związków opisywane są przez atrybuty nazywane deskryptorami [97].

Metodę PLS zastosowali Udenigwe i Aluko [99], analizując wpływ różnych czynników na aktywność antyoksydacyjną hydrolizatów białek żywności. Wykazano, że skład aminokwasowy peptydów obecnych w hydrolizatach, w tym obecność reszt histydyny, wywierał negatywny wpływ na antyoksydacyjny efekt hydrolizatów. Natomiast hydrofobowy charakter hydrolizatów wpływał na zdolność usuwania wolnych rodników. Ta sama metoda zastosowana przez Wu i wsp. [107] do określenia zależności pomiędzy strukturą i aktywnością peptydowych inhibitorów ACE pochodzących z białek żywności pozwoliła na usystematyzowanie informacji na temat wpływu poszczególnych reszt aminokwasowych na aktywność peptydów liczących od 4 do 10 reszt aminokwasowych. Wykazano, że C-końcowa reszta łańcucha peptydu determinuje jego aktywność. W przypadku tetrapeptydów, C-końcowymi resztami aminokwasowymi sprzyjającymi zdolności hamowania aktywności ACE były tyrozyna i cysteina.

W drugiej pozycji od C-końca powinny się znajdować: histydyna, tryptofan lub metionina, w trzeciej – izoleucyna, leucyna lub walina, natomiast w czwartej – metionina lub tryptofan [107]. Kim i Li-Chan [45] za pomocą PLS przeanalizowali zależność między strukturą a aktywnością peptydów o smaku gorzkim. Uzyskali model matematyczny dotyczący peptydów liczących od dwóch do trzech reszt aminokwasowych. Pripp i wsp. [77] za pomocą PLS opracowali matematyczny model QSAR dla peptydów pochodzących z białek mleka i wykazujących zdolność inhibicji ACE. Równania QSAR uwzględniały następujące deskryptory: hydrofobowość, rozmiar i ładunek aminokwasów: N- i C-końcowego. Wykazano, że aktywność peptydów liczących do sześciu reszt aminokwasowych była związana ($R^2 = 0,73$) z hydrofobowością oraz dodatnim ładunkiem C-końcowego aminokwasu. W przypadku peptydów o dłuższych łańcuchach nie zaobserwowano wpływu właściwości fizykochemicznych C-końcowej reszty aminokwasowej na zdolność hamowania ACE. Właściwości N-końcowych reszt aminokwasowych inhibitorów ACE pochodzących z białek mleka nie wywierały wpływu na aktywność peptydów [77]. Metodę PLS wykorzystano do badania QSAR peptydów pochodzących z kazeiny- β , hamujących działanie endopeptydaz prolinowych. Wykazano, że na wzrost aktywności duży wpływ ma hydrofobowość i molekularna objętość reszt aminokwasowych, a także ich położenie w łańcuchu peptydu [76].

Przykładem innej metody chemometrycznej jest zastosowanie ANN w analizie QSAR 58 sekwencji inhibitorów ACE [34]. Model QSAR uwzględniał następujące parametry opisujące właściwości peptydów: aktywność, obecność aminokwasów o charakterze hydrofilowym, struktura trójwymiarowa i rozmiar. Wykazano, że istotne znaczenie dla aktywności inhibitorów ACE ma obecność aminokwasu hydrofobowego usytuowanego na C-końcu peptydu.

Metody analizy chemometrycznej, szczególnie QSAR, stały się przydatnym narzędziem badawczym. Stosowanie modeli typu „struktura – odpowiedź” może w znacznym stopniu ułatwiać badania poprzez redukcję kosztów, czasu oraz zasobów ludzkich zaangażowanych w eksperyment [31]. W odniesieniu do badań nad bioaktywnymi peptydami, QSAR jest pomocna w modelowaniu właściwości peptydów jako składników żywności. Przewidywanie antymikrobiologicznych aktywności peptydów na podstawie QSAR może służyć np. do projektowania naturalnych związków o właściwościach konserwujących żywność. Metoda QSAR może być również stosowana w przewidywaniu innych właściwości peptydów, które powstają podczas procesów wytwarzania żywności, np. gorzkiego smaku peptydów powstających podczas dojrzewania serów [78].

Sposoby zachowania aktywności biologicznej peptydów żywności oraz możliwości ich dostarczenia do organizmu

Żywność funkcjonalna zawierająca związki bioaktywne dostarcza konsumentom składników o działaniu prozdrowotnym i/lub terapeutycznym. Związki wykazujące biologiczną aktywność mogą być uwalniane w czasie przetwarzania żywności oraz podczas przemian w układzie pokarmowym. Aby spełnić swoją funkcję w organizmie, potencjalnie aktywny peptyd musi dotrzeć do odpowiedniego układu w stanie nienaruszonym [36, 47, 89]. W celu zachowania aktywności biopeptydów i zapobiegania ich degradacji podczas trawienia w przewodzie pokarmowym stosuje się m.in. metody mikro- i nanokapsułkowania w liposomach. Są to technologie coraz częściej stosowane w przemyśle spożywczym [23]. Substancją powlekającą są zwykle fosfolipidy, np. lecytyna [13]. Zamykanie związków bioaktywnych w liposomach stosowane jest nie tylko do produkcji żywności wzbogacanej w bioaktywne peptydy, ale także w luteinę czy kwasy tłuszczowe [52]. Liposomy występują w postaci pęcherzyków, które w swojej budowie zawierają podwójne warstwy cząsteczek fosfolipidowych. Cząsteczki te tworzą układ amfifilowy, a związek aktywny biologicznie umieszczony jest pomiędzy warstwami tłuszczowymi [23, 49, 52, 92]. Stabilność liposomów zależy od ich składu lipidowego, rozmiaru, płynności, hydrofilowości oraz ładunku powierzchniowego. Cechy te wywierają wpływ na zachowanie się liposomów w środowisku biologicznym [32, 69]. Chen i wsp. [13] wykazali efektywność procesu zamykania peptydów w liposomach w celu poprawy zdolności obniżania ciśnienia krwi. Wykazano, że mikrokapsułkowane peptydy obniżały skurczowe ciśnienie krwi u szczurów z nadciśnieniem o 45 mm Hg (LKP) i 35 mm Hg (LRP) [13].

Każda substancja aktywna zamykana w mikrokapsułce wymaga indywidualnego doboru składników materiału powlekającego, gwarantującego jej stabilność, zachowanie struktury oraz właściwości fizycznych [16]. Mikrokapsułkowanie polega na pułapkowaniu, czyli otaczaniu substancji lub mieszaniny substancji powłoką okrywającą aktywne cząsteczki. Materiały stosowane do mikrokapsułkowania powinny zabezpieczać cząsteczki bioaktywne przed działaniem różnych czynników, m.in. mikroorganizmów, światła, tlenu, zmian temperatury, wilgotności, kwasowości środowiska [23, 51]. Materiał powlekający (nośnik, otoczka) różni się właściwościami chemicznymi i fizycznymi od substancji powlekanej. Nośnikami są najczęściej białka, lipidy, sacharydy, woski, modyfikowane polisacharydy lub syntetyczne polimery. W technologii żywności najczęściej stosuje się polisacharydy pochodzenia naturalnego, takie jak: agar, chitozan, karagen, alginiany sodu lub wapnia oraz guma z nasion wianowłostki królewskiej (*Delonix regia*) [22, 23, 81, 82]. Rozmiar mikrokapsułek wynosi 0,2 ÷ 5000 µm. Kapsułki o rozmiarze poniżej 0,2 µm nazywane są nanokapsułkami, natomiast większe niż 5000 µm to makrokapsułki [5].

Na rynku dostępne są peptydy bioaktywne, występujące w postaci kapsułek. Przykładem są kapsułki Katsubushi [83], preparaty PRODIET F200/Lacticum [47] oraz Evolus. [46]. Kapsułkowanie może być z powodzeniem stosowane do hydrolizatów białkowych wykazujących aktywność biologiczną [82].

Dla zwiększenia trwałości mikrokapsułek można zastosować metodę fluidyzacyjną, łączoną z metodami rozpyłowymi. W metodzie tej wykorzystuje się sprężony tlenek węgla(IV) lub azot, który nanosi się na powłokę okrywającą cząsteczki proszku [72].

Metoda mikro- i nanokapsułkowania związków biologicznie aktywnych, w tym peptydów, jest przedmiotem zainteresowania naukowców i technologów żywności, szczególnie przy opracowywaniu i poszukiwaniu nowych form dostarczenia organizmowi substancji prozdrowotnych. Mikrokapsułkowanie poprawia stabilność i biodostępność funkcjonalnych składników żywności podczas procesów trawienia. Należy mieć jednak świadomość ograniczeń nowych metod dostarczania bioskładników w formie niezmienionej, w aspekcie ulepszania m.in. metod oczyszczania peptydów.

Bezpieczeństwo spożywania biologicznie aktywnych peptydów żywności

Stale poszukuje się biopeptydów o zdefiniowanej aktywności biologicznej. Nowoczesne metody izolowania, identyfikowania i charakterystyki nowatorskich właściwości w aspekcie zawartości bioaktywnych peptydów lub obecności ich białkowych prekursorów mogłyby być wykorzystane w zakresie produkcji funkcjonalnej żywności prozdrowotnej oraz preparatów pozwalających na eliminowanie lub ograniczanie stosowania dodatków do żywności (np. konserwantów) [1, 101]. Peptydy cechują się potencjałem biologicznym, nie zawsze jednak mogą być składnikiem produktów żywnościowych. Zastrzeżenia dotyczą bezpieczeństwa ich stosowania. Używanie biologicznie aktywnych hydrolizatów i peptydów w produkcji żywności powinno być poprzedzone badaniami żywieniowymi, konsumenckimi i toksykologicznymi. Badania powinny uwzględniać potencjalne zagrożenia wynikające m.in. z ewentualnej ich cytotoxycznosci [102] (aczkolwiek efekt cytotoxyczny biopeptydów może być wykorzystywany w terapii antynowotworowej [33]), z hamowania aktywności enzymów [42] czy też z alergennosci [67, 101]. Produkty fragmentacji białek zwykle obniżają swój potencjał alergenny, jednak może się zdarzyć, że produkt hydrolizy białka, nadal zawierający epitop białka macierzystego, nie zmieni swojej alergennosci. Taka sytuacja ma miejsce podczas trawienia żołądkowo-jelitowego białka Ara h 1, głównego alergenu orzeszków ziemnych. Peptydy, jakie otrzymano po trawieniu, nadal zachowywały właściwości alergenne białka rodzimego. Jak dotąd, niewiele badań dotyczyło niepożądanego czy wręcz szkodliwego wpływu biologicznie aktywnych peptydów pochodzących z żywności na zdrowie człowieka. Wyjątkiem w tym zakresie są badania dotyczące enteropatii związanej z nadwrażliwością na gluten. W etiologii celiakii

molekularne podłoże choroby związane jest z obecnością toksycznych peptydów w żywności spożywanej przez osoby predysponowane do rozwoju tej choroby trzewnej [21]. Badania z zakresu bezpieczeństwa stosowania bioaktywnych peptydów dotyczyły zwykle tych sekwencji, które są obecne w komercyjnie dostępnych produktach. Maeno i wsp. [58] zbadali produkty hydrolizy kazeiny oraz tripeptyd VPP otrzymane z fermentowanego mleka i stwierdzili, że nie mają one toksycznego działania narządowego. Ponstein-Simarro Doorten i wsp. [75] dowiedli, że TensguardTM, będący funkcjonalnym składnikiem żywności zawierającym duże ilości tripeptydu IPP, nie wywiera działania mutagennego. Jing i wsp. [42] wykazali, że tripeptydy IPP i IVP nie wywierają negatywnego wpływu na metabolizm glukozy. Biologicznie aktywne peptydy otrzymywane z białek żywności podczas: 1) hydrolizy enzymami trawiennymi w układzie pokarmowym człowieka, 2) procesów fermentacji dzięki aktywności proteolitycznej mikroorganizmów, 3) enzymatycznej hydrolizy *in vitro* [18] i spożywane przez ludzi od wieków rzadko wywołują reakcje niepożądane. Nawet te rzadkie przypadki skłaniają do ostrożności i podejmowania badań w aspekcie negatywnych efektów działania biologicznie aktywnych peptydów.

Podsumowanie

Białka dostarczają biologicznie aktywnych peptydów, które mogą być składnikami funkcjonalnych produktów żywnościowych. Zależność pomiędzy dietą a zdrowiem jest jednym z elementów profilaktyki wielu chorób i czynnikiem wpływającym na komfort życia człowieka. Konsumenci oczekują od żywności spełniania funkcji odżywczych oraz możliwości opóźnienia momentu pojawiania się tzw. chorób cywilizacyjnych i łagodzenia ich przebiegu. Przyczyniło się to do rozwoju rynku żywności funkcjonalnej, czyli produktów wywierających korzystny wpływ na zdrowie człowieka ponad poziom wynikający z ich wartości odżywczej. Znaczący udział w tym rynku przypada produktom zawierającym składniki powstałe po fragmentacji białek.

Narzędziami przydatnymi do rozdzielania i oznaczania peptydów i białek, a szczególnie peptydów o niskich masach cząsteczkowych, są metody chromatografii cieczonej wspomagane metodami: spektrometrii mas, komputerowymi oraz chemometrycznymi. Są one nieocenione w procesie rozdzielania tych substancji w skali preparatywnej i przy ich przemysłowej produkcji. Rozwój technik separacji membranowej oraz nano- i ultrafiltracji sprzyja wprowadzaniu do żywności nowo identyfikowanych peptydów. Technologie mikro- i nanokapsułkowania dostarczają rozwiązań poprawiających stabilność peptydów w różnych produktach żywnościowych oraz w trakcie trawienia. Kolejne badania powinny dotyczyć zawartości, molekularnych mechanizmów działania oraz biodostępności peptydów w surowcach i w produktach żywnościowych. Odrębnym wyzwaniem stosowania biologicznie aktywnych peptydów w żywności są

problemy prawne, pojawiające się wówczas, gdy surowcom i produktom żywnościowym przypisuje się właściwości prozdrowotne.

Praca finansowana w ramach projektu NCN nr N N312 465240 i tematu statutowego Katedry Biochemii Żywności UWM w Olsztynie. Monika Hrynkiewicz jest uczestniczką projektu „Stypendia dla doktorantów województwa podlaskiego”, współfinansowanego w ramach Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki, Działanie 8.2 Transfer wiedzy, Poddziałanie 8.2.2 Regionalne Strategie Innowacji, ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego, budżetu państwa oraz środków budżetu województwa podlaskiego.

Literatura

- [1] Agyei D, Danquah M.K.: Industrial-scale manufacturing of pharmaceutical-grade bioactive peptides. *Biotechnol. Adv.*, 2011, **29**, 272-277.
- [2] Alemán A., Giménez B., Pérez-Santin E., Gómez-Guillén M.C., Montero P.: Contribution of Leu and Hyp residues to antioxidant and ACE-inhibitory activities of peptide sequences isolated from squid gelatin hydrolysate. *Food Chem.*, 2011, **125**, 334-341.
- [3] Bączek T.: Usprawnienie identyfikacji peptydów w proteomice z wykorzystaniem chemometrycznej analizy danych. Rozprawa habilitacyjna, Akademia Medyczna, Gdańsk 2006.
- [4] Bączek T., Kaliszan R.: Predictions of peptides' retention times in reversed-phase liquid chromatography as a new supportive tool to improve protein identification in proteomics. *Proteomics*, 2009, **9**, 835-847.
- [5] Barbosa-Cánovas G.V., Ortega-Rivas E., Juliano P., Yan H.: Encapsulation processes. In: *Food Powders. Physical properties, processing and functionality*. Kluwer Academic Plenum Publishers. New York 2005, p. 199.
- [6] Barkia A., Bougateg A., Khaled H.B., Nasri M.: Antioxidant activities of sardinelle heads and/or viscera protein hydrolysates prepared by enzymatic treatment. *J. Food Biochem.*, 2010, **34**, 303-320.
- [7] Boonen K., Landuyt B., Baggerman G., Husson S.J., Huybrechts J., Schoofs L.: Peptidomics: The integrated approach of MS, hyphenated techniques and bioinformatics for neuropeptide analysis. *J. Sep. Sci.*, 2008, **31**, 427-445.
- [8] Boutrou R., Gaudichon C., Dupont D., Jardin J., Airinei G., Marsset-Baglieri A., Benamouzig R., Tomé D., Léonil J.: Sequential release of milk protein-derived bioactive peptides in the jejunum in healthy humans. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2013, **97**, 1314-1323.
- [9] Carrasco-Castilla J., Hernández-Álvarez A.J., Jiménez-Martínez C., Gutiérrez-López G.F., Dávila-Ortiz G.: Use of proteomics and peptidomics methods in food bioactive peptide science and engineering. *Food Eng. Rev.*, 2012, **4**, 224-243.
- [10] Carrera M., Cañas B., Gallardo J.M.: The sarcoplasmic fish proteome: pathways, metabolic networks and potential bioactive peptides for nutritional inferences. *J. Proteom.*, 2013, **78**, 211-220.
- [11] Català-Clariana S., Benavente F., Giménez E., Barbosa J., Sanz-Nebot V.: Identification of bioactive peptides in hypoallergenic infant milk formulas by CE-TOF-MS assisted by semiempirical model of electromigration behaviour. *Electrophoresis*, 2013, **34**, 1886-1894.
- [12] Chang K.Y., Yang J.-R.: Analysis and prediction of highly effective antiviral peptides based on random forests. *PLoS ONE*, 2013, **8**, article e70166.

- [13] Chen T.-L., Lo Y.-C., Hu W.-T., Wu M.-C., Chen S.-T., Chang H.-M.: Microencapsulation and modification of synthetic peptides of food proteins reduces the blood pressure of spontaneously hypertensive rats. *J. Agric. Food Chem.*, 2003, **51**, 1671-1675.
- [14] Cushman D.W., Cheung H.S.: Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem. Pharmacol.*, 1971, **20**, 1637-1648.
- [15] Cybul M., Nowak R.: Przegląd metod stosowanych w analizie właściwości antyoksydacyjnych wyciągów roślinnych. *Herba Pol.*, 2008, **54** (1), 68-78.
- [16] Dajnowiec F., Kubiak A., Zander L., Banaszczyk P.: Struktura mikrokapsulek estrów etylowych oleju roślinnego. *Acta Agrophys.*, 2011, **17**, 33-41.
- [17] Dallas D.C., Guerrero A., Khaldi N., Castillo P.A., Martin W.F., Smilowitz J.T., Bevins C.L., Barile D., German B., Lebrilla C.B.: Extensive *in vivo* human milk peptidomics reveals specific proteolysis yielding protective antimicrobial peptides. *J. Proteom. Res.*, 2013, **12**, 2295-2304.
- [18] Darewicz M., Dziuba B., Minkiewicz P., Dziuba J.: The preventive potential of milk and colostrum proteins and protein fragments. *Food Rev. Int.*, 2011, **27**, 357-388.
- [19] Darewicz M., Dziuba J.: Peptydy funkcjonalnie aktywne. W: *Biologicznie aktywne peptydy i białka żywności*. Red: J. Dziuba, Ł. Fornal. WNT, Warszawa 2009, ss. 71-109.
- [20] Darewicz M., Dziuba J., Minkiewicz P.: Computational characterisation and identification of peptides for *in silico* detection of potentially celiac-toxic proteins. *Food Sci. Technol. Int.*, 2007, **13**, 125-133.
- [21] Darewicz M., Dziuba J., Minkiewicz P.: Celiac disease – background, molecular, bioinformatics and analytical aspects. *Food Rev. Int.*, 2008, **24**, 311-329.
- [22] Dembczyński R., Jankowski T.: Ukierunkowanie komórek drobnoustrojów metodą kapsułkowania – stan obecny i możliwości rozwoju tej metody. *Żywność, Nauka, Technologia, Jakość*, 2004, **4** (41), 5-17.
- [23] Dłużewska E.: Mikrokapsułkowanie dodatków do żywności. *Przem. Spoż.*, 2008, **5**, 30-35.
- [24] Dziuba J., Minkiewicz P., Mogut D.: Determination of theoretical retention times for peptides analyzed by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Acta Sci. Polon. Technol. Aliment.*, 2011, **10**, 209-221.
- [25] Eriksson L., Johansson E., Kettaneh-Wold N., Trygg J., Wikström C., Wold S.: Non-linear PLS modelling. W: *Multi- and megavariate data analysis. Part II. Advanced applications and method extensions. Second revised and enlarged version*. Umetrics Academy, Umeå, Sweden, 2006, pp. 153-168.
- [26] Fekete S., Veuthey J.-L., Guillarme D.: New trends in reversed-phase liquid chromatographic separations of therapeutic peptides and proteins: Theory and applications. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2012, **69**, 9-27.
- [27] Floris M., Moro S.: Mimicking peptides... *In silico*. *Mol. Inf.*, 2012, **31**, 12-20.
- [28] Forner F., Foster L.J., Toppo S.: Mass spectrometry data analysis in the proteomics era. *Curr. Bioinform.*, 2007, **2**, 63-93.
- [29] García M.C., Puchalska P., Esteve C., Marina M.L.: Vegetable foods: A cheap source of proteins and peptides with antihypertensive, antioxidant, and other less occurrence bioactivities. *Talanta*, 2013, **106**, 328-349.
- [30] Gautam A., Chaudhary K., Singh S., Joshi A., Anand P., Tuknait A., Mathur D., Varshney G.C., Raghava G.P.S.: Hemolytik: a database of experimentally determined hemolytic and non-hemolytic peptides. *Nucleic Acids Res.*, 2014, **42**, D444-D449.
- [31] Goodarzi M., van der Heyden Y., Fumar-Timofei S.: Towards better understanding of feature-selection or reduction techniques for Quantitative Structure-Activity Relationship models. *Trends Anal. Chem.*, 2013, **42**, 49-62.

- [32] Gregoriadis G., Perrie Y., Liposomes. In: Encyclopedia of Life Sciences (ELS). John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, 2010, DOI: 10.1002/9780470015902.a0002656.pub2.
- [33] Hartmann R., Wal J.M., Bernard H., Pentzien A.K.: Cytotoxic and allergenic potential of bioactive proteins and peptides. *Curr. Pharm. Des.*, 2007, **13**, 897-920.
- [34] He R., Ma H., Zhao W., Qu W., Zhao J., Luo L., Zhu W.: Modelling the QSAR of ACE-inhibitory peptides with ANN and its applied illustration. *Int. J. Pept.*, 2012, article 620609.
- [35] Hemmateenejad B., Miri R., Elyasi M.: A segmented principal component analysis-regression approach to QSAR study of peptides. *J. Theor. Biol*, 2012, **305**, 37-44.
- [36] Hernández-Ledesma B., Contreras M.D.M., Recio I.: Antihypertensive peptides: production, bioavailability and incorporation into foods. *Adv. Colloid Interface Sci.*, 2011, **165**, 23-35.
- [37] Ibáñez C., Simó C., García-Cañas V., Cifuentes A., Castro-Puyana M.: Metabolomics, peptidomics and proteomics applications of capillary electrophoresis-mass spectrometry in foodomics: A review. *Anal. Chim. Acta*, 2013, **802**, 1-13.
- [38] de la Iglesia D., Garcia-Remesa M., de la Calle G., Kulikowski C., Sanz F., Maojo V.: The impact of computer science in molecular medicine: enabling high-throughput research. *Curr. Topics Med. Chem.*, 2013, **13**, 526-575.
- [39] Iwaniak A.: Analiza zależności między strukturą peptydów pochodzących z białek żywności a ich aktywnością inhibitorową wobec enzymu konwertującego angiotensynę. Ocena przydatności metod *in silico* w badaniach nad białkowymi prekursorami bioaktywnych peptydów. Wyd. UWM, Olsztyn 2011.
- [40] Iwaniak A., Minkiewicz P., Darewicz M.: Food-originating ACE inhibitors, including antihypertensive peptides, as preventive food components in blood pressure reduction. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 2014, **13**, 114-134.
- [41] Jimsheena V.K., Gowda L.R.: Angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory peptides derived from arachin by simulated gastric digestion. *Food Chem.*, 2011, **125**, 561-569.
- [42] Jing P., Qian B., Hea Y., Zhao X., Zhang J., Zhao D., Lv Y., Deng Y.: Screening milk-derived anti-hypertensive peptides using quantitative structure activity relationship (QSAR) modelling and *in vitro/in vivo* studies on their bioactivity. *Int. Dairy J.*, 2014, **35**, 95-101.
- [43] Kašička V.: Recent developments in capillary and microchip electroseparations of peptides (2011–2013). *Electrophoresis*, 2014, **35**, 69-95.
- [44] Kawashima S., Pokarowski P., Pokarowska M., Koliński A., Katayama T., Kanehisa M.: AAindex: amino acid index database, progress report 2008. *Nucleic Acids Res.*, 2008, **36**, D202-D205.
- [45] Kim H.O., Li-Chan E.C.Y.: Quantitative structure-activity relationship study of bitter peptides. *J. Agric. Food Chem.*, 2006, **64**, 10102-10111.
- [46] Korhonen H.: Milk-derived bioactive peptides: From science to applications. *J. Funct. Foods*, 2009, **1**, 177-187.
- [47] Korhonen H., Pihlanto A.: Bioactive peptides: Production and functionality. *Int. Dairy J.*, 2006, **16**, 945-960.
- [48] Krokhin O.: Peptide retention prediction in reversed-phase chromatography: Proteomic applications. *Expert Rev. Proteom.*, 2012, **9**, 1-4.
- [49] Kulkarni S.B., Betageri G.V., Singh M.: Factors affecting microencapsulation of drugs in liposomes. *J. Microencapsulation*, 1995, **12**, 229-246.
- [50] Kurtz T.W., Curtis Morris R. Jr., Biological variability in Wistar-Kyoto rats. Implications for research with the spontaneously hypertensive rat. *Hypertension*, 1987, **10**, 128-131.
- [51] Lasoń E., Ogonowski J.: Kapsułkowanie - metoda immobilizacji materiałów bioaktywnych. *LAB Laboratoria, Aparatura, Badania*, 2010, **15 (1)**, 29-35.
- [52] Lasoń E., Ogonowski J.: Kapsułkowanie w przemyśle spożywczym. *LAB Laboratoria, Aparatura, Badania*, 2010, **15 (3)**, 34-40.

- [53] Lata S., Sharma B.K., Raghava G.P.S.: Analysis and prediction of antibacterial peptides. BMC Bioinform., 2007, **8**, article 263.
- [54] Lau C.C., Abdullah N., Shuib A.S.: Novel angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides derived from an edible mushroom, *Pleurotus cystidiosus* O.K. Miller identified by LC-MS/MS. BMC Compl. Alternative Med., 2013, **13**, article 313.
- [55] Lau C.C., Abdullah N., Shuib A.S., Aminudin N.: Novel angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides derived from edible mushroom *Agaricus bisporus* (J.E. Lange) imbach identified by LC-MS/MS. Food Chem., 2014, **148**, 396-401.
- [56] Lothrop A.P., Torres M.P., Fuchs S.M.: Deciphering post-translational modification codes. FEBS Lett., 2013, **587**, 1247-1257.
- [57] Ma B., Johnson R.: *De novo* sequencing and homology searching. Mol. Cell. Proteom., 2012, **11**, article 10.1074/mcp.O111.014902-1.
- [58] Maeno M., Nakamura Y., Mennear J.H., Bernard B.K.: Studies of the toxicological potential of tripeptides (L-valyl-L-prolyl-L-proline and L-isoleucyl-L-prolyl-L-proline): III. Single- and/or repeated-dose toxicity of tripeptides-containing *Lactobacillus helveticus*-fermented milk powder and casein hydrolysate in rats. Int. J. Toxicol., 2005, **24**, 41-59.
- [59] Maldonado A.G., Doucet J.P., Petitjean M., Fan B.-Y.: Molecular similarity and diversity in chemoinformatics: From theory to applications. Mol. Divers., 2006, **10**, 39-79.
- [60] Martínez-Mayorga K., Medina-Franco J.L.: Chemoinformatics – application in food chemistry. Adv. Food Nutr. Res., 2009, **58**, 33-56.
- [61] Minkiewicz P., Bucholska J., Darewicz M., Borawska J.: Epitopic hexapeptide sequences from Baltic cod parvalbumin beta (allergen Gad c 1) are common in the universal proteome. Peptides, 2012, **38**, 105-109.
- [62] Minkiewicz P., Dziuba J., Darewicz M., Iwaniak A., Dziuba M., Nałęcz D.: Food peptidomics. Food Technol. Biotechnol., 2008, **46**, 1-10.
- [63] Minkiewicz P., Dziuba J., Darewicz M., Iwaniak A., Michalska J.: On line programs and databases of peptides and proteolytic enzymes – a brief update for 2007-2008. Food Technol. Biotechnol., 2009, **47**, 345-355.
- [64] Minkiewicz P., Dziuba J., Iwaniak A., Dziuba M., Darewicz M.: BIOPEP database and other programs for processing bioactive peptide sequences. J. AOAC Int., 2008, **91**, 965-980.
- [65] Minkiewicz P., Miciński J., Darewicz M., Bucholska J.: Biological and chemical databases for research into the composition of animal source foods. Food Rev. Int., 2013, **29**, 321-351.
- [66] Mooney C., Haslam N.J., Pollastri G., Shields D.C.: Towards the improved discovery and design of functional peptides: common features of diverse classes permit generalized prediction of bioactivity. PLoS ONE, 2012, **7**, article e45012.
- [67] Moreno F.J.: Gastrointestinal digestion of food allergens: effect on their allergenicity. Biomed. Pharmacother., 2007, **61**, 50-60.
- [68] Murray B.A., Walsh D.J., FitzGerald R.J.: Modification of the furanacryloyl-L-phenylalanyl-glycylglycine assay for determination of angiotensin-I-converting enzyme inhibitory activity. J. Biochem. Biophys. Methods, 2004, **59**, 127-137.
- [69] Nag O.K., Awasthi V.: Surface engineering of liposomes for stealth behavior. Pharmaceutics, 2013, **5**, 542-569.
- [70] Nakahara T., Sugimoto K., Sano A., Yamaguchi H., Katayama H., Uchida R.: Antihypertensive mechanism of a peptide-enriched soy sauce-like seasoning: the active constituents and its suppressive effect on renin-angiotensin-aldosterone system. J. Food Sci., 2011, **76**, H201-H206.
- [71] Panchoaud A., Affolter M., Kussmann M.: Mass spectrometry for nutritional peptidomics: How to analyze food bioactives and their health effects. J. Proteom., 2012, **75**, 3546-3559.

- [72] Piasecka A., Moderska K.: Mikrokapsulacja białek – metody i zastosowanie. *Biotechnologia*, 2010, **1** (88), 34-45.
- [73] Picariello G., Mamone G., Nitride C., Addeo F., Ferranti P.: Protein digestomics with integrated platforms to study food-protein digestion and derived functional and active peptides. *Trends Anal. Chem.*, 2013, **52**, 120-134.
- [74] Pihlanto A., Mäkinen S.: Antihypertensive properties of plant protein derived peptides. In: *Bioactive food peptides in health and disease*. Eds. B. Hernández-Ledesma, C.-C. Hsieh, InTechOpen, Rijeka 2013, pp. 145-182.
- [75] Ponstein-Simarro Doorten A.Y., vd Wiel J.A.G., Jonker D.: Safety evaluation of an IPP tripeptide-containing milk protein hydrolysate. *Food Chem. Toxicol.*, 2009, **47**, 55-61.
- [76] Pripp A.H.: Quantitative structure-activity relationship of prolyl oligopeptidase inhibitory peptides derived from β -casein using simple amino acid descriptors. *J. Agric. Food Chem.*, 2006, **54**, 224-228.
- [77] Pripp A.H., Isaksson T., Stepaniak L., Sørhaug T.: Quantitative structure-activity relationship modelling of ACE-inhibitory peptides derived from milk proteins. *Eur. Food Res. Technol.*, 2004, **219**, 579-583.
- [78] Pripp A.H., Isaksson T., Stepaniak L., Sørhaug T., Ardö Y.: Quantitative structure activity relationship modelling of peptides and proteins as a tool in food science. *J. Agric. Food Chem.*, 2005, **16**, 484-494.
- [79] Qureshi A., Thakur N., Tandon H., Kumar M.: AVPdb: a database of experimentally validated antiviral peptides targeting medically important viruses. *Nucleic Acids Res.*, 2014, **42**, D1147-D1153.
- [80] Qureshi T.M., Vegarud G.E., Abrahamsen R.K., Skeie S.: Characterization of the Norwegian autochthonous cheese Gamalost and its angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory activity during ripening. *Dairy Sci. Technol.*, 2012, **92**, 613-625.
- [81] Rajam R., Karthik P., Parthasarathi S., Joseph G.S., Anandharamakrishnan C.: Effect of whey protein – alginate wall systems on survival of microencapsulated *Lactobacillus plantarum* in simulated gastrointestinal conditions. *J. Funct. Foods*, 2012, **4**, 891-898.
- [82] Ruiz Ruiz J.C., Segura-Campos M.R., Betancur-Ancona D.A., Chel-Guerrero L.A.: Encapsulation of *Phaseolus lunatus* protein hydrolysate with angiotensin-converting enzyme inhibitory activity. *Biotechnology*, 2013, article 341974.
- [83] Ryan J.T., Ross R.P., Bolton D., Fitzgerald G.F., Stanton C.: Bioactive peptides from muscle sources: meat and fish. *Nutrients*, 2011, **3**, 765-791.
- [84] Sagardia I., Roa-Ureta R.H., Bald C.: A new QSAR model, for angiotensin I-converting enzyme inhibitory oligopeptides. *Food Chem.*, 2013, **136**, 1370-1376.
- [85] Sánchez-Rivera L., Martínez-Maqueda D., Cruz-Huerta E., Miralles B., Recio I.: Peptidomics for discovery, bioavailability and monitoring of dairy bioactive peptides, *Food Res. Int.*, 2014, **63**, 170-181.
- [86] Sarmadi B.H., Ismail A.: Antioxidative peptides from food proteins: a review. *Peptides*, 2010, **31**, 1949-1956.
- [87] Schlimme E., Meisel H.: Bioactive peptides derived from milk proteins. Structural, physiological and analytical aspects. *Nahrung*, 1995, **39**, 1-20.
- [88] Schmidt A., Claassen M., Aebersold R.: Directed mass spectrometry: towards hypothesis-driven proteomics. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 2009, **13**, 510-517.
- [89] Segura-Campos M., Chel-Guerrero L., Betancur-Ancona D., Hernandez-Escalante V.M.: Bioavailability of bioactive peptides. *Food Rev. Int.*, 2011, **27**, 213-226.
- [90] Sénéchal S., Kussmann M.: Nutriproteomics technologies and applications for identification and quantification of biomarkers and ingredients. *Proc. Nutr. Soc.*, 2011, **70**, 351-364.

- [91] Shtatland T., Guettler D., Kossodo M., Pivovarov M., Weissleder R.: PepBank – a database of peptides based on sequence text mining and public peptide data sources. *BMC Bioinform.*, 2007, **8**, article 280.
- [92] Stebelska K., Wyrozumska P., Grzybek M., Sikorski A.: Charakterystyka i medyczne zastosowanie konstrukcji liposomowych. *Adv. Clin. Exp. Med.*, 2002, **11**, 229-242.
- [93] Strona MetaComBio: Dostęp w Internecie [01.03.2014.]: <http://www.uwm.edu.pl/metachemibio/index.php/about-metacombio>.
- [94] Suder P., Silberring J. (Red.): *Spektrometria mas*. Wyd. UJ, Kraków 2006.
- [95] Théolier J., Fliss I., Jean J., Hammami R.: MilkAMP: a comprehensive database of antimicrobial peptides of dairy origin. *Dairy Sci. Technol.*, 2014, **94**, 181-193.
- [96] The UniProt Consortium: Activities at the Universal Protein Resource (UniProt). *Nucleic Acids Res.*, 2014, **42**, D191-D198.
- [97] Todeschini R., Consonni V.: QSAR/QSPR Modeling. In: *Molecular descriptors for chemoinformatics*. Vol. I: Alphabetical listing. Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim 2006, p. 153.
- [98] Udenigwe C.C.: Bioinformatics approaches, prospects and challenges of food bioactive peptide research. *Trends Food Sci. Technol.*, 2014, **36**, 137-143.
- [99] Udenigwe C.C., Aluko R.: Chemometric analysis of the amino acid requirements of antioxidant food hydrolysates. *Int. J. Mol. Sci.*, 2011, **12**, 3148-3161.
- [100] Van Lancker F., Adams A., De Kimpe N.: Chemical modifications of peptides and their impact on food properties. *Chem. Rev.*, 2011, **111**, 7876-7903.
- [101] Van Putten M.C., Frewer L.J., Gilissen L.J.W., Gremmen B., Peijnenburg A.C.M., Wichers H.J.: Novel foods and food allergies: a review of the issues. *Trends Food Sci. Technol.*, 2006, **17**, 289-299.
- [102] Vaucher R.A., de Souza da Motta A., Brandelli A.: Evaluation of *in vitro* cytotoxicity of the antimicrobial peptide P34. *Cell Biol. Int.*, 2010, **34**, 317-323.
- [103] Waghv F.H., Gopi L., Barai R.S., Ramteke P., Nizami B., Idicula-Thomas S.: CAMP: collection of sequences and structures of antimicrobial peptides. *Nucleic Acids Res.*, 2014, **42**, D1154-D1158.
- [104] Weininger D.: SMILES, a chemical language and information system. 1. Introduction to methodology and encoding rules. *J. Chem. Inf. Computer Sci.*, 1988, **28**, 31-36.
- [105] Welch C. J., Wu N., Biba M., Hartman R., Brkovic T., Gong X., Helmy R., Schafer W., Cuff J., Pirzada Z., Zhou L.: Greening analytical chromatography. *Trends Anal. Chem.*, 2010, **29**, 667-680.
- [106] White B.L., Sanders T.H., Davis J.P.: Potential ACE-inhibitory activity and nanoLC-MS/MS sequencing of peptides derived from aflatoxin contaminated peanut meal. *LWT - Food Sci. Technol.*, 2014, **56**, 537-542.
- [107] Wu J., Aluko R.E., Nakai S.: Structural requirements of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides: quantitative structure-activity relationship modeling of peptides containing 4-10 amino acids residues. *QSAR Comb. Sci.*, 2006, **25**, 873-880.
- [108] Wynendaele E., Bronselaer A., Nielandt J., D'Hondt M., Stalmans S., Bracke N., Verbeke F., Van De Wiele C., De Tré G., De Spiegeleer B.: Quorumpeps database: chemical space, microbial origin and functionality of quorum sensing peptides. *Nucleic Acids Res.*, 2013, **41**, D655-D659.
- [109] Xie F., Smith R. D., Shen Y.: Advanced proteomic liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*, 2012, **1261**, 78-90.
- [110] Yanrong R., Qiang W., Shaocheng C., Haiyan C.: Integrating computational modeling and experimental assay to discover new potent ACE-inhibitory peptides. *Mol. Inf.*, 2014, **33**, 43-52.
- [111] You L., Regenstein J.M., Liu R.H.: Optimization of hydrolysis conditions for the production of antioxidant peptides from fish gelatin using response surface methodology. *J. Food Sci.*, 2010, **75**, C582-C587.

- [112] Zamyatnin A.A., Borchikov A.S., Vladimirov M.G., Voronina O.L.: The EROP-Moscow oligopeptide database. *Nucleic Acids Res.*, 2006, **34**, D261-D266.

BIOLOGICALLY ACTIVE PEPTIDES FROM FOOD PROTEINS: *IN SILICO*, *IN VITRO* AND *IN VIVO* STUDIES, APPLICATION ASPECTS, AND SAFETY EVALUATION

S u m m a r y

Bioactive peptides present in foods may contribute to reducing the prevalence of chronic diseases. In foods, the peptides are usually released *via* enzymatic hydrolysis of proteins. In the paper, some selected analytical, chemometrics, and bioinformatics methods are presented, which are applied to evaluate the molecular and biological aspects of peptides derived from food proteins. There are also described methods to enhance the bioavailability of peptides as are some selected aspects of evaluating the safety. Understanding the molecular aspects of bioactive activity of peptides provides a basis for the progress in utilizing those compounds as components of foods that prevent the diet-related diseases.

Key words: food bioactive peptides, analytical methods, computer-aided sequence databases, chemometrics, bioavailability, and safety ☒

KRZYSZTOF SIEMIANOWSKI, JERZY SZPENDOWSKI

METODY WŁĄCZANIA BIAŁEK SERWATKOWYCH W TECHNOLOGII NIEDOJRZEWAJĄCYCH KWASOWYCH SERÓW TWAROGOWYCH

Streszczenie

Kwasowe sery twarogowe otrzymywane metodami tradycyjnymi zawierają niemal wyłącznie białka kazeinowe, natomiast cenne odżywczo białka serwatkowe są usuwane z serwatką w czasie produkcji, czyli tracone. Opracowano kilka rozwiązań pozwalających na włączanie białek serwatkowych do produktu, przydatnych w technologii kwasowych serów twarogowych. Praktyczne znaczenie dla przemysłu mleczarskiego mają metody: wapniowo-termiczna, z zastosowaniem procesu ultrafiltracji (UF), z dodatkiem koncentratu partykułowanych białek serwatkowych (PWPC) oraz rozwijana w ostatnich latach metoda z wykorzystaniem transglutaminazy (TG). W metodach: wapniowo-termicznej, z zastosowaniem UF do separacji masy twarogowej oraz z wykorzystaniem TG, białka serwatkowe włączane są do sera twarogowego w sposób bezpośredni, w toku produkcji. Metoda z dodatkiem PWPC jest rozwiązaniem kilkustopowym, zakładającym wydzielenie białek serwatkowych z serwatki, następnie poddanie ich koncentratu procesowi mikropartykułowania i wprowadzenie w takiej postaci do surowca przerobowego. Włączanie białek serwatkowych do sera twarogowego skutkuje wyraźnym zwiększeniem zawartości aminokwasów egzogennych w białku produktu, a w konsekwencji zwiększeniem wartości chemicznych wskaźników określających jego właściwości odżywcze. Większy wydatek sera i wyższa wartość odżywcza białek to czynniki uzasadniające doskonalenie metod włączania białek serwatkowych do niedojrzewających kwasowych serów twarogowych.

Słowa kluczowe: kwasowe niedojrzewające sery twarogowe, białka serwatkowe, włączanie białek serwatkowych do sera, wartość odżywcza białka

Wprowadzenie

Sery twarogowe to liczna grupa produktów mleczarskich często spożywanych w krajach Europy Środkowej i Wschodniej [1, 12]. Ich atrakcyjność uwarunkowana

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

jest tradycją, przyzwyczajeniami żywieniowymi oraz stosunkowo niską ceną [6]. W diecie człowieka sery twarogowe stanowią pod względem odżywczym dobre źródło łatwostrawnego i pełnowartościowego białka, lekkostrawnego tłuszczu mlekowego oraz wielu witamin i składników mineralnych [13, 14]. Produkcja kwasowych serów twarogowych polega na odpowiedniej obróbce skrzepu mleka odtuszczonego lub normalizowanego pod względem zawartości tłuszczu, rzadziej maślanki lub jej mieszanki z mlekiem, skoagulowanego w wyniku ukwaszania przez kultury bakterii fermentacji mlekowej do kwasowości czynnej strefy punktu izoelektrycznego białek frakcji kazeinowej [1, 9, 22]. Po osiągnięciu wartości pH 4,5 - 4,6 zewnętrzny ładunek elektryczny miceli kazeinowych jest równy zeru i tracą one zdolność wiązania wody, a tym samym ochronną powłokę hydratacyjną, w następstwie czego ulegają agregacji. Powstaje wtedy żel kazeinowy, nazywany skrzepem, zamykający w uporządkowanej przestrzennej strukturze sieciowej pozostałe składniki mleka [19, 22]. Obróbka skrzepu obejmuje krojenie, mieszanie i ogrzewanie, celem intensyfikacji wydzielania serwatki, a następnie separację powstałego ziarna twarogowego od serwatki. W zależności od parametrów obróbki skrzepu, sposobu separacji ziarna twarogowego oraz dalszego postępowania z wydzieloną masą twarogową uzyskiwane są produkty różniące się pod względem podstawowego składu chemicznego i tekstury. W asortymencie niedojrzewających kwasowych serów twarogowych można wyróżnić: produkty o zwartej strukturze – twarogi, o ziarnistej postaci – serki ziarniste (*cottage cheese*) oraz o smarowej, homogennej konsystencji – serki twarogowe i twarożki [9, 12, 22].

W składzie białek mleka wyróżnia się dwie frakcje: białek kazeinowych oraz serwatkowych. W mleku krowim wymienione frakcje stanowią odpowiednio: 80 i 20 % ogólnej zawartości białka [8, 22, 36]. Tradycyjne metody wyrobu kwasowych serów twarogowych pozwalają na wykorzystanie w produkcie niemal wyłącznie białek kazeinowych, gdyż białka serwatkowe po przeprowadzeniu obróbki skrzepu pozostają w roztworze i są tracone z serwatką [4, 8, 22, 27, 33, 36]. Białka serwatkowe charakteryzuje wartość odżywcza porównywalna z białkiem całego jaja kurzego. Wynika to z dużej zawartości w nich aminokwasów egzogennych (leucyny, lizyny, izoleucyny, metioniny, cysteiny, treoniny, tryptofanu i waliny) [13, 15, 27, 36]. Białka frakcji serwatkowej wykazują również liczne właściwości prozdrowotne. Wskazuje się na korzystny efekt działania tych białek w profilaktyce i terapii chorób m.in. nowotworowych, układu krążenia czy zakaźnych. Aktywność biologiczną wykazują nie tylko natywne białka serwatkowe, ale również peptydy i aminokwasy uwalniane z ich struktur podczas trawienia [15, 27]. Za dążeniem do włączania białek serwatkowych do masy produktu przemawiają również efekty ekonomiczne, gdyż wiąże się to z wyraźnym wzrostem wydajności produkcji [2, 8, 22, 30].

Celem pracy była charakterystyka metod włączania białek serwatkowych w technologii niedojrzewających kwasowych serów twarogowych oraz ich wpływu na wartość odżywczą białka produktów.

Charakterystyka metod umożliwiających włączanie białek serwatkowych do produktu w technologii niedojrzewających kwasowych serów twarogowych

Opracowano kilka efektywnych metod włączania białek serwatkowych do masy produktu, przydatnych w technologii kwasowych serów twarogowych. Praktyczne znaczenie dla przemysłu mleczarskiego ma metoda wapniowo-termiczna [22, 29-31, 33], metoda z zastosowaniem procesu ultrafiltracji [8, 17, 22, 28, 32], metoda z dodatkiem koncentratu partykułowanych białek serwatkowych [8, 23, 24] oraz rozwijana w ostatnich latach metoda z wykorzystaniem transglutaminazy [2, 16].

Metoda wapniowo-termiczna

Istotą metody wapniowo-termicznej jest zintegrowanie kazeiny z białkami serwatkowymi poprzez ogrzewanie w wysokiej temperaturze surowca wzbogaconego w wapń i przeprowadzenie koagulacji powstałego kompleksu białek mleka metodą ukwaszania [22, 29, 30, 33]. Podczas ogrzewania w temperaturze powyżej 70 °C białka serwatkowe denaturują, co wiąże się z destabilizacją ich przestrzennej struktury i rozwinięciem łańcuchów polipeptydowych. Zdenaturowane białka serwatkowe mogą ulegać wzajemnym interakcjom i łączyć się w agregaty [7, 18, 29] oraz tworzyć z kazeiną kompleksy białkowe. Indukowane termicznie kompleksy powstają za pośrednictwem wiązań disiarczkowych, w których uczestniczą grupy sulfhydrylowe cysteiny białek serwatkowych i κ -kazeiny znajdującej się na powierzchni miceli oraz oddziaływań niekowalencyjnych [5, 29]. Zwiększenie stężenia jonów wapniowych przed ogrzewaniem wzmacnia agregację białek serwatkowych [10] oraz ich interakcje i tworzenie kompleksów z kazeiną [31, 33]. Potwierdzają to wyniki badań retencji związków azotowych surowca, wyrażonych jako białko ogółem, w twarogu w zależności od wielkości dodatku chlorku wapnia do mleka przed pasteryzacją oraz temperatury pasteryzacji. Retencja białka ogółem w twarogu z mleka bez dodatku CaCl_2 , pasteryzowanego w temp. 75 °C /15 s oraz 90 °C /15 s, wynosiła odpowiednio: 75,2 % oraz 85,9 %. Przy dodatku do mleka CaCl_2 w ilości 0,05 % i pasteryzacji w temp. 75 °C /15 s retencja białka ogółem w twarogu wynosiła 76,4 %, natomiast dodatek do mleka CaCl_2 w ilości 0,01 % i pasteryzacja w temp. 90 °C /15 s skutkowały retencją rzędu 88,2 % [30].

W produkcji kwasowych serów twarogowych metodami tradycyjnymi przygotowanie surowca przed koagulacją obejmuje pasteryzację realizowaną najczęściej w temperaturze nieprzekraczającej 80 ÷ 85 °C/15 s [9, 22]. Przemysłową produkcję kwasowych serów twarogowych metodą wapniowo-termiczną proponuje się realizo-

wać przez dodatek CaCl_2 do mleka w ilości $0,015 \div 0,04$ %, a następnie jego pasteryzację w temperaturze nie niższej niż $90 \div 92$ °C /15 s. Metoda ta może być stosowana w produkcji twarogów, serków twarogowych i twarożków, a jej zastosowanie pozwala na zwiększenie wydatku produktu o $10 \div 15$ % [22, 29, 30, 33].

Metoda z zastosowaniem procesu ultrafiltracji

Ultrafiltracja (UF) jest ciśnieniowym procesem rozdziału składników cieczy za pomocą membran o odpowiedniej selektywności. Średnica porów membran do UF wynosi $0,01 \div 0,1$ μm . Ciśnienie operacyjne stosowane w czasie procesu UF nie przekracza 1,0 MPa [34]. Podczas UF mleka, składniki wielkocząsteczkowe (białko i tłuszcz) zatrzymywane są przez membranę i ulegają koncentracji, natomiast składniki charakteryzujące się mniejszą masą cząsteczkową (niebiałkowe związki azotowe, laktoza, składniki mineralne, witaminy i kwasy) wraz z wodą ulegają częściowo permeacji do odcieku [4, 17, 34]. Proces UF jest przydatny w technologii niedojrzewających kwasowych serów twarogowych do włączania białek serwatkowych do produktów mających pastowatą, homogeną konsystencję [8, 17, 22, 32]. W tej metodzie włączanie białek serwatkowych do produktu może być osiągnięte przez: (I) poddanie serwatki procesowi UF i dodanie uzyskanego koncentratu do masy twarogowej, (II) zastosowanie UF do zagęszczenia surowca niezakwaszonego lub słabo zakwaszonego przed koagulacją, (III) zastosowanie UF do separacji koagulatu, (IV) zastosowanie UF do wstępnego zagęszczenia surowca przed ukwaszaniem, a następnie do separacji koagulatu [8]. Ze względów techniczno-technologicznych oraz atrakcyjności sensorycznej uzyskiwanych produktów, najbardziej korzystne spośród wymienionych wariantów są rozwiązania z zastosowaniem UF do separacji koagulatu [8, 17, 22, 32]. Takie zastosowanie procesu UF pozwala na wykorzystanie blisko 100 % białka surowca w produkcie [8].

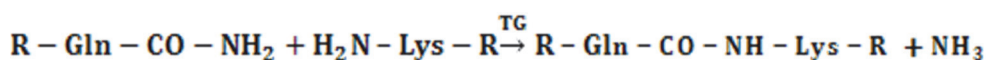
Metoda z dodatkiem koncentratu partykułowanych białek serwatkowych

Metoda ta zakłada włączanie białek serwatkowych do produktu przez dodatek do surowca przerobowego koncentratu partykułowanych białek serwatkowych (PWPC), otrzymanego w wyniku odpowiedniego przetwarzania serwatki. W technologii PWPC można wyróżnić dwa etapy. W pierwszym etapie oczyszczona, odtłuszczona i spasteryzowana serwatka poddawana jest UF celem uzyskania koncentratu białek serwatkowych (WPC) o zawartości np. 10 % białka. Drugi etap polega na poddaniu koncentratu WPC procesowi mikropartykułowania. Wymieniony proces ma na celu przekształcenie białek serwatkowych z postaci rozpuszczalnej w nierozpuszczalną. Efekt ten jest osiągany w wyniku działania na białka temperaturą przez ściśle określony czas, w kombinacji z określonym naprężeniem tnącym podczas ogrzewania i przy chłodzeniu, co powoduje ich denaturację i agregację. Natywne białka serwatkowe

o wielkości $3 \div 5$ nm przekształcane są w prawidłowo przeprowadzonym procesie mikropartykułowania do aglomeratów białkowych o wielkości cząstek z zakresu $0,1 \div 15$ μm , przy czym dominują cząstki o wielkości od 2 do 10 μm [23, 24]. PWPC nie wykazuje posmaku serwatki, ma barwę śnieżnobiałą, a pod względem smaku przypomina śmietankę, co wynika z wielkości jego cząstek zbliżonych do kuleczek tłuszczu mlekowego. Dodane do mleka cząstki PWPC zamykane są w sieci przestrzennej powstającego podczas koagulacji żelu kazeinowego i są w nim mechanicznie zatrzymywane, dzięki czemu zostają włączone do masy produktu [8, 23, 24]. Wielkość retencji białek serwatkowych w produkcie wzrasta wraz ze wzrostem stopnia ich denaturacji. Maksymalny dodatek PWPC w procesie produkcji serów miękkich, do których zalicza się również sery twarogowe, powinien wynosić 7 g białka preparatu/1000 g surowca. Przy takim dodatku PWPC, o stopniu denaturacji białek wynoszącym ok. 90 %, wykorzystanie wprowadzonych białek serwatkowych w produkcie może sięgać 100 % [8].

Metoda z wykorzystaniem transglutaminazy

Transglutaminaza (TG) jest enzymem (EC 2.3.2.13) szeroko rozpowszechnionym w przyrodzie. Jej obecność wykryto u wielu kręgowców, bezkręgowców, roślin i drobnoustrojów [11, 26]. Praktyczne zastosowanie TG w przetwórstwie spożywczym na skalę przemysłową stało się możliwe po odkryciu i opracowaniu metod pozyskiwania tego enzymu ze źródeł mikrobiologicznych. Stanowiło to alternatywę dla kosztocłonnego otrzymywania TG z surowców pochodzenia zwierzęcego [25, 35]. Mikrobiologiczną TG pozyskuje się najczęściej przy wykorzystaniu szczepów *Streptovorticillium* sp., np. *Sv. mobaraense*. TG pochodzenia mikrobiologicznego jest pojedynczym łańcuchem polipeptydowym, składającym się z 331 aminokwasów o masie atomowej ok. $38 \cdot 10^3$ Da i punkcie izoelektrycznym przy pH 8,9. Mikrobiologiczna TG, w przeciwieństwie do TG pochodzenia zwierzęcego, wykazuje aktywność katalityczną niezależnie od jonów Ca^{2+} . W centrum aktywnym TG znajduje się triada katalityczna reszt: cysteiny, histydyny i kwasu asparaginowego [11, 20, 25, 26]. Mikrobiologiczna TG jest stabilna przy pH $5,0 \div 6,0$ i wykazuje optimum aktywności w temp. 50 °C [20]. TG katalizuje reakcję przenoszenia reszty acylowej, w której rolę donora pełni grupa γ -karboksamidowa glutaminy wchodzącej w skład peptydu lub białka, natomiast funkcję akceptora mogą pełnić pierwszorzędowe grupy aminowe różnych związków. Gdy akceptorem reszty acylowej jest lizyna należąca do cząsteczki peptydu lub białka, wówczas powstają wewnątrzcząsteczkowe i międzycząsteczkowe wiązania sieciujące, zgodnie z reakcją [11, 20, 25, 26, 35]:



Wiązania sieciujące tworzone między cząsteczkami łączą białka w polimery. Efektywność tworzenia wiązań sieciujących jest ściśle związana ze strukturą białka. Kazeiny stanowią dobry substrat dla TG. Wynika to z braku wiązań disiarczkowych w α_{s1} - i β -kazeinie, dzięki czemu kazeina charakteryzuje się niskim udziałem struktury trzeciorzędowej oraz otwartą, elastyczną konformacją, sprzyjającą dostępności reaktywnych grup dla enzymu. W porównaniu z kazeiną białka serwatkowe w stanie natywnym są mniej podatne na sieciowanie z powodu globularnej struktury stabilizowanej wiązaniami disiarczkowymi. Podatność białek serwatkowych na działanie TG można zwiększyć przez ich denaturację, powodującą rozfałdowanie cząsteczek i odsłonięcie grup biorących udział w tworzeniu wiązań sieciujących [2, 3, 20, 21, 25]. Z tego względu w metodzie produkcji kwasowych serów twarogowych z wykorzystaniem TG zalecane jest poddanie surowca pasteryzacji w dłuższym czasie i w wyższej temperaturze niż przewidują metody klasyczne. Preparat TG wprowadza się do uprzednio spasteryzowanego i ochłodzonego surowca przed zaprawieniem kulturą startową. W badaniach technologicznych realizowanych w warunkach przemysłowych wykazano, że dodatek preparatu mikrobiologicznej TG do mleka realizowany od 1,5 do 3 h przed wprowadzeniem kultur startowych pozwala na zwiększenie wydatku twarogu półtłustego o 10 ÷ 15 % [2]. Korzystny wpływ na efektywność polimeryzacji białek mleka ma wprowadzenie TG do surowca o temp. 40 ÷ 50 °C i utrzymanie tej temperatury do momentu dodatku kultur startowych. W metodzie tej włączanie białek serwatkowych do masy produktu następuje w wyniku ich integracji z białkami kazeinowymi oraz mechanicznego uwięzienia polimerów tych białek w strukturze skrzepu tworzonego przez usieciowaną kazeinę [16].

Wpływ włączania białek serwatkowych na skład aminokwasowy oraz chemiczne wskaźniki wartości odżywczej białka niedojrzewających kwasowych serów twarogowych

Zatrzymanie białek serwatkowych w masie sera twarogowego jest bardzo korzystne pod względem żywieniowym, co potwierdza skład aminokwasowy oraz wyliczone na jego podstawie chemiczne wskaźniki wartości odżywczej białka (tab. 1).

W porównaniu z białkiem twarogu tradycyjnego, białko twarogu uzyskanego metodą wapniowo-termiczną charakteryzuje się większą zawartością wszystkich aminokwasów egzogennych, do których zalicza się izoleucynę, leucynę, lizynę, metioninę, fenyloalaninę, treoninę, tryptofan i walinę, z grupy względnie egzogennych histydyny oraz spośród endogennych cysteiny, kwasu glutaminowego, proliny i tyrozyny [30]. W składzie aminokwasowym białka serka twarogowego, wyprodukowanego przy zastosowaniu UF do separacji masy twarogowej, wykazano mniejszą zawartość treoniny niż w białku serka separowanego wirówkowo, natomiast w przypadku pozostałych

Tabela 1. Skład aminokwasowy oraz chemiczne wskaźniki wartości odżywczej białka niedojrzewających kwasowych serów twarogowych produkowanych metodami niepozwalającymi oraz pozwalającymi na włączanie białek serwatkowych do produktu

Table 1. Amino acid composition and chemical indicators of nutritional value of protein in unripened acid curd cheeses produced using methods that make and do not make it possible to incorporate whey proteins into the product

Skład aminokwasowy oraz chemiczne wskaźniki wartości odżywczej białka Amino acid composition and chemical indicators of nutritional value of protein [g/16 g N]	Twaróg Tvorog		Serek twarogowy Curd cheese	
	tradycyjny traditional	wapniowo-termiczny calcium-thermal	separowany wirówkowo separation with centrifugation	separowany ultrafiltracyjnie separation with ultrafiltration
Izoleucyna / Isoleucine	4,89	5,39	4,94	5,38
Leucyna / Leucine	9,49	10,60	9,58	10,33
Lizyna / Lysine	7,82	8,51	7,80	8,51
Metionina / Methionine	2,87	3,02	3,01	3,11
Cysteina / Cysteine	0,33	0,46	0,53	0,73
Suma aminokwasów siarkowych Sum of sulphuraminoacids	3,20	3,48	3,54	3,84
Fenylalanina / Phenylalanine	5,90	6,20	5,87	6,26
Tyrozyna / Tyrosine	6,22	6,67	6,24	6,66
Suma aminokwasów aromatycznych Sum of aromaticaminoacids	12,12	12,87	12,11	12,92
Treonina / Threonine	4,96	5,05	4,95	4,86
Tryptofan / Tryptophan	1,45	1,91	1,43	1,84
Walina / Valine	5,94	6,49	5,97	6,72
Arginina / Arginine	5,36	4,51	5,37	4,64
Histydyna / Histidine	2,56	2,88	2,52	2,74
Alanina / Alanine	4,19	3,59	4,17	3,53
Kwas asparaginowy / Asparticacid	8,56	8,21	8,59	7,99
Kwas glutaminowy / Glutamicacid	21,52	24,32	21,57	23,35
Glicyna / Glycine	4,33	2,21	4,36	2,22
Prolina / Proline	10,56	10,91	10,52	11,05
Seryna / Serine	8,42	8,02	8,44	7,89
Suma aminokwasów egzogennych Sum of essential amino acids	49,87	54,30	50,32	54,40
Wskaźnik aminokwasu ograniczającego (CS) Limiting amino acid chemical score	71,1 (Met+Cys)	77,3 (Met+Cys)	70,8 (Met+Cys)	76,6 (Met+Cys)
Zintegrowany wskaźnik aminokwasów egzogennych (EAAI) Essential amino acid index	81,9	89,9	82,8	89,0

Źródło: / Source: opracowanie własne na podstawie [28, 30] / the authors' own study based on [28, 30].

aminokwasów zmiany zawartości były analogiczne jak w białku twarogu uzyskanego metodą wapniowo-termiczną [28, 30]. Włączanie białek serwatkowych do sera twarogowego skutkuje wyraźnym zwiększeniem udziału aminokwasów egzogennych

w białku produktu oraz wartości wskaźników określających jego właściwości odżywcze. Białko twarogu otrzymanego metodą wapniowo-termiczną, w porównaniu z białkiem twarogu uzyskanego metodą tradycyjną, wykazywało większe wartości sumy aminokwasów egzogennych o 4,43 jednostki, wskaźnika aminokwasu ograniczającego (CS) o 6,2 jednostki oraz zintegrowanego wskaźnika aminokwasów egzogennych (EAAI) o 8,0 jednostek [30]. Białko serka twarogowego uzyskanego przy zastosowaniu UF do separacji masy twarogowej, w porównaniu z białkiem serka otrzymanego przy zastosowaniu wirówki do separacji masy twarogowej, wykazywało większe wartości sumy aminokwasów egzogennych o 4,1 jednostki, CS o 5,8 jednostki oraz EAAI o 6,2 jednostki [28].

Podsumowanie

Poszukiwanie rozwiązań pozwalających na zatrzymanie białek serwatkowych w produkcji stanowi bardzo ważny kierunek w technologii niedojrzewających kwasowych serów twarogowych. W metodach: wapniowo-termicznej, z zastosowaniem UF do separacji masy twarogowej oraz z wykorzystaniem TG, białka serwatkowe włączane są do produktu jednoetapowo, w sposób bezpośredni w toku produkcji. Metoda z dodatkiem PWPC jest rozwiązaniem kilkuetapowym, gdyż zakłada wydzielenie białek serwatkowych z serwatki, zwykle słodkiej, nie pochodzącej z produkcji serów kwasowych, następnie poddanie ich koncentratu procesowi mikropartykułowania i wprowadzenie w takiej postaci do surowca przerobowego. Produkcję kwasowych serów twarogowych metodami pozwalającymi na włączanie białek serwatkowych do masy sera oraz doskonalenie tych metod w pełni uzasadnia większy wydatek oraz wyższa wartość odżywcza białka w porównaniu z produktami uzyskiwanymi metodami klasycznymi. Wdrożenie metody wapniowo-termicznej lub metody z wykorzystaniem TG może być realizowane przez bezpośrednie zastąpienie metody klasycznej, natomiast w przypadku metod z zastosowaniem UF oraz metody z dodatkiem PWPC wymagane jest posiadanie dodatkowego wyposażenia techniczno-technologicznego.



Mgr inż. Krzysztof Siemianowski otrzymał stypendium współfinansowane przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego.

Literatura

- [1] Bohdziewicz K.: Twaróg – pierwszy świeży ser świata. *Przeł. Mlecz.*, 2009, **2**, 4-8.
- [2] Bohdziewicz K.: Wpływ transglutaminazy na proces produkcji, wydatek oraz jakość twarogów. *Przeł. Mlecz.*, 2010, **2**, 4-9.
- [3] Bönisch M.P., Huss M., Lauber S., Kulozik U.: Yoghurt gel formation by means of enzymatic protein cross-linking during microbial fermentation. *Food Hydrocoll.*, 2007, **4 (21)**, 585-595.
- [4] de Wit J.N.: *Lecturer's handbook on whey and whey products*. First edition. The European Whey Products Association, Brussels 2001.
- [5] Donato L., Guyomarch F.: Formation and properties of the whey protein/ κ -casein complexes in heated skim milk – A review. *Dairy Sci. Technol.*, 2009, **1 (89)**, 3-29.
- [6] Górska-Warsewicz H.: Rozwój rynku produktów mleczarskich. *Przem. Spoż.*, 2005, **10**, 20-23.
- [7] Havea P., Singh H., Creamer L.K.: Characterization of heat-induced aggregates of α -lactoglobulin, α -lactalbumin and bovine serum albumin in a whey protein concentrate environment. *J. Dairy Res.*, 2001, **3 (68)**, 483-497.
- [8] Hinrichs J.: Incorporation of whey proteins in cheese. *Int. Dairy J.*, 2001, **4-7 (11)**, 495-503.
- [9] Holanowski A.: *Twarogi i serki twarogowe*. Wyd. Spółdzielcze, Warszawa 1986.
- [10] Ju Z.Y., Hettiarachchy N., Kilara A.: Thermal properties of whey protein aggregates. *J. Dairy Sci.*, 1999, **9 (82)**, 1882-1889.
- [11] Kashiwagi T., Yokoyama K., Ishikawa K., Ono K., Ejima D., Matsui H., Suzuki E.: Crystal structure of microbial transglutaminase from *Streptovorticillium obaraense*. *J. Biol. Chem.*, 2002, **46 (277)**, 44252-44260.
- [12] Kolanowski W.: Twaróg. Od śniadania po desery. *Przeł. Gastron.*, 2003, **10**, 22-23.
- [13] Kozikowski W., Przybyłowicz K.: Wartość żywieniowa składników mleka krowiego. *Przeł. Mlecz.*, 1994, **10**, 256-261.
- [14] Kunachowicz H., Nadolna I., Przygoda B., Iwanow K.: *Tabele składu i wartości odżywczej żywności*. Wyd. Lek. PZWL, Warszawa 2005.
- [15] Król J., Brodziak A., Litwińczuk Z., Sz wajkowska M.: Wykorzystanie białek serwatkowych w promocji zdrowia. *Żyw. Człow. Met.*, 2011, **1**, 36-45.
- [16] Mazuknaite I., Guyot Ch., Leskauskaitė D., Kulozik U.: Influence of transglutaminase on the physical and chemical properties of acid milk gelled cottage type cheese. *J. Food Agric. Environ.*, 2013, **3-4 (11)**, 119-124.
- [17] Obrusiewicz T., Szwoce J., Wituszyńska B.: Badania technologiczne produkcji serków twarogowych z zastosowaniem wybranych rodzajów modułów ultrafiltracyjnych. *Post. Tech. Przetw. Spoż.*, 2000, **1**, 7-13.
- [18] Oldfield D.J., Singh H., Taylor M.W.: Association of β -lactoglobulin and α -lactalbumin with the casein micelles in skim milk heated in an ultra-high temperature plant. *Int. Dairy J.*, 1998, **9 (8)**, 765-770.
- [19] Oziemkowski P., Caris-Sokolińska D.: Kwas mlekowy w wybranych technologiach mleczarskich. *Przeł. Mlecz.*, 1994, **11**, 276-279.
- [20] Ózrenk E.: The use of transglutaminase in dairy products. *Int. J. Dairy Technol.*, 2006, **1 (59)**, 1-7.
- [21] Rodriguez-Nogales J.M.: Enhancement of transglutaminase – induced protein cross – linking by preheat treatment of cows milk: A statistical approach. *Int. Dairy J.*, 2006, **1 (16)**, 26-32.
- [22] Rymaszewski J., Śmietana Z.: Sery dojrzewające i sery twarogowe. W: *Mleczarstwo. Zagadnienia wybrane*. Tom II. Red. S. Ziajka. Wyd. ART, Olsztyn 1997, ss. 151-209.
- [23] Schier G., Paar S.: Integration von partikuliertenmolkenproteinen (PWPC) in weichund schnittkäse – Teil 2. *Deutsche Milchwirtschaft*, 2003, **23/24**, 5-8.
- [24] Schier G., Paar S., Derengiewicz W., Izbicki T.: Pierwsze w Polsce urządzenie do partykułowania białek serwatkowych. *Przeł. Mlecz.*, 2006, **11**, 38-40.
- [25] Schorsch C., Carrie H., Clark A.H., Norton I.T.: Cross-linking casein micelles by a microbial transglutaminase conditions for formation of transglutaminase-induced gels. *Int. Dairy J.*, 2000, **8 (10)**, 519-528.

- [26] Shleikin A.G., Danilov N.P.: Evolutionary-biological peculiarities of transglutaminase. Structure, physiological functions, application. *Zh. Evol. Biokhim. Fiziol.*, 2011, **1** (47), 3-14.
- [27] Smithers G.W.: Whey and whey proteins – from gutter-to-gold. *Int. Dairy J.*, 2008, **7** (18), 695-704.
- [28] Szpendowski J., Kłobukowski J., Bohdziewicz K., Kujawski M.: Characteristics of the chemical composition of the nutritive value of protein in selected curd cheeses. *Pol. J. Natur. Sci.*, 2004, **2** (Supl.), 143-150.
- [29] Szpendowski J., Kłobukowski J., Prokop E.: Wpływ dodatku chlorku wapnia i ogrzewania mleka na skład chemiczny serów twarogowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **3** (44), 36-45.
- [30] Szpendowski J., Śmietana Z., Płodzień T., Lewandowski K., Owczarzak A., Buczman E.: Technologia serów twarogowych o podwyższonej wartości odżywczej. *Przegl. Mlecz.*, 2007, **1**, 4-9.
- [31] Śmietana Z.: Studia nad ukierunkowaną modyfikacją białek mleka do celów technologicznych. *Zesz. Nauk. ART. w Olsztynie*, 1979, **14** (198), 123-184.
- [32] Śmietana Z., Mojak J.: Linia technologiczna firmy APV AnhydroMembraneFiltration – Dania w SM „Biomlek” w Chełmie do produkcji sera twarogowego. *Przegl. Mlecz.*, 1996, **7**, 210-214.
- [33] Śmietana Z., Szpendowski J., Bohdziewicz K., Świgoń J.: Ogólne zasady produkcji twarogu i serków twarogowych. Część II. Ze wszystkich białek mleka. *Przegl. Mlecz.*, 1994, **2**, 41-43.
- [34] Zander L., Zander Z.: Podstawy separacji membranowej. *Przegl. Mlecz.*, 2006, **9**, 38-41.
- [35] Zhu Y., Tramper J.: Novel applications for microbial transglutaminase beyond food processing. *Trends Biotechnol.*, 2008, **10** (26), 559-565.
- [36] Zmarlicki S.: Zdrowotne aspekty mleka i przetworów mlecznych. *Zdrowie Publiczne*, 2006, **1** (116), 142-146.

METHODS OF INCORPORATING WHEY PROTEINS IN TECHNOLOGY OF UNRIPENED ACID CURD CHEESES

Summary

Acid curd cheeses produced according to traditional methods contain, almost exclusively, casein proteins, whereas during the production, nutritionally valuable whey proteins are removed together with whey and, thus, are lost. Several solutions were developed, which made it possible to incorporate whey proteins, useful for the technology of acid curd cheeses, into a product. The following methods are of practical importance for the dairy industry: thermal processing incl. calcium chloride added, ultra-filtration (UF) process, a method with the particulate whey protein concentrate (PWPC) added, and a method, being just developed, which applied transglutaminase (TG). In the methods that involve: thermal processing with calcium chloride added plus UF used to separate curd cheese mass, and TG, whey proteins are directly incorporated into the product during the production process. A method with PWPC added is a multistage solution where whey proteins are separated from whey; next, the whey protein concentrate is microparticulated and added, in this form, to the raw material under processing. The incorporation of whey proteins into curd cheese results in a considerable increase in the concentrations of essential (exogenous) amino acids in the protein of the final product and, consequently, in an increase in the values of chemical indicators that describe its nutritional quality. In turn, a higher cheese yield and a higher nutritional value of proteins are factors that give explanation why those methods are improved, which include the incorporation of whey proteins into unripened acid-curd cheeses.

Key words: unripened acid curd cheeses, whey proteins, incorporation of whey proteins into cheese, nutritional value of protein ☒

KRYSTYNA PAPPELBAUM, JERZY KASPRZAK, KATARZYNA CZACZYK

**WYSTĘPOWANIE WEROTOKSYCZNYCH *ESCHERICHIA COLI*
W ŻYWNOŚCI, ZE SZCZEGÓLNYM UWZGLĘDNIENIEM
SEROTYPU O104:H4**

Streszczenie

Skażenia mikrobiologiczne związane z żywnością stanowią bardzo istotny problem we współczesnym świecie. Pomimo zaawansowanych technik detekcji mikroorganizmów chorobotwórczych w żywności oraz postępów w leczeniu chorób spowodowanych przez te drobnoustroje, problem nadal pozostaje aktualny. W pracy opisano potencjalne zagrożenia dla ludzi związane z występowaniem werotoksycznych *Escherichia coli* w żywności. Przedstawiono także charakterystykę serotypu *E. coli* O104:H4, który był przyczyną dużego ogniska zatrucia, które stwierdzono w Niemczech w 2011 roku. Omówiono występowanie *E. coli* O104:H4 u ludzi, zwierząt i w żywności oraz występowanie ognisk zatruc spowodowanych przez tę grupę mikroorganizmów.

Słowa kluczowe: *Escherichia coli*, szczepy werotoksyczne, żywność, ogniska zatruc

Wstęp

Escherichia coli (pałeczka okrężnicy) – Gram ujemne bakterie należące do γ -*Proteobacteria*. Występują w formie pałeczek o długości $1 \div 3 \mu\text{m}$ i szerokości $0,4 \div 0,8 \mu\text{m}$. Urzęsione perytrychalnie wykazują się dużą ruchliwością. Są względnie beztlenowcami i heterotrofami. Pod względem biochemicznym *E. coli* wykazują zdolność do fermentacji glukozy, laktozy, mannitolu i arabinozy. Bakterie te nie wytwarzają siarkowodoru, nie tworzą acetoiny, nie hydrolizują mocznika i nie są zdolne do wykorzystywania żelatyny jako źródła węgla. Optymalna temperatura wzrostu tych bakterii wynosi $37 \text{ }^\circ\text{C}$, co wynika z ich naturalnego środowiska, którym jest przewód pokarmowy człowieka i innych kręgowców. *E. coli* zasiedlają organizm już kilka go-

Dr inż. K. Pappelbaum, dr inż. J. Kasprzak, Stacja Sanitarно-Epidemiologiczna w Bydgoszczy, ul. Kujańska 4, 85-031 Bydgoszcz, prof. dr hab. K. Czaczyk, Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Wydz. Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wojska Polskiego 48, 60-637 Poznań. Kontakt: kasiacz@up.poznan.pl

dzin po porodzie i przez całe życie stanowią mikrobiotę komensalną człowieka. Drobnostrój te żyją w jelicie cienkim oraz grubym i są nieszkodliwe. Spełniają wręcz wiele pozytywnych funkcji metabolicznych i ochronnych w naszym organizmie. Biorą udział w trawieniu pokarmu, stymulują rozwój nabłonka jelitowego, syntetyzują witaminę K, jak również są antagonistami wobec mikroorganizmów chorobotwórczych [28].

Wiele serotypów *E. coli* jest jednak chorobotwórczych. Początkowo klasyfikację tych szczepów prowadzono na podstawie ich właściwości serologicznych (antygen O i antygen H). Obecnie kryterium ich klasyfikacji są cechy genetyczne. Wyróżniono 6 grup (lub patotypów) *E. coli* wywołujących choroby przewodu pokarmowego:

- enteropatogenne *E. coli* – EPEC (ang. *enteropathogenic E. coli*),
- enterotoksyczne *E. coli* – ETEC (ang. *enterotoxigenic E. coli*),
- enteroinwazyjne *E. coli* – EIEC (ang. *enteroinvasive E. coli*),
- enterokrwotoczne *E. coli* – EHEC (ang. *enterohemorrhagic E. coli*),
- szczepy zdolne do dyfuzyjnej adhezji – DAEC (ang. *Diffusely Adherent E. coli*),
- enteroagregacyjne *E. coli* – EAaggEC (ang. *Enteraggregative E. coli*).

E. coli są bakteriami, które łatwo i często wymieniają materiał genetyczny z bakteriami bytującymi wokół niej, takimi jak *Salmonella* spp., *Shigella* spp. i z innymi szczepami *E. coli*, poprzez mechanizm horyzontalnego transferu genów. Zatem szczepy *E. coli* mogą mieć cechy, które nabyły z różnorodnych źródeł. Część szczepów *E. coli* jest zdolna do wytwarzania toksyn bardzo podobnych do toksyn wytwarzanych przez *Shigella dysenteriae* typu 1. Opisano dwa rodzaje tych toksyn: toksynę Shiga 1 (Stx1), która różni się od prawdziwej toksyny Shiga składem aminokwasowym (różnice dotyczą od jednego do siedmiu aminokwasów) i toksynę Shiga 2 (Stx2), która wykazuje około 60 % homologii do Stx1. Niezależnie od tych różnic toksyny Stx1 i Stx2 zaliczane są do rodziny toksyn Shiga. Bakterie te są często nazywane *E. coli* wytwarzające toksyny Shiga (ang. *Shiga toxin-producing E. coli*, STEC). Funkcjonalnie aktywne toksyny Shiga mogą być wykrywane przy użyciu komórek linii Vero (komórki nerek afrykańskiej małpy zielonej). Grupę tę określono jako produkującą werocytotoksyny *E. coli* (ang. *Verotoxin producing E. coli* – VTEC). Zatem VTEC i STEC to synonimy, ale nie są one tożsame z EHEC. Tylko część EHEC jest zdolna do wytwarzania toksyn Shiga. Nazewnictwo toksyn Stx1 i Stx2 jest tożsame z VT1 i VT2 [38, 40].

Celem pracy było przedstawienie aktualnego stanu wiedzy na temat zanieczyszczenia żywności patogennymi szczepami *E. coli*, ze szczególnym uwzględnieniem serotypu O104:H4 oraz charakterystyka potencjalnych zagrożeń dla ludzi związanych z ich występowaniem w żywności.

***E. coli* jako potencjalne zagrożenie dla ludzi**

Wymienione wyżej patotypy *E. coli* mogą wywoływać choroby układu pokarmowego u człowieka. Są one biegunkotwórcze, a ponadto mogą wywoływać zakażenia pozajelitowe, takie jak: nefropatie, zapalenie stawów, zapalenie opon mózgowych czy bakteriemie [16, 17, 20]. Szczególne zagrożenie dla ludzi stanowią typy *E. coli*, takie jak EHEC i EAggEC, które mogą powodować ciężkie choroby przewodu pokarmowego. Wykryto, że EHEC bytują w przewodzie pokarmowym przeżuwaczy, są wydalane z odchodami i mogą być przenoszone bezpośrednio lub pośrednio (np. przez żywność) ze zwierząt na człowieka. Dowiedziono, że rezerwuarem EAggEC jest człowiek. Bakterie te mogą być przenoszone z człowieka na człowieka przy niezachowaniu higieny osobistej. Patogeny te mogą również dostać się do żywności podczas jej przygotowywania lub produkcji i w ten sposób rozprzestrzeniać się. Tzw. nietypowe EAggEC izolowano od cieląt, prosiąt i koni. Szczepom tym brakuje niektórych charakterystycznych cech EAggEC, więc przyjmuje się, że zwierzęta nie są rezerwuarem tych patogenów dla człowieka [29, 41].

EHEC charakteryzują się zdolnością do wytwarzania toksyn Shiga (Stx1 lub Stx2) i adhezji do nabłonka jelita gospodarza za pomocą specyficznego białka – intyminy. Nazwy STEC i VTEC są uważane za równoznaczne dla tych EHEC, które wytwarzają toksyny Stx1 lub Stx2. Natomiast EAggEC zazwyczaj nie wytwarzają toksyn Shiga, ale adherują do ściany nabłonka jelita człowieka za pomocą białek (adhezyn) odpowiedzialnych za łączenie się tych komórek z komórkami gospodarza, na której zdolne są do tworzenia biofilmów. Te zdolności adhezyjne opisano zarówno w przypadku EHEC, jak i EAggEC, również na powierzchniach abiotycznych [23].

EHEC są uważane za najczęstszą przyczynę infekcji bakteryjnych powodowanych przez *E. coli*, które są przenoszone przez żywność. Od połowy lat 90. XX w. również EAggEC opisywano wielokrotnie jako przyczynę ognisk zatruc pokarmowych związanych z żywnością [31]. Zjawisko to częściej występowało w krajach o niskim poziomie higieny, ale ogniska zatruc występowały także w krajach o wysokich standardach higienicznych. Największe znane ognisko zatrucia spowodowanego przez EAggEC wystąpiło w Japonii, gdzie ponad 2500 dzieci uległo zatruciu, najprawdopodobniej po spożyciu posiłku w stołówce szkolnej [22]. Z badań przeprowadzonych w Brazylii [30] wynika, że ten patotyp *E. coli* izolowano również z mleka i deserów przeznaczonych dla dzieci. Bakterie te były również identyfikowane jako przyczyna biegunek podróźnych w Meksyku [42]. Ich obecność stwierdzono także w wodzie z publicznych fontann i wykazano ich związek z ogniskami zatruc [42]. Obecnie badane są: chorobotwórczość i drogi transmisji szczepów *E. coli*, które wykazują specyficzne czynniki wirulencji (wytwarzanie toksyn Stx i enteroagregacyjna adhezja) zarówno EHEC, jak i EAggEC [7].

Charakterystyka serotypu *E. coli* O104:H4

Serotyp *E. coli* O104:H4 został zidentyfikowany jako przyczyna dużego ogniska zatrucia, które stwierdzono w Niemczech pomiędzy majem a sierpniem 2011 r. Po przeprowadzeniu analizy sekwencji DNA stwierdzono, że szczep bakteryjny odpowiedzialny za to ognisko zatrucia miał więcej cech wspólnych z EAggEC niż z konwencjonalnym EHEC. Szczep ten wykazywał podobieństwa do szczepu EAggEC izolowanego od człowieka w Afryce centralnej, którego cechy charakterystyczne były

Tabela 1. Charakterystyka serotypu *E. coli* O104:H4

Table 1. Profile of serotype of *E. coli* O104:H4

Cecha / Attribute	Wynik / Result
Fermentacja sorbitolu / Sorbitol fermentation	dodatni / positive
Serotyp / Serotype	O104:H4
Zdolność do syntezy toksyn Shiga: Ability to Shiga toxin synthesis: - Stx 1 - Stx 2	ujemny / negative dodatni (podtyp 2a) / positive (subtype 2a)
Obecność intyminy (gen <i>eae</i>) Presence of intimin (<i>eae</i> gene)	ujemny / negative
Wytwarzanie enterohemolizyny Formation of enterohemolysin	ujemny / negative
Obecność plazmidów wirulencji EAggEC Presence of virulence plasmids EAggEC - <i>aatA</i> - <i>aggR</i> - <i>aap</i> - <i>aggA</i> - <i>aggC</i>	dodatni / positive dodatni / positive dodatni / positive dodatni / positive dodatni / positive
Wytwarzanie β -laktamaz Formation of β -lactamases - ESBL (z rodziny CTX-M-15) - TEM-1	dodatni / positive dodatni / positive
Typ sekwencji MLST Type of MLST sequence	ST678
Odporność na antybiotyki Antibiotic resistance	ampicylina, amoksycyklina / kwas klawulonowy, piperacylina / sulbaktam, piperacylina / tazobaktam, cefuroksym, aksetyl cefuroksymu, cefoksytyna, cefotaksym, cefazydym, cefpodoxym, streptomycyna, kwas nalidyksowy, tetracyklina, trimetoprim / sulfametoksazol ampicillin, amoxicillin / clavulanic acid, piperacillin / sulbactam, piperacillin / tazobactam, cefuroxime, cefuroxime (as axetil), ceftaxime, cefotaxime, cefazidime, cefpodoxime, streptomycin, nalidixic acid, tetracycline, trimethoprim / sulfamethoxazole

Opracowano na podstawie: / Developed based on: [13, 20]

już znane. Specyficzną cechą szczepu VTEC z tego ogniska zatrucia był gen Stx2 kodowany przez bakteriofaga [8]. Szczep wyizolowany z ogniska zatrucia był agregacyjnym VTEC O104:H4, który zaabsorbował bakteriofaga kodującego gen Stx2 i był zdolny wytwarzać tę toksynę. Charakterystykę szczepu, który wywołał epidemię, przedstawiono w tab. 1.

VTEC są wykrywane u zakażonych ludzi podczas badania kału, głównie techniką konwencjonalnego PCR lub real-time PCR. Serotyp *E. coli* O104:H4 jest identyfikowany konwencjonalną multipleksową PCR (procedura opracowana przez Uniwersytet Medyczny w Münster), która pozwala na wykrycie czterech typowych genów dla tego szczepu (*stx2*, *terD*, *rfbO104*, *fliC H4*) [20].

Wykrywanie VTEC w próbkach żywności i środowiskowych jest stosunkowo trudne ze względu na dużą liczbę mikroflory towarzyszącej, a ponadto żywność jest bardzo złożoną matrycą biologiczną. Do wykrywania VTEC, ale nie EHEC O104, w próbkach żywności stosuje się technikę real-time PCR. Jak dotąd technika ta nie sprawdziła się w przypadku naturalnie zanieczyszczonych próbek nasion przeznaczonych do produkcji kielków. Osiem laboratoriów uczestniczących w badaniach międzylaboratoryjnych nie wykryło STEC/VTEC w zanieczyszczonych próbkach nasion. Przypuszcza się, że szczepy *E. coli* występują na nasionach w bardzo małej liczbie i są nierówno rozmieszczone. Aurass i wsp. [4] przypuszczają, że patogeny te mogą pozostawać w stanie uśpionia (żyjący, ale niedający się hodować; ang. *viable, but non cultureable*), co powoduje trudności w ich hodowli.

Występowanie *E. coli* O104:H4

Występowanie u ludzi i zwierząt

Do czasu powstania ogniska zatrucia pokarmowego w Niemczech w maju 2011 r., w literaturze przedmiotu opisano tylko kilka przypadków zachorowań spowodowanych serotypem *E. coli* O104, który wytwarzał toksyny Stx1 i/lub Stx2. ECDC (ang. *European Centre for Disease Prevention and Control*) w latach 2004 ÷ 2010 odnotowało 9 przypadków zachorowań spowodowanych serotypem VTEC O104, z czego 5 dotyczyło mężczyzn w wieku 1 ÷ 76 lat. W jednym przypadku rozwinął się zespół hemolityczno-mocznicowy (ang. *haemolytic-uraemic syndrome* – HUS). Cztery przypadki były związane z podróżami do takich krajów, jak: Afganistan (2008), Turcja (2009), Egipt (2010) i Tunezja (2010). Tylko dwa przypadki zachorowań spowodowane były serotypem VTEC O104:H4 (we Francji w 2004 r. i w Finlandii w 2010 r.) [13]. W 2009 r. CDC (ang. *Centre for Disease Control and Prevention*) w USA odnotowało 2 przypadki HUS spowodowane serotypem O104 w stanie Georgia [12]. W literaturze opisano również jeden przypadek pacjenta z HUS, wywołanym przez ten serotyp, w Korei Płd. w 2005 r. oraz 2 przypadki w Niemczech, w 2001 r. [5, 29]. Tylko izolaty

z Niemiec (2001), Finlandii (2010) i stanu Georgia (2009) zostały opisane jako enteroagregacyjne EHEC. W październiku 2011 r. EPIS (ang. *Epidemic Intelligence Information System* of ECDC) zarejestrował ognisko zatrucia spowodowane EHEC O104:H4 wśród turystów francuskich podróżujących przez Turcję. Izolat EHEC od pacjentów z HUS scharakteryzowano jako *E. coli* O104:H4, wytwarzający toksynę Stx2, niezawierający genu *eae* odpowiedzialnego za tworzenie intyminy, niewytwarzający hemolizyny A oraz β -lakatamaz. Nie był on identyczny ze szczepem wyizolowanym z ogniska zatrucia w Niemczech w maju 2011 r. Szczep agregacyjnej EHEC O104:H4, który nie zawierał genów toksyny Shiga wyizolowano od pacjenta z zakażeniem przewodu pokarmowego w Wielkiej Brytanii [44]. Do najczęściej izolowanych serotypów O104 związanych z infekcjami u ludzi należały: O104:H2 [10], O104:H21 [11, 12] i O104:H- [10].

W 2011 roku na terenie Niemiec powstało, największe jak dotąd na świecie, ognisko zatrucia pokarmowego spowodowane przez *E. coli*. Objęło ono 14 krajów europejskich oraz USA i Kanadę. Odnotowano łącznie 4321 potwierdzonych przypadków (w tym 4178 w Europie, z tego 4075 w Niemczech), 852 przypadki HUS i 54 zgony. Choroba miała nietypowy przebieg, charakteryzowała się różnym okresem wylegania i różnymi powikłaniami [3, 20]. Spowodował ją bardzo rzadki serotyp O104:H4, którego, poza dwoma przypadkami opisanymi wyżej, nie odnotowano jako przyczyny zatruć pokarmowych spowodowanych przez *E. coli*. Charakterystykę tego szczepu przedstawiono w tab. 1. Szczep, który wywołał epidemię był hybrydą EAggEC oraz VTEC i zaabsorbował bakteriofaga kodującego gen odpowiedzialny za wytwarzanie Stx2 [24].

Nieliczne przypadki występowania serotypu O104 stwierdzono również u zwierząt. W 2009 roku, w Austrii, podczas urzędowego badania próbek pobranych w rzeźni od cieląt (starszych niż 1 rok) wyizolowano 2 szczepy *E. coli* O104 – O104:H12 i O104:H21, ale tylko ten drugi był zdolny do syntezy Stx1 [13]. Dwa przypadki serotypu O104, zdolnego do wytwarzania Stx1 lub Stx2, wykryto także u dzików w Hiszpanii (2007 ÷ 2008 r.) [37]. Dziewięć szczepów *E. coli* O104:H7 stwierdzono u owiec na terenie Hiszpanii [9]. Ponadto serotyp O104 izolowany był od jagnięcia z biegunką na terenie Indii (2001 ÷ 2002) [43] oraz od młodego wołu opasowego na terenie Argentyny – O104:H7 (1999 ÷ 2000) [25].

W 2010 roku przebadano ponad 6800 izolatów *E. coli*, pochodzących od bydła, pod względem zdolności do syntezy toksyn Shiga, ale tylko 13,5 % było VTEC pozytywne (w tym 0,2 % VTEC O157). Spośród 849 izolatów pochodzących od owiec i kóz 16,5 % było VTEC pozytywne (w tym tylko kilka przypadków VTEC O157). Izolaty pochodzące od innych zwierząt, niż wymienione wyżej, wykazywały 3,9 % próbek VTEC pozytywnych (w tym VTEC O157 poniżej 0,1 %). Tylko w jednym przypadku stwierdzono serotyp O104 (u bydła w Austrii) [14].

W 2011 roku na terenie Europy przebadano 5807 izolatów *E. coli*, pochodzących od bydła pod względem zdolności do syntezy toksyn Shiga, ale tylko 498 (8,6 %) było VTEC pozytywnych (w tym 84 izolaty były VTEC O157). Spośród innych zwierząt przebadano 146 izolatów, wśród nich 13 (8,9 %) było VTEC pozytywnych (nie stwierdzono VTEC O157). Żaden izolat nie był jednak serotypem O104 [19].

Łącznie w latach 2007 ÷ 2011 stwierdzono występowanie VTEC u bydła w zakresie 2,1 ÷ 13,5 % (w tym VTEC O157 – 0,2 ÷ 0,3 %). U owiec wykrywalność VTEC wahała się w granicach 0,9 ÷ 20,1 % (w tym VTEC O157 – 0 ÷ 4,8 %) [17].

Występowanie w żywności

Do czasu wystąpienia ogniska zatrucia w Niemczech w 2011 r., w całej Europie nie odnotowano występowania serotypu *E. coli* O104:H4 w żywności. Najczęściej izolowanym z żywności serotypem *E. coli* był O157:H7 [13, 14, 19]. Stwierdzono jednak nieliczne przypadki występowania *E. coli* O104 w żywności. W 2005 roku, podczas urzędowej kontroli żywności na terenie Niemiec, wyizolowano szczep O104 z mrożonej, mielonej wołowiny [2]. Serotyp ten (8 izolatów) wyizolowano również z tusz w rzeźni na terenie USA (3 izolaty przed wytrzewieniem i 5 po wytrzewieniu) [2]. Cztery izolaty O104 (w tym 2 O104:H7, 2 o nieznanym antygenie H) pochodziły z Nowej Zelandii z baraniny i nieokreślonego mięsa [6, 11].

Tabela 2. Zanieczyszczenie VTEC (w tym VTEC O157) w świeżym mięsie wołowym i baraninie, w niektórych krajach UE w latach 2007 ÷ 2011

Table 2. VTEC (including VTEC O157) contamination in fresh bovine meat and sheep meat in some EU countries in 2007 ÷ 2011

Rok Year	Liczba przebadanych prób Number of samples analyzed	Mięso wołowe (świe- że) Bovine meat (fresh) [% VTEC/% VTEC O157]	Liczba przebadanych prób Number of samples analyzed	Baranina (świeża) Sheep meat (fresh) [%VTEC/%VTEC O157]	Źródło Source
2007	14115	0,3/0,1	285	1,8/0	[13]
2008	14598	0,3/0,1	1263	0,7/0	[13]
2009	9285	2,3/0,7	248	3,2/0	[13]
2010	8566	0,5/0,1	394	7,4/0	[14]
2011	4347	1,4/0,3	134	0/0	[16]

W Europie, w latach 2007 ÷ 2011 badano próbki mięsa, a w latach 2004 ÷ 2011 inne rodzaje żywności, w tym owoce i warzywa, w ramach urzędowej kontroli żywności oraz monitoringu w kierunku wykrywania serotypu *E. coli* O157 i innych serotypów określanych jako nie-O157. Wyniki badań przedstawiono w tab. 2. i 3.

Stwierdzono, że $0,3 \div 2,3$ % próbek mięsa wołowego świeżego zawierało VTEC, w tym $0,1 \div 0,7$ % zawierało VTEC O157. Różnice pomiędzy poszczególnymi krajami UE wahały się w granicach od $0 \div 14,9$ %. Zanieczyszczenie świeżej baraniny VTEC wynosiło $0,7 \div 7,4$ %, ale żadna próbka nie zawierała VTEC O157. Różnice pomiędzy krajami UE wahały się w granicach $0 \div 10,5$ %. W latach 2007 \div 2011 VTEC wykrywano również w próbkach surowego mleka krowiego, serach wyprodukowanych z mleka krowiego, owczego i koziego oraz w innych produktach mlecznych. Największe zanieczyszczenie VTEC stwierdzono w 2008 roku – VTEC pozytywne wykryto w 1,1 % próbek (na 1138 przebadanych), ale nie wykryto VTEC O157 [19, 14].

Tabela 3. Zanieczyszczenie VTEC (w tym VTEC O157) w innych rodzajach żywności, w latach 2004 \div 2011

Table 3. VTEC (including VTEC O157) contamination in other types of food in 2004 \div 2011

Lata Years	Rodzaj żywności Type of food	Liczba przebadanych prób Number of samples analyzed	%VTEC/%VTEC O157	Źródło Source
2004- 2009	Owoce i warzywa / Fruits and vegetables; soki / juices; kiełki / sprouts; przyprawy / spices; zioła / herbs; sałatki gotowe do spożycia / ready-to-eat salads	5910	0,19/0,14	[13]
2010	Owoce i warzywa / Fruit and vegetables; soki / juices; / fish products; inna żywność przetworzona / other processed food products; potrawy gotowe do spożycia / convenience foods; sałatki gotowe do spożycia / ready-to-eat salads;	2806	1,6/<0,1	[14]
2011	Owoce i warzywa / Fruits and vegetables; kiełki / sprouts; przyprawy / spices; zioła / herbs; produkty warzywne / vegetable products; sałatki gotowe do spożycia / ready-to-eat salads	4727	0,1/0	[16]

W latach 2004 \div 2009 przebadano 5190 próbek, ale tylko w 11 stwierdzono obecność VTEC (0,19 %), w tym 8 zawierało VTEC O157 (0,14 %). Najwięcej pozytywnych próbek (0,50 %) wykryto w warzywach. W 2008 r. w Holandii stwierdzono obecność VTEC O157 w 5 próbkach warzyw (na 947 zbadanych). W Portugalii stwierdzono obecność VTEC nie-O157 w próbce rozdrobnionych owoców i warzyw gotowych do spożycia pochodzących z cateringu, w Hiszpanii – 2 próbki (na 23 przebadane) wykazały pozytywny wynik na obecność VTEC, a w Szwecji – 3 próbki warzyw (na 57 zbadanych) były pozytywne na obecność VTEC O157 [25]. W Polsce, w latach 2007 \div 2008 badania na obecność *E. coli* O157 wykonywane były przez Laboratorium Zakładu Badania Żywności i Przedmiotów Użytku NIZP-PZH (Narodowy

Instytut Zdrowia Publicznego – Państwowy Zakład Higieny) oraz laboratoria Państwowej Inspekcji Sanitarnej. Badane próbki pochodziły z obrotu i charakteryzowały się dobrą jakością sensoryczną. Ogółem zbadano 950 próbek: mięsa i przetworów mięsnych, mięsa i przetworów drobiowych, surowego mleka i przetworów mlecznych, niepasteryzowanych soków owocowych i warzywnych, kiełków oraz warzyw. Pałeczki *E. coli* O157 wykryto tylko w 0,50 % próbek. Wszystkie szczepy pochodziły z próbek warzyw (marchew, kapusta pekińska, sałata i rzodkiewka) [39].

W trakcie epidemii na terenie Niemiec w 2011 roku, spowodowanej przez serotyp *E. coli* O104:H4, prowadzono intensywne dochodzenie epidemiologiczne w celu wykrycia źródła infekcji. Niemieckie władze podejrzewały początkowo, że źródłem zanieczyszczeń były importowane z Hiszpanii ogórki, ale badania tego nie potwierdziły. Epidemia ta spowodowała znaczne ograniczenie obrotów na europejskim rynku warzyw i poważne straty ich producentów. Dopiero wystąpienie ogniska na terenie Francji (czerwiec 2011) pozwoliło na przybliżenie potencjalnego źródła zanieczyszczenia. Ognisko to objęło 12 przypadków, wśród których wystąpiło 7 przypadków HUS, 4 przypadki krwawej biegunki i 1 przypadek typowej biegunki. Wszyscy poszkodowani uczestniczyli w pikniku na terenie centrum edukacyjnego w Bègles. Wywiad epidemiologiczny wykazał, że jedyną wspólną potrawą, którą spożywali wszyscy chorzy była sałatka, w skład której wchodziły m.in. kiełki nasienne (kiełki kozieradki i kiełki gorczycy). Dalsze postępowanie epidemiologiczne wyjaśniło, że źródłem bakterii *E. coli* O104:H4 były kiełki kozieradki importowane z Egiptu w latach 2009 ÷ 2011. Niemniej jednak nie do końca wykluczono inne źródła infekcji, takie jak ogórki, pomidory czy sałata [1, 16].

Ogniska zatruc patogennymi szczepami *E. coli*

W krajach członkowskich UE w latach 2007 ÷ 2009 odnotowano 211 ognisk zatruc spowodowanych spożyciem żywności zanieczyszczonej patogennymi *E. coli*, w tym VTEC i 13 po spożyciu wody do picia (tab. 4). Z tych 211 ognisk szczegółowe dane dotyczyły tylko 57 ognisk, a żywność jako źródło infekcji była identyfikowana w 40 ogniskach. Prawdopodobnym nośnikiem tych bakterii było mięso (głównie wołowina) – 16 ognisk, produkty mleczne – 9 ognisk i inna żywność – 15 ognisk. Nie odnotowano żadnego ogniska zatrucia spowodowanego przez owoce i warzywa [13]. W UE, w latach 2004 ÷ 2006 raportowanie ognisk zatruc nie było jeszcze zharmonizowane i dane mogą być trudne do zinterpretowania. Niemniej jednak, w tych latach kraje członkowskie UE odnotowały razem 195 ognisk zatruc spowodowanych patogennymi *E. coli* (tab. 4). W trzech z tych ognisk zatruc stwierdzono, że źródłem infekcji były warzywa i sałatki (dwa ogniska w Szwecji w 2005 i 2006 r. i jedno ognisko w Portugalii w 2006 r.). W Szwecji (2005) zachorowało 135 osób, a źródłem zakażenia była zanieczyszczona sałata (spożywana zarówno w restauracji, jak i w domach pry-

watnych). Drugie ognisko zatrucia w Szwecji (2006) objęło 10 osób i było spowodowane spożyciem warzyw w przedszkolu. W 2006 r. pojawiło się ognisko zatrucia w Portugalii, zachorowało również 10 osób – po spożyciu posiłków w stołówce jednej z instytucji publicznych. Dodatkowo, jedno ognisko zatrucia w Danii w 2006 r. było związane z przyprawami i ziołami (sos Pesto i importowana bazylija), które spowodowały infekcję u 250 osób w jednej ze szkół [13]. W 2010 roku odnotowano 31 ognisk zatruc spowodowanych przez *E. coli* (189 przypadków zachorowań) [14]. Gwałtowny wzrost liczby zachorowań odnotowano w 2011 roku (4476 przypadków, 60 ognisk zatruc pokarmowych) i było to związane z epidemią w Niemczech w 2011 roku [19].

Na monitorowanie ognisk zatruc pokarmowych patogennymi szczepami *E. coli* na terenie prawie całej Europy pozwala system wczesnego ostrzegania o niebezpiecznych produktach żywnościowych i środkach żywienia zwierząt – RASFF (ang. *Rapid Alert System for Food and Feed*) [32]. System ten stworzony został w celu gromadzenia informacji o bezpośrednich i pośrednich zagrożeniach zdrowia ludzkiego, którego przyczynami są środki spożywcze lub pasze. W latach 2004 ÷ 2009 zgłoszenia do systemu RASFF dotyczyły głównie przekroczenia dopuszczalnej liczby *E. coli* w produktach takich, jak: owoce i warzywa, przyprawy, mięso, skorupiaki oraz pasze i karma dla zwierząt domowych. W 2007 roku odnotowano występowanie serotypu *E. coli* O157:H7 w kakao, kawie i herbacie. Liczba zagrożeń mikrobiologicznych związanych z *E. coli*, zgłaszanych do systemu RASFF, zwiększyła się w 2010 roku i dotyczyła 32 zgłoszeń przekroczenia dopuszczalnej liczby *E. coli* w mięczakach i skorupiakach (co związane było z jakością wody wykorzystywanej w hodowli tych organizmów) oraz 7 przypadków dotyczących sera produkowanego w Bułgarii. Zgłoszono także 2 przypadki obecności VTEC w mięsie wołowym i w serze z niepasteryzowanego mleka. W 2011 roku do systemu zgłoszono 16 przypadków przekroczenia dopuszczalnej liczby *E. coli* w środkach spożywczych, 15 przypadków obecności VTEC, 1 – EHEC oraz 2 przypadki występowania potencjalnie patogennych *E. coli*. Raport RASFF z 2011 r. obejmuje także zgłoszenia przypadków związanych z występowaniem VTEC w miksie kielków nasiennych – serotyp O104-H4 (ponad 100 zgłoszeń z terenu Niemiec i 8 przypadków z Francji). Ponadto w 2011 roku zgłoszono 87 przypadków związanych z występowaniem *E. coli* O27:H7 w groszku cukrowym pochodzącym z Kenii. Roczny raport RASFF za 2012 rok obejmuje zgłoszenia 19 przypadków przekroczenia dopuszczalnej liczby *E. coli* dotyczących mięczaków i głowonogów oraz kilkanaście przypadków VTEC stwierdzonych w mięsie i produktach mięsnych, w tym 1 przypadek EHEC [32].

Przegląd danych epidemiologicznych z Polski (dane Państwowego Zakładu Higieny) wskazuje także na występowanie przypadków zachorowań wywołanych przez *E. coli* [26]. Do 2007 roku raportowano tylko zakażenia wywołane przez EHEC i utrzymywały się one na poziomie kilku przypadków rocznie (3 ÷ 7). Od 2008 roku

PZH dodatkowo rozszerzył monitorowanie chorób wywołanych przez *E. coli* o zakażenia bakteryjne wywołane przez *E. coli* biegunkotwórcze i przez *E. coli* inne. W latach 2008 ÷ 2013 zakażenia wywołane przez EHEC utrzymywały się dalej na poziomie kilku przypadków rocznie, natomiast występowanie zakażeń spowodowanych przez *E. coli* biegunkotwórcze było największe w pierwszych trzech latach – ponad tysiąc przypadków rocznie (maksimum w 2008 – 1350 przypadków). W kolejnych latach liczba przypadków tych zakażeń malała i osiągnęła poziom 399 w 2013 roku. Kategoria: inne *E. coli* jest trudna do oszacowania ze względu na to, że obejmuje ona również przypadki bliżej nieokreślone [26].

Tabela 4. Stwierdzone ogniska zatruc spowodowane patogennymi *E. coli* (żywność i woda) w latach 2004 ÷ 2011

Table 4. Identified food and water poisoning outbreaks caused by pathogenic *E. coli* in 2004 ÷ 2011

Lata Years	Liczba ognisk zatruc Number of food poisoning outbreaks		Liczba przypadków zachorowań Number of cases of disease		Źródło Source
	Żywność / Food	Woda / Water	Żywność / Food	Woda / Water	
2004 - 2006	195	5	2345 (brak danych z niektórych ognisk zatruc / no data regarding some poisoning outbreaks)	27	[13]
2007	61	4	479 (tylko zweryfikowane ogniska zatruc / only verified outbreaks)	62	[13]
2008	75	4	339	22	[13]
2009	75	5	585	12	[13]
2010	31	bd	189	bd	[14]
2011	60	3	4476	25	[16]

bd – brak danych / no data

Zanieczyszczenie produktów żywnościowych VTEC

Naturalnym rezerwuarem VTEC są przeżuwacze (głównie bydło), szczególnie serotypu O157. Nie stwierdzono, aby mięso wieprzowe i drób były źródłem zanieczyszczenia VTEC dla człowieka w Europie [15]. Istnieje możliwość potencjalnego, bezpośredniego zanieczyszczenia miejsc uprawnych przez zwierzęta. Pola uprawne warzyw i inne miejsca produkcyjne mogą zostać zanieczyszczone VTEC w sposób pośredni, poprzez zanieczyszczoną wodę, aerozole, kurz z produkcji żywego inwentarza oraz urządzenia do karmienia zwierząt. Źródła zanieczyszczenia mogą być też związane z działalnością człowieka, np. ze sposobami usuwania śmieci i miejscami odprowadzania ścieków. Przyroda może odgrywać znaczącą rolę w rozprzestrzenianiu czynników chorobotwórczych z różnych źródeł na pola uprawne. Głównym źródłem zanieczysz-

czeń są nawozy organiczne (np. obornik, ścieki miejskie, ścieki z farm hodowlanych) i woda zanieczyszczona fekaliami. Szczególną uwagę należy zwrócić na ryzyko związane z produkcją ekologiczną, w której stosuje się często nawozy organiczne (np. gnojowicę, gnojówkę, obornik), które nie zostały poddane zabiegom higienizacyjnym [18, 21, 20].

Po wystąpieniu w maju 2011 roku ogniska szczepu VTEC na terenie UE, kiełki nasienne zostały uznane za najbardziej prawdopodobną przyczynę zachorowań. Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności w październiku 2011 przyjął opinię naukową dotyczącą ryzyka stwarzanego przez VTEC i inne bakterie chorobotwórcze obecne w nasionach oraz skielkowanych nasionach. W opinii tej stwierdzono, że ze względu na wysoką wilgotność i korzystną temperaturę podczas kiełkowania bakteryjne czynniki chorobotwórcze obecne w suchych nasionach mogą stanowić istotne zagrożenia dla zdrowia publicznego. Ponadto w swojej opinii EFSA zaleca zaostrożenie kryteriów mikrobiologicznych jako jeden z elementów systemu zarządzania łańcuchem żywności w odniesieniu do łańcucha produkcji skielkowanych nasion. Następstwem tego było wprowadzenie kilku rozporządzeń Komisji UE dotyczących kiełków nasieniowych. Do rozporządzeń w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych, w rozdziale: Kryteria bezpieczeństwa żywności wprowadzono dodatkowy zapis o konieczności kontroli kiełków niepoddanych obróbce na obecność szczepów *E. coli* wytwarzających toksynę Shiga – serotypy: O157, O26, O111, O103, O145 oraz O104:H4 (wymagania – nieobecne w 25 g i w 5 próbkach) [33]. Ponadto wprowadzono rozporządzenia dotyczące zatwierdzania zakładów produkujących kiełki, wymogów dotyczących świadectw przy przywozie do Unii kiełków i nasion przeznaczonych do produkcji kiełków oraz rozporządzenie wykonawcze w sprawie wymogów dotyczących możliwości śledzenia kiełków i nasion przeznaczonych do produkcji kiełków [34, 35, 36].

Podsumowanie

Ognisko zatrucia enteroagregacyjną VTEC O104:H4 w Niemczech w 2011 r. było największym odnotowanym dotychczas na świecie. Po przeprowadzeniu charakterystyki tego serotypu wykazano, że jest on bardzo rzadki i do tego czasu odnotowano tylko 2 przypadki zachorowań u ludzi wywołanych przez szczep O104:H4. Do czasu epidemii w Niemczech serotypu tego nigdy nie izolowano od zwierząt i z żywności. Szczep pochodzący z ogniska zatrucia w Niemczech zawierał czynniki wirulencji VTEC i enteroagregacyjnej *E. coli*, sugerujące transfer genów odpowiedzialnych za syntezę toksyny Stx2 pomiędzy patogrupami VTEC i EAggEC. Dane z badań genetycznych wskazują, że szczep EAggEC nabył materiał genetyczny (Stx2) od VTEC. Konieczne jest prowadzenie dalszych badań i monitorowania występowania serotypu O104:H4 w żywności. Badania żywności prowadzone pod nadzorem EFSA i ECDC

wykazały, że szczepy VTEC były najczęściej izolowane z mięsa przeżuwaczy (głównie z wołowiny) oraz mleka. Stwierdzono niski poziom zanieczyszczenia tymi bakteriami żywności pochodzenia zwierzęcego, oferowanej do sprzedaży w UE. Również rzadko izolowano VTEC z warzyw i owoców, niemniej jednak to one były główną przyczyną ogniska zatrucia w Niemczech w 2011 r.

Literatura

- [1] Agence Nationale de Sécurité Sanitaire (ANSES): Opinion of the French Agency for Food, Environmental and Occupational Health & Safety on the current state of scientific knowledge and information available for making recommendations, following the onset of several cases of haemolytic-uraemic syndrome (HUS) observed in France in June 2011 and suspected of being related to the consumption of sprouts. 2011. [on line]. ANSES. Dostęp w Internecie [01.08.2014]: <http://www.anses.fr/Documents/MIC2011sa0158EN.pdf>
- [2] Arthur T.M., Barkocy-Gallagher G.A., Rivera-Betancourt M., Koohmaraie M.: Prevalence and characterization of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* on carcasses in commercial beef cattle processing plants. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2002, **10** (68), 4847-52.
- [3] Askar M., Faber M.S., Frank C., Bernard H., Gilsdorf A., Fruth A., Prager R., Höhle M., Suess T., Wadl M.G., Krause G., Stark K., Werber D.: Update on the ongoing outbreak of haemolytic uraemic syndrome due to Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) serotype O104, Germany, May 2011. *Eurosurveillance J.*, 2011, **16** (22), 1-3.
- [4] Aurass P., Prager R., Flieger A.: EHEC/EAEC O104:H4 strain linked with the 2011 German outbreak of haemolytic uraemic syndrome enters into the viable but non-culturable state in response to various stresses and resuscitates upon stress relief. *Environ. Microbiol.*, 2011, **12** (13), 3139-3148.
- [5] Bae W.K., Lee Y.K., Cho M.S., Ma S.K., Kim S.W., Kim N.H., Choi C.K.: A case of hemolytic uraemic syndrome caused by *Escherichia coli* O104:H4. *Yonsei Med. J.*, 2006, **47** (3), 437-439.
- [6] Bennett J., Bettelheim K.A.: Serotypes of non-O157 verocytotoxigenic *Escherichia coli* isolated from meat in New Zealand. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 2002, **2** (25), 77-84.
- [7] Beutin L., Krause G., Zimmermann S., Kaulfuss S., Gleier K.: Characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from human patients in Germany over a 3-year period. *J. Clin. Microbiol.*, 2004, **3** (42), 1099-108.
- [8] Bielaszewska M., Mellmann A., Zhang W., Kock R., Fruth A., Bauwens A., Peters G., Karch H.: Characterisation of the *Escherichia coli* strain associated with an outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Germany, 2011: a microbiological study. *Lancet Infect. Dis.*, 2011, **11**, 671-676.
- [9] Blanco J., Blanco M., Blanco J.E., Mora A., Gonzalez E.A., Bernardez M.I., Alonso M.P., Coira A., Rodriguez A., Rey J., Alonso J.M., Usera M.A.: Verotoxin-producing *Escherichia coli* in Spain: prevalence, serotypes, and virulence genes of O157:H7 and non-O157 VTEC in ruminants, raw beef products, and humans. *Exp. Biol. Med. (Maywood)*, 2003, **4** (228), 345-351.
- [10] Bockemuhl J., Aleksic S., Karch H.: Serological and biochemical properties of Shiga-like toxin (verocytotoxin)-producing strains of *Escherichia coli*, other than O-group 157, from patients in Germany. *Zentralbl. Bakteriol.*, 1992, **2** (276), 189-195.
- [11] Brett K.N., Ramachandran V., Hornitzky M.A., Bettelheim K.A., Walker M.J., Djordjevic S.P.: Stx1c is the most common Shiga toxin 1 subtype among Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates from sheep but not among isolates from cattle. *J. Clin. Microbiol.*, 2003, **3** (41), 926-36.
- [12] CDC. Outbreak of acute gastroenteritis attributable to *Escherichia coli* serotype O104:H21 – Helena, Montana, 1994. *Morb. Mortal. Wkly. Rep.*, 1995, **27** (44), 501-503.
- [13] ECDC/EFSA JOINT TECHNICAL REPORT Shiga toxin/verotoxin -producing *Escherichia coli* in humans, food and animals in the EU/EEA, with special reference to the German outbreak strain

- STEC O104. [on line]. ECDC/EFSA. Dostęp w Internecie [01.08.2014]: http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/1106_TER_EColi_joint_EFSA.pdf
- [14] EFSA (European Food Safety Authority), ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control). The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2010. EFSA J. 2012, **3 (10)**, 2597, 442 pp. doi:10.2903/j.efsa.2012, 2597.
- [15] EFSA (European Food Safety Authority): Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards on a request from EFSA on monitoring of verotoxigenic *Escherichia coli* (VTEC) and identification of human pathogenic VTEC types. EFSA J., 2007, **579**, 1-61.
- [16] EFSA (European Food Safety Authority). Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) O104:H4 2011 outbreaks in Europe: Taking Stock. EFSA J., 2011, **9 (10)**, 2390, 22 pp. doi:10.2903/j.efsa.2011, 2390.
- [17] EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ); Scientific Opinion on VTEC - seropathotype and scientific criteria regarding pathogenicity assessment. EFSA J., 2013, **4 (11)**, 3138, 106 pp. doi:10.2903/j.efsa.2013, 3138.
- [18] EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ); Scientific Opinion on a review on the European Union Summary reports on trends and sources zoonoses, zoonotic agents and food - borne outbreaks in 2009 and 2010 – specifically for the data on *Salmonella*, *Campylobacter*, verotoxigenic *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and foodborne outbreaks. EFSA J., 2012, **6 (10)**, 2726, 25pp. doi:10.2903/j.efsa.2012, 2726.
- [19] EFSA, (European Food Safety Authority), ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control). The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2011. EFSA J., 2013, **4 (11)**, 3129, 250 pp. doi:10.2903/j.efsa.2013, 3129.
- [20] Final presentation and evaluation of epidemiological findings in the EHEC O104:H4 outbreak Germany 2011. [on line]. Robert Koch Institute. Dostęp w Internecie [01.08.2014]: http://www.rki.de/EN/Home/EHEC_final_report.pdf;jsessionid=FEF0734176DA136F9DFD05F3F25377A8.2_cid290?_blob=publicationFile
- [21] Frank C.F.M., Askar M., Bernard M., Fruth A., Gilsdorf A., Höhle M., Karch H., Krause G., Prager R., Spode A., Stark K., Werber D.: Large and ongoing outbreak of haemolytic uraemic syndrome. Eurosurveillance J., 2011, **16 (21)**, 1-3.
- [22] Itoh Y., Nagano I., Kunishima M., Ezaki T.: Laboratory investigation of enteroaggregative *Escherichia coli* O untypeable:H10 associated with a massive outbreak of gastrointestinal illness. J. Clin. Microbiol., 1997, **35**, 2546-2550.
- [23] Lee J., Bansal T., Jayaraman A., Bentley W.E., Wood T.K.: Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Biofilms Are Inhibited by 7-Hydroxyindole and Stimulated by Isatin. Appl. Environ. Microbiol., 2007, **13 (73)**, 4100-4109.
- [24] Łoś J.M., Węgrzyn G.: Enterokrwotoczne szczepy *Escherichia coli* (EHEC) i bakteriofagi kodujące toksyny Shiga. Post. Mikrobiol., 2011, **3 (50)**, 175-190.
- [25] Meichtri L., Miliwebsky E., Gioffre A., Chinen I., Baschkier A., Chillemi G., Guth B.E., Masana M.O., Cataldi A., Rodriguez H.R., Rivas M.: Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in healthy young beef steers from Argentina: prevalence and virulence properties. Int. J. Food Microbiol., 2004, **2 (96)**, 189-98.
- [26] Meldunki epidemiologiczne. [on line]. PZH. Dostęp w Internecie [6.08.2014]: http://www.pzh.gov.pl/oldpage/epimeld/index_p.html
- [27] Mellmann A., Bielaszewska M., Köck R., Friedrich A.W., Fruth A., Middendorf B., Harmsen D., Schmidt M.A., Karch H.: Analysis of collection of hemolytic uremic syndrome-associated enterohemorrhagic *Escherichia coli*. Emerg. Infect. Dis., 2008, **8 (14)**, 1287-90.
- [28] Mikrobiologia techniczna. Mikroorganizmy w biotechnologii, ochronie środowiska i produkcji żywności. Red. Z. Libudzisz, K. Kowal, Z. Żakowska T. II. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2008.
- [29] Morabito S., Karch H., Mariani-Kurkdjian P., Schmidt H., Minelli F., Bingen E., Caprioli A.: Enteroaggregative, Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O111:H2 associated with an outbreak of hemolytic-uremic syndrome. J. Clin. Microbiol., 1998, **36**, 840-842.

- [30] Morais T.B., Gomes T.A., Sigulem D.M.: Enteroaggregative *Escherichia coli* in infant feeding bottles. *Lancet*, 1997, **349**, 1448-1449.
- [31] Okeke I.N., Nataro J.P.: Enteroaggregative *Escherichia coli*. *Lancet Infect. Dis.*, 2001, **1**, 304-313.
- [32] Roczne raporty RASFF. [on line]. European Commission Food. Dostęp w Internecie [4.08.2014.]: http://ec.europa.eu/food/safety/rasff/reports_publications/index_en.htm
- [33] Rozporządzenie Komisji (UE) nr 209/2013 z dnia 11 marca 2013 roku, zmieniające rozporządzenie (WE) nr 2073/2005 w odniesieniu do kryteriów mikrobiologicznych dotyczących kiełków i zasad pobierania próbek z tusz drobiowych i świeżego mięsa drobiowego. *Dz. Urz. UE L 68*, s. 19. z 12.03.2013.
- [34] Rozporządzenie Komisji (UE) nr 210/2013 z dnia 11 marca 2013 roku, w sprawie zatwierdzania zakładów produkujących kiełki zgodnie z rozporządzeniem (WE) nr 852/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady. *Dz. Urz. UE L 68*, s. 24. z 12.03.2013.
- [35] Rozporządzenie Komisji (UE) nr 211/2013 z dnia 11 marca 2013 roku, w sprawie wymogów dotyczących świadectw przy przywozie do Unii kiełków i nasion przeznaczonych do produkcji kiełków. *Dz. Urz. UE L 68*, s. 26. z 12.03.2013.
- [36] Rozporządzenie Wykonawcze Komisji (UE) nr 208/2013 z dnia 11 marca 2013 roku, w sprawie wymogów dotyczących możliwości śledzenia kiełków i nasion przeznaczonych do produkcji kiełków. *Dz. Urz. UE L 68*, s. 16. z 12.03.2013.
- [37] Sánchez S., Martínez R., García A., Vidal D., Blanco J., Blanco M., Blanco J.E., Herrera-León S., Echeita A., Alonso J.M., Rey J.: Detection and characterisation of O157:H7 and non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in wild boars. *Vet. Microbiol.*, 2010, **2-4 (143)**, 420-423.
- [38] Scientific Report of EFSA: Shiga toxin producing *E.coli* (STEC) O104:H4 outbreaks in Europe: Taking Stock. *EFSA J.*, 2011, **9 (10)**, 2390.
- [39] Ścieżyńska H., Windyga B., Grochowska A., Pawłowska K., Mąka Ł., Karłowski K.: Rozpowszechnienie *Escherichia coli* O157 w żywności z rynku krajowego. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2009, **3 (XLII)**, 574-577.
- [40] Scotland S.M., Rowe B., Smith H.R., Willshaw G.A., Gross R.J.: Vero cytotoxin-producing strains of *Escherichia coli* from children with haemolytic uraemic syndrome and their detection by specific DNA probes. *J. Med. Microbiol.*, 1998, **4 (25)**, 237-43.
- [41] Uber A.P., Trabulsi L.R., Irino K., Beutin L., Ghilardi A.C.R., Gomes T.A.T., Liberatore A.M.A., de Castro A.F.P., Elias W.P.: Enteroaggregative *Escherichia coli* from humans and animals differ in major phenotypical traits and virulence genes. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2006, **256**, 251-257.
- [42] Vigil K.J., Jiang Z.D., Chen J.J.: Coliform and *Escherichia coli* contamination of desserts served in public restaurants from Guadalajara, Mexico, and Houston, Texas. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2009, **80**, 606-608.
- [43] Wani S.A., Bhat M.A., Samanta I., Ishaq S.M., Ashrafi M.A., Buchh A.S.: Epidemiology of diarrhoea caused by rotavirus and *Escherichia coli* in lambs in Kashmir valley, India. *Small Ruminant Res.* 2004, **1-2 (52)**, 145-53.
- [44] Wilson A., Evans J., Chart H., Cheasty T., Wheeler J.G., Tompkins D., Smith H.R.: Characterisation of strains of enteroaggregative *Escherichia coli* isolated during the infectious intestinal disease study in England. *Eur. J. Epidemiol.*, 2001, **17**, 1125-1130.

OCCURRENCE OF VEROTOXIC *ESCHERICHIA COLI* IN FOOD WITH PARTICULAR FOCUS ON SEROTYPE O104:H4

Summary

Microbiological contaminations of food constitute a very significant problem in the modern world. Despite the advanced techniques for detection of pathogenic microorganisms in food and the progress in treating diseases caused by them, the problem is still relevant. In the paper, there are described potential risks to people that are associated with the occurrence of verotoxic *E.coli* in food. Also, the paper pre-

sents a detailed profile of the serotype of *E. coli* O104:H4, which was a causative agent of the large outbreak of food poisoning in Germany in 2011. The occurrence of *E. coli* O104:H4 in humans, animals, and foods are discussed as is the occurrence of food-borne outbreaks caused by this group of microorganisms.

Key words: *Escherichia coli*, verotoxic species, food, poisoning outbreaks ☒

IZABELA DMYTRÓW

WPLYW PROBIOTYCZNYCH BAKTERII KWASU MLEKOWEGO NA STABILNOŚĆ PRZECHOWALNICZĄ KWASOWYCH SERÓW TWAROGOWYCH

Streszczenie

Określono wpływ probiotycznych bakterii kwasu mlekowego (*Lactobacillus acidophilus* LA 5 i *Bifidobacterium bifidum* BB 12) na stabilność przechowalniczą kwasowych serów twarogowych. Twarogi oceniono sensorycznie, oznaczono w nich zawartość wody i tłuszczu, dokonano pomiaru pH i kwasowości miareczkowej, jak również określono synerzę serwatki. Próbkę serów poddano również analizie reologicznej, która polegała na ocenie ich twardości za pomocą testu podwójnej penetracji TPA. W stosowanych zakwasach oraz wyrobach doświadczalnych oznaczono liczbę mezofilnych paciorkowców mlekowych oraz szczepów probiotycznych. Analizę serów twarogowych wykonano bezpośrednio po wyprodukowaniu i zapakowaniu oraz po 3, 7, 14 i 21 dniach przechowywania w temperaturze 5 ± 1 °C. Sery twarogowe kwasowe, stanowiące przedmiot badań, charakteryzowały się odpowiednimi cechami sensorycznymi oraz normatywną kwasowością oraz zawartością tłuszczu i wody. Stwierdzono statystycznie istotny ($p \leq 0,05$) wzrost twardości wszystkich badanych twarogów oraz statystycznie istotną ($p = 0,05$) korelację między zawartością wody w twarogach a ich twardością. Sery charakteryzowały się rekomendowaną liczbą LAB i bakterii probiotycznych (nie mniej niż $10^6 \div 10^7$ jtk·g⁻¹) w całym okresie przechowywania, mimo zmniejszania się liczby bakterii kwasu mlekowego, jak i szczepów *Lb. acidophilus* LA 5 oraz *B. bifidum* BB 12. Szczepy probiotyczne wpływały na jakość sensoryczną kwasowych serów twarogowych. Najwyższą jakością sensoryczną charakteryzował się twaróg zawierający szczep *B. bifidum* BB 12, najniższą zaś – ser z udziałem *Lb. acidophilus* LA 5.

Słowa kluczowe: probiotyki, bakterie LAB starterowe, twaróg, przechowywanie

Wprowadzenie

Podstawą przemysłowej produkcji kwasowych serów twarogowych jest proces koagulacji kazeiny zachodzący pod wpływem dodawanych do mleka mezofilnych

Dr hab. inż. I. Dmytrów, Zakład Technologii Mleczarskiej i Przechowalnictwa Żywności, Wydz. Nauk o Żywności i Rybactwa, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, ul. Papieża Pawła VI nr 3, 71-459 Szczecin, Kontakt: izabela.dmytrow@gmail.com

paciorokowców mlekowych, tj. *Lc. lactis* ssp. *lactis*, *Lc. lactis* ssp. *cremoris*, *Lc. lactis* ssp. *lactis* var. *diacetylactis* i/lub *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremoris*. W celu osiągnięcia specyficznych efektów do mleka przerobowego przeznaczonego do produkcji twarogu dodaje się coraz częściej mikroflorę dodatkową, oprócz mikroflory technicznej [25]. Prawdziwym wyzwaniem technologicznym staje się wprowadzenie do produktu oraz utrzymanie odpowiednio dużej liczby bakterii probiotycznych. Interakcje pomiędzy kulturami technicznymi a probiotycznymi bakterii, zarówno pozytywne (protokooperacje), jak i negatywne (antagonizm), mogą powodować niepożądane zmiany w składzie mikroflory podczas wyrobu i chłodniczego składowania fermentowanych produktów mlecznych [28].

Celem pracy była ocena wpływu probiotycznych bakterii kwasu mlekowego *Lactobacillus acidophilus* LA 5 i *Bifidobacterium bifidum* BB 12 na stabilność przechowywalniczą kwasowych serów twarogowych.

Material i metody badań

Materiałem doświadczalnym były kwasowe sery twarogowe wyprodukowane w okresie jesienno-zimowym. Oprócz kultury starterowej Choozit™ (Danisco Biolacta Sp. z o.o., Olsztyn), w skład której wchodziły szczepy tradycyjnie stosowane w produkcji serów twarogowych kwasowych (*Lc. lactis* ssp. *cremoris*, *Lc. lactis* ssp. *lactis*, *Lc. lactis* ssp. *lactis* var. *diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *mesenteroides*), do wyrobu twarogów używano bakterii o udokumentowanym działaniu probiotycznym, tj. *Lb. acidophilus* LA 5 oraz *B. bifidum* BB 12 (Clerici – Sacco, Włochy). Kulturę twarogową Choozit™ oraz odpowiednią kulturę probiotyczną dodawano do mleka przerobowego w proporcjach zapewniających udział *Lb. acidophilus* LA 5 i *B. bifidum* BB 12 w mleku na poziomie $1 \cdot 10^7$ jtk \cdot g $^{-1}$. W zakwasie roboczym szczepionki ożywionej w mleku regenerowanym udział kultury twarogowej i jednego z dwóch szczepów probiotycznych wynosił każdorazowo 1 : 1. Surowcem do wyrobu twarogów było mleko (zakupione bezpośrednio od producenta za pośrednictwem Spółdzielni Obrotu Towarowego w Szczecinie) homogenizowane (15 MPa/55 °C) i pasteryzowane (85 °C/15 s), zawierające 3,2 % tłuszczu, 4,7 % laktozy oraz 3,4 % białka ogólnego. Wyrób kwasowych serów twarogowych w warunkach laboratoryjnych przebiegał zgodnie z zaleceniami Instrukcji Technologicznej CZSM 342/88 „Sery twarogowe niedojrzewające” [13]. Otrzymano 3 warianty doświadczalnych, kwasowych serów twarogowych z udziałem:

- 1) A – kultury starterowej Choozit™ (wyrób kontrolny),
- 2) B – kultury starterowej Choozit™ oraz szczepu *Lb. acidophilus* LA 5,
- 3) C – kultury starterowej Choozit™ oraz szczepu *B. bifidum* BB 12.

Twarogi pakowano w próżniowej pakowarce stołowej (Empira, Polska) w folię PA/PE o grubości 40 μm , stosując podciśnienie 15 mbar w ciągu 2,5 s oraz opcję „soft air” na poziomie 400 mbar. Klinki kwasowego sera twarogowego (łącznie 120 szt.), o masie ok. 150 g każdy, przechowywano w temp. 5 ± 1 °C przez 21 dni.

W twarogach doświadczalnych oznaczano:

- zawartość wody metodą techniczną poprzez suszenie w temp. 130 °C przez 30 min;
- zawartość tłuszczu metodą techniczną Gerbera w tłuszczomierzach van Gulika;
- kwasowość miareczkową w °SH;
- pH przy użyciu pH-metru IQ150 (PIAP, Warszawa).

Oznaczano także zdolność synerazy serwatki. Twaróg ważono w opakowaniu (z dokładnością do 0,01 g) oraz po jego usunięciu. Opakowanie pozostawiano do ocieknięcia, a następnie osuszano papierowym ręcznikiem. Na podstawie różnicy poszczególnych mas ustalano masę serwatki i wyrażano ją, jako procent masy twarogu [6, 7, 8]. Doświadczalne sery twarogowe poddawano ponadto analizie reologicznej, która polegała na ocenie ich twardości [6, 8]. Oznaczenie to wykonywano testem penetrometrycznym przy użyciu wielofunkcyjnego analizatora tekstury TA.XT plus (Sable Micro System, Wielka Brytania) z zestawem komputerowym. Próbkę penetrowano trzpieniem aluminiowym o średnicy 6 mm z siłą nacisku 1 G, prędkością 5 $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ i na głębokość 20 mm.

Oznaczenia fizykochemiczne wykonywano w 4 powtórzeniach z wyjątkiem twardości, którą mierzono w każdej próbce w 12 powtórzeniach.

Przeprowadzono również analizę mikrobiologiczną zakwasów oraz twarogów, w których oznaczano ogólną liczbę bakterii fermentacji mlekowej (LAB) oraz liczbę żywych komórek kultur probiotycznych. Ogólną liczbę LAB określano wykonując posiewy metodą wgłębną na podłożu MRS Agar (Merck Sp. z o.o., Warszawa) w dwóch równoległych powtórzeniach. Płytki inkubowano w temp. 30 °C przez 72 h. Pożywkę MRS agar przygotowywano z suchego podłoża, natomiast wodę peptonową z preparatu nr S-0009 (Zakład Enzymów i Peptonów BLT, Łódź). Rozcieńczeń dokonywano zgodnie z PN-EN ISO 6887-1:2000 [22]. Warunki beztlenowe uzyskiwano w anaerostatach z wkładem do tworzenia atmosfery beztlenowej Anaerocult (Merck Sp. z o.o., Warszawa). Liczbę *Lb. acidophilus* LA 5 oznaczano na podłożu MRS agar zawierającym maltozę. Próbkę inkubowano przez 72 h w temp. 37 °C, z zachowaniem warunków beztlenowych [12]. Liczbę *B. bifidum* BB 12 oznaczano na podłożu MRS agar, do którego dodatkowo wprowadzano mieszaninę kwasu nalidyksowego (50 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$), siarczanu neomycyny (100 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$), chlorku litu (3 $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$) oraz siarczanu paromomycyny (200 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) (MRS-NNLP). Płytki inkubowano przez 72 h w temp. 37 °C, w warunkach beztlenowych. Wyniki podawano w jednostkach tworzących kolonie (jtk) w przeliczeniu na 1 g produktu.

Twarogi doświadczalne każdorazowo poddawano ocenie sensorycznej z zastosowaniem skali porządkowej – pięciopunktowej [7]. Oceniano strukturę i konsystencję, barwę oraz smak i zapach serów. Oceny dokonywała 9-osobowa grupa degustatorów przeszkolona w wykonywaniu analiz sensorycznych serów twarogowych. Próbkę do oceny pobierano losowo. Wszystkie analizy serów twarogowych wykonano bezpośrednio po wyprodukowaniu i zapakowaniu oraz po 3, 7, 14 i 21 dniach przechowywania w temp. 5 ± 1 °C.

Wyniki wyrażano jako wartości średnie [6, 8], a następnie analizowano statystycznie za pomocą arkusza kalkulacyjnego Microsoft Excel. Przeprowadzono dwuczynnikową analizę wariancji z powtórzeniami (ANOVA) Różnice między dwoma średnimi zależnymi i niezależnymi weryfikowano testem t-Studenta z korektą Cochran-Coxa. Zależność pomiędzy wybranymi wskaźnikami fizykochemicznymi zbadano, weryfikując testem t-Studenta istotność współczynnika korelacji liniowej Pearsona. Wnioskowanie statystyczne prowadzono na poziomie istotności $p = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Na podstawie wyników badań przechowalniczych stwierdzono ubytek wody w twarogu kontrolnym oraz zawierającym *Lb. acidophilus* LA 5 (odpowiednio: o 1,9 i 1,6 %). W przypadku sera twarogowego z udziałem *B. bifidum* BB 12 wystąpił prawie 1,5-procentowy wzrost zawartości wody (tab. 1). Największą średnią zawartością tego składnika w czasie składowania charakteryzował się twaróg kontrolny (71,2 %), natomiast najmniejszą – wyrób doświadczalny zawierający *B. bifidum* BB 12 (67,8 %). Czas przechowywania oraz udział potencjalnie probiotycznych kultur starterowych statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) wpływały na zawartość wody w badanych twarogach (tab. 2). Oceniane sery twarogowe charakteryzowały się stabilną zawartością tłuszczu w czasie przechowywania, a wpływ kultury probiotycznej na zawartość tłuszczu w badanych twarogach był nieistotny statystycznie ($p \leq 0,05$) – tab. 2. Największą zawartością tłuszczu charakteryzował się ser twarogowy zawierający *B. bifidum* BB 12 (średnio: 15,6 %), natomiast najmniejszą – próbka kontrolna (średnio: 13,4 %) (tab. 1). W literaturze przedmiotu brak jest danych na temat wpływu kultur probiotycznych na stabilność przechowalniczą kwasowych serów twarogowych. Wyniki badań własnych można w pewnym stopniu porównać z rezultatami innych autorów, ale w odniesieniu do probiotycznych serów podpuszczkowych dojrzewających. Wśród naukowców dominuje przekonanie, że wzbogacenie zakwasu w szczepy probiotyczne nie oddziałuje na skład chemiczny uzyskanego sera podpuszczkowego dojrzewającego [3, 18]. Zaobserwowany w badaniach własnych wpływ kultur probiotycznych na zawartość wody w twarogach mógł być związany ze zmianami kwasowości próbek doświadczalnych, która również w istotny sposób zależała od obecności w zakwasie probiotyków. Kwasowość wpływa na stosunek zawartości wody do kazeiny. Przeprowadzona analiza

statystyczna potwierdziła wpływ szczepów probiotycznych oraz czasu przechowywania na kwasowość wszystkich wariantów badanego twarogu (tab. 1 i 2).

Podczas przechowywania twarogów stwierdzono przyrost kwasowości miareczkowej próbki kontrolnej oraz zawierającej szczep *Lb. acidophilus* LA 5. Wyrób doświadczalny C (*B. bifidum* BB 12) był tym, w którym nastąpiło zmniejszenie kwasowości miareczkowej (o ok. 1 %), niemniej jednak charakteryzował się on największą średnią wartością tego wskaźnika podczas przechowywania. Najmniejszą kwasowość miareczkową oznaczono w serze twarogowym zawierającym szczep *Lb. acidophilus* LA 5 (tab. 1). Kwasowość czynna (pH) badanych serów twarogowych wynosiła 4,5 ÷ 4,6. Najwyższą wartością pH podczas przechowywania charakteryzował się twaróg zawierający *Lb. acidophilus* LA 5, najniższą – ser twarogowy z udziałem *B. bifidum* BB 12.

Na ogół uważa się, że probiotyki nie powinny zwiększać zakwaszenia produktu [11]. Najprawdopodobniej przyczyną zaobserwowanych różnic kwasowości w serach twarogowych wyprodukowanych z zastosowaniem kultur probiotycznych była zróżnicowana aktywność metaboliczna bakterii [4, 25]. Farnworth i wsp. [9] stwierdzili, że bakterie probiotyczne w pewnych warunkach mogą wraz z typowymi mikroorganizmami zakwasu współuczestniczyć w fermentacji. Wykazano, że do zmian kwasowości sera mogą przyczyniać się także bifidobakterie wytwarzające kwas octowy [22]. Wyrób doświadczalny zawierający szczep *B. bifidum* wykazywał największą kwasowość spośród badanych twarogów.

Wyniki analizy reologicznej świadczą o przyroście twardości wszystkich badanych serów twarogowych. Kultury probiotyczne oraz czas przechowywania statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) wpływały na twardość twarogów. Interakcja obu czynników okazała się również statystycznie istotna ($p \leq 0,05$) – tab. 1 i 2. Największy (4-krotny) przyrost twardości zaobserwowano w wyrobie kontrolnym, najmniejszy natomiast (prawie 3-krotny) – w twarogu zawierającym szczep *B. bifidum* BB 12 (tab. 2).

Twardość badanych kwasowych serów twarogowych zależała od zawartości w nich wody. Współczynniki korelacji między zawartością tłuszczu a twardością okazały się statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) – tab. 3. Wcześniej wykazano, że w czasie chłodniczego składowania twarogów zwiększa się ich twardość [7]. Zaobserwowane zjawisko tłumaczy się krystalizacją tłuszczu mlekowego w temperaturze poniżej 8 °C, a w mniejszym stopniu synerezą serwatki. Wraz ze wzrostem zawartości wody w serach twarogowych obserwuje się zmniejszenie ich twardości [15]. Największą synerezą serwatki stwierdzono w serze twarogowym zawierającym szczep *B. bifidum* BB 12 (średnio: 3,41 %). Podczas przechowywania stwierdzono przyrost ilości serwatki gromadzącej się w opakowaniach badanych twarogów (tab. 1). Wyniósł on w serze zawierającym *B. bifidum* BB 12,00 ÷ 22,46 %, w wyrobie z udziałem *Lb. Acidophilus*

Tabela 1. Wybrane cechy jakościowe serów twarogowych kwasowych
Table 1. Selected quality features of acid curd cheeses

Cecha Feature	Wyrób doświadczalny A Experimental product A					Wyrób doświadczalny B Experimental product B					Wyrób doświadczalny C Experimental product C				
	Czas przechowywania [dni] / Storage time [days]														
	0	3	7	14	21	0	3	7	14	21	0	3	7	14	21
Zawartość wody Water content [%]	71,7	71,9	70,8	71,2	70,3	70,9	70,9	69,6	69,3	69,7	66,8	67,3	70,0	67,0	67,8
Zawartość tłuszczu Fat content [%]	13,5	13,2	13,5	13,2	13,8	14,2	13,7	14,0	13,8	14,5	15,7	15,8	15,2	15,5	15,6
Kwasowość miazgowa Titratable acidity [°SH]	34,3	38,0	37,1	36,5	35,0	31,0	35,8	35,3	35,0	32,3	52,5	53,0	51,5	52,0	49,3
pH	4,6	4,5	4,5	4,5	4,6	4,6	4,5	4,6	4,6	4,6	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
Twardość Hardness [N]	0,7	1,1	1,5	2,4	2,9	0,8	1,8	2,1	2,1	2,6	1,2	2,6	2,3	2,9	3,4
Synergeza serwatki Whey syneresis [%]	2,3	2,3	1,5	2,2	2,4	3,2	3,3	3,7	3,4	3,3	2,8	3,7	3,8	3,6	3,4
Ogólna ocena sensoryczna [pkt] Overall sensory evaluation [score]	5,0	4,8	4,8	4,6	4,6	4,5	4,5	4,0	4,0	4,3	5,0	5,0	5,0	5,0	4,9

Objaśnienia: / Explanatory notes:

wyrób doświadczalny A – ser twarogowy kwasowy wyprodukowany z zastosowaniem kultury starterowej Choozit™ (wyrób kontrolny) / experimental product A: acid curd cheese produced using Choozit™ starter culture (control sample); wyrób doświadczalny B – twaróg wyprodukowany z zastosowaniem kultury starterowej Choozit™ oraz szczepu *Lb. acidophilus* LA 5 / experimental product B: acid curd cheese produced using Choozit™ starter culture and *Lb. acidophilus* LA 5 strain; wyrób doświadczalny C – ser twarogowy otrzymany przy użyciu kultury starterowej Choozit™ oraz szczepu *B. bifidum* BB 12 / experimental product C: acid curd cheese produced using Choozit™ starter culture and *B. bifidum* BB 12 strain.

Tabela 2. Wyniki dwuczynnikowej analizy wariancji z powtórzeniami (ANOVA) weryfikującej wpływ kultur probiotycznych oraz czasu przechowywania na wybrane cechy fizykochemiczne serów twarogowych kwasowych

Table 2. Results of two-way ANOVA with replications to verify impact of probiotic strains and storage time on selected physical-chemical features of acid curd cheeses

Źródło wariancji Source of variance	Wartość p / p-value					
	Zawartość wody Water content	Zawartość tłuszczu Fat content	pH pH	Kwasowość miareczkowa Titratable acidity	Twardość Hardness	Synereza serwatki Whey syneresis
Czas przechowywania Storage time	0,0009*	0,1312	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,0000*
Szczep probiotyczny Probiotic strain	0,0000*	0,0613	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,0000*
Interakcja Interaction	0,0000*	0,1341	0,0000*	0,0000*	0,0000*	0,0000*

Objaśnienia: / Explanatory notes:

* – statystycznie istotny wpływ czynnika na badany wskaźnik ($p \leq 0,05$) / statistically significant impact of factor on indicator analyzed ($p \leq 0.05$)

Tabela 3. Współczynniki korelacji liniowej Pearsona pomiędzy wybranymi cechami fizykochemicznymi kwasowych serów twarogowych w zależności od kultury probiotycznej

Table 3. Pearson correlation coefficients between selected physical-chemical features of acid curd cheeses depending on probiotic culture

Wyrób doświadczalny Experimental product	Zawartość wody Water content	Twardość Hardness	Zawartość tłuszczu Fat content	Twardość Hardness	pH pH	Twardość Hardness	pH pH	Synereza serwatki Whey syneresis
A	-0,914*		0,923*		-0,157			-0,942*
B	-0,712*		0,897*		-0,102			-0,910*
C	-0,887*		0,965*		-0,253			-0,974*

Objaśnienia: / Explanatory notes:

* - współczynnik korelacji statystycznie istotny ($p = 0,05$) / statistically significant correlation coefficient ($p = 0.05$)

LA – $5 \div 2,47\%$, a w wyrobie kontrolnym – $1,72\%$. Dwuczynnikowa analiza wariancji potwierdziła, że czas przechowywania, kultura probiotyczna, a także interakcja obu czynników istotnie wpływały na synerezę serwatki ze wszystkich badanych serów twarogowych (tab. 2). Stwierdzono również statystycznie istotną ($p = 0,05$) korelację pomiędzy pH a synerezą serwatki z wyrobów doświadczalnych (tab. 3). Wiadomo jest, że miejscowe naprężenia w sieci żelu twarogowego prowadzą do przegrupowań i lokalnego wydzielania serwatki [5]. Różnice występujące w synerezie można tłumaczyć specyfiką bakterii znajdujących się w zakwasie, które powodują zróżnicowane zakwa-

szanie środowiska i decydują o kurczeniu się skrzepu kazeinowego oraz o ilości wydzielonej wolnej serwatki [10, 24].

Zastosowane zakwaszy mleczarskie odznaczały się wymaganą liczbą LAB, która mieściła się w zakresie $3,4 \cdot 10^8 \div 5,9 \cdot 10^8$ jtk·g⁻¹. Liczba bakterii probiotycznych w zakwasach wynosiła: $4,0 \cdot 10^8$ jtk·g⁻¹ w przypadku *Lb. acidophilus* LA 5 oraz $3,5 \cdot 10^8$ jtk·g⁻¹ – *B. bifidum* BB 12. W czasie przechowywania badanych twarogów stwierdzono sukcesywne, statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) zmniejszanie się liczby LAB (tab. 4 i 6), jak i szczepów *Lb. acidophilus* LA 5 oraz *B. bifidum* BB 12 (tab. 5 i 6), jednak do poziomu, który nie dyskwalifikował twarogów jako produktów o potencjalnych właściwościach probiotycznych, czyli zawierających nie mniej niż $10^6 \div 10^7$ żywych komórek na 1 g produktu. Liczba *Lb. acidophilus* LA 5 oraz *B. bifidum* BB 12 w serach twarogowych w ostatnim dniu przechowywania wynosiła odpowiednio: $1,2 \cdot 10^6$ i $1,7 \cdot 10^6$ jtk·g⁻¹ (tab. 5).

Tabela 4. Ogólna liczba bakterii LAB w serach twarogowych kwasowych w czasie chłodniczego przechowywania [jtk·g⁻¹]

Table 4. Total LAB counts in acid curd cheeses during cooling storage [cfu·g⁻¹]

Wyrób doświadczalny Experimental product	Czas przechowywania [dni] / Storage time [days]				
	0	3	7	14	21
A	$3,5 \cdot 10^{-6}$	$2,6 \cdot 10^{-6}$	$2,5 \cdot 10^{-6}$	$2,3 \cdot 10^{-6}$	$1,9 \cdot 10^{-6}$
B	$5,3 \cdot 10^{-6}$	$3,7 \cdot 10^{-6}$	$3,1 \cdot 10^{-6}$	$2,4 \cdot 10^{-6}$	$1,6 \cdot 10^{-6}$
C	$5,8 \cdot 10^{-6}$	$4,3 \cdot 10^{-6}$	$3,0 \cdot 10^{-6}$	$2,1 \cdot 10^{-6}$	$1,9 \cdot 10^{-6}$

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

Tabela 5. Liczba żywych bakterii probiotycznych w serach twarogowych kwasowych w czasie chłodniczego przechowywania [jtk·g⁻¹]

Table 5. Viable probiotic bacteria count in acid curd cheeses during cooling storage [cfu·g⁻¹]

Szczep / Strain	Czas przechowywania [dni] / Storage time [days]				
	0	3	7	14	21
<i>L. acidophilus</i> LA 5	$4,7 \cdot 10^{-6}$	$2,9 \cdot 10^{-6}$	$2,3 \cdot 10^{-6}$	$1,9 \cdot 10^{-6}$	$1,2 \cdot 10^{-6}$
<i>B. bifidum</i> BB 12	$3,2 \cdot 10^{-6}$	$2,5 \cdot 10^{-6}$	$1,9 \cdot 10^{-6}$	$1,8 \cdot 10^{-6}$	$1,7 \cdot 10^{-6}$

Radošević i wsp. [21] stwierdzili, że wyprodukowany przez nich ser zawierał znacznie wyższą liczbę żywych komórek *Lb. acidophilus* niż jest to wymagane dla produktów o właściwościach probiotycznych. Generalnie twierdzi się, że bifidobakterie charakteryzują się słabym wzrostem w mlecznych produktach fermentowanych,

Tabela 6. Wyniki analizy statystycznej dla dwóch średnich zależnych weryfikującej wpływ czasu przechowywania na zmiany liczby LAB oraz bakterii probiotycznych w serach twarogowych kwasowych

Table 6. Results of statistical analysis for two dependent means to verify impact of storage time on changes in counts of LAB and probiotic bacteria in acid curd cheeses

Wyszczególnienie Item	LAB	<i>L. acidophilus</i> LA 5	<i>B. bifidum</i> BB 12
t	5,023*	3,258*	2,263*
t_{α}	2,015	2,015	2,015

Objaśnienia: / Explanatory notes:

t - wartość statystyki testującej / empirical value of t; t_{α} – wartość krytyczna ($p = 0,05$) / critical value of t ($p = 0.05$), * - statystycznie istotna zmiana wskaźnika / statistically significant change in indicator ($t \geq t_{\alpha}$)

a wiele prac dowodzi, że nie wszystkie produkty probiotyczne zawierają ich rekomendowany poziom, gdyż większość szczepów bifidobakterii wrażliwych jest na pH poniżej 4,6 [1, 16]. Uważa się, że szczepy *Lb. acidophilus* są bardziej wrażliwe na kwaśne środowisko niż *B. bifidum* [2, 26]. Kultury probiotyczne wpływały na jakość sensoryczną ocenianych kwasowych serów twarogowych. Najwyżej oceniono ser twarogowy zawierający szczep *B. bifidum* BB 12 (tab. 1). Łagodny, lekko słodkawy smak tego twarogu uznano za najbardziej atrakcyjny. Najniżej oceniono ser zawierający *Lb. acidophilus* LA 5. Pomimo że opinie na temat oddziaływania probiotyków na cechy sensoryczne gotowych produktów są podzielone, to niejednokrotnie podkreśla się, że ważne jest, aby użycie szczepów probiotycznych nie wpływało negatywnie na smak, teksturę oraz wygląd uzyskanych przetworów [3, 15, 17, 18]. Radošević i wsp. [21], jako nieliczni, twierdzą, że świeży ser kwasowy zawierający szczep *L. acidophilus* charakteryzuje się lepszym smakiem i zapachem niż wyrób kontrolny wyprodukowany bez dodatku probiotyków. Kasimoğlu i wsp. [14] uważają nawet, że szczep ten może być stosowany w celu poprawy aromatu i tekstury sera. Stwierdzona w badaniach własnych stabilność cech sensorycznych serów twarogowych oraz podkreślana łagodność smaku twarogu zawierającego *B. bifidum* znajdują potwierdzenie w wynikach badań Djurić i wsp. [5].

Wnioski

1. Sery twarogowe kwasowe stanowiące przedmiot badań charakteryzowały się odpowiednimi, stabilnymi cechami sensorycznymi oraz zalecaną kwasowością oraz zawartością tłuszczu i wody.
2. Czas przechowywania oraz potencjalnie probiotyczne kultury starterowe wpływały na zawartość wody, kwasowość, synerezę serwatki, twardość analizowanych kwasowych serów twarogowych. Zawartość tłuszczu w twarogach nie zależała od cza-

- su przechowywania oraz obecności w serze szczepów *Lb. acidophilus* LA 5 oraz *B. bifidum* BB 12.
3. Stwierdzono statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) zwiększenie twardości wszystkich badanych twarogów oraz statystycznie istotną ($p = 0,05$) korelację między zawartością wody w twarogach a ich twardością. Zależność pomiędzy twardością a zawartością tłuszczu w twarogach okazała się statystycznie nieistotna.
 4. W całym okresie przechowywania sery twarogowe charakteryzowały się rekomendowaną zawartością LAB oraz bakterii probiotycznych. Zaobserwowano statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) zmniejszanie się liczby LAB, jak i szczepów *Lb. acidophilus* LA 5 oraz *B. bifidum* BB 12 w serach twarogowych.
 5. Szczepy probiotyczne wpływały na jakość sensoryczną kwasowych serów twarogowych. Najwyżej oceniono ser doświadczalny zawierający szczep *B. bifidum* BB 12, najniżej – twaróg zawierający *Lb. acidophilus* LA 5.

Literatura

- [1] Bergamini C.V., Hynes E.R., Quiberoni A., Suárez V.B., Zalazar C.A.: Probiotic bacteria as adjunct starters, influence of the addition methodology on their survival in a semi-hard Argentinean cheese. *Food Res. Int.*, 2005, **38**, 597-604.
- [2] Boylston T.D., Vinderola C.G., Ghoddusi H.B., Reinheimer J.A.: Incorporation of Bifidobacteria into cheese, challenges and rewards. *Int. Dairy J.*, 2004, **14**, 375-387.
- [3] Burity F.C.A., Okazaki T.Y., Alegro J.H.A., Saad S.M.I.: Effect of a probiotic mixed culture on texture profile and sensory performance of Minas fresh cheese in comparison with the traditional product. *Archiv. Latinoam. Nurt.*, 2007, **2** (57), 179-185.
- [4] Dabiza N.M.A., Effat B.A., Sharaf O.M.: Antibacterial effect of probiotic isolated from dairy products. *DLR*, 2006, **3** (102), 114-121.
- [5] Djurić M.S., Panić M., Milanović S., Carić M.D., Tekić M.N., Krstić D., Albijanić B.: Probiotic starters versus traditional starter in quark production. *Ann. Faculty Eng. Hunedoara*, 2005, **3** (3), 154-163.
- [6] Dmytrów I., Jasińska M., Dmytrów K.: Effect of microbiological transglutaminase on selected physicochemical properties of tvarog. *Italian J. Food Sci.*, 2010, **4** (22), 449-460.
- [7] Dmytrów I., Kryża K., Dmytrów K., Lisiecki S.: Wpływ opakowania na wybrane cechy jakościowe kwasowego sera twarogowego przechowywanego w warunkach chłodniczych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **1** (50), 64-76.
- [8] Dmytrów I., Mituniewicz-Małek A., Dmytrów K.: Fizykochemiczne i sensoryczne cechy kwasowego sera twarogowego wyprodukowanego z mleka koziego oraz mieszaniny mleka koziego i krowiego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **2** (69), 46-61.
- [9] Farnworth E.R., Mainville I., Desjardins M.P., Gardner N., Fliss I., Champagne C.: Growth of probiotic bacteria and bifidobacteria in a soy yogurt formulation. *Int. J. Food Microbiol.*, 2007, **116**, 174-181.
- [10] Goncu A., AlpKent Z.: Sensory and chemical properties of white pickled cheese produced Rusing kefir, yoghurt or a commercial cheese cultures as a starter. *Int. Dairy J.*, 2005, **15**, 771-776.
- [11] Heller K.J.: Probiotic bacteria in fermented foods, product characteristics and starter organism. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2001, **73**, 374S-379.

- [12] IDF Standard 306:1995. IDF Guideline determination of acidifying activity of dairy cultures. Bulletin of the IDF306. Brussels, Belgium.
- [13] Instrukcja Technologiczna CZSM 342/88 „Sery twarogowe niedojrzewające”.
- [14] Kasimoğlu A., Göncüoğlu M., Akgün S.: Probiotic white cheese with *Lactobacillus acidophilus*. Int. Dairy J., 2004, **14**, 1067-1073.
- [15] Mazur J.: Zmiany tekstury w trakcie przechowywania w różnych warunkach kwasowych serów twarogowych otrzymywanych metodą tradycyjną. Inżynieria Rolnicza, 2009, **2 (111)**, 99-106.
- [16] Mc Brearty S., Ross R., Fitzgerald G., Collins J., Wallace J., Stanton C.: Influence of two commercially available bifidobacteria cultures on Cheddar cheese quality. Int. Dairy J., 2001, **11**, 599-610.
- [17] Milanović S., Carić M., Panić M.: Effect of probiotic on Quarg quality. Food Industry – Milk and Dairy Product, 2003, **14**, 11-19.
- [18] Ong L., Shah N.P.: Probiotic Cheddar cheese, Influence of ripening temperatures on survival of probiotic microorganism, cheese composition and organic acid profiles. LWT – Food Sci. Technol., 2009, **42**, 1260-1268.
- [19] Phillips M., Kailasapathy K., Tran L.: Viability of commercial probiotic cultures (*L. acidophilus*, *Bifidobacterium sp.*, *L. casei*, *L. paracasei* and *L. rhamnosus*) in cheddar cheese. Int. J. Food Microbiol., 2006, **108**, 276-280.
- [20] PN-EN ISO 6887-1:2000. Mikrobiologia żywności i pasz. Przygotowanie próbek, zawiesiny wyjściowej i rozcieńczeń dziesięciokrotnych do badań mikrobiologicznych. Ogólne zasady przygotowania zawiesiny wyjściowej i rozcieńczeń dziesięciokrotnych.
- [21] Radošević V., Tonković K., Gregurek L., Kos B., Šušković J.: Production of fresh probiotic cheese with addition of transglutaminase. Mljekarstvo, 2007, **1 (57)**, 15-29.
- [22] Roy D.: Technological aspects related to the use of bifidobacteria in dairy products. Lait, 2005, **1-2 (85)**, 39-56.
- [23] Souza C.H.B., Saad S.M.I.: Viability of *Lactobacillus acidophilus* La-5 added solely or in co-culture with a yoghurt starter culture and implications on physico-chemical and related properties of Minas fresh cheese during storage. LWT - Food Sci. Technol., 2009, **42**, 633-640.
- [24] Śmietana Z., Szpendowski J., Bohdziewicz K.: Charakterystyka tradycyjnego „polskiego twarogu” otrzymywanego według własnej nowoczesnej techniki i technologii. Przegl. Mlecz., 2003, **4**, 126-129.
- [25] Usajewicz I.: Mikrobiologia mleka i jego przetworów. W: Mleczarstwo. t.1. Red. S. Ziajka, Wyd. UWM, Olsztyn 2008, ss. 188-199.
- [26] Vinderola C.G., Mocchiutti P., Reinheimer J.A.: Interactions among lactic acid starter and probiotic bacteria used for fermented dairy products. J. Dairy Sci., 2002, **85**, 721-729.
- [27] Vinderola C.G., Prosello W., Molinari F., Ghiberto D., Reinheimer J. A.: Growth of *Lactobacillus paracasei* A13 in Argentinian probiotic cheese and its impact on the characteristic of the product. Int. J. Food Microbiol., 2009, **135**, 171-174.

EFFECT OF LACTIC ACID PROBIOTIC BACTERIA ON STORAGE STABILITY OF ACID CURD CHEESES (TVAROG)

Summary

The effect of lactic acid probiotic bacteria (*Lactobacillus acidophilus* LA 5 and *Bifidobacterium bifidum* BB 12) was determined on the storage stability of acid curd cheeses known as tvarogs. The tvarogs were sensory assessed, the content of water and fat therein was determined, the titratable acidity and pH value thereof were measured, and the whey syneresis was determined. The samples of cheeses were also

rheologically analyzed, i.e. their hardness was assessed using a double penetration test (TPA). In the starters and experimental products analyzed, the counts of mesophilic lactic streptococcus and probiotic strains were determined. The analysis of tvarogs was performed immediately after the tvarogs were manufactured and wrapped up, and, then, after they were stored for 3, 7, 14, and 21 days at a temperature of 5 ± 1 °C. The acid curd cheeses analyzed were characterized by appropriate sensory features and a normative acidity, water content, and fat contents. A statistically significant ($p \leq 0,05$) increase was reported in the hardness of all the analysed cheeses and a statistically significant ($p = 0.05$) correlation was found between the water content in and the hardness of the tvarogs. Despite the decreasing number of LAB, *L. acidophilus* LA 5, and *B. bifidum* BB 12 strains, the cheeses analyzed were characterised by the recommended LAB and probiotic bacteria counts (not less than $10^6 \div 10^7$ cfu·g⁻¹) during the entire period of storage. The probiotic strains impacted the sensory quality of acid curd cheeses. The cheese containing *Bifidobacterium bifidum* BB 12 strain was characterized by the best sensory quality, whereas the cheese with *Lactobacillus acidophilus* LA 5 bacteria – by the lowest sensory quality.

Key words: probiotics, starter LAB, ‘tvarog’ acid curd cheese, storage ☒

KATARZYNA SKRZYPCZAK, WALDEMAR GUSTAW, ADAM WAŚKO

WYBRANE WŁAŚCIWOŚCI TECHNOLOGICZNE I PROBIOTYCZNE SZCZEPÓW Z GATUNKU *LACTOBACILLUS HELVETICUS*

Streszczenie

Wciąż poszukiwane są szczepy bakterii, które wykazują pożądane cechy technologiczne i mogą wpływać na poprawę właściwości fizykochemicznych i reologicznych produktów spożywczych, a równocześnie wykazywać działanie prozdrowotne. Celem pracy było scharakteryzowanie skrzepów kwasowych uzyskanych w wyniku procesu fermentacji mleka, który prowadzono przy udziale szczepów *Lactobacillus helveticus*, porównanie wrażliwości analizowanych bakterii na obecność soli żółci w podłożu oraz określenie wpływu procesu fermentacji, prowadzonego przy udziale badanych drobnoustrojów, na właściwości przeciwnadciwrodnikowe wyselekcjonowanego preparatu białka serwatkowego. W badaniach wykazano, że analizowane szczepy bakterii były zróżnicowane pod względem wrażliwości na obecność soli żółci w podłożu hodowlanym. Udział tego składnika w pożywce, w ilości 0,25 %, spowodował zahamowanie dynamiki wzrostu wszystkich badanych drobnoustrojów. Najwrażliwszymi na ten czynnik były szczepy *Lb. helveticus* T80 oraz T15, natomiast największą odporność wykazywał szczep T105. Aktywność przeciwnadciwrodnikowa α -laktoalbuminy, kształtująca się na poziomie 15,4 %, znacząco wzrosła po procesie fermentacji. W zależności od użytego szczepu bakterii wartość ta zawierała się w zakresie 45,1 ÷ 75,3 %. W próbkach fermentowanych bakteriami z polskiej kolekcji najwyższą aktywność przeciwnadciwrodnikową wykazywał *Lb. helveticus* 80 (63,4%). Pod względem zdolności do tworzenia najtwardszych, jednorodnych skrzepów kwasowych największą przydatność technologiczną wykazały szczepy T104 oraz T105. Twardość skrzepów uzyskanych przy udziale tych szczepów wynosiła odpowiednio: 0,275 N i 0,316 N.

Słowa kluczowe: bakterie fermentacji mlekowej (LAB), *Lactobacillus helveticus*, tekstura, aktywność przeciwnadciwrodnikowa

Wprowadzenie

Bakterie *Lactobacillus helveticus* są to pałeczki termofilne, Gram dodatnie, homofermentatywne, niewytwarzające przetrwalników, należące do bakterii fermentacji

Mgr inż. K. Skrzypczak, dr hab. A. Waśko, Katedra Biotechnologii, Żywności Człowieka i Towaroznawstwa Żywności, prof. dr hab. W. Gustaw, Katedra Technologii Owoców, Warzyw i Grzybów, Wydz. Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Skromna 8, 20-704 Lublin. Kontakt: skrzypczakatarzyna@wp.pl

mlekowej (ang. *lactic acid bacteria*, LAB). Procesy proteolityczne prowadzone przy udziale tych mikroorganizmów w znacznym stopniu kształtują smak, aromat oraz teksturę, dlatego mają szczególne znaczenie w technologii produkcji mlecznych wyrobów fermentowanych [6, 14, 17].

Złożony system proteolityczny *Lb. helveticus* warunkuje uwalnianie z natywnej struktury białek mleka peptydów charakteryzujących się szerokim zakresem działań biologicznie czynnych. Te krótkie sekwencje aminokwasowe wykazują m.in. działanie hipocholesterolemiczne, antyoksydacyjne i przeciwzakrzepowe. Przejawiają one także zdolność do wiązania związków mineralnych oraz wykazują aktywność agonistyczną lub/i antagonistyczną wobec receptorów opioidowych [7, 8].

Jednym z etapów przemysłowej produkcji mlecznych wyrobów fermentowanych jest wzbogacenie mleka przerobowego w suchą masę. W celu uzyskania odpowiedniej tekstury najczęściej stosowane są dodatki hydrokoloidów polisacharydowych lub preparatów białek serwatkowych [9]. Preparaty tych białek wpływają równocześnie na zwiększanie walorów prozdrowotnych mlecznych napojów fermentowanych oraz na nadanie im cech żywności funkcjonalnej, ponadto sprzyjają rozwojowi bakterii probiotycznych [11, 16]. Alternatywnymi źródłami białka pozytywnie wpływającego na teksturę produktu są także: kazeiniany, kazeina kwasowa oraz podpuszczkowa [18].

Celem niniejszej pracy było otrzymanie i scharakteryzowanie właściwości mlecznych skrzepów kwasowych uzyskanych w procesie fermentacji prowadzonej przy udziale wybranych szczepów *Lactobacillus helveticus* oraz określenie odporności analizowanych bakterii na obecność soli żółci w podłożu, jako wybranej cechy wykazywanej przez organizmy probiotyczne. W badaniach określono także wpływ procesu fermentacji prowadzonego przy udziale analizowanych szczepów na właściwości przeciwnadciwrodnikowe białka mleka.

Material i metody badań

Material biologiczny stanowiły szczepy *Lb. helveticus* pochodzące z polskiej kolekcji: 80, B734, T15, T80, T103, T104, T105, T159, T199, 141 (Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Polska), K1 (Instytut Rosell-Lallemand, Kanada) oraz referencyjny szczep DSM 20075 (DSMRZ, Niemcy).

W celu porównania aktywności przeciwnadciwrodnikowej preparatu białka serwatkowego fermentowanego przez monokultury analizowanych szczepów *Lactobacillus helveticus* do badań użyto probiotycznych szczepów: *Lactobacillus rhamnosus*: E/N, PEN oraz OXY (BIOMED Lublin, Polska) oraz szczep *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB12 (Chr. Hansen, Polska).

W doświadczeniu stosowano: podłoże podstawowe – bulion MRS (BTL, Łódź), sole żółci (Sigma-Aldrich, Poznań, Polska), odtłuszczone mleko w proszku (OMP)

(Biomlek Chełm, Polska), α -laktoalbuminę (α -la) (Arla Food, Dania) zawierającą 88 % białka, 10 % laktozy, 2,5 % tłuszczu, 5,0 % związków mineralnych oraz 5,5 % wody.

Wpływ soli żółciowych na dynamikę wzrostu hodowli komórek bakterii

Badania oporności bakterii na sole żółciowe wykonuje się przez określenie stopnia przeżycia lub stopnia rozwoju bakterii podczas hodowli w pożywce zawierającej ich dodatek [20]. W celu określenia dynamiki wzrostu komórek szczepów badanych bakterii w obecności soli żółciowych wykonywano pomiary gęstości optycznej (OD) hodowli bakteryjnych przy wykorzystaniu automatycznego czytnika wzrostu drobnoustrojów – Bioscreen C (OY Growth Curves, Finlandia) [11]. Hodowle komórek analizowanych szczepów prowadzono w mikropłytkach, w płynnym podłożu MRS z 0,25-procentowym dodatkiem soli żółci [2] przez 48 h w temp. 42 °C. Układ kontrolny stanowiły hodowle prowadzone w bulionie MRS bez dodatku soli. Pomiar zmian gęstości optycznej hodowli bakteryjnych następował co 2 h przy długości fali $\lambda = 600$ nm.

Określenie aktywności przeciwnadkwasotwórczej preparatu białka mleka fermentowanego przy udziale bakterii

Określano wpływ procesu fermentacji prowadzonego przy udziale analizowanych szczepów bakterii na właściwości przeciwnadkwasotwórcze preparatu białka mleka. W tym celu 10-procentowy wodny roztwór α -la pasteryzowano (80 °C/ 30 min), a następnie po ochłodzeniu do temp. ok. 45 °C zaszczipiano 2 % inoculum (18-godzinna hodowla komórek szczepów). Układ kontrolny stanowiły próbki roztworu α -la nieszczipione bakteriami. Próbki, w których inoculum stanowiły szczepy *Lb. helveticus* inkubowano w warunkach anaerobowych w temp. 42 °C, natomiast szczepy *Lb. rhamnosus* oraz szczep *Bifidobacterium lactis* w temp. 37 °C przez 12 h.

Do analizy pobierano 0,4 ml próbki i dodawano 0,8 ml alkoholowego roztworu DPPH[•] (2,2-difenylo-1-pikrylhydrazylu) o stężeniu 0,2 mM, dokładnie mieszano i inkubowano bez dostępu światła w temp. 20 ± 2 °C przez 30 min, po czym próbkę wirovano $15\ 000 \times g/10$ min/4 °C (Eppendorf Centrifuge 5415R) i pobierano do oznaczenia 1 ml klarownego supernatantu.

Oznaczenie polegało na ocenie zdolności wyselekcjonowanego białka mleka (α -la), fermentowanego badanymi szczepami, do wygaszania rodnika DPPH[•], co przejawiało się w obniżaniu absorbancji roztworu metanolowego DPPH[•] podczas reakcji ze składnikami fermentowanego roztworu. Długość fali analitycznej wyznaczano w maksimum absorpcji roztworu DPPH[•] ($\lambda = 515$ nm) (BIO-RAD Smart Spec™ Plus). Próbkę wzorcową stanowił 96-procentowy etanol. Pomiary wykonano w trzech seriach po trzy powtórzenia. Procentową wartość aktywności przeciwnadkwasotwórczej obliczano z równania [15]:

$$\text{Inhibition [\%]} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{test}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

gdzie:

A_{control} – alkoholowy roztwór DPPH* (0,4 ml etanolu i 0,8 ml alkoholowego roztworu DPPH*),

A_{test} – analizowana próbka (0,4 ml próbki i 0,8 ml alkoholowego roztworu DPPH*).

Do wyznaczenia krzywej wzorcowej zastosowano szereg rozcieńczeń 500 μM roztworu wzorcowego troloxu.

*Analiza tekstury i właściwości fizykochemicznych skrzepów kwasowych uzyskanych przy udziale szczepów *Lb. helveticus**

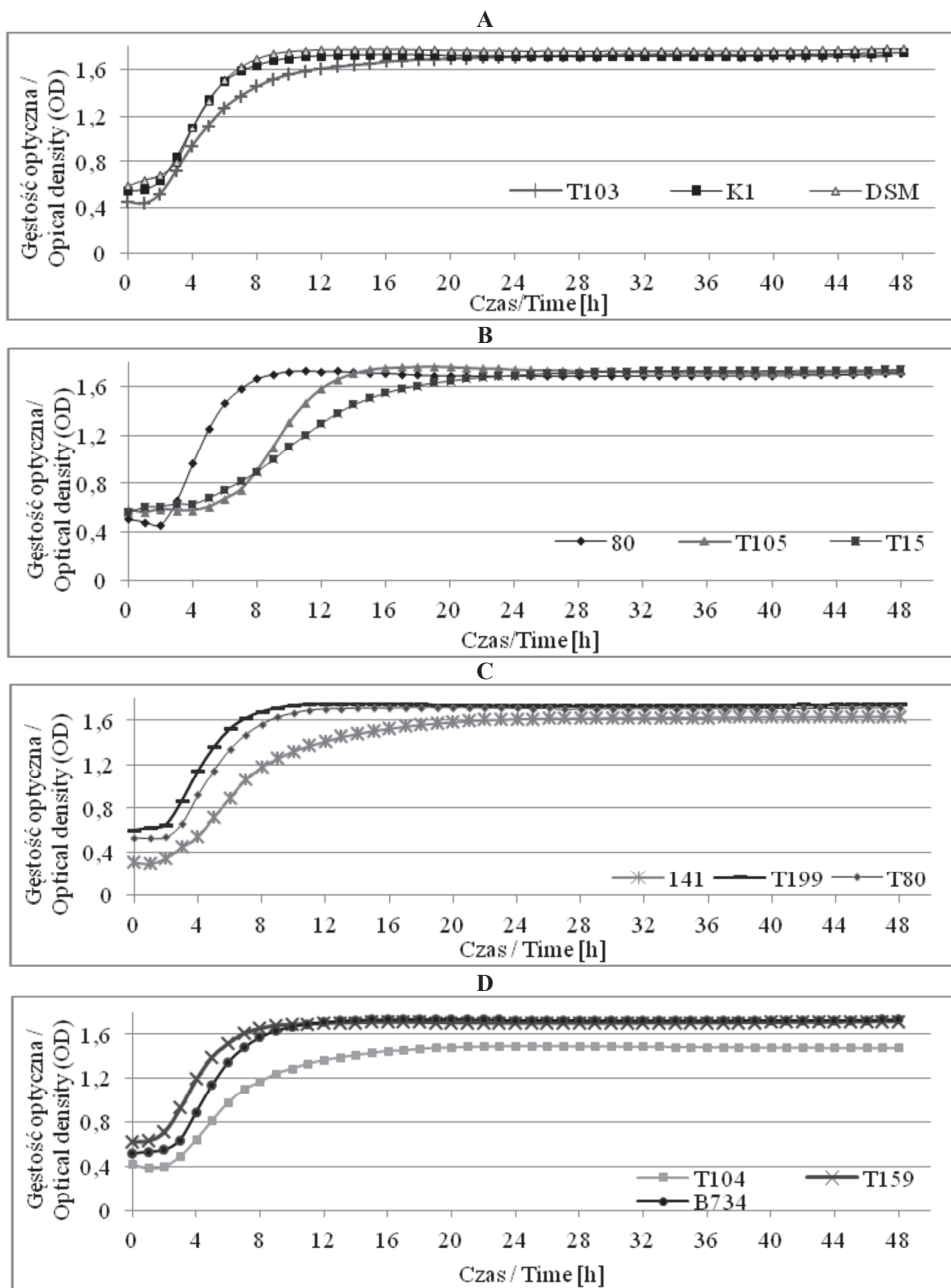
Trzynastoprocentowy roztwór odtłuszczonego mleka w proszku pasteryzowano w łaźni wodnej (80 °C/ 30 min), a następnie chłodzono do temp. 40 - 45 °C i rozlewano po do opakowań jednostkowych o poj. 50 ml, zaszczepiano 2 % inoculum, które stanowiła monokultura danego szczepu *Lb. helveticus*. Próbkę inkubowano w temp. 42 °C przez 12 h, a następnie chłodzono do temp. 4 °C i przechowywano w warunkach chłodniczych przez kolejne 12 h.

Twardość mlecznych napojów fermentowanych oznaczano za pomocą analizatora tekstury TA-XT2i (Stable Micro Systems, Godalming, Wielka Brytania) po 12 h przechowywania w temp. 4 °C. Próbkę penetrowano trzpieniem o średnicy 15 mm na głębokość 20 mm przy prędkości przesuwu głowicy analizatora – 1 mm/s. Uzyskane krzywe analizowano przy użyciu szablonu A [3], w którym oznaczano jedynie twardość. Pomiar wykonano w pięciu powtórzeniach.

Szybkość tworzenia się skrzepu kwasowego monitorowano przy użyciu reometru dynamicznego RS300 (Haake, Karlsruhe, Niemcy), wyposażonego w układ cylindrów współosiowych (Z31). Rejestrowano zmiany modułu zachowawczego (G') i modułu stratności (G'') przy $f = 0,1$ Hz i odkształceniu równym 0,01. Pomiar prowadzono w ciągu 12 h inkubacji w temp. 42 °C. Po upływie tego czasu próbkę chłodzono i przechowywano przez 10 h w temp. 5 °C.

Analiza statystyczna

Analizę statystyczną wyników opracowano w programie statystycznym SAS/STAT®. Ocenę istotności różnic między wartościami średnimi szacowano testem Tukeya na poziomie istotności $p \leq 0,05$ [11].



Objaśnienia: / Explanatory notes:

Szczepy: / Strains: *Lactobacillus helveticus*-141, K1, B734, T159, 80, T104, T103, T80, T199, T105, T15, DSM 20075.

Rys. 1. A, B, C, D. Dynamika wzrostu szczepów *Lactobacillus helveticus* w podłożu MRS

Fig. 1. A, B, C, D. Growth dynamics of *Lactobacillus helveticus* strains in MRS medium

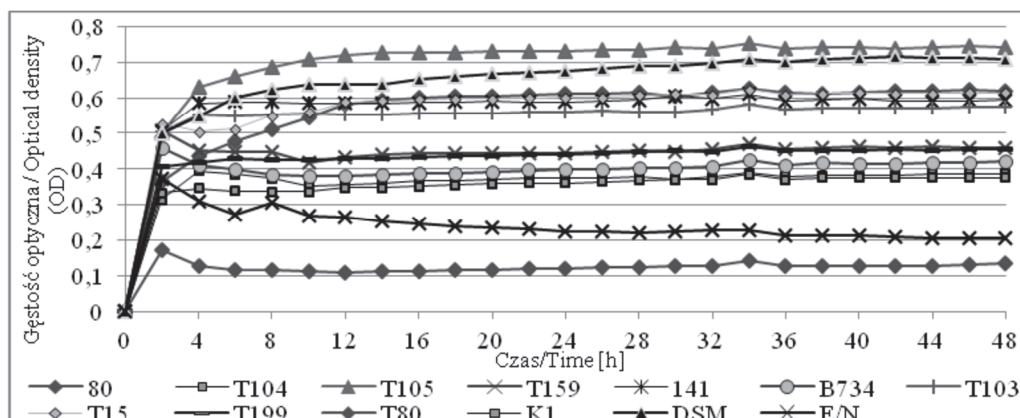
Wyniki i dyskusja

W pierwszym etapie badań monitorowano dynamikę wzrostu szczepów *Lb. helveticus* w płynnym podłożu MRS, w temp 42 °C, w warunkach anareobowych (optymalne warunki hodowli) oraz wpływ soli żółciowych na rozwój drobnoustrojów (rys. 1 A, B, C, D). Faza intensywnego wzrostu większości analizowanych szczepów następowała pomiędzy 4. a 8. h inkubacji, wyjątek stanowiły szczepy T105, K1, T15 oraz 141, w których faza logarytmicznego wzrostu trwała dłużej (rys. 1 A, B i C).

Mikroorganizmy probiotyczne wpływają na poprawę funkcjonowania mikroflory przewodu pokarmowego, dzięki czemu wykazują działanie prozdrowotne. Istotnymi cechami przystosowawczymi bakterii jest zdolność do przeżywania w stosunkowo niskim pH środowiska oraz oporność bakterii na kwasowość soku żołądkowego i sole żółciowe [20].

Po zastosowaniu 0,25-procentowego dodatku soli żółciowych do płynnego podłoża monitorowano zmiany gęstości optycznej podczas hodowli bakterii. Dynamika wzrostu komórek badanych drobnoustrojów w hodowlach kontrolnych (rys. 1 A, B, C i D) oraz w podłożach z dodatkiem soli żółciowych (rys. 2) wskazuje na hamujący wpływ tego składnika na wzrost hodowli komórek badanych mikroorganizmów. Analizowane szczepy wykazywały zróżnicowaną wrażliwość na czynnik stresowy. *Lb. helveticus* T105 oraz referencyjny DSM 20075 były szczepami najlepiej rozwijającymi się w tych warunkach. Na obecność soli żółci w podłożu najbardziej wrażliwy był szczep T80. W badaniach prowadzonych przez Lankaputhra i Shah [12] szczepy *Bifidobacterium* były utrzymywane w roztworach soli żółciowych o stężeniach 0 ÷ 1,5 % do 3 h. Autorzy stwierdzili, że przeżywalność bakterii zależała m.in. od rodzaju szczepu oraz stężenia i czasu ekspozycji komórek bakterii na działanie soli. Burns i wsp. [34] wykazali wyraźną różnicę wrażliwości na sole żółci przez szczepy, które zasiedlają jelito zdrowych ludzi (*Lb. acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. paracasei* i *Lb. plantarum*) oraz przez szczepy stosowane do wytwarzania produktów mlecznych (*Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Lb. delbrueckii subsp. lactis* i *Lb. helveticus*). Te pierwsze rozwijały się w roztworach o dużym stężeniu soli kwasu żółciowego (1 %), podczas gdy dla większości *Lb. delbrueckii* i *Lb. helveticus* był to czynnik znacząco ograniczający rozwój.

Bakterie kwasu mlekowego przejawiają aktywność proteolityczną i zdolność do hydrolizy białek mleka, prowadzącą do wytworzenia peptydów o aktywności biologicznej. W badaniach, w których zastosowano kazeinę mleka jako substrat, zaobserwowano, że bakterie należące do rodzaju *Lactobacillus* wykazują wysoką aktywność przeciwtleniającą [13].



Objaśnienia: / Explanatory notes:

Szczepy: / Strains: *Lactobacillus helveticus* - 141, K1, B734, T159, 80, T104, T103, T80, T199, T105, T15, DSM 20075; *Lactobacillus rhamnosus* - E/N.

Rys. 2. Dynamika wzrostu szczepów *Lactobacillus helveticus* w podłożu MRS z dodatkiem 0,25 % soli żółciowych

Fig. 2. Growth dynamics of *Lactobacillus helveticus* strains in MRS medium with bile salts added in the amount of 0.25 %

Tabela 1. Aktywność przeciwnadrodnikowa α -la fermentowanej przez monokultury szczepów bakterii

Table 1. Antiradical activity of α -la fermented with monocultures of bacterial strains

Szczep Strain	Aktywność przeciwnadrodnikowa Antiradical activity [%] $\bar{x} \pm s / SD$	Szczep Strain	Aktywność przeciwnadrodnikowa Antiradical activity [%] $\bar{x} \pm s / SD$
141	53,5 ^a \pm 0,111	T199	49,5 ¹ \pm 0,071
K1	50 ^b \pm 0,054	T105	59,9 ^{hij} \pm 0,007
B734	55,7 ^c \pm 0,025	T15	56 ^k \pm 0,093
T159	53 ^d \pm 0,099	DSM 20075	75,3 ^{a-1} \pm 0,115
80	63,4 ^e \pm 0,089	E/N	52,9 ^{ll} \pm 0,146
T104	52,7 ^l \pm 0,024	PEN	49,3 ^{lIn} \pm 0,073
T103	53,1 ^g \pm 0,019	OXY	45,1 ^{bcdeijklm} \pm 0,054
T80	47,8 ^{eh} \pm 0,062	BB12	50,6 ^{jl0} \pm 0,158
α -laktoalbumina α -lactoalbumin (próba kontrolna control sample)	15,4 ^{a-o} \pm 0,053	-	-

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Szczepy: / Strains: *Lactobacillus helveticus* - 141, K1, B734, T159, 80, T104, T103, T80, T199, T105, T15, DSM 20075, *Lactobacillus rhamnosus* - E/N, PEN, OXY, *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* - BB12; \bar{x} - wartość średnia / mean value; s / SD - odchylenie standardowe / standard deviation; n = 6; a - o - różnice pomiędzy wartościami średnimi oznaczonymi różnymi literami są statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) / differences among mean values denoted using different letters are statistically significant ($p \leq 0,05$).

W tab. 1. przedstawiono aktywność przeciwrodnikową roztworu α -la fermentowanego przy udziale szczepów *Lb. helveticus*. Najwyższą wartość uzyskano w próbce, w której proces fermentacji był przeprowadzony przy udziale szczepu referencyjnego DSM 20075 (75,3 %). Wśród szczepów pochodzących z polskiej kolekcji najwyższą aktywność przeciwrodnikową stwierdzono w próbkach fermentowanych przez szczep *Lb. helveticus* 80 (63,4 %). W porównaniu z roztworem wzorcowym zaobserwowano, że zbliżone wartości aktywności przeciwrodnikowej (53,7 %) uzyskano w przypadku alkoholowego roztworu troloxu o stężeniu 250 μ M. Fermentacja w znaczącym stopniu wpłynęła na zwiększenie aktywności przeciwrodnikowej roztworu α -la. W próbie niepoddanej fermentacji uzyskano najniższą aktywność przeciwrodnikową (15,4 %).

Maryam i wsp. [13] wykazali, że aktywność przeciwutleniająca fermentowanego odtłuszczonego mleka zależy od użytego szczepu bakterii (LAB) i jego aktywności proteolitycznej. Wartość mierzonego parametru jest także uzależniona od czasu prowadzenia procesu fermentacji. Dłuższy proces fermentacji wpływa bowiem na zwiększenie stopnia hydrolizy frakcji białkowych, co w konsekwencji prowadzi do zwiększenia aktywności przeciwutleniającej [10].

Tabela 2. Twardość napojów mlecznych fermentowanych przez szczepy *Lb. helveticus*

Table 2. Hardness of milk fermented beverages by the *Lb. helveticus* strains

Szczep Strain	Twardość / Hardness [N] $\bar{x} \pm s / SD$	Szczep Strain	Twardość / Hardness [N] $\bar{x} \pm s / SD$
T103	0,233 ^b \pm 0,02	T104	0,275 ^f \pm 0,02
T199	0,239 ^c \pm 0,05	80	0,334 ^{abg} \pm 0,03
DSM 20075	0,262 ^a \pm 0,04	141	0,194 ^{ac} \pm 0,04
T105	0,316 ^{bd} \pm 0,03	T159	0,137 ^{acdefg} \pm 0,02
B734	0,342 ^{abce} \pm 0,08	T15	0,173 ^{a-g} \pm 0,08

Objaśnienia: / Explanatory notes:

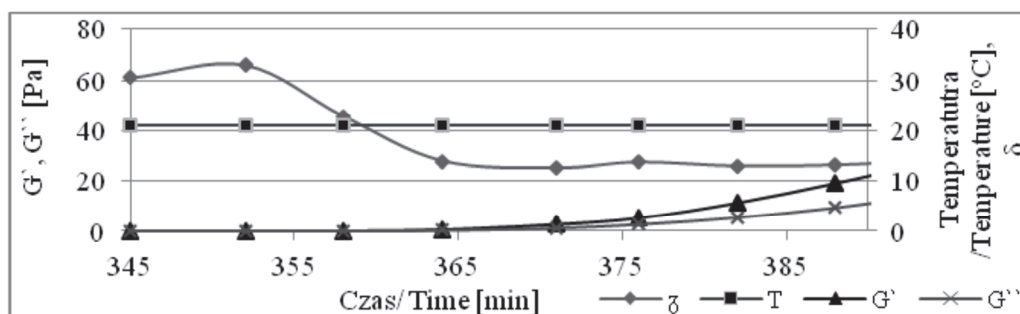
Objaśnienia symboli jak pod rys. 1 / Explanatory notes as in Fig. 1; \bar{x} – wartość średnia / mean value; s / SD – odchylenie standardowe / standard deviation; n = 5; a - g – różnice pomiędzy wartościami średnimi oznaczonymi różnymi literami są statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) / differences among mean values denoted using different letters are statistically significant ($p \leq 0.05$).

Właściwości reologiczne mlecznych napojów fermentowanych zależą od zdolności szczepów bakteryjnych do ukwaszania mleka [5]. W przeprowadzonych badaniach analizowano twardość skrzepów kwasowych uzyskanych z mleka (tab. 2). Największą średnią wartością mierzonego parametru charakteryzowały się próbki, w których proces fermentacji przeprowadzono przy udziale szczepu *Lb. helveticus* B734. Równocześnie obserwowano, że poszczególne próbki były wizualnie bardzo zróżnicowane między sobą. Zaszczepione tym samym szczepem próbki różniły się pod względem ilości wydzielonej serwatki, struktury i wyglądu skrzepu, który w części był nierównomier-

ny. Taką samą tendencję wykazywały próbki, w których inoculum stanowił szczep T15. Najtwardsze jednorodne skrzepy uzyskano w próbkach powstałych przy udziale szczepów T104 i T105.

Obróbka mleka (95 °C/5 min) powoduje hydrolizę części białek serwatkowych oraz indukuje interakcje pomiędzy α -laktoalbuminą, κ -kazeiną i β -laktoglobuliną. Dzięki temu zwiększają się właściwości hydrofilowe skrzepu kazeinowego oraz stabilność żelu [19]. Pomiar reologiczne mlecznych napojów fermentowanych pozwalają na dobranie odpowiednich parametrów procesu, jak również uzyskanie struktury produktu o odpowiedniej konsystencji [1].

W celu zbadania szybkości tworzenia skrzepu kwasowego przez analizowane szczepy bakterii monitorowano zmiany modułu zachowawczego (G') i modułu stratności (G'').



Rys. 3. Zmiany modułu zachowawczego (G'), modułu stratności (G'') i kąta fazowego (δ) podczas fermentacji (w temperaturze $T = 42$ °C) napojów mlecznych fermentowanych przez szczep *Lb. helveticus* T105, otrzymanych z odtłuszczonego mleka.

Fig. 3. Changes in storage modulus (G'), loss modulus (G''), and phase angle (δ) during fermentation (at a temperature: $T = 42$ °C) of milk beverages derived from skimmed milk fermented with *Lb. helveticus* T105 strain.

Wraz z rozpoczęciem procesu żelowania we wszystkich analizowanych próbkach wzrastały wartości G' i G'' , a tendencja ta utrzymywała się w czasie procesu fermentacji. Szybkość przebiegu tego procesu była skorelowana z szybkością tworzenia się skrzepu. Proces tworzenia skrzepu zachodził najszybciej w próbkach inokulowanych szczepem T105, w których obserwowano zmiany wartości G' oraz G'' po upływie ok. 364 min, podczas fermentacji w temp. 42 °C (rys. 3). Po tym czasie następowało zmniejszenie wartości kąta fazowego (δ) poniżej 45°, przy jednoczesnym wzroście wartości G' i G'' , co świadczyło o powstawaniu skrzepu kwasowego.

Wnioski

1. Dodatek soli żółciowych do podłoża hodowlanego spowodował osłabienie wzrostu badanych szczepów *Lactobacillus helveticus*. Najwrażliwszymi na ten czynnik szczepami były T80 oraz T15. Szczep T105 wykazywał najwyższą odporność na wpływ dodatku soli żółciowych do pożywki, co jest cechą wymaganą dla organizmów probiotycznych.
2. Aktywność przeciwdrobnikowa wyselekcjonowanego preparatu α -laktoalbuminy znacząco wzrosła po procesie fermentacji prowadzonej przy udziale szczepów *Lb. helveticus*. Najwyższą aktywność przeciwdrobnikową wykazywała próba fermentowana przy udziale szczepu *Lb. helveticus* DSM 20075. Natomiast wśród szczepów polskiej kolekcji najwyższą wartość mierzonego parametru uzyskano w próbkach fermentowanych przy udziale szczepu *Lb. helveticus* 80.
3. Spośród analizowanych bakterii najwyższą przydatność technologiczną pod względem zdolności do tworzenia najtwardszych, jednorodnych skrzepów kwasowych wykazuje szczep *Lb. helveticus* T104 oraz T105.

*Autorzy składają podziękowania prof. dr hab. Łucji Łaniewskiej-Trokenheim za udostępnienie szczepów *Lb. helveticus*, które były cennym materiałem biologicznym wykorzystanym w niniejszej pracy.*

Literatura

- [1] Barbaros O.: Destructive effects of classical viscosimeters on the microstructure of yoghurt gel. Turk. J. Agric. For., 2004, **28**, 19-23.
- [2] Ben Amor K., Breeuwer P., Verbaarschot P., Rombouts F.M., Akkermans A.D.L., De Vos W.M., Abee T.: Multiparametric flow cytometry and cell sorting for the assessment of viable, injured, and dead Bifidobacterium cells during bile salt stress. Appl. Environ. Microbiol., 2002, **68** (11), 5209-5216.
- [3] Bonczar G., Wszolek M., Siuta A.: The effect of certain factors on the properties of yoghurt made from ewe's milk. Food Chem., 2002, **79**, 85-91.
- [4] Burns P., Vinderola G., Binetti A., Quiberoni, A., de los Reyes-Gavilán C.G., Reinheimer J.: Bile-resistant derivatives obtained from non-intestinal dairy lactobacilli. Int. Dairy J., 2008, **4** (18), 377-385.
- [5] Damin M.R., Minowa E., Alcantara M.R., Oliveira, M.N.: Effect of cold storage on culture viability and some rheological properties of fermented milk prepared with yogurt and probiotic bacteria J. Texture Stud., 2008, **39**, 40-55.
- [6] Fira M., Kojic A., Banina I., Spasojevic I., Strahinic L., Topisirovic D.: Characterization of cell envelope-associated proteinases of thermophilic lactobacilli. J. Appl. Microbiol., 2001, **90**, 123-130.
- [7] FitzGerald R.J.: Biofunctional peptides from milk proteins: Mineral binding and cytomodulatory effects. Curr. Pharm. Des., 2003, **9**, 1289-295.
- [8] Gobetti M., Minervini F., Rizzello C.G.: Angiotensin I-converting-enzyme-inhibitory and antimicrobial bioactive peptides. Int. J. Dairy Technol., 2004, **57**, 173-188.

- [9] Gustaw W., Kordowska-Wiater M., Koziół J.: The influence of selected prebiotics on the growth of lactic acid bacteria for bio-yoghurt production. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.*, 2011, **4 (10)**, 455-466.
- [10] Hang M., Zhao X.H.: Fermentation time and extraction solvents influenced *in vitro* antioxidant property of soluble extracts of Maotofu fermented with *Mucor* sp. *Biotechnology*, 2011, **1 (10)**, 60-69.
- [11] Koziół J., Skrzypczak K., Gustaw W., Waśko A.: Wpływ preparatów białek mleka na wzrost bakterii z rodzaju *Bifidobacterium*. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, **3 (88)**, 83-98.
- [12] Lankaputhra W.E.V., Shah N. P.: Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. in the presence of acid and bile salts. *Cult. Dairy Prod. J.*, 1995, **30**, 2-7.
- [13] Maryam A.S. Abubakr, Zaiton Hassan, Mohamed Muftah. A. Imdakim, Sharifah N.R.S.A.: Antioxidant activity of lactic acid bacteria (LAB) fermented skim milk as determined by 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and ferrous chelating activity. (FCA) *Afr. J. Microbiol. Res.*, 2012, **6 (34)**, 6358-6364.
- [14] Morishita T., Deguchi Y., Yajima M., Sakurai T., Yura S.: Multiple nutritional requirements of *Lactobacilli*: genetic lesions affecting amino acid biosynthetic pathways. *J. Bacteriol.*, 1981, **148**, 64-71.
- [15] Osuntoki A., Korie I.: Antioxidant activity of whey from milk fermented with *Lactobacillus* species isolated from Nigerian fermented foods. *Food Technol. Biotechnol.*, 2010, **4 (48)** 505-511.
- [16] Remeuf F., Mohammed S., Sodini I., Tissier J.P.: Preliminary observations on the effects of milk fortification and heating on microstructure and physical properties of stirred yogurt. *Int. Dairy J.*, 2003, **13**, 773-782.
- [17] Rival S.G., Fornaroli S., Boeriu C.G., Wichers H.J.: Caseins and casein hydrolysates. 1. Lipoxigenase inhibitory properties. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, **4**, 287-294.
- [18] Sołowiej B.: Textural, rheological and melting properties of acid casein reduced-fat processed cheese analogues. *Milchwissenschaft*, 2012, **1 (67)**, 9-13.
- [19] Tamime A.Y., Robinson R.K.: Fermented milks and their future trends. Part II. Technical aspects. *J Dairy Res.*, 1988, **55**, 281-307.
- [20] Ziarno M.: Znaczenie aktywności hydrolazy soli żółci u bakterii z rodzaju *Bifidobacterium*. *Biotechnologia*, 2005, **2 (69)**, 183-195.

SELECTED TECHNOLOGICAL AND PROBIOTIC CHARACTERISTICS OF STRAINS OF *LACTOBACILLUS HELVETICUS* SPECIES

S u m m a r y

There are continually sought strains of bacteria that exhibit desirable technological features and are able to help improve physical-chemical and rheological characteristics of food products, and which, at the same time, can have health-promoting effects. The objectives of the research study were: to characterize acid curds produced as a result of the milk fermentation process conducted with the participation of *Lactobacillus helveticus*, to compare the sensitivity of the bacteria analyzed to bile salts present in the growth medium, and to determine the effect of fermentation process run with the participation of the microbes studied on the antiradical properties of the selected milk protein preparation. Based on the analyses performed, it was shown that the bacterial strains analyzed differed in terms of their sensitivity to bile salts present in the growth medium. That component added to the culture medium in an amount of 0.25% caused the growth dynamics of all the tested microorganisms to be inhibited. The *Lb. helveticus* T80 and T15 strains were the most sensitive to this component; the T105 strain showed the highest resistance. The

antiradical activity of α -lactalbumin at a level of 15.4% increased significantly after the fermentation process. Depending on the bacterial strain used, that level ranged between 45.1 and 75.3%. In the samples fermented with the use of bacteria from the Polish collection, the *Lb. helveticus* 80 strain showed the highest antiradical activity (63.4%). The T104 and T105 strains exhibited the highest technological suitability in terms of the ability to produce the hardest homogeneous acid curds. The hardness of the gels produced with the participation of those strains was 0.275 N and 0.316 N, respectively.

Key words: lactic acid bacteria (LAB), *Lactobacillus helveticus*, texture, antiradical activity ☒

GENOWEFA BONCZAR, KRZYSZTOF MACIEJOWSKI, JACEK DOMAGAŁA,
DOROTA NAJGEBAUER-LEJKO, MAREK SADY, MARIA WALCZYCKA,
MONIKA WSZOŁEK

WPLYW PASTERYZACJI I HOMOGENIZACJI MLEKA NA ZAWARTOŚĆ CHOLESTEROLU W MIĘKKICH SERACH PODPUSZCZKOWYCH TYPU BUNDZ

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu pasteryzacji (jej braku, pasteryzacji: w temp. 72 °C/15 s, w temp. 85 °C/15 s, w temp. 95 °C/10 min) i homogenizacji mleka (jej braku, homogenizacji przy 6 MPa) na zawartość cholesterolu w mleku i wyprodukowanych z niego serach podpuszczkowych typu bundz. Stwierdzono, że oba procesy wpłynęły statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) na zawartość cholesterolu zarówno w mleku, jak i w serach. Pasteryzacja spowodowała zwiększenie zawartości cholesterolu w mleku. W serach nastąpiło natomiast zmniejszenie jego poziomu i było ono proporcjonalne do wzrostu temperatury pasteryzacji. W mleku surowym i w serach z niego wyprodukowanych zawartość cholesterolu wynosiła odpowiednio: 14,41 i 115,61 mg/100 g, natomiast po pasteryzacji w temp. 95 °C/10 min odpowiednio: 19,34 i 55,01 mg/100 g. Proces homogenizacji mleka surowego wpłynął na zmniejszenie poziomu cholesterolu zarówno w mleku, jak i w serach, odpowiednio do: 5,55 i 88,48 mg/100 g. Po analizie równoczesnego wpływu obu czynników wykazano, że wraz ze wzrostem temperatury pasteryzacji poziom cholesterolu w serach w większym stopniu zmniejszał się wtedy, gdy były one wyprodukowane z mleka homogenizowanego.

Słowa kluczowe: mleko, sery podpuszczkowe typu bundz, pasteryzacja, homogenizacja, cholesterol

Wprowadzenie

Pasteryzacja i homogenizacja mleka to procesy najczęściej stosowane w technologii serów miękkich. W tradycyjnych sposobach wyrobu serów oba te procesy są najczęściej pomijane. W warunkach przemysłowej produkcji, ze względu na bezpieczeń-

Prof. dr hab. G. Bonczar, dr inż. K. Maciejowski, prof. dr hab. J. Domagała, dr inż. D. Najgebauer-Lejko, dr inż. M. Sady, dr inż. M. Walczycka, dr hab. M. Wszolek, prof. nadzw., Katedra Przetwórstwa Produktów Zwierzęcych, Wydz. Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków. Kontakt: g.bonczar@ur.krakow.pl

stwo zdrowotne człowieka oraz dbałość o wysoką jakość i trwałość produktów, mleko poddawane jest pasteryzacji, która może być prowadzona w kilku wariantach zróżnicowanych pod względem temperatury i czasu. Najczęściej przeprowadzane są pasteryzacje w temperaturze: 1) 72 °C/15 s, 2) 85 °C/15 s, 3) 95 °C/10 min. Dwa pierwsze warianty stosowane są do mleka przeznaczonego m.in. na sery, trzeci – zwykle do mleka przeznaczonego na napoje fermentowane i śmietankę [27]. Homogenizacja mleka ma na celu zmniejszenie średnicy kuleczek tłuszczowych i zapobieżenie podstawaniu tłuszczu. Wpływa ona na równomierne jego rozłożenie w produktach mlecznych, poprawę konsystencji i stabilności produktów, zwiększenie wydatku np. twarogów. Homogenizacja sprzyja lipolizie (np. w serach pleśniowych), poprawia przyswajalność tłuszczu i uwypukla walory smakowe produktów [11, 27].

Zawartość cholesterolu w mleku i produktach mlecznych jest uzależniona od wpływu wielu czynników związanych z organizmem zwierzęcia, od którego mleko pochodzi, postępowaniem z mlekiem po udoju oraz od czynników technologicznych [4]. Przetwarzanie mleka jest związane z poddawaniem go m.in. obróbce termicznej. Z badań Gregi i wsp. [12], Ceruttiego i wsp. [5], Kiszy i wsp. [17] wynika, że poziom tego składnika w tłuszczu mleka surowego jest znacznie niższy niż w tłuszczu mleka poddanego obróbce termicznej, a głębokość tych zmian jest proporcjonalna do intensywności procesu. Grega i wsp. [12] uważają, że tłuszcz mleka sterylizowanego zawiera więcej cholesterolu w porównaniu z tłuszczem mleka pasteryzowanego. Kiszka i Juśkiewicz [18] wykazali, że niektóre procesy technologiczne mają istotny wpływ na zawartość cholesterolu w serach. Zaobserwowali oni redukcję poziomu cholesterolu w tłuszczu serów miękkich o ok. 19 %, a twardych – o ok. 31 ÷ 36 % w porównaniu z mlekiem surowym. Zróżnicowaną redukcję poziomu składnika w serach tłumaczyli zastosowaniem odmiennych procesów technologicznych, kultur starterowych o zróżnicowanym składzie i różnym sposobem dojrzewania. Zdaniem wymienionych autorów, w przypadku serów twardych stosowany jest bardziej drastyczny proces produkcji, co powoduje przechodzenie większej ilości cholesterolu do serwatki.

Celem pracy było określenie wpływu pasteryzacji i homogenizacji mleka na zawartość cholesterolu w mleku i w wyprodukowanych z niego miękkich serach podpuszczkowych typu bundz.

Material i metody badań

Materiałem do badań było mleko surowe od krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej, pochodzące z gospodarstwa prywatnego z okolic Łapanowa w woj. małopolskim.

Przygotowano trzy warianty doświadczeń, w których określano wpływ: 1) pasteryzacji mleka, 2) homogenizacji mleka oraz 3) równoczesnej pasteryzacji i homogeni-

zacji mleka na zawartość cholesterolu w mleku i w serach podpuszczkowych typu bundz.

W celu zbadania wpływu pasteryzacji na zawartość cholesterolu w świeżych serach podpuszczkowych pobierano trzykrotnie mleko zbiorcze po zakończonym doju rannym i w czasie nie dłuższym niż 2 h wykonywano jego analizę, po czym dzielono je na cztery części. Jedną pozostawiano bez pasteryzacji, pozostałe trzy poddawano pasteryzacji w temperaturze i w czasie: 1) 72 °C/15 s, 2) 85 °C/15 s, 3) 93 °C/10 min. Po schłodzeniu do temp. 20 °C wykonywano analizy mleka. Po pasteryzacji z każdej z czterech prób mleka produkowano sery miękkie podpuszczkowe typu bundz. Mleko chłodzono do temp. 30 °C i zaprawiano podpuszczką Fromase 220 TL (DSM Food Specialities, France) o mocy 1 : 1000 w takiej ilości, aby uzyskać skrzep średniozwięzły po około 40 min. Skrzep krojono nożem na krzyż w odstępach 1 cm. Następnie lekko mieszano przez 3 min. Ziarna serowe z każdej z czterech części mleka przenoszono na sita i pozostawiano do odcieknięcia serwatki do następnego dnia w temp. 20 °C.

W celu zbadania wpływu homogenizacji na zawartość cholesterolu w serach pobierano, jak poprzednio, mleko surowe, poddawano je analizie, a następnie połowę mleka homogenizowano, drugą połowę pozostawiano bez homogenizacji. Homogenizację prowadzono w homogenizatorze ciśnieniowym model FT9 (Armfield, Ringwood, Wielka Brytania) pod ciśnieniem 6 MPa, w przepływie. Po homogenizacji mleko poddawano ponownej analizie. Z każdej z dwóch części mleka (niehomogenizowanej i homogenizowanej) produkowano sery metodą podaną w poprzednim doświadczeniu.

W celu zbadania równoczesnego wpływu obu czynników (pasteryzacji i homogenizacji mleka) na zawartość cholesterolu w serach mleko surowe, po analizie, dzielono na dwie części. Jedną poddawano homogenizacji metodą opisaną wyżej, drugą pozostawiano bez zmian. Każdą z dwóch części (homogenizowaną i niehomogenizowaną) dzielono na cztery części. Pierwszych nie pasteryzowano (homogenizowanej i niehomogenizowanej), a pozostałe poddawano pasteryzacji w temperaturze i w czasie odpowiednio: 1) 72 °C/15 s, 2) 85 °C/ 15 s, 3) 93 °C/10 min. W ten sposób uzyskano 8 prób mleka: 1) niepasteryzowane, niehomogenizowane, 2) niepasteryzowane, homogenizowane, 3) pasteryzowane w 72 °C/15 s, niehomogenizowane, 4) pasteryzowane w 72 °C/15 s homogenizowane, 5) pasteryzowane w 85 °C/15 s, niehomogenizowane, 6) pasteryzowane w 85 °C/15 s, homogenizowane, 7) pasteryzowane w 93 °C/10 min, niehomogenizowane, 8) pasteryzowane w 93 °C/10 min, homogenizowane. Wszystkie próby mleka poddano analizom. Z każdej części mleka wyprodukowano sery według wcześniej podanej metody. W ten sposób uzyskano w każdej serii po 8 serów.

W mleku surowym, pasteryzowanym i homogenizowanym oznaczano zawartość:

- tłuszczu – metodą objętościową Gerbera [23],

- cholesterolu – metodą enzymatyczną według Grossmanna i wsp. [13] z użyciem oksydazy cholesterolowej, opracowaną przez firmę R-Biopharm (Boehringer Mannheim/R-Biopharma-Enzymatische Bioanalytik, Niemcy). Pomiaru absorbancji roztworu kontrolnego i roztworu badanego dokonywano po dodaniu enzymu oksydazy cholesterolowej w spektrofotometrze Helios Gamma i Delta Spectro-Lab. (Thermo Electron Corporation, Wielka Brytania), przy długości fali $\lambda = 405$ nm. W doświadczeniu 2. i 3. w mleku oznaczano średnicę kuleczek tłuszczowych – metodą mikroskopową, stosując powiększenie $40\times$, wg PN-75/A-86059 [25] przy użyciu mikroskopu Biological Microscope, model MT 5310 L (MEIJI, Japonia), sprzężonego z programem komputerowym Motic Images.

W serach oznaczano zawartość:

- suchej masy – metodą suszenia według AOAC [1],
- tłuszczu – metodą butyrometryczną według PN-73/A-86232 [24],
- cholesterolu – metodą enzymatyczną z użyciem oksydazy cholesterolowej według Grossmanna i wsp. [13], opracowaną przez firmę R-Biopharm (Boehringer Mannheim/R-Biopharma-Enzymatische Bioanalytik, Niemcy).

Wyniki przeprowadzonych oznaczeń opracowano statystycznie za pomocą programu komputerowego Statistica v. 8.0. Obliczono wartości średnie analizowanych parametrów i odchylenia standardowe. W celu określenia statystycznej istotności wpływu badanych czynników na zawartość cholesterolu w mleku i jego produktach przeprowadzono jednoczynnikową lub dwuczynnikową analizę wariancji. Istotność różnic między wartościami średnimi weryfikowano wielokrotnym testem rozstępu Duncana na poziomach istotności $p \leq 0,05$ i $p \leq 0,01$.

Wyniki i dyskusja

W tab. 1. przedstawiono wyniki dotyczące wpływu pasteryzacji mleka na zawartość w nim tłuszczu i cholesterolu. Wynika z nich, że pasteryzacja nie miała istotnego ($p \leq 0,05$) wpływu na zawartość tłuszczu w mleku, natomiast miała statystycznie istotny ($p \leq 0,01$) wpływ na zawartość w nim cholesterolu zarówno w przeliczeniu na 100 g mleka, jak i na 1 g jego tłuszczu. Zdaniem Claeysa i wsp. [7] pasteryzacja nie wpływa na degradacyjne zmiany w tłuszczu mleka.

Mleko niepasteryzowane (surowe) zawierało najmniej cholesterolu. W miarę wzrostu temperatury pasteryzacji wzrastał jego poziom w mleku, zarówno w przeliczeniu na 100 g mleka, jak i na 1 g tłuszczu. Średnia zawartość cholesterolu w badanym mleku zawierała się w granicach wartości podawanych w literaturze – $13,1 \div 31,4$ g/100 g [7].

Tabela 1. Właściwości mleka surowego i pasteryzowanego

Table 1. Characteristics of raw and pasteurized milk

Czynnik Factor		Zawartość tłuszczu Fat content [%]	Zawartość cholesterolu Cholesterol content [mg/g tłuszczu / of fat]	Zawartość cholesterolu Cholesterol content [mg/100 g mleka / of milk]
		$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$
Pasteryzacja Pasteurization	Brak / None	3,47 ± 0,10	4,04 ^A ± 0,31	14,41 ^A ± 0,23
	72 °C/15 s	3,50 ± 0,11	4,84 ^B ± 0,09	16,77 ^{BC} ± 0,21
	85 °C/15 s	3,50 ± 0,13	5,11 ^{BCa} ± 0,20	17,71 ^{Ba} ± 0,40
	95 °C/10 min	3,50 ± 0,13	5,63 ^{Cb} ± 0,14	19,34 ^{BDb} ± 0,64

Objaśnienia: / Explanatory notes:

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

A, B – wartości średnie oznaczone różnymi literami w kolumnie różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,01$) / mean values in column and denoted by different letters differ statistically significantly at $p \leq 0,01$;

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

Podobne wyniki uzyskali Grega i wsp. [12], którzy stwierdzili, że tłuszcz mleka surowego zawiera mniej cholesterolu niż tłuszcz mleka pasteryzowanego i sterylizowanego, a wzrost stężenia cholesterolu jest proporcjonalny do zwiększającej się temperatury obróbki termicznej mleka. Autorzy ci zaobserwowali również, że tłuszcz mleka sterylizowanego w porównaniu z pasteryzowanym, o takim samym poziomie tego składnika, zawiera więcej cholesterolu. Cerutti i wsp. [5] wykazali, że tłuszcz mleka sterylizowanego zawiera więcej cholesterolu niż tłuszcz mleka poddanego termizacji, czyli obróbce termicznej w temperaturze nieznacznie niższej niż pasteryzacja. Wymienieni autorzy uważają, że zawartość cholesterolu wzrasta w miarę wzrostu temperatury ogrzewania mleka, co potwierdzają wyniki niniejszych badań. Autorzy nie tłumaczą przyczyn wzrostu zawartości cholesterolu w mleku pasteryzowanym w porównaniu z surowym. Prawdopodobną przyczyną jest uwalnianie się cholesterolu ze zniszczonych w wyniku pasteryzacji otoczek kuleczek tłuszczowych, co być może zwiększa „dostępność” cholesterolu [20]. Cilliers i wsp. [6] porównywali zawartość cholesterolu w mleku surowym i w mleku poddanym pasteryzacji krótkotrwałej lub promieniowaniu UV. Stwierdzili, że pasteryzacja krótkotrwała nie powoduje istotnych zmian zawartości cholesterolu, natomiast promieniowanie UV zmniejsza poziom tego składnika w porównaniu z zawartością w mleku surowym o około 36 %.

W tab. 2. przedstawiono wyniki badań serów świeżych wyprodukowanych z mleka surowego i poddanego pasteryzacji. Sery z mleka pasteryzowanego w porównaniu z wyprodukowanymi z mleka surowego zawierały statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) mniej suchej masy i tłuszczu, a wraz ze wzrostem temperatury pasteryzacji w serach

zmniejszyła się zawartość obu tych składników. Dejmek i Walstra [10] podają, że pasteryzacja mleka wpływa na zmniejszenie współczynnika synerezy, co w efekcie powoduje wzrost zawartości wody w serach podpuszczkowych. Potwierdzają to wyniki niniejszej pracy. Również Bonczar i wsp. [3] stwierdzili w serach z mleka owczego poddanego pasteryzacji mniej suchej masy i tłuszczu w porównaniu z serami z mleka surowego.

Sery z mleka pasteryzowanego zawierały również statystycznie istotnie mniej cholesterolu w 100 g niż sery z mleka surowego, a więc pasteryzacja mleka wpłynęła na zmniejszenie poziomu cholesterolu w świeżych serach. Zmniejszenie zawartości cholesterolu w serach było proporcjonalne do zmian zawartości w nich suchej masy i tłuszczu. Natomiast zmiany zawartości cholesterolu w przeliczeniu na 1 g tłuszczu sera pod wpływem pasteryzacji nie były statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) (tab. 2).

Tabela 2. Właściwości serów z mleka surowego i pasteryzowanego

Table 2. Characteristics of cheeses from raw and pasteurized milk

Czynnik Factor		Zawartość suchej masy Dry matter content [%]	Zawartość tłuszczu Fat content [%]	Zawartość cholesterolu Cholesterol content [mg/g tłuszczu / of fat]	Zawartość cholesterolu Cholesterol content [mg/100 g sera / of cheese]
		$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$
Pasteryzacja Pasteurization	Brak / None	41,70 ^{Aa} ± 3,13	20,50 ^A ± 1,44	5,77 ± 0,52	115,61 ^{Aa} ± 7,63
	72 °C/15 s	39,49 ^{Aa} ± 3,18	20,17 ^A ± 3,00	4,87 ± 1,02	93,61 ± 13,87
	85 °C/15 s	26,69 ^b ± 2,18	11,83 ^B ± 1,36	6,90 ± 0,13	81,74 ^b ± 10,25
	95 °C/10 min	21,57 ^B ± 0,78	8,33 ^B ± 1,01	7,16 ± 2,44	55,01 ^B ± 11,64

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

O'Brien i wsp. [22] oraz Sieber i Eyer [26] podają, że sery miękkie zawierają 13 ÷ 103 mg cholesterolu/100 g sera. Zdaniem Kiszy i Juśkiewicza [18] tłuszcz serów twardych zawiera mniej cholesterolu niż tłuszcz serów miękkich z powodu bardziej drastycznych procesów technologicznych w przypadku tych pierwszych.

W drugiej części doświadczenia badano wpływ homogenizacji na zawartość tłuszczu, średnicę jego kuleczek a także na poziom cholesterolu w mleku i wyprodukowanych serach (tab. 3). Homogenizacja nie zmieniła zawartości tłuszczu w mleku, co jest potwierdzeniem danych literaturowych [14]. Mleko surowe homogenizowane zawierało statystycznie istotnie ($p \leq 0,01$) mniej cholesterolu niż niehomogenizowane, zarówno w przeliczeniu na 100 g mleka, jak i na 1 g tłuszczu. Proces homogenizacji

okazał się skuteczny, gdyż wpłynął na przeszło dwukrotne zmniejszenie średniej średnicy kuleczek tłuszczowych (tab. 3).

Tabela 3. Właściwości mleka niehomogenizowanego i homogenizowanego

Table 3. Characteristics of non-homogenized and homogenized milk

Czynnik Factor		Zawartość tłuszczu Fat content [%]	Zawartość cholesterolu Cholesterol content [mg/g tłuszczu / of fat]	Zawartość cholesterolu Cholesterol content [mg/100 g mleka / of milk]	Średnica kuleczek tłuszcz- czowych Diameter of fat globules [μ m]
		$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$
Homogenizacja Homogenization	Nie No	3,46 \pm 0,05	4,16 ^A \pm 0,11	14,41 ^A \pm 0,23	4,83 ^A \pm 0,03
	Tak Yes	3,46 \pm 0,15	1,63 ^B \pm 0,46	5,55 ^B \pm 1,63	2,21 ^B \pm 0,09

Objaśnienia: / Explanatory notes:

A, B – wartości średnie oznaczone różnymi literami w kolumnie różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,01$) / mean values in column and denoted by different letters differ statistically significantly at $p \leq 0.01$.

Countly i wsp. [8] wykazali, że w mleku niehomogenizowanym i homogenizowanym średnica kuleczek tłuszczowych wynosi odpowiednio: 8 i 0,3 μ m. Lu i wsp. [21], zwiększając ciśnienie w procesie homogenizacji, uzyskiwali coraz mniejszą średnicę kuleczek tłuszczowych – w mleku niehomogenizowanym wynosiła ona 3,45 μ m, przy 10 MPa – 1,28 μ m, 20 MPa – 1,05 μ m, a 30 MPa – 0,89 μ m. Według Ziajki [27] kuleczki tłuszczowe w mleku krowim charakteryzują się przeciętną średnicą 2 \div 10 μ m, a proces homogenizacji zmniejsza ją do 2 μ m. Barłowska i wsp. [2] wykazali, że w mleku różnych ras krów przeważają małe (< 6 μ m) i średnie (7 \div 10 μ m) kuleczki tłuszczowe, natomiast udział dużych (> 10 μ m) wynosi 5 \div 19 %. Podobne wyniki badań uzyskała Kowal [19]. Fox [11] podaje, że 75 % kuleczek tłuszczowych w tłuszczu mlekowym ma średnicę poniżej 1 μ m.

Wpływ procesu homogenizacji na właściwości kuleczek tłuszczowych w mleku krowim badali Keenan i wsp. [16]. Zaobserwowali oni, że proces ten zmienia ich skład, gdyż kuleczki tłuszczowe z mleka homogenizowanego w porównaniu z niehomogenizowanym zawierają więcej białka, natomiast mniej lipidów ogółem, fosfolipidów oraz cholesterolu. Homogenizacja zmienia proporcje składników otoczek kuleczek tłuszczowych, w tym niektórych enzymów. Częściowo uwolnione składniki przechodzą do chudego mleka [15], co może być przyczyną strat cholesterolu w jego tłuszczu. Barłowska i wsp. [2], badając mleko surowe różnych ras krów, wykazali dodatnią zależność między zawartością cholesterolu a udziałem w tłuszczu mleka małych kuleczek tłuszczowych, natomiast ujemną w przypadku dużych kuleczek.

Tabela 4. Właściwości serów z mleka homogenizowanego i niehomogenizowanego
Table 4. Characteristics of cheeses made from non-homogenized and homogenized milk

Czynnik Factor		Zawartość suchej masy Total solid content [%]	Zawartość tłuszczu Fat content [%]	Zawartość cholesterolu Cholesterol content [mg/g tłuszczu / of fat]	Zawartość cholesterolu Cholesterol content [mg/100 g mleka / of milk]
		$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$
Homogenizacja	Nie / No	41,7 ± 3,53	20,5 ± 2,84	5,77 ± 0,52	115,61 7,63 ±
Homogenization	Tak / Yes	35,55 ± 2,41	19,5 ± 0,29	4,53 ± 0,45	88,48 ± 9,88

Objaśnienie: / Explanatory note:

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

Tabela 5. Zawartość tłuszczu, cholesterolu i średnica kuleczek tłuszczowych w mleku, determinowana wpływem pasteryzacji i homogenizacji mleka
Table 5. Content of fat and cholesterol as well as diameter of fat globules in milk as determined by the effect of pasteurization and homogenization of milk

Czynniki Factors	Poziom czynnika Level Factor level	Zawartość tłuszczu Fat content [%]	Zawartość cholesterolu Cholesterol content [mg/g tłuszczu/ of fat]	Zawartość cholesterolu Cholesterol content [mg/100 g mleka/ of milk]	Średnica kuleczek tłuszczowych Diameter of fat globules [μm]
		$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$
Pasteryzacja mleka	Brak / None	3,47 ± 0,04	2,89 ± 1,47	10,04 ^{Aa} ± 5,12	3,53 ^A ± 1,43
	72°C/15 s	3,50 ± 0,04	3,57 ± 1,53	12,51 ^{abc} ± 5,34	2,58 ^{Ba} ± 1,56
	85°C/15 s	3,50 ± 0,05	4,04 ± 1,21	14,15 ^b ± 4,22	2,60 ^{Ba} ± 1,30
	95°C/10 min	3,50 ± 0,05	4,65 ± 1,19	16,27 ^{Babd} ± 4,13	2,80 ^{Bb} ± 2,38
Homogenizacja mleka	Nie / No	3,46 ± 0,02	4,93 ± 0,46	17,06 ^A ± 1,96	4,39 ^A ± 0,55
	Tak / Yes	3,53 ± 0,04	2,67 ± 1,27	9,42 ^B ± 4,05	1,36 ^B ± 0,61

Objaśnienia: / Explanatory notes:

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

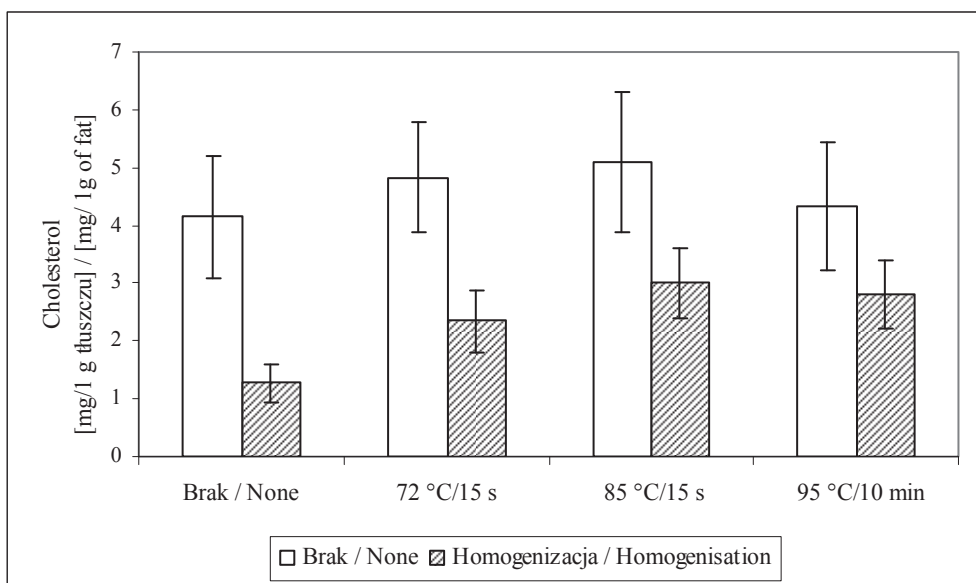
A, B – wartości średnie oznaczone różnymi literami w obrębie czynnika różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,01$) / mean values within one factor and denoted by different letters differ statistically significantly at $p \leq 0,01$; a, b – wartości średnie oznaczone różnymi literami w obrębie czynnika różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) / mean values within one factor and denoted by different letters differ statistically significantly at $p \leq 0,05$.

Sery wyprodukowane z mleka surowego poddanego homogenizacji w porównaniu z serami z mleka niehomogenizowanego zawierały mniej suchej masy, tłuszczu i cholesterolu, ale różnica między wartościami średnimi okazała się statystycznie nieistotna ($p \leq 0,05$) (tab. 4). Zdaniem Dejmek i Walstry [10] homogenizacja mleka wpływa na zmniejszenie synerезy skrzepu podpuszczkowego. Deegan i McSweeney [9] udowodnili, że w serach cheddar wzrasta zawartość wody, a zmniejsza się zawartość tłuszczu w miarę wzrostu ciśnienia homogenizacji.

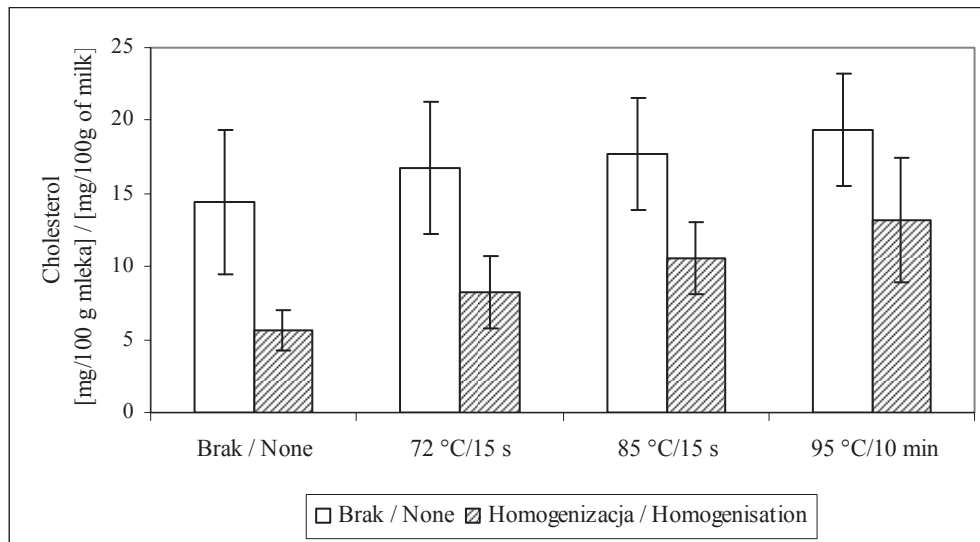
W procesie wyrobu niektórych serów (np. dojrzewających z udziałem bakterii maziowych i pleśni) stosowana jest pasteryzacja i homogenizacja mleka. Ta część pracy miała na celu sprawdzenie wpływu obu procesów na zawartość cholesterolu w mleku i serach.

Pasteryzacja spowodowała statystycznie istotny ($p \leq 0,01$) wzrost zawartości cholesterolu w mleku, a homogenizacja – jego zmniejszenie (tab. 5). Obydwa czynniki wpłynęły na statystycznie istotne zmniejszenie średnicy kuleczek tłuszczowych.

Przebieg zmian zawartości cholesterolu w przeliczeniu na 1 g tłuszczu przedstawiono na rys. 1., a na 100 g mleka na rys. 2. Natomiast na rys. 3. przedstawiono zmiany średnicy kuleczek tłuszczowych w mleku poddanym oddziaływaniu dwóch czynników doświadczalnych.

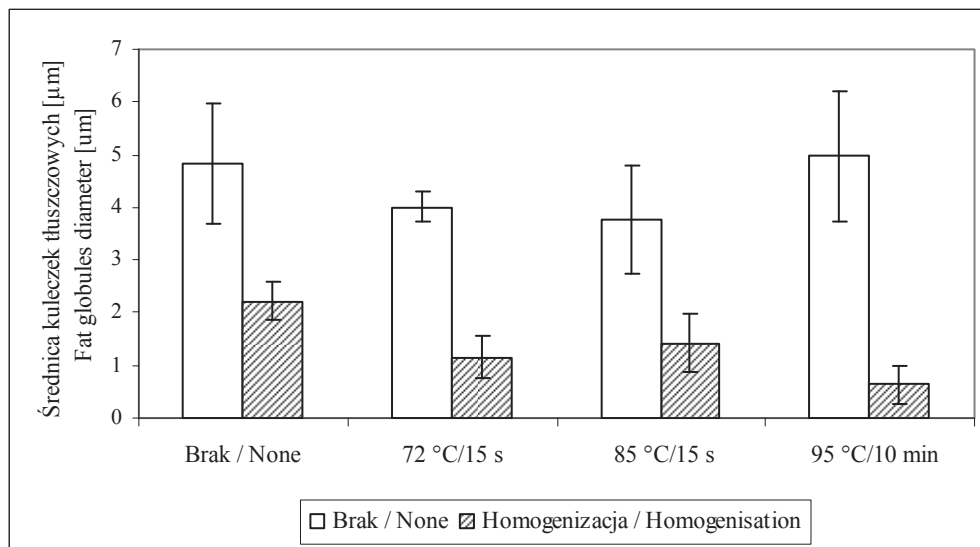


Rys. 1. Wpływ pasteryzacji i homogenizacji na zawartość cholesterolu w 1 g tłuszczu mlekowego
Fig. 1. Effect of homogenization and pasteurization on content of cholesterol in 1g of milk fat



Rys. 2. Wpływ pasteryzacji i homogenizacji na zawartość cholesterolu w 100 g mleka

Fig. 2. Effect of homogenization and pasteurization on content of cholesterol in 100 g of milk



Rys. 3. Wpływ pasteryzacji i homogenizacji na średnicę kuleczek tłuszczowych w mleku

Fig. 3. The influence of pasteurization and homogenization on fat globules diameter in milk

Cerutti i wsp. [5] przeprowadzili badania, w których udowodnili, że zawartość cholesterolu w produktach mleczarskich wzrasta w wyniku termicznej obróbki mleka i od tłuszczania, które przyczyniają się do zmniejszenia średnicy kuleczek tłuszczowych.

Równoczesne oddziaływanie dwóch czynników: pasteryzacji i homogenizacji mleka na zawartość suchej masy i tłuszczu w serach okazało się niejednakowo istotne statystycznie (tab. 6). Jedynie pasteryzacja mleka wywarła statystycznie istotny ($p \leq 0,01$) wpływ na zawartość obu składników, stopniowo zmniejszając ich poziom w miarę wzrostu temperatury procesu. Homogenizacja spowodowała niewielkie i statystycznie nieistotne zmniejszenie zawartości suchej masy i tłuszczu w serach.

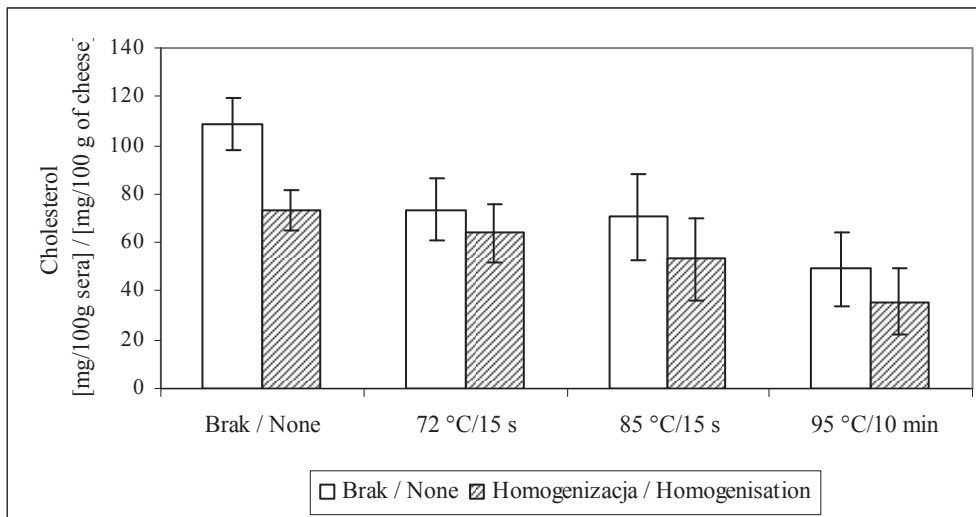
W miarę wzrostu temperatury pasteryzacji zmniejszeniu uległa w serach zawartość cholesterolu w przeliczeniu na 100 g produktu a różnice między średnimi były statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) – tab. 6. Poziom cholesterolu w serach z mleka pasteryzowanego w temp. 95 °C/10 min obniżył się dwukrotnie w porównaniu z serami z mleka surowego. Natomiast tendencja wzrostowa występuje w przypadku zawartości cholesterolu w przeliczeniu na 1 g tłuszczu, z wyjątkiem pasteryzacji w temperaturze 72 °C/15 s (tab. 6). Homogenizacja mleka spowodowała statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) zmniejszenie poziomu cholesterolu w serach w porównaniu z odpowiednikami z mleka niehomogenizowanego. Zawartość cholesterolu w serach zmniejszała się proporcjonalnie do wzrostu temperatury pasteryzacji i proces ten występował z większym nasileniem w serach z mleka homogenizowanego (rys. 4).

Tabela 6. Zawartość suchej masy, tłuszczu i cholesterolu w serach, determinowana wpływem pasteryzacji i homogenizacji mleka

Table 6. Content of dry matter, fat, and cholesterol in cheeses as determined by the effect of pasteurization and homogenization of milk

Czynniki Factors	Poziom czynnika Factor level	Zawartość suchej masy Dry matter content [%]	Zawartość tłuszczu Fat content [%]	Zawartość cholesterolu Cholesterol content [mg/1 g tłuszczu / of fat]	Zawartość cholesterolu Cholesterol content [mg/100 g sera / of cheese]
		$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$
Pasteryzacja mleka Milk pasteurization	Brak / None	38,63 ^A ± 2,05	20,00 ^C ± 1,30	5,15 ± 0,41	102,05 ^A ± 8,24
	72°C/15 s	37,25 ^{ACa} ± 1,66	18,25 ^C ± 1,70	4,84 ± 0,58	85,78 ^a ± 9,26
	85°C/15 s	27,33 ^{BCb} ± 1,20	11,92 ^B ± 0,76	5,97 ± 0,70	71,5 ± 10,38
	95°C/10 min	20,11 ^{Ba} ± 0,42	7,25 ^A ± 0,74	6,77 ± 1,66	46,72 ^{Bb} ± 9,77
Homogenizacja mleka / Milk homogenization	Nie / No	32,36 ± 1,56	15,21 ± 1,85	6,17 ± 0,64	86,49 ± 8,11
	Tak / Yes	29,3 ± 1,05	13,50 ± 1,56	5,19 ± 0,71	66,53 ± 8,5

Objaśnienia jak pod tab. 5. / Explanatory notes as in Tab. 5.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

A, B, C, D – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,01$) / mean values denoted by different letters differ statistically significantly at $p \leq 0.01$;

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

Rys. 4. Wpływ pasteryzacji i homogenizacji mleka na zawartość cholesterolu w serach

Fig. 4. Effect of pasteurization and homogenization of milk on content of cholesterol in cheeses.

Wnioski

1. W mleku pasteryzowanym stwierdzono statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) więcej cholesterolu niż w mleku surowym. Wraz ze wzrostem temperatury pasteryzacji wzrastał poziom oznaczanego cholesterolu.
2. W mleku poddanym procesowi homogenizacji stwierdzono mniejszą zawartość cholesterolu niż w mleku niehomogenizowanym.
3. Kombinacja dwóch czynników (pasteryzacji i homogenizacji mleka) wpłynęła na zmniejszenie zawartości cholesterolu w przeliczeniu na 100 g serów oraz na 1 g tłuszczu, jednak istotność tego wpływu nie zawsze jest potwierdzona statystycznie. Oddziaływania pojedynczych czynników na zmiany zawartości cholesterolu są mniejsze niż kombinacji dwóch czynników równocześnie.

Praca wykonana w ramach tematu DS 3700/WTŻ Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie.

Literatura


- [1] AOAC: Official Methods of Analysis Dairy. VA, 1990.
- [2] Barłowska J., Sz wajkowska M., Litwińczuk Z., Matwijczuk A.: The influence of cows breed and feeding system on the dispersion state of milk fat and content of cholesterol. *Rocz. Nauk. PTZ*, 2011, **3** (7), 57-65.
- [3] Bonczar G., Szpak B., Sady M.: Wpływ temperatury pasteryzacji na teksturę skrzepu i masy serowej. XXXII Sesja Naukowa KTiChŻ PAN „Technologia żywności a oczekiwania konsumentów”, SGGW, Warszawa 2001, 6-7 września, ss. 1-5.
- [4] Bonczar G., Chrzanowska K., Maciejowski K., Walczycka M.: Zawartość cholesterolu i jego pochodnych w mleku i produktach mleczarskich – uwarunkowania surowcowe i technologiczne. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, **1** (74), 15-27.
- [5] Cerutti G., Machado M.A., Ribolzi L.: Distribution of cholesterol in milk dairy products. *Latte*, 1993, **11** (18), 1102-1108.
- [6] Cilliers F.P., Gouws P.A., Koutchma T., Engelbrecht Y., Adriaanse C., Swart P.: A microbiological, biochemical and sensory characterization of bovine milk treated by heat and ultraviolet (UV0 light for manufacturing Cheddar cheese. *Inn. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2014, **23**, 94-106.
- [7] Claeys W.L., Verraes C., Cardoen S., De Block J., Huyghebaert A., Raes K., Dewettinck K., Hermen L.: Consumption of raw or heated milk from different species: An evaluation of the nutritional and potential health benefits. *Food Control*, 2014, **42**, 188-201.
- [8] Coutouly A., Riaublanc A., Axelos M., Gaucher I.: Effect of heat treatment, final pH of acidification, and homogenization pressure on the texture properties of cream cheese. *Dairy Sci. Technol.*, 2014, **94**, 125-144.
- [9] Deegan K.C., McSweeney P.L.H.: Effects of low-pressure homogenization pre-treatment of cheese milk on the ripening of Cheddar cheese. *Dairy Sci. Technol.*, 2013, **93**, 641-655.
- [10] Dejmek P., Walstra P.: The syneresis of rennet-coagulated curd. In *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. Third ed. Vol. I: General Aspects, Ed. by Fox P., Elsevier Ltd, 2004, pp. 71-103.
- [11] Fox P.F.: Factors that affect the quality of cheese. *Cheese Chemistry Physics and Microbiology. General aspects*. Ed. Fox P., Elsevier Academic Press, 2004, V.1., pp. 583-608.
- [12] Grega T., Sady M., Pustkowiak H.: Poziom cholesterolu i kwasów tłuszczowych w różnych rodzajach mleka spożywczego. *Zesz. Nauk. AR w Krakowie, Technol. Żywn.*, 2000, **12**, 367, 85-90.
- [13] Grossmann A., Timmen H., Klostermeyer H.: Die enzymatische Bestimmung von Cholesterin in Milchlipp – eine Alternative zu den Fisher gebräuchlichen Methoden. *Milchwissenschaft*, 1976, **31**, 721-724.
- [14] Jurczak M.E.: Mleko, produkcja, badanie, przerób, Wyd. SGGW, Warszawa 2005, ss. 41-44.
- [15] Keenan T.W.: Milk lipid globules and their surrounding membrane: a brief history and perspectives for future research. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, 2001, **3** (6), 365-371.
- [16] Keenan T.W., Moon T.W., Dylewski D.P.: Lipid globules retain globule membrane material after homogenization. *J. Dairy Sci.*, 1983, **2** (66), 196-203.
- [17] Kiszka J.: Nisko przetworzone produkty mleczarskie. *Konf. „Żywność minimalnie przetworzona”*. Kraków, 19-20.06, 1997, ss. 99-112.
- [18] Kiszka J., Juśkiewicz M.: Changes of fat cholesterol during the manufacture of some cheeses. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 1998, **2**, 7/48, 251-258.
- [19] Kowal M.: Wpływ sezonu produkcji na przydatność technologiczną, profil kwasów tłuszczowych i zawartość cholesterolu w mleku pozyskiwanym od krów utrzymywanych w oborze wolnostanowiskowej i żywionych systemem TMR. *Rocz. Nauk. Zoot.*, 2013, **3** (9), 47-57.
- [20] Larsen T.: Enzymatic-fluorometric quantification of cholesterol in bovine milk. *Food Chem.*, 2012, **3** (135), 1261-1267.

- [21] Lu Ch., Wang G., Li Y., Zhang L.: Effects of homogenization pressures on physicochemical changes in different layers of ultra-high temperature whole milk during storage. *Int. J. Dairy Technol. Soci. Dairy Technol.*, 2013, **3 (66)**, 1-8.
- [22] O'Brien N.M., O'Connor T.P.: Nutritional aspects of cheese. *Cheese Chemistry Physics and Microbiology. General aspects*. Ed. Fox O., Elsevier Academic Press, 2004, vol. 1, pp. 573-581.
- [23] PN-ISO 2446:2010. Mleko. Oznaczanie zawartości tłuszczu.
- [24] PN-A-86232:1973 Mleko i przetwory mleczarskie. Sery. Metody badań.
- [25] PN-A-86059:1975 Mleko, śmietanka i śmietana. Oznaczanie skuteczności homogenizacji.
- [26] Sieber R., Eyer H.: Cholesterol removal from dairy products. *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Ed. Roginski H., Academic Press Elsevier Science, 2004, vol. 3, pp. 1611-1617.
- [27] Ziajka S.: *Mleczarstwo 1*. Wyd. UWM, Olsztyn 2008.

EFFECT OF PASTEURIZATION AND HOMOGENIZATION OF MILK ON CHOLESTEROL CONTENT IN SOFT RENNET BUNDZ-TYPE CHEESES

S u m m a r y

The objective of the research study was to determine the effect of pasteurization (no pasteurization; pasteurization at 72°C/15 s, 85°C/15 s, and 95°C/10 min) and homogenization of milk (no homogenization; homogenization at 6 MPa) on the content of cholesterol in milk and in rennet bundz- type cheeses made from that milk. It was found that those two processes impacted, statistically significantly, the cholesterol content in both the milk and the cheeses. Pasteurization caused the content of cholesterol in milk to increase. However, its level decreased in the cheeses and the decrease was proportional to the increase in the pasteurization temperature. The content of cholesterol in raw milk and in the cheeses produced from it amounted to 14.41 mg/100g and 115.61 mg/100g, respectively; after they were pasteurized at 95°C/10 min, it amounted to 19.34 mg/100 g and 55.01 mg/100g, respectively. The homogenization process of raw milk caused the cholesterol levels to decrease in both the milk and the cheeses to a level of 5.55 mg/100 g and 88.48 mg/100g, respectively. Based on the analysis of the simultaneous effect of the two factors, it was proved that, along with the increasing pasteurization temperature, the level of cholesterol in cheeses decreased to a greater degree in those products that were made from homogenized milk.

Key words: milk, bundz type rennet cheeses, pasteurization, homogenization, cholesterol 

ANNA KAMIŃSKA-DWÓRZNICKA, KATARZYNA SAMBORSKA,
KATARZYNA RYBAK

WPŁYW HYDROLIZATÓW KAPPA KARAGENU NA OGRANICZENIE NADMIERNEGO WZROSTU KRYSZTAŁÓW LODU W LODACH MLECZNYCH

Streszczenie

Celem pracy było pozyskanie nowych substancji stabilizujących i zaprojektowanie układu mającego na celu ograniczenie procesu rekrytalizacji w trakcie przechowywania lodów mlecznych. Pierwszy etap badań obejmował proces hydrolizy kwasowej κ -karagenu, z wykorzystaniem H_2SO_4 i HCl. Przy użyciu chromatografii żelowej SEC określono masę cząsteczkową otrzymanych hydrolizatów. Następnie podjęto próbę wykorzystania otrzymanych związków jako stabilizatorów do lodów mlecznych. Kolejnym etapem badań była analiza procesu rekrytalizacji na podstawie fotografii kryształów lodu wykonanych po przygotowaniu lodów mlecznych, po tygodniu oraz po miesiącu ich przechowywania, za pomocą mikroskopu Alphaphot-2 YS2 i kamery Nikon DS-F. W badanych próbkach oprócz κ -karagenu i jego pochodnych zastosowano również dodatek żelatyny, gumy guar, alkoholu i gotowych mieszanek stabilizujących firmy Danisco (DuPont).

Hydroliza kwasowa z zastosowaniem HCl i H_2SO_4 wpłynęła na redukcję masy cząsteczkowej κ -karagenu ok. 10-krotnie. Na podstawie fotografii kryształów lodu zawartych w lodach mlecznych stwierdzono, że obecność hydrolizatów κ -karagenu miała większy wpływ na ograniczenie procesu rekrytalizacji niż dodatek samego κ -karagenu czy dodatek przemysłowych mieszanek stabilizujących. Po miesiącu przechowania średnica kryształów lodu w próbkach lodów z dodatkiem hydrolizatu κ -karagenu uzyskanego po hydrolizie HCl nie przekroczyła 16 μm , podczas gdy w próbkach z dodatkiem niehydrolizowanego κ -karagenu, po tym samym czasie – przekraczała 25 μm .

Słowa kluczowe: lody mleczne, κ -karagen, hydrolizat, rekrytalizacja

Wprowadzenie

Lody są mrożonym deserem o wyjątkowych cechach sensorycznych. Podczas przechowywania zachodzą w nich niepożądane zmiany, m.in. proces rekrystalizacji lodu, ubytek powietrza (lub azotu, w zależności od technologii produkcji), krystalizacja laktozy czy utrata trwałości produktu. Jednym z głównych problemów w trakcie przechowywania lodów jest utrzymanie stałej temperatury, która ma znaczący wpływ na jakość produktu. Już niewielkie jej wahania przyczyniają się do inicjacji procesu rekrystalizacji lodu. Polega ona na wzroście kryształów w trakcie przechowywania lodów [8, 10, 24]. Naturę tego zjawiska tłumaczy się na podstawie dwóch modeli: koalescencji i migracji [8,15,16]. Koalescencja polega na łączeniu dwóch małych kryształów, które sąsiadują ze sobą, w jeden duży. Jest to możliwe przez wytworzenie mostków wodorowych z dyfundujących cząstek wody między kryształami [26]. Migracja związana jest z topnieniem małych kryształów lodu w wyniku wzrostu temperatury. Po kolejnym obniżeniu temperatury powstała woda zamraża na powierzchni dużych kryształów. Według modelu Ostwalda, prężność pary wodnej nad powierzchnią kryształu lodu jest odwrotnie proporcjonalna do jego promienia. Siłą napędową procesu dyfuzji cząsteczek wody od mniejszych do większych kryształów jest różnica ciśnień cząstkowych pomiędzy powierzchniami takich kryształów [11, 14]. Rozwiązaniem problemu z nadmiernym wzrostem kryształów lodu w trakcie przechowywania mrożonek jest odpowiedni dobór stabilizatora, który może zmniejszyć, a nawet całkowicie wyeliminować zjawisko tworzenia się wyczuwalnych kryształów lodu (powyżej 25 μm) w gotowym produkcie [1, 10, 15]. W większości lodów dodatek substancji stabilizująco-emulgujących jest niezbędny, jeśli chce się uzyskać ich odpowiednią konsystencję i strukturę. Wpływają one także na: wiązanie wody wolnej, zwiększenie lepkości i gęstości układu, utrwalenie emulsji, wydłużenie czasu topnienia produktu, zmniejszenie odczucia zimna w ustach podczas spożywania itd. Adapa i wsp. [1] stwierdzili, że stabilizatory działają w dwojaki sposób: (1) absorbują wodę i zmniejszają jej udział w mieszance lodowej, (2) zwiększają lepkość układu, dzięki czemu obniżają stopień dyfuzji wody wolnej. Wybrane stabilizatory we wzajemnym połączeniu wykazują działanie synergistyczne. Łącząc różne substancje o charakterze stabilizatorów, można uzyskać lepszy efekt bądź całkowicie wyeliminować efekty niepożądane.

Karageny stosowane jako stabilizatory charakteryzują się masą cząsteczkową powyżej $10 \cdot 10^5$ Da. Aby uzyskać oligosacharydy o nowych właściwościach stabilizujących, stosuje się proces hydrolizy polisacharydów, np. κ -karagenu. Hydrolizaty κ -karagenu nie mogą mieć mniejszej masy cząsteczkowej niż 10^5 Da, ponieważ mogłyby negatywnie wpływać na układ pokarmowy człowieka [4]. Natomiast część hydrolizatów κ -karagenu (wybrane frakcje) może wykazywać działanie ochronne, a nawet zapobiegać powstawaniu niektórych rodzajów komórek nowotworowych w układach biologicznych [13]. Różne frakcje karagenu ulegają rozpadowi w trakcie hydrolizy

z różną prędkością, κ -karagen – najszybciej, ι -karagen o połowę wolniej, natomiast λ -karagen ze znacznie mniejszą prędkością [12]. Yang i wsp. [27] udowodnili, że w wyniku hydrolizy kwasowej powstają hydrolizaty o różnych masach cząsteczkowych, przez co proces ten jest trudny do kontrolowania.

Celem pracy było określenie wpływu dodatku hydrolizatów κ -karagenu do mieszanki lodowej na przebieg procesu rekryształizacji lodu w lodach mlecznych podczas zamrażalniczego przechowywania.

Material i metody badań

Material doświadczalny stanowiły lody mleczne. Mieszanka, z której przygotowywano lody zawierała: 24,2 % śmietany (o 30-procentowej zawartości tłuszczu), 56,2 % odtłuszczonego (0,5 %) mleka, 5 % odtłuszczonego mleka w proszku, 10 % sacharozy i od 4,25 do 4,35 % glukozy, tak, aby suma składników z dodatkiem mieszanek stabilizujących wynosiła 100 %. Przygotowano 5 wariantów lodów z substancjami stabilizującymi, oznaczonych symbolami od A do E:

- A – żelatyna (0,125 %), guma guar (0,125 %), κ -karagen (0,1 %),
- B – żelatyna (0,125 %), guma guar (0,125 %), hydrolizat κ -karagenu po hydrolizie HCl (0,005 %),
- C – żelatyna (0,125 %), guma guar (0,125 %), hydrolizat κ -karagenu po hydrolizie H_2SO_4 (0,005 %),
- D – Cremodan Danisco (DuPont) (0,25 %), zawierający mieszankę mono- i diacylogliceroli,
- E – żelatyna (0,125 %), guma guar (0,125 %), alkohol (0,05 %).

Pochodne karagenu były użyte w stężeniu, które wynikało bezpośrednio ze sposobu przygotowania próbek hydrolizatów. Hydrolizę κ -karagenu przeprowadzano przy użyciu kwasu solnego (HCl) lub kwasu siarkowego (H_2SO_4), przy pH = 3,0 i w temp. 60 °C. Po upływie określonego czasu (H_2SO_4 – 1 i 1,5 h, HCl – 3 h), zgodnie z metodą Karlssona i Singha [20], próbki neutralizowano za pomocą NaOH. Masę cząsteczkową otrzymanych hydrolizatów wyznaczano przy użyciu chromatografii żelowej SEC (ang. *Size Exclusion Chromatography*). Masa cząsteczkowa zdegradowanego κ -karagenu po 3 h hydrolizy kwasem solnym wynosiła $2,7 \cdot 10^6$ Da, a po 1,5 h hydrolizy kwasem siarkowym(VI) – $3,2 \cdot 10^6$ Da [17].

Mieszanki z dodatkiem stabilizatorów były pasteryzowane w temp. 85 °C przez 3 s i natychmiast schładzane do temp. 20 ± 2 °C, po czym przenoszono je do chłodni (temp. 4 °C) na okres dojrzewania (minimum 18 h). Wśród stabilizatorów wyjątek stanowił alkohol dodawany po procesie pasteryzacji. Po okresie dojrzewania mieszanki przenoszono na 40 min do frezera NemoxGelato Pro 1700 w celu uzyskania lodów, a następnie gotowy produkt pakowano do pojemników o pojemności 0,5 l i przechowywano przez 1 miesiąc w temp. -18 °C. W celu wykonania analizy mikroskopowej

obrazu lodów (po: 1 h, 1 tygodniu i 1 miesiącu od momenty wyprodukowania) pobierano szpatułką, z odległości około 20 mm od powierzchni, niewielką ilość materiału do badań na schłodzone szkiełko mikroskopowe i nakładano również schłodzone szkiełko nakrywkowe. Zdjęcia wykonywano za pomocą mikroskopu, model Alphaphot-2YS2 (NIKON, Japonia) i kamery firmy Nikon DS-F (Japonia). Urządzenia były przystosowane do wykonywania zdjęć w temperaturze ujemnej dzięki zastosowanemu systemowi chłodzenia LinkamScientific PE94 [info@linkam.co.uk]. Następnie otrzymany obraz analizowano za pomocą programu NIS Elements D, aby wyznaczyć powierzchnię i średnicę zastępczą kryształów lodu.

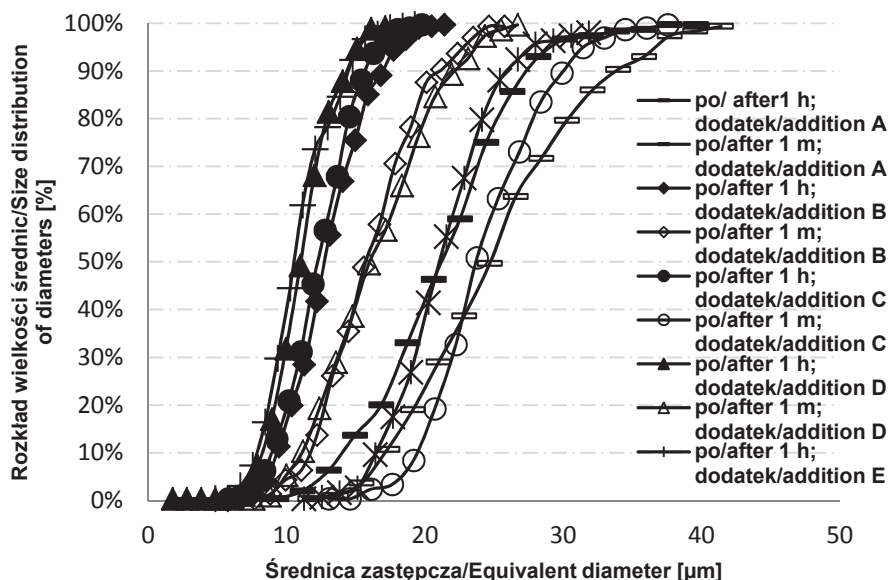
Analiza jednej próbki lodów wymagała precyzyjnego obrysowania powierzchni od 300 do 500 kryształów. Pole powierzchni każdego kryształu było obliczane w programie NIS Elements D automatycznie. Na podstawie pola powierzchni obliczana była również średnica zastępcza każdego kryształu i odchylenie standardowe. Z rozkładu średnic kryształów lodu, przygotowanych za pomocą analizy danych w programie Microsoft Excel 2011, parametr X_{50} – uśredniona wielkość z 50 % średnic kryształów lodu w danej próbce po określonym czasie przechowywania, był analizowany metodą stosowaną przez Flores i Goff [6, 7], oraz Regand i Goff [25].

Wyniki i dyskusja

Na rys. 1. przedstawiono graficzny rozkład wielkości średnic kryształów lodu w przechowywanych (przez 1 h i 1 miesiąc) lodach mlecznych, z udziałem pięciu wariantów dodatków stabilizujących.

Największą średnicę kryształów zaobserwowano w lodach z dodatkiem mieszanki A (żelatyna + guma guar + κ -karagen) zarówno po godzinie, jak i po miesiącu przechowywania. Analiza histogramu (rys. 1) oraz krzywych rekrytalizacji (rys. 2) pozwala stwierdzić, że 50 % kryształów lodu w próbce po godzinie przechowywania w temp. $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ odznaczało się średnicą na poziomie $20\text{ }\mu\text{m}$, a po miesiącu przechowywania wartości te osiągnęły próg wyczuwalności, definiowany na poziomie $25\text{ }\mu\text{m}$ [2, 3]. Regand i Goff [25] w badaniach modelowych z dodatkiem białek mleka wykazali, że interakcje na poziomie molekularnym między białkami mleka a stabilizatorami polisacharydowymi, takimi jak κ -karagen, mogą ograniczać ich zdolności do hamowania nadmiernego wzrostu kryształów lodu. Potwierdzono, że sam κ -karagen jest lepszym stabilizatorem lodów wodnych niż ι -karagen, który lepiej stabilizuje lody melczne [1, 15, 16].

Nie bez wpływu na rozmiar powstających kryształów lodu jest również dodatek żelatyny i gumy guar, ale jak sprawdzono, żelujące działanie niektórych stabilizatorów nie jest jedynym i najważniejszym czynnikiem wpływającym na ograniczanie procesów rekrytalizacji [23, 24].



Objaśnienia: / Explanatory notes:

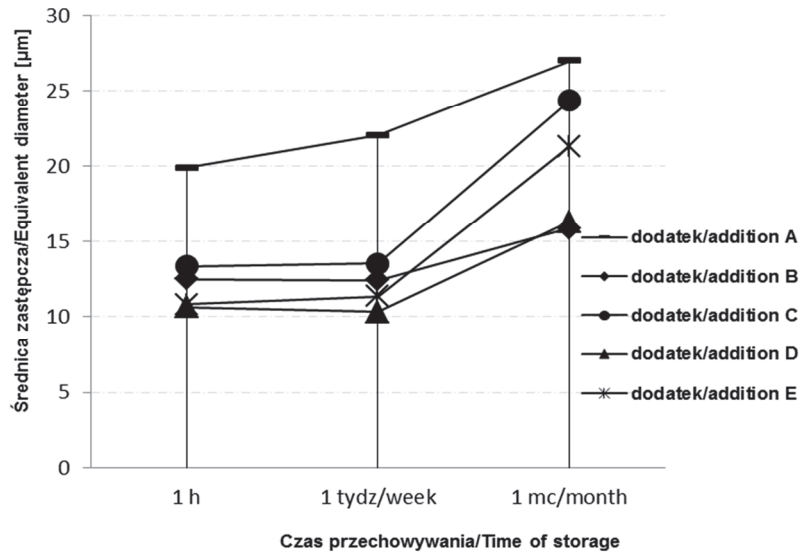
Warianty lodów mlecznych z dodatkiem substancji stabilizujących: / Ice cream variants with stabilizing substances addend:

A – żelatyna (0,125 %), guma guar (0,125 %), κ -karagen (0,1 %) / gelatine (0.125 %), guar gum (0.125 %), κ -carrageenan (0.1 %); B – żelatyna (0,125 %), guma guar (0,125 %), hydrolizat κ -karagenu po hydrolizie HCl (0,005 %) / gelatine (0.125 %), guar gum (0.125 %), κ -carrageenan hydrolysate after hydrolysis with HCl (0.005 %); C – żelatyna (0,125 %), guma guar (0,125 %), hydrolizat κ -karagenu po hydrolizie H_2SO_4 (0,005 %) / gelatine (0.125 %), guar gum (0.125 %), κ -carrageenan hydrolysate after hydrolysis with H_2SO_4 (0.005 %); D – Cremodan Danisco (DuPont) (0,25 %) / Cremodan Danisco (DuPont) stabilizing mixture (0.25 %); E – żelatyna (0,125 %), guma guar (0,125 %), alkohol (0,05 %) / gelatine (0.125 %), guar gum (0.125 %), alcohol (0.05 %).

Rys. 1. Wpływ dodatków stabilizujących na zmiany średnicy zastępczej kryształów lodu w lodach mlecznych, po 1 h i 1 miesiącu przechowywania w temp. $-18\text{ }^\circ\text{C}$

Fig. 1. Effect of stabilizing additives on changes in equivalent diameter of ice crystals in ice creams after one hour and one month of storing them at $-18\text{ }^\circ\text{C}$ of temperature

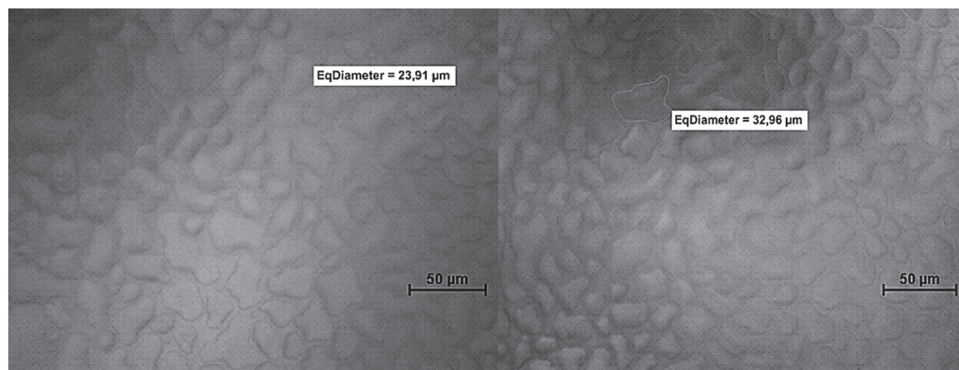
Analiza fotografii (fot. 1. – A1 i A2) wskazuje, że w próbkach badanych lodów przeważały procesy koalescencji między sąsiadującymi kryształami lodu. Dowodzą tego wymiar i nieregularność kryształów lodu w próbce po miesiącu przechowywania (fot. 1. – A2).



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

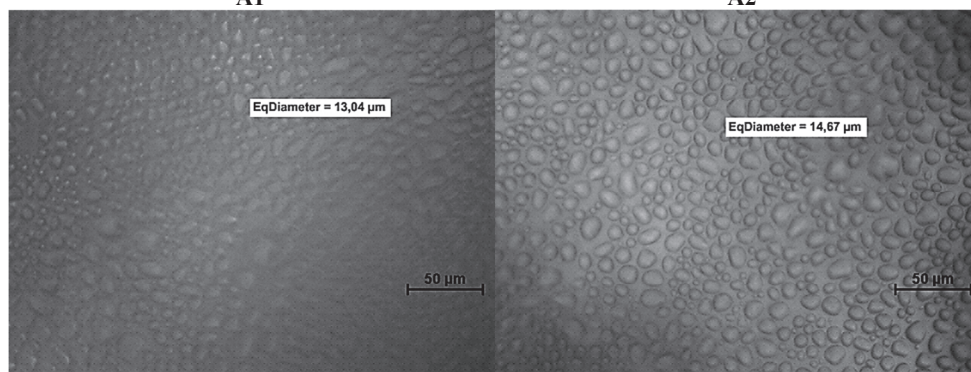
Rys. 2. Krzywe rekrytalizacji lodów mlecznych z dodatkiem substancji stabilizujących
 Fig. 2. Recrystallization curves of Ice creams with stabilizing substances added

Dobre i porównywalne wyniki w ograniczaniu nadmiernego wzrostu kryształów lodu uzyskano w przypadku dodatków B i D, przy czym mieszanka D stanowiła standardowe substancje stabilizujące, stosowane do produkcji lodów mlecznych, o nazwie handlowej Cremodan (DuPont). Dodatek mieszanki B (żelatyna + guma guar + hydrolyzат κ-karagenu po hydrolizie HCl) spowodował bardzo dobry efekt stabilizujący. W trakcie przechowywania tej wersji lodów (1 miesiąc) średnica kryształów lodu wzrosła jedynie o ok. 4 μm (rys. 2). Z analizy wartości parametru X_{50} (rys. 1) wynika, że po godzinie przechowywania próbek lodów z dodatkiem mieszanki B w temp. -18 °C, 50 % kryształów odznaczało się średnią średnicą na poziomie 13 μm, a po miesiącu w tych samych warunkach 50 % średnic kryształów lodu osiągnęło poziom 16 μm. Dobre efekty uzyskano przy przechowywaniu w tych samych warunkach sorbetu truskawkowego z dodatkiem hydrolyzatu κ-karagenu po hydrolizie HCl [19].



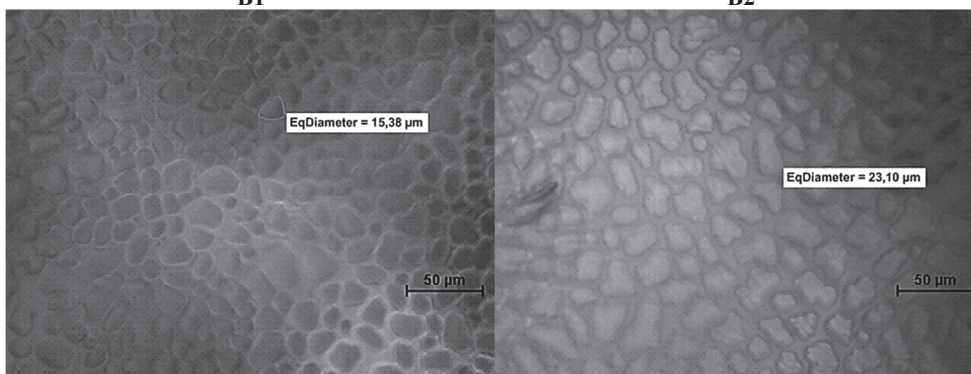
A1

A2



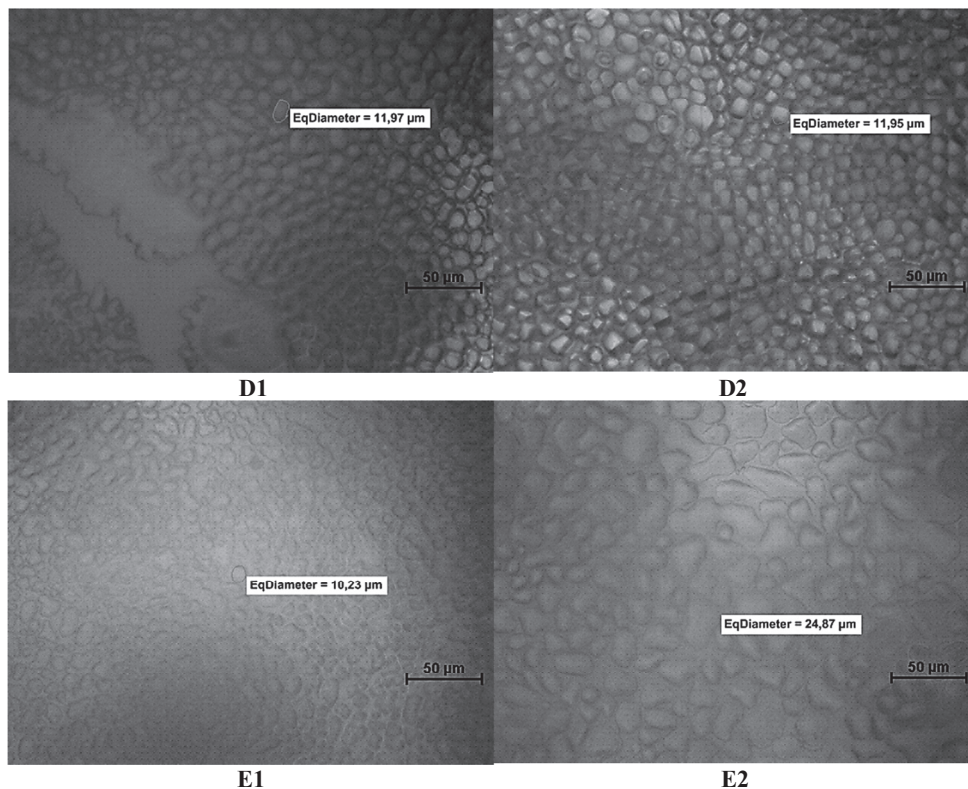
B1

B2



C1

C2



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

Fot. 1. Fotografie kryształów lodu w lodach mlecznych z dodatkiem substancji stabilizujących, po 1 h (1) i po 1 miesiącu (2) przechowywania w temp. $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$

Phot. 1. Images of ice crystals in ice creams with stabilizing substances added after one hour (1) and one month (2) of storing them at $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ of temperature

Niewielkie zmiany struktury i wielkości kryształów widoczne są na fot. 1. (B1 i B2). Kryształy są regularne, o zaokrąglonych krawędziach, z frakcją bardzo drobnych kryształków znajdujących się między większymi kryształami. Mimo że w próbkach z dwoma dodatkami (B i D) średnice kryształów lodu po miesiącu były porównywalne pod względem wielkości, to jednak w lodach z dodatkiem Cremodanu (dodatek D) powstawały kryształy o wyraźnie zarysowanych krawędziach, dość gęsto upakowane i trudno było dostrzec wolne przestrzenie między nimi (fot. 1 – D2). Tak dobrych efektów nie uzyskano po zastosowaniu drugiego hydrolizatu w mieszance dodatków, oznaczonej jako C (żelatyna + guma guar + hydrolizat karagenu po hydrolizie H_2SO_4). W przypadku tej próbki wartość parametru X_{50} (rys. 1) po miesiącu przechowywania lodów w temp. $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ odpowiadała wartościom próbek z niehydrolizowanym

κ -karagenem – różnica wynosiła 1 - 2 μm . W lodach z dodatkiem obu hydrolizatów (mieszanki B i C), wielkość kryształów lodu po godzinie od zakończenia procesu produkcji praktycznie nie uległa zmianie (rys. 2). W ciągu miesiąca przechowywania średnica kryształów lodu w próbkach z dodatkiem C wzrosła o ok. 10 μm . Kamińska-Dwórznicza i wsp. [20] wykazali, że ten rodzaj hydrolizatu sprawdzał się jako dodatek ograniczający nadmierny wzrost kryształów lodu w lodach typu sorbet.

Duży wzrost kryształów w trakcie przechowywania zaobserwowano również w lodach z dodatkiem alkoholu – mieszanka E (żelatyna + guma guar + alkohol). Po godzinie przechowywania wartość parametru X_{50} była na poziomie 11 μm , podobnie jak w próbce z dodatkiem Cremodanu (D). Po upływie miesiąca od produkcji lodów 50 % kryształów lodu charakteryzowało się średnią średnicą na poziomie 21 μm , co wciąż oznacza ograniczenie wzrostu kryształów poniżej progu odczucia piaszczystości w lodach spożywczych, tj. poniżej 25 μm . Alkohol jest bardzo dobrym krioprotektantem. Na fotografiach struktury lodów z dodatkiem alkoholu, po godzinie i po miesiącu przechowywania w temp. $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, widoczne były niewielkie zmiany pod względem morfologii kryształów lodu, zauważalny był jedynie ich wzrost (fot. 1 – E1 i E2).

Hydrolizaty κ -karagenu zachowały częściowo właściwości żelujące, co można było zaobserwować tuż po procesie ich otrzymania (hydrolizy). Prawdopodobnie tworzą one żełe o zmienionych w stosunku do żeli karagenowych właściwościach. Można przypuszczać, że będą wpływać na ograniczenie dostępności wody, a tym samym na rekrytalizację typu topnienie – wzrost zamiast topnienie – dyfuzja – wzrost, co może skutkować nieznacznym wzrostem średnic kryształów lodu w trakcie przechowywania lodów spożywczych. Biorąc pod uwagę wyniki wcześniejszych badań naukowych [5, 21, 22, 23, 24], właściwości żelujące nie muszą być jedynym i determinującym czynnikiem ograniczania procesów nadmiernej rekrytalizacji lodu. Powstałe hydrolizaty to prawdopodobnie oligosacharydy, które po wprowadzeniu do roztworu wodnego mogą ulegać hydratacji i w ten sposób ograniczać zdolność całego roztworu do organizowania struktury w kierunku sieci krystalicznej [18, 19].

Gaukel i wsp. [9] sformułowali tezę, zgodnie z którą κ -karagen może ograniczać nadmierną rekrytalizację w podobny sposób jak ochronne białko określane jako AFP (*antifreeze protein*). Hydrolizaty κ -karagenu o zmniejszonej masie cząsteczkowej byłyby zatem bardziej zbliżone do wspomnianych białek ochronnych z uwagi na samą masę. Teza ta może jednak wzbudzać wiele wątpliwości, chociażby dotyczących odmiennych mechanizmów działania dwóch zupełnie różnych związków, czyli polisacharydu (κ -karagen) i białka (AFP) [18]. Dlatego też, aby spróbować opisać mechanizm działania hydrolizatów κ -karagenu, należałoby lepiej poznać ich budowę i szeroko rozumiane właściwości fizykochemiczne [19].

Wnioski

1. Zadawalający efekt ograniczania nadmiernego wzrostu kryształów lodu w lodach mlecznych uzyskano w próbkach z dodatkiem hydrolizatów kappa karagenu po hydrolizie z użyciem HCl.
2. Porównywalne średnice kryształów lodu stwierdzono w lodach z dodatkiem hydrolizatów κ -karagenu po hydrolizie kwasem solnym i w lodach z dodatkiem standardowej mieszanki o nazwie handlowej CremodanDanisco (DuPont). Po miesiącu przechowywania średnice kryształów lodu w obu próbkach nie przekraczały 16 μm .
3. Hydrolizat κ -karagenu po hydrolizie z użyciem H_2SO_4 nie wpływał na ograniczenie nadmiernego wzrostu kryształów lodu, a ich średnica po miesiącu przechowywania odpowiadała średnicom kryształów w lodach z dodatkiem niehydrolizowanego κ -karagenu i wynosiła 25 μm .
4. W lodach z dodatkiem alkoholu stwierdzono wzrost średnic kryształów lodu w trakcie procesu przechowywania o ponad 10 μm , przy czym wielkość tych kryształów pozostała na poziomie nieprzekraczającym progu odczucia piaszczystości czyli poniżej 25 μm .

Artykuł został opracowany na podstawie badań finansowanych przez Narodowe Centrum Nauki w latach 2010-2014.

Literatura

- [1] Adapa S., Schmidt K.A., Jeon I.J., Herald T.J., Flores R.A.: Mechanisms of ice crystallization and recrystallization in ice cream: a review. *Food Rev. Int.*, 2000, **3** (16), 259-271.
- [2] Amamou A.H., Benkhelifa H., Alvarez G., Flick D.: Study of crystal size evolution by focused-beam reflectance measurement during the freezing of sucrose/water solutions in a scraped-surface heat exchanger. *Process Biochemistry*, 2010, **45**, 1821-1825.
- [3] Arellano M., Flick D., Benkhelifa H., Alvarez, G.: Rheological characterization of sorbet using pipe rheometry during the freezing process. *J. Food Eng.*, 2013, **119**, 385-394.
- [4] Delahunty T., Recher L., Hollander D.: Intestinal permeability changes in rodents: a possible mechanism for degraded carrageenan-induced colitis. *Food Chem. Toxicol.*, 1987, **25**, 113-118.
- [5] Drewett E.M., Hartel R.W.: Ice crystallization in a scraped surface freezer. *J. Food Eng.*, 2007, **78**, 1060-1066.
- [6] Flores A.A., Goff H.D.: Ice crystal size distributions in dynamically frozen model solutions and ice cream as affected by stabilizers. *J. Dairy Sci.*, 1999, **82**, 1399-1407.
- [7] Flores A.A., Goff H.D.: Recrystallization in ice cream after constant and cycling temperature storage conditions as affected by stabilizers. *J. Dairy Sci.*, 1999, **82**, 1408-1415.
- [8] Gaukel V., Karl A., Muller K., Spiess W.E.L.: Einfluss von Antifrierproteinen auf die Rekristallisation von Eisin Modelllösungen für Eiskrem. *Chem. In. Technol.*, 2003, **4** (74), 454-459.
- [9] Gaukel V., Leiter A., Spiess W.E.L.: Synergism of different fish antifreeze proteins and hydrocolloids on recrystallization inhibition of ice in sucrose solutions. *J. Food Eng.*, 2014, **141**, 44-50.

- [10] Goff H.D., Caldwell K.B., Stanley D.W., Maurice T.J.: Influence of polysaccharides on the glass transition in frozen sucrose solutions and ice cream. *J. Dairy Sci.*, 1993, **76**, 1268-1277.
- [11] Gruda Z., Postolski J.: *Zamrażanie żywności*. Wyd. 3. WNT, Warszawa 1999, ss. 73-137.
- [12] Guiseley K.B., Stanley N.F., Whitehouse P.A.: Carrageenan. In: *Handbook of Water-Soluble Gums and Resins* ed. by Davidson R. L., McGraw-Hill, New York 1980, pp. 51-85.
- [13] Haijin M., Xiaolu J., Huashi G.: A κ -carrageenan derived oligosaccharide prepared by enzymatic degradation containing anti-tumor activity. *J. Appl. Phycol.*, 2003, **15**, 297-303.
- [14] Heiss R., Eichner K.: *HaltbarmachenvoeLebensmitteln. Chemische, physikalische und mikrobiologische Grundlagen der Verfahren*. Ayflage. Springer, Berlin 2002, pp. 169-170.
- [15] Kamińska A., Lewicki P.P.: Metody ograniczania krystalizacji lodu w procesie zamrażania. *Przem. Spoż.*, 2008, **9 (62)**, 24-28.
- [16] Kamińska A., Gäükel V.: Kontrola wzrostu kryształów w lodach spożywczych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, **1 (62)**, 57-64.
- [17] Kamińska A., Tarnowska E.: Wpływ dodatków stabilizujących na strukturę kryształów lodu, jakość sensoryczną i właściwości fizyczne lodów mlecznych. W: *Wpływ procesów technologicznych na właściwości materiałów i surowców roślinnych*. PAN, Warszawa 2010, ss. 57-67.
- [18] Kamińska-Dwórznicza A., Ulanicka U.K.: Badanie udziału wody wymrożonej i niewymrożonej po zamrożeniu roztworów modelowych sacharozy bez dodatku i z dodatkiem substancji ochronnych. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 2012, **571**, 59-66.
- [19] Kamińska-Dwórznicza A., Antczak A., Samborska K., Lenart A.: Acid hydrolysis of kappa-carrageenan as a way of gaining new substances for freezing process modification and protection from excessive recrystallization of ice. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2015, **5 (8)**, 1799-1806.
- [20] Kamińska-Dwórznicza A., Matusiak M., Samborska K., Witrowa-Rajchert D., Gondek E., Jakubczyk E., Antczak A.: The influence of kappa carrageenan and its hydrolysates on the recrystallization process in sorbet. *J. Food Eng.*, 2015, **167**, part B, 162-165.
- [21] Karlsson A., Singh S.K.: Acid hydrolysis of sulphated polysaccharides. Desulphation and the effect on molecular mass. *Carbohydrate Polymers*, 1999, **38**, 7-15.
- [22] Kluza F., Kozłowicz K.: Gel products properties influenced by freezing in different conditions. *Int. J. Refrig.*, 2012, **35**, 1715-1721.
- [23] Kozłowicz K.: Charakterystyka wykorzystania wybranych substancji kriochronnych w zamrażaniu i przechowywaniu żywności. *Acta Sci. Pol.*, 2012, **11 (3-4)**, 13-24.
- [24] Regand A., Goff H.D.: Effect of biopolymers on structure and ice recrystallization in dynamically frozen ice cream model system. *J. Dairy Sci.*, 2002, **85**, 2722-2732.
- [25] Regand A., Goff H.D.: Structure and ice recrystallization in frozen stabilized ice cream model systems. *Food Hydrocoll.*, 2003, **17**, 95-102.
- [26] Sutton R.L., Wilcox J.: Recrystallization in model ice cream solution as affected by stabilizer concentration. *J. Food Sci.*, 1998, **61**, 9-11.
- [27] Yang B., Yu G., Zhao X., Jiao G., Ren S., Chai W.: Mechanism of mild acid hydrolysis of galactan polysaccharides with highly ordered disaccharide repeats leading to a complete series of exclusively odd-numbered oligosaccharides. *FEBS J.*, 2009, **7 (276)**, 2125-2137.

EFFECT OF KAPPA CARRAGEENAN HYDROLYSATES ON LIMITING EXCESSIVE ICE CRYSTALS GROWTH IN ICE CREAMS

S u m m a r y

The objective of the research study was to produce new stabilizing substances and to develop a system to reduce the recrystallization process while storing ice cream products. The first stage of the research comprised an acid hydrolysis process of κ -carrageenan with the use of H_2SO_4 and HCl. A SEC gel permeation chromatography was applied to determine the weight of the hydrolysates produced. Then, an attempt was made to utilize the compounds produced as stabilizers for ice creams. The next research stage was to analyze, with the use of Alphaphot-2 YS2 microscope and Nikon DS-F camera, the process of recrystallization on the basis of the ice crystals images taken instantly after the ice creams were made, after one week and, next, one month of storing them. In addition to κ -carrageenan and its derivatives, gelatin, guar gum, alcohol, and ready-mixed stabilizing mixtures manufactured by Danisco Co. (DuPont) were added to the samples investigated.

The acid hydrolysis with the use of H_2SO_4 and HCl caused the molar mass of κ -carrageenan to decrease by ca. 10 times. Based on the images of ice crystals contained in ice cream products, it was found that the presence of κ -carrageenan hydrolysates had a greater effect on reducing the recrystallization process than the addition of κ -carrageenan alone or the addition of industrial compound stabilizers. As regards the ice cream samples with the added κ -carrageenan hydrolysate after hydrolysis with HCl, after one month of storing the ice creams, the equivalent diameter of ice crystals therein did not exceed 16 μm , whereas, as regards the ice cream samples stored for one month and with the non-hydrolyzed κ -carrageenan added, that diameter exceeded 25 μm .

Key words: ice creams, kappa carrageenan, hydrolysate, recrystallization ☒

WIESŁAW PRZYBYLSKI, MAGDALENA SOT, ELZBIETA OLCZAK,
KINGA BORUSZEWSKA

WPLYW STĘŻENIA GLUKOZY I TRIACYLOGLICEROLI W SUROWICY KRWI NA JAKOŚĆ TUSZY I MIĘSA TUCZNIKÓW

Streszczenie

Celem pracy było określenie zależności pomiędzy stężeniem lipidów i glukozy w surowicy krwi świń a parametrami charakteryzującymi jakość tuszy i mięsa wieprzowego. Badania wykonano na materiale 54 tuczników (36 wieprzków i 18 loszek) pochodzących z krzyżowania loszek Naïma z knurami P76 z linii hybrydowej P76-PenArLan. Bezpośrednio po uboju, z tętnic szyjnych pobrano próbki krwi tuczników. W surowicy krwi oznaczono stężenie: glukozy, triacylogliceroli (TG), cholesterolu całkowitego (CHOL) i HDL oraz wyliczono cholesterol LDL. Po uboju określono zawartość mięsa w tuszach aparatem CGM. W mięśniu *longissimus dorsi* (LD) oznaczono: wartość pH po 45 min, 3 h i 24 h od uboju (na wysokości ostatniego żebra), parametry barwy L*, a*, b*, wyciek naturalny i potencjał glikolityczny. Pomędzy badanymi cechami obliczono współczynniki korelacji. Na podstawie zawartości glukozy w surowicy krwi wyodrębniono dwie grupy świń w badanej populacji, różniące się profilem lipidów i stężeniem glukozy oraz jakością mięsa. Mięso świń w grupie charakteryzującej się wyższym poziomem triacylogliceroli (103,13 mg/100 ml vs. 76,32 mg/100 ml) i glukozy (137,87 mg/100 ml vs. 81,98 mg/100 ml) charakteryzowało się niższym pH po 45 min (6,34 vs. 6,54), po 3 h (6,12 vs. 6,33) i po 24 h (5,50 vs. 5,58) *post mortem* oraz wyższym potencjałem glikolitycznym (148,36 μ mol/g vs. 134,90 μ mol/g) i większym wyciekiem naturalnym (5,11 % vs. 3,95 %). Wykazano istotne ($p \leq 0,05$) zależności pomiędzy stężeniem lipidów w surowicy krwi i poziomem glukozy a cechami wartości rzeźnej i parametrami określającymi jakość mięsa ($r = -0,28 \div 0,41$).

Słowa kluczowe: mięso wieprzowe, stężenie lipidów w surowicy krwi, stężenie glukozy w surowicy krwi, jakość mięsa

Wprowadzenie

Mięso wieprzowe zajmuje ważne miejsce wśród surowców mięsnych. W 2012 roku wieprzowina stanowiła 36 % światowej produkcji mięsa [13]. W Polsce udział produkcji mięsa wieprzowego w ogólnej produkcji żywca rzeźnego w przeliczeniu na mięso zmniejszył się od roku 2005 z 58,5 % do 43,4 % w roku 2013, jednak nadal w strukturze spożycia mięso to stanowi 55,6 % [13]. Jest ono spożywane z uwagi na ugruntowane przyzwyczajenia i tradycje kulinarne oraz stosunkowo przystępne ceny. Dietetycy zalecają spożywanie mięsa i przetworów mięsnych o małej zawartości tłuszczu, stąd i konsumenci poszukują właśnie takiej wieprzowiny. Realizowane od kilkadziesiąt lat prace hodowlane doprowadziły do znaczącego zmniejszenia otłuszczenia tusz wieprzowych. W tuszach nastąpił istotny wzrost zawartości mięsa chudego, a wartość odżywcza i prozdrowotna uległy znacznej poprawie [4]. Nie zawsze jednak mięso to charakteryzuje się wysoką jakością sensoryczną i technologiczną, dlatego też właściwości wieprzowiny są nadal przedmiotem badań.

Czynniki wpływające na jakość technologiczną i sensoryczną wieprzowiny można podzielić na genetyczne i środowiskowe [4, 21, 25]. Pomimo poznania wielu z nich, występuje jeszcze znacząca część niewyjaśnionej zmienności cech charakteryzujących jakość tego mięsa. W ostatnim okresie zwrócono uwagę na badania z zakresu oceny powiązania cech jakości mięsa z metabolitami oznaczanymi we krwi świń [1, 6, 8, 11, 23]. W badaniach tych wykazano zależności stężenia leptyny w surowicy krwi z cechami wartości rzeźnej [1, 23], profilu lipidowego w surowicy z cechami jakości mięsa [23] oraz poziomu glukozy i kwasu mlekowego z cechami jakości mięsa i wartości rzeźnej [6, 8, 11]. Wyniki takich powiązań mają więc wartość prognostyczną, jak również umożliwiają monitorowanie stresu przedubojowego.

Celem pracy było określenie powiązania stężenia lipidów i glukozy w surowicy krwi z parametrami charakteryzującymi wartość rzeźną tusz i wyróżnikami jakości mięsa wieprzowego.

Material i metody badań

Badania wykonano na materiale 54 tuczników (36 wieprzków i 18 loszek) pochodzących z krzyżowania loszek linii Naïma z knurami hybrydami P76 firmy PenArLan. Wszystkie badane tuczniaki utrzymywane były w jednakowych warunkach środowiskowych i żywione mieszankami pełnoporcjowymi z nieograniczonym dostępem do wody. Czas trwania tuczu wszystkich tuczników był jednakowy i wynosił 165 dni. Po zakończeniu tuczu zwierzęta były ubijane w rzeźni według obowiązującej technologii (2-godzinny odpoczynek przedubojowy, automatyczne oszałamianie elektryczne, wykrwawianie w pozycji horyzontalnej). Krew tuczników pobierano do próbek zawierających EDTA bezpośrednio po uboju, podczas ich wykrwawiania po otwarciu tętnic

szyjnych. Pobraną krew odwirowywano w wirówce MPW 350 (Med. Instruments, Polska) przy 3000 rpm (1470 g) przez 10 min. Otrzymaną surowicę krwi zamrażano w temp. $-82\text{ }^{\circ}\text{C}$ i stopniowo używano do analiz. W surowicy oznaczano stężenie: glukozy, triacylogliceroli (TG), cholesterolu całkowitego (CHOL) i HDL –z użyciem zestawu PTH Hydrex (Hydrex Diagnostics Sp. z o.o. Sp. kom., Warszawa). Stężenie cholesterolu LDL wyliczano z równania: $\text{LDL} = \text{CHOL} - (\text{TG}/5 + \text{HDL})$.

Po uboju, na ciepłych wiszących tuszach określano grubość schabu i słoniny aparatem CGM (Sydel, Francja) a następnie na ich podstawie obliczono zawartość mięsa według Borzuty [5]. Parametry jakości mięsa określano w próbkach *m. longissimus dorsi* (LD) za ostatnim żebrzem (część lędźwiowa). Wartość pH mierzono po 45 min (pH_1), 3 h (pH_3) i 24 h (pH_{24}) od uboju, bezpośrednio w tkance mięśniowej, za pomocą pH-metru WTW 330 (Weilheim, Niemcy). Barwę oznaczano w systemie CIE Lab (L^* – jasność, a^* – odniesienie do czerwieni, b^* – wysycenie w kierunku żółtym). Parametry L^* , a^* , b^* mierzono za pomocą aparatu Minolta CR310 (Konica Minolta, Osaka, Japonia) 48 h od uboju. Parametry pomiaru to: źródło światła D65, obserwator 8° , kalibracja wzorcem bieli: $L^* - 98,45$, $a^* - 0,10$, $b^* - 0,13$. Wyciek naturalny oznaczano metodą, którą opisali Prange i wsp. [22]. Potencjał glikolityczny mięśnia LD obliczano z równania Monina i Selliera [20] na podstawie oznaczeń glikogenu, glukozy i glukozo-6-fosforanu według metody Dalrymple i Hamm [9] oraz kwasu mlekowego według Bergmeyera [3]. Badania przeprowadzono w Katedrze Technologii Gastronomicznej i Higieny Żywności na Wydziale Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji SGGW w Warszawie.

Wyniki opracowano statystycznie w programie Statistica PL ver. 10.0 [26]. Obliczono współczynniki korelacji między badanymi cechami. Określono wpływ grupy (w zależności od stężenia glukozy w surowicy krwi tuczników) i płci na badane cechy, stosując dwuczynnikową analizę wariancji ANOVA. Istotność różnic między wartościami średnimi badanych grup oraz płci weryfikowano testem t-Studenta ($p \leq 0,01$).

Wyniki i dyskusja

Na podstawie stężenia glukozy w surowicy krwi tuczniaki podzielono na dwie grupy: $\leq 100\text{ mg}/100\text{ ml}$ – I; $> 100\text{ mg}/100\text{ ml}$ – II). Wykazano, że wyodrębnione grupy różniły się istotnie w zakresie takich cech, jak: stężenie triacylogliceroli (TG) i glukozy w surowicy krwi oraz pH_1 , pH_3 i pH_{24} , potencjał glikolityczny mięśnia LD a także wyciek naturalny z mięsa (tab. 1). Nie stwierdzono istotnych różnic między grupami pod względem zawartości cholesterolu całkowitego i jego frakcji w surowicy krwi, cech wartości rzeźnej oraz parametrów barwy mięsa.

Tuczniaki grupy II charakteryzowały się wyższym stężeniem triacylogliceroli i glukozy w surowicy krwi. Mięśnie LD świń w tej grupie odznaczały się niższymi wartościami pH_1 , pH_3 i pH_{24} oraz wyższym potencjałem glikolitycznym i większym

wyciekami naturalnymi (tab. 1). Wyniki te wskazują, że w mięśniach tuczników grupy II poubojowa glikoliza przebiegała szybciej i miała głębszy zasięg. Należy podkreślić, że tuczniki o wyższym stężeniu TG i glukozy w surowicy krwi charakteryzowały się wyższym potencjałem glikolitycznym *m. longissimus dorsi* oraz niższą jakością mięsa (tab. 1). Podobnie Kajak i wsp. [15], Choe i wsp. [7] oraz Sieczkowska i wsp. [25] stwierdzili, że tuczniki o wyższym potencjale glikolitycznym wykazywały niższe pH końcowe mięśni, jaśniejszą barwę oraz zwiększony wyciek naturalny. Podobne prawidłowości w odniesieniu do powiązania profilu lipidowego surowicy krwi z cechami jakości mięsa oraz występowanie tuczników o zróżnicowanym typie metabolicznym wykazali Przybylski i wsp. [23]. W badaniach tych zaobserwowano, że tuczniki o wyższym stężeniu TG w surowicy krwi charakteryzowały się wyższym potencjałem glikolitycznym i większym wyciekami naturalnymi mięsa. Yu i wsp. [27] dowiedli ponadto, że tuczniki o niższym stężeniu TG w surowicy krwi charakteryzowały się małą zawartością tłuszczu śródmięśniowego, a tuczniki o wyższym poziomie cholesterolu frakcji LDL i TG wykazywały odwrotną zależność.

Uzyskane wartości stężenia cholesterolu całkowitego w surowicy krwi tuczników były zbliżone do wyników uzyskanych przez Barowicza i Pieszkę [2], Kapelańskiego i wsp. [17] oraz Przybylskiego i wsp. [23]. Z kolei stężenie frakcji HDL było zbliżone do wyników Przybylskiego i wsp. [23], ale niższe niż Barowicza i Pieszkę [2]. Stężenie frakcji cholesterolu LDL w badaniach własnych było wyższe niż oznaczone przez Barowicza i Pieszkę [2] a nieznacznie niższe od wyników Przybylskiego i wsp. [23]. Zawartość triacylogliceroli w surowicy krwi była natomiast większa niż w badaniach ww. autorów. Wyniki badań wielu autorów wskazują, że profil lipidowy w surowicy krwi świń jest zmienny i uzależniony zarówno od żywienia, jak i od czynników genetycznych, takich jak płeć czy rasa [2, 14, 24].

W przypadku grubości słoniny zaobserwowano wpływ płci na wartość tego parametru (tab. 1). Istotnie grubsza słonina występowała w tuszach wieprzków. Większe otłuszczenie wieprzków w porównaniu z tuszami loszek zaobserwowali Kapelański i wsp. [16], Karamucki i wsp. [18] oraz Daszkiewicz i wsp. [10]. Nie stwierdzono natomiast ani jednej istotnej interakcji czyli jednoczesnego wpływu grupy i płci na profil lipidowy surowicy krwi i badane cechy jakości mięsa. Według Migdała i wsp. [19] brak różnic jakości mięsa między loszkami i wieprzkami może być wywołany brakiem wpływu płci na kompozycję poszczególnych typów włókien mięśniowych. Jak podają bowiem Choe i wsp. [7], potencjał glikolityczny mięśni, przebieg poubojowej glikolizy, jasność barwy mięsa i wyciek naturalny w znacznym stopniu są efektem udziału poszczególnych typów włókien mięśniowych. Podobnie Przybylski i wsp. [23] nie wykazali istotnych różnic między knurkami i loszkami pod względem zawartości TG, cholesterolu całkowitego i jego frakcji oraz szeregu badanych cech jakości mięsa.

Tabela 1. Stężenie lipidów i glukozy w surowicy krwi oraz parametry jakości tuszy i mięsa tuczników
 Table 1. Levels of lipids and glucose in blood serum as well as quality parameters of carcass and meat of fatteners

Cecha Trait	Grupa / Group		Płeć / Sex		Wyniki analizy wariancji F _{emp.} Results of analysis of variance F _{emp.}		
	I	II	Wieprzki Barrows	Loszki Gilts	G	P/S	G×P /S
Liczba zwierząt Number of animals	25	29	36	18	G	P/S	G×P /S
Triacyloglicerole Triacylglycerols [mg/100ml]	76,82 A ± 29,00	103,13 B ± 34,40	90,63 ± 36,40	91,59 ± 30,90	9,81**	0,26	0,72
Cholesterol całkowity Total cholesterol [mg/100ml]	95,66 ± 11,70	97,94 ± 11,41	96,38 ± 11,60	97,89 ± 11,53	0,17	0,28	0,97
Cholesterol HDL [mg/100 ml]	33,72 ± 7,19	35,80 ± 7,00	34,99 ± 7,87	34,53 ± 5,41	0,65	0,01	0,27
Cholesterol LDL [mg/100 ml]	46,57 ± 14,44	41,52 ± 10,86	43,27 ± 11,94	45,03 ± 14,60	2,76	0,08	1,08
Glukoza / Glucose [mg/100 ml]	81,98 A ± 13,87	137,87 B ± 34,32	112,27 ± 36,88	111,44 ± 43,34	59,34**	0,86	1,65
Masa tuszy ciepłej Hot carcass weight [kg]	93,37 ± 8,64	93,14 ± 6,78	93,44 ± 7,64	92,88 ± 7,81	0,01	0,07	0,02
Zawartość mięsa w tuszy Meat content in carcass [%]	56,61 ± 2,86	57,24 ± 2,23	56,53 ± 2,43	57,78 ± 2,62	1,13	3,48	0,02
Grubość schabu Loin thickness [mm]	59,00 ± 7,18	60,79 ± 5,48	60,28 ± 7,30	59,33 ± 3,79	0,76	0,14	0,01
Grubość słoniny Backfat thickness [mm]	15,12 ± 2,89	14,86 ± 3,41	15,78 A ± 2,99	13,39 B ± 2,95	0,38	7,86 **	0,01
pH ₁	6,54 A ± 0,17	6,34 B ± 0,25	6,43 ± 0,24	6,44 ± 0,25	13,12**	0,04	1,94
pH ₃	6,33 A ± 0,18	6,12 B ± 0,26	6,20 ± 0,27	6,26 ± 0,20	7,47**	0,17	0,75
pH ₂₄	5,58 A ± 0,11	5,50 B ± 0,11	5,53 ± 0,11	5,56 ± 0,12	7,50**	0,50	0,20
Potencjał glikolityczny Glycolytic potential [μmol/g]	134,90 A ± 16,44	148,36 B ± 16,93	143,25 ± 16,56	139,90 ± 20,60	5,38**	0,11	1,49
Barwa / Colour L*	54,24 ± 2,33	55,36 ± 2,32	55,11 ± 2,54	54,30 ± 1,96	2,72	0,92	0,15
a*	15,52 ± 0,96	15,63 ± 1,13	15,52 ± 1,07	15,72 ± 1,02	0,09	0,48	0,22
b*	5,77 ± 1,22	5,84 ± 1,07	5,94 ± 0,96	5,56 ± 1,41	0,01	1,21	0,01
Wyciek naturalny Normal drip loss [%]	3,95 A ± 1,49	5,11 B ± 1,52	4,55 ± 1,60	4,62 ± 1,06	9,36**	0,30	1,39

Objaśnienia: / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviations; A, B – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie

($p \leq 0,01$) / mean values denoted by different letters differ statistically significantly ($p \leq 0,01$); G – efekt grupy / effect of group; P/S – efekt płci / effect of sex; G×P/S – efekt interakcji grupa × płeć / effect of interaction: group × sex. ** – efekt istotny ($p \leq 0,01$) / effect significant at $p \leq 0,01$.

Po przeprowadzeniu analizy zależności pomiędzy badanymi cechami wykazano, że masa tuszy była dodatnio skorelowana z zawartością cholesterolu HDL, grubość słoniny – dodatnio skorelowana ze stężeniem TG i cholesterolu HDL, a ujemnie – z zawartością cholesterolu LDL. Stwierdzono również istotną ujemną zależność pomiędzy stężeniem TG a zawartością mięsa w tuszy. Z kolei stężenie glukozy w surowicy krwi było ujemnie skorelowane z pH_1 i pH_{24} , natomiast dodatnio z potencjałem glikolitycznym, jasnością barwy (L^*) i wyciekaniem naturalnym (tab. 2).

Tabela 2. Współczynniki korelacji pomiędzy analizowanymi cechami

Table 2. Coefficients of correlations among traits analyzed

Cecha / Trait	TG	TCh	HDL	LDL	Glu
Masa ciepłej tuszy / Hot carcass weight	0,05	0,11	0,37*	-0,14	-0,10
Zawartość mięsa w tuszy / Content of meat in carcass	-0,28*	-0,09	-0,11	0,13	-0,16
Grubość schabu / Loin thickness	-0,07	-0,06	0,20	-0,13	0,02
Grubość słoniny / Backfat thickness	0,30*	0,07	0,32*	-0,28*	0,22
pH_1	-0,10	-0,16	0,04	-0,11	-0,35*
pH_3	-0,03	-0,11	0,08	-0,12	-0,26
pH_{24}	0,01	-0,06	-0,11	0,01	-0,28*
Potencjał glikolityczny / Glycolytic potential [$\mu\text{mol/g}$]	0,00	0,05	0,00	0,04	0,28*
Barwa / Colour L^*	0,08	0,02	0,21	-0,14	0,30*
a^*	0,02	0,06	-0,10	0,10	-0,03
b^*	0,11	-0,04	0,14	-0,18	0,12
Wyciek naturalny / Normal drip loss [%]	0,07	0,08	0,04	0,01	0,41*

Objaśnienia: /Explanatory notes:

* - współczynnik istotny przy $p \leq 0,05$ / significant coefficient at $p \leq 0,05$

Współczynniki równań regresji w przypadku korelacji statystycznie istotnych przedstawiono w tab. 3.

Występowanie istotnych zależności pomiędzy metabolitami oznaczanymi w surowicy krwi a cechami wartości rzeźnej i jakości mięsa potwierdza wielu autorów. Kapelański i wsp. [17] wykazali istotne zależności pomiędzy wskaźnikami biochemicznymi krwi tuczników a przyrostami masy ciała, odtuszczeniem i mięsnością tuszy. Autorzy ci wykazali istotną zależność pomiędzy zawartością cholesterolu w surowicy krwi ($r = 0,311$, $p < 0,05$) a zawartością tłuszczu w tuszy.

Tabela 3. Współczynniki równań regresji liniowej w przypadku korelacji istotnych

Table 3. Coefficients of linear regression equations in case of significant correlations

y	X	a - y	b - y	a - x	b - x
Masa ciepłej tuszy Hot carcass weight [kg]	Cholesterol HDL [mg/100 ml]	3,19	0,34	79,60	0,39
Zawartość mięsa w tuszy Content of meat in carcass [%]	Triacyloglicerole Triacylglycerols [mg/100 ml]	307,80	-3,81	58,84	-0,02
Grubość słoniny Backfat thickness [mm]		42,62	3,23	12,50	0,03
Grubość słoniny Backfat thickness [mm]	Cholesterol HDL [mg/100 ml]	23,85	0,73	9,92	0,15
pH ₁	Glukoza Glucose [mg/100 ml]	480,74	-57,31	6,68	-0,01
pH ₂₄		648,57	-96,90	5,64	-0,01
Potencjał glikolityczny Glycolytic potential [μmol/g]		25,47	0,61	127,60	0,13
Barwa / Colour L*		-166,69	5,08	52,71	0,02
Wyciek naturalny Normal drip loss [%]		68,54	9,49	2,75	0,02

Fernández-Figares i wsp. [12] wykazali pomiędzy rasami świń o zróżnicowanym otłuszczeniu również różnice pod względem stężenia triacylogliceroli i cholesterolu całkowitego. Zależności uzyskane w badaniach własnych (tab. 3) oraz wyniki badań innych autorów potwierdzają kluczową rolę przemian metabolicznych organizmu w kształtowaniu cech tucznych, rzeźnych oraz jakości mięsa. W badaniach własnych stosunkowo najwięcej istotnych zależności, charakteryzowanych współczynnikami korelacji, uzyskano pomiędzy zawartością glukozy w surowicy krwi a szeregiem cech charakteryzujących jakość mięsa (tab. 2). Wyniki te wskazują, że potencjał glikolityczny *m. longissimus dorsi* a także barwa i wyciek naturalny są istotnie powiązane z poziomem glukozy w surowicy krwi. Choe i wsp. [6] oraz Choe i Kim [8] wykazali również występowanie takich zależności. Autorzy ci wykazali istnienie trzech grup tuczników o zróżnicowanej zawartości glukozy w surowicy krwi w momencie uboju. Tuczniaki o wyższej zawartości glukozy w surowicy krwi charakteryzowały się mięsem o istotnie niższym pH₁ i pH₂₄, wyższym wyciekaniem naturalnym, większymi stratami w gotowaniu oraz jaśniejszą barwą mięsa. Uzyskane przez Choe i wsp. [6] współczynniki korelacji pomiędzy zawartością glukozy w surowicy krwi a wyciekaniem naturalnym ($r = 0,62$) i jasnością barwy ($r = 0,34$) były zbliżone do wyników własnych przedstawionych w tab. 2. Z kolei Choe i Kim [8] wykazali, że w przypadku tuczników o wyższym stężeniu glukozy w surowicy krwi po uboju obserwuje się szybszą glikolizę oraz większą zawartość kwasu mlekowego w mięśniach (45 min *post mortem*), a tym samym niższe wartości pH₁. Podobną zależność stwierdzono w badaniach własnych,

gdyż tuczniaki o wyższym stężeniu glukozy w surowicy krwi charakteryzowały się istotnie niższą wartością pH_1 .

Uzyskane wyniki badań wymagają potwierdzenia na liczniejszym materiale.

Wnioski

1. Tuczniaki o wyższym stężeniu glukozy w surowicy krwi charakteryzowały się większą zawartością triacylogliceroli, a mięsień LD ze zwierząt tej grupy cechował się większym zakwaszeniem (niższe pH_1 , pH_3 i pH_{24} *post mortem*) oraz wyższym potencjałem glikolitycznym i większym wyciekem naturalnym.
2. Stwierdzono istotne różnice pomiędzy wieprzkami a loszkami pod względem grubości słoniny grzbietowej, która była grubsza w przypadku wieprzków.
3. Wykazano szereg istotnych zależności pomiędzy stężeniem lipidów i glukozy w surowicy krwi a cechami wartości rzeźnej i jakości mięsa. Wyniki te wskazują, że potencjał glikolityczny mięśnia LD a także barwa i wyciek naturalny oraz intensywność i zasięg poubojowej glikolizy są istotnie powiązane z poziomem glukozy w surowicy krwi.

Literatura

- [1] Barowicz T., Pieszka M., Pietras M., Kędzior W.: The effect of serum concentration of leptin in fatteners on their productivity. *J. Anim. Feed Sci.*, 2005, **14**, 329-332.
- [2] Barowicz T., Pieszka M.: Hipocholesterolemiczny wpływ nasion oraz oleju lnianego w diecie dla tuczników. *Rośliny Oleiste*, 2001, **XXII**, 183-189.
- [3] Bergmeyer H.U.: *Methods of enzymatic analysis*. Academic Press., New York 1974.
- [4] Blicharski T., Książek P., Pospiech P., Migdał W., Józwiak A., Poławska E., Lisiak D.: Aktualna wartość dietetyczna wieprzowiny, jej znaczenie w diecie i wpływ na zdrowie konsumentów. *Polski Związek Hodowców i Producentów Trzody Chlewnej „POLSUS”*, Warszawa 2013, ss. 136-137.
- [5] Borzuta K.: The study of variable methods usefulness to meatiness estimation in EUROP system. *Rocz. Inst. Przem. Mies.*, 1998, **35**, 7-74.
- [6] Choe J.H., Choi Y.M., Lee S.H., Nam Y.J., Jung Y.C., Park H.C., Kim Y.Y., Kim B.C.: The relation of blood glucose level to muscle fiber characteristics and pork quality traits. *Meat Sci.*, 2009, **83**, 62-67.
- [7] Choe J.H., Choi Y.M., Lee S.H., Shin H.G., Ryu Y.C., Hong K.C., Kim B.C.: The relation between glycogen, lactate content and muscle fiber type composition, and their influence on postmortem glycolytic rate and pork quality. *Meat Sci.*, 2008, **80**, 355-362.
- [8] Choe J.H., Kim B.C.: Association of blood glucose, blood lactate, serum cortisol levels, muscle metabolites, muscle fiber type composition, and pork quality traits. *Meat Sci.*, 2014, **97**, 137-142.
- [9] Dalrymple R. H., Hamm R.: A method for the extraction of glycogen and metabolites from a single muscle sample. *J. Food Technol.*, 1973, **8**, 439-444.
- [10] Daszkiewicz T., Wajda S., Winarski R., Koba-Kowalczyk M., Kubiak D.: Wpływ czynników przyżyciowych na ubytki masy tusz wieprzowych w czasie poubojowego wychładzania. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, **3 (76)**, 109-119.

- [11] Edwards L.N., Engle T.E., Correa J.A., Paradis M.A., Grandin T., Anderson D.B.: The relationship between exsanguination blood lactate concentration and carcass quality in slaughter pigs. *Meat Sci.*, 2010, **85**, 435-440.
- [12] Fernández-Figares I., Lachica M., Nieto R., Rivera-Ferre M.G., Aguilera J.F.: Serum profile of metabolites and hormones in obese (Iberian) and lean (Landrace) growing gilts fed balanced or lysine deficient diets. *Livest. Sci.*, 2007, **110**, 73-81.
- [13] GUS: Rocznik Statystyczny Rzeczypospolitej Polskiej, Warszawa 2014, s. 472, 484.
- [14] Grela E.: Badania nad efektywnością żywienia ekologicznego różnych mieszańców rosnących świń przy wykorzystaniu pasz własnych z dodatkiem certyfikowanych mieszanek uzupełniających lub premiksów z udziałem ziół. Sprawozdanie z prowadzenia w 2008 r. badań podstawowych na rzecz rolnictwa ekologicznego w zakresie ekologicznego chowu zwierząt. Instytut Żywienia Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie., ss. 1-25.
- [15] Kajak K., Przybylski W., Jaworska D., Rosiak E.: Charakterystyka jakości technologicznej, sensorycznej i trwałości mięsa wieprzowego o zróżnicowanej końcowej wartości pH. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **1 (50)**, 26-34.
- [16] Kapelański W., Buczyński J.T., Bocian M.: Slaughter value and meat quality in the Polish native Złotnicka Spotted pig. *Anim. Sci. Pap. Rep.*, 2006, **24**, 7-13.
- [17] Kapelański W., Grajewska S., Bocian M., Kapelańska J., Hammermeister A., Wiśniewska J.: Relations between blood serum biochemical indicators and weight gain fat and lean meat content of carcass in pigs. *Anim. Sci. Pap. Rep.*, 2004, **4 (22)**, 429-434.
- [18] Karamucki T., Kortz J., Rybarczyk A., Gardzielewska J., Jakubowska M., Natalczyk-Szymkowska W.: Zależność między mięsnością i masą tusz a udziałem w nich elementów cennych z uwzględnieniem stopnia ich otłuszczenia oraz płci tuczników. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2003, **4 (37)**, 204-213.
- [19] Migdał W., Wojtysiak D., Paściak P.: Profil histochemiczny mięśni tuczników w zależności od rodzaju mięśnia, płci, rasy, masy ciała i żywienia. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **3 (44)**, 157-168.
- [20] Monin G., Sellier P.: Pork of low technological quality with a normal rate of muscle pH fall in the immediate post-mortem period: The case of the Hampshire breed. *Meat Sci.*, 1985, **13**, 49 -63.
- [21] Pisula A., Pospiech E.: Mięso – podstawy nauki i technologii. Wyd. SGGW, Warszawa 2011.
- [22] Prange H., Juggert L., Scharner E.: Untersuchungen zur Muskelfleischqualität beim Schwein. *Arch. Exp. Vet. Med.*, 1977, **30**, 235-248.
- [23] Przybylski W., Gromadzka-Ostrowska J., Olczak E., Jaworska D., Niemyjski S., Santé-Lhoutellier V.: Analysis of variability of plasma leptin and lipids concentration in relations to glycolytic potential, intramuscular fat and meat quality in P76 pigs. *J. Anim. Feed Sci.*, 2009, **18**, 296-304.
- [24] Sechman A., Pieszka M., Rząsa J., Migdał W., Wojtysiak D., Pustkowiak H., Živković B., Paściak P.: The effect of dietary conjugated linoleic acid on the levels of lipids, cholesterol and iodothyronines in the blood of pigs. *J. Anim. Feed Sci.*, 2007, **16**, 193-204.
- [25] Sieczkowska H., Antosik K., Krzęcio-Nieczyporuk E., Zybert A., Koćwin-Podsiadła M.: Przydatność wybranych parametrów oznaczanych 45 min post mortem w mięśniu *longissimus lumborum* do oceny jakości wieprzowiny. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, **2 (87)**, 51-60.
- [26] Statistica (data analysis software system), version 10. StatSoft, Inc. 2011. www.statsoft.com.
- [27] Yu I.T., King Y.T., Chen S.L., Wang Y.H., Chang Y.H., Yen H.T.: Dietary conjugated linoleic acid and leucine improve pork intramuscular fat and meat quality. *J. Anim. Feed Sci.*, 2007, **16**, 65-74.

EFFECT OF GLUCOSE AND TRIACYLGLICEROL LEVELS IN BLOOD SERUM ON CARCASS AND MEAT QUALITY OF PORKERS

Summary

The objective of the research study was to determine the correlations between the lipid and glucose levels in blood serum of pigs and the parameters characterizing the quality of pork carcass and pork meat. The study performed covered 54 porkers (36 hogs barrows and 18 gilts/sows) derived from crossing the Naïma gilts and the P76-PenArLan hybrid boars. Immediately after slaughter, blood samples of the porkers were taken from their carotid arteries. In the blood serum, the levels of the following components were determined: glucose, triglyceride (TG), total cholesterol (CHOL), and HD cholesterol; also, the LDL cholesterol was calculated. After slaughter, the content of meat was determined in the carcasses using a CGM apparatus. In the *longissimus dorsi* (LD) muscle, the following was determined: pH values 45 min., 3 h, and 24 h after slaughter (at the height of the last rib), L*a*b* colour parameters, normal drip loss, and glycolytic potential. The coefficients of correlations were calculated among the traits analyzed. On the basis of the glucose content in the blood serum, the pigs in the population studied were divided into two groups, which differed in their lipid profiles, levels of glucose in the blood serum, and meat quality. The meat of pigs in the group characterized by higher levels of triglycerides (103.13 mg/100 ml vs. 76.32 mg/100 ml) and glucose (137.87 mg/100 ml vs. 81.98 mg/100 ml) had a lower pH 45 min. (6.34 vs. 6.54), 3 h (6.12 vs. 6.33), and 24 h (5.50 vs. 5.58) *post mortem*, and a higher glycolytic potential (148.36 µmol/g vs. 134.90 µmol/g) as well as a higher normal drip loss (5.11 % vs. 3.9 %). Significant correlations were confirmed to exist among the levels of lipids and glucose in blood serum and the characteristics of slaughter value and meat quality parameters ($r = -0.28 \div 0.41$ $p \leq 0.05$).

Key words: pork meat, level of lipids in blood serum, level of glucose in blood serum, meat quality ☒

PIOTR JANISZEWSKI, EUGENIA GRZEŚKOWIAK, KAROLINA SZULC,
KAROL BORZUTA, DARIUSZ LISIAK

WPLYW KRZYŻOWANIA TOWAROWEGO ŚWIŃ RASY ZŁOTNICKIEJ PSTREJ ZE ŚWINIAMI RASY DUROC I WBP NA JAKOŚĆ WYBRANYCH PRZETWORÓW MIĘSNYCH

Streszczenie

Badano polędwice wędzone i szynki gotowane, wyprodukowane z mięsa świń rasy złotnickiej pstrej i ich mieszańców z rasą duroc i wbp. W wyrobach oznaczono zawartość wody, tłuszczu, białka i NaCl, zmierzono barwę ($L^* a^* b^*$), siłę cięcia, pH oraz poddano je ocenie sensorycznej w skali 1 ÷ 5 pkt. Krzyżowanie świń złotnickiej pstrej z rasami duroc i wbp, w przypadku mieszańców zawierających po 50 % genów obu ras, przyczyniło się do wzrostu miąższości tusz, odpowiednio: o około 1 i 4 punkty procentowe (p.p.) oraz do zmniejszenia grubości słoniny o około 0,5 cm. We wszystkich grupach genetycznych badanych świń uzyskano mięso bardzo dobrej jakości, niewykazujące odchyłeń jakościowych. Jakość wyrobów mięsnych sporządzonych z mięsa badanych grup tuczników nie różniła się istotnie pod względem większości cech fizykochemicznych, a także sensorycznych. Wyróżniki sensoryczne zarówno szynki, jak i polędwicy zostały wysoko ocenione (średnio powyżej 4,5 pkt). Średnie oceny nie różniły się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) pomiędzy grupami genetycznymi świń. Stwierdzono, że badane wyroby różniły się pod względem składu chemicznego. Polędwice wędzone surowe zawierały średnio 1,89 % tłuszczu w grupie mieszańców zp x wbp, natomiast w pozostałych grupach – o 1,5 p.p. więcej. Szynka gotowana, wyprodukowana z mięsa tuczników czystorasowych, zawierała o 0,6 p.p. tłuszczu mniej w porównaniu z pozostałymi badanymi grupami. Krzyżowanie rasy złotnickiej pstrej z rasami wbp i duroc przyczynia się do poprawy wartości rzeźnej tuczników i nie powoduje obniżenia jakości przetworów uzyskanych z ich mięsa.

Słowa kluczowe: świnie ras: złotnickiej pstrej (zp), duroc (d) i wielkiej białej polskiej (wbp), polędwica wędzona, szynka gotowana, jakość

*Dr P. Janiszewski, dr hab. E. Grześkowiak, prof. nadzw., dr hab. K. Borzuta, prof. nadzw., dr inż. D. Lisiak, Pracownia Badania Surowców i Produkcji Rzeźnianej, Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. Prof. Wacława Dąbrowskiego, ul. Głogowska 239; 60-111 Poznań, dr inż. K. Szulc, Katedra Hodowli Zwierząt i Oceny Surowców, Wydz. Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wołyńska 33, 60-637 Poznań.
Kontakt: piotr.janiszewski@ibprs.pl*

Wprowadzenie

Konsumenci poszukują mięsnych wyrobów wieprzowych o dobrej jakości. Zmusza to zakłady mięsne do pozyskiwania odpowiedniego surowca rzeźnego. W wielu krajach takiego surowca dostarczają stare rodzime rasy, które otaczane są szczególną ochroną. Przykładem może być pięć rodzimych ras włoskich, w tym Casertana o starożytnym pochodzeniu, a także prymitywna świnia Sarda [21, 25]. Tusze tych świń mają grubą słoninę, a mięso jest cenione ze względu na wyróżniający się smak. Jest ono szczególnie przydatne do produkcji szynki parmeńskiej. W Hiszpanii rodzima rasa Iberian jest poszukiwanym surowcem do produkcji wyrobów surowo dojrzewających, szczególnie szynki Serrano [30]. We Francji na uwagę zasługuje stara rodzima rasa świń Pi Noir du Pays Basque, która dostarcza surowca do produkcji szynki Baskijskiej [26]. Pugliese i Sirtori [20] dokonali analizy rodzimych ras południowej Europy, z uwzględnieniem wpływu cech genetycznych i systemów chowu na jakość produktu. Stwierdzili, że zwierzęta tych ras odznaczają się niższymi wynikami wartości użytkowej i mniejszą mięsnością niż rasy wysokomięsne, ale mięso charakteryzuje się doskonałą jakością.

W Polsce do rodzimych ras świń należą: złotnicka pstra, złotnicka biała i puławska. Świnie ras złotnickich stanowią populację o unikatowej wartości genetycznej. Ich wartość rzeźna, ze względu na skłonności do otluszczenia, jest niższa niż ras białych [8, 12]. Są one mniej przydatne do produkcji towarowej, ponieważ charakteryzują się niskim poziomem mięsności [6, 12].

Poprawę wyników produkcyjnych ras rodzimych można osiągnąć przez krzyżowanie [27]. Aby zapobiec utracie walorów jakościowych mięsa, bardzo ważny jest odpowiedni dobór komponentów do krzyżowania z rasą złotnicką. Ze względu na korzystne parametry jakościowe mięsa, do krzyżowania z tą rasą wydają się szczególnie przydatne rasy duroc i wbp. Z mięsa świń rasy duroc, uznanej za odporną na stres, uzyskuje się mięso podobne jakościowo, jak ze świń wbp [14].

Celem pracy było określenie wpływu krzyżowania świń rasy złotnickiej pstrej z knurami rasy duroc oraz wielkiej białej polskiej na cechy jakościowe wybranych przetworów mięsnych, tj. szynki gotowanej oraz polędwicy wędzonej surowej.

Materialy i metody badań

Materiał doświadczalny stanowiło 50 tuczników, pochodzących z gospodarstwa rolnego w Jaworowie koło Gniezna, podzielonych na cztery grupy genetyczne (tab. 1).

We wszystkich grupach stosunek loszek do wieprzków wynosił 1 : 1. Tuczniaki każdej grupy utrzymywano w kojcach zbiorowych, stosując żywienie *ad libitum*. Żywienie oraz warunki utrzymania były takie same dla wszystkich grup zwierząt i były zgodne z przyjętymi normami hodowlano-produkcyjnymi [32].

Tabela 1. Układ doświadczenia

Table 1. Plan of experiment

Nr grupy Group number	Grupa rasowa Breed group	Symbol grupy Group symbol	Liczba [szt.] Quantity [heads]
1	Żłotnicka pstra Żłotnicka Spotted	zp ZS	20
2	Żłotnicka pstra × (żłotnicka pstra × duroc) Żłotnicka Spotted × (Żłotnicka Spotted × Duroc)	zp × zp × d – F ₂ ZS × ZS × D	10
3	Żłotnicka pstra × duroc Żłotnicka Spotted × Duroc	zp × d – F ₁ ZS × D	10
4	Żłotnicka pstra × wielka biała polska Żłotnicka Spotted × Polish Large White	zp × wbp – F ₂ ZS × PLW	10

Zwierzęta ubijano przy masie ciała około 120 kg, stosując taką samą technologię uboju (oszałamianie elektryczne, wykrwawianie w pozycji wiszącej, wychładzanie metodą jednostopniową). Na ciepłych, wiszących, lewych półtuszach wykonywano pomiar mięsności za pomocą urządzenia ultradźwiękowego UltraFom 300 (SFK Technology, Dania) oraz określano grubość słoniny nad łopatką, na grzbiecie i na szynce a także powierzchnię oka połówicy [2]. Wartości pH ustalano po 45 min (pH₄₅) i po 24 h (pH₂₄) od uboju za pomocą pehametru Radiometer PHM 80 z elektrodą zespoloną (Radiometer, Dania). Oba pomiary wykonywano w *m. longissimus dorsi* (LD) i *m. semimembranosus* (SEM). Następnie dokonywano rozbioru tusz na części zasadnicze.

Materiał do badań stanowiły mięśnie szynki i schabu. Część piersiową mięśnia najdłuższego grzbieta (z odcinka między 6. a 11. kręgiem) przeznaczano na połówkę surową wędzoną, natomiast mięsień półbłoniasty – na szynkę gotowaną. Oczyszczone, chude mięśnie peklowano solanką o składzie: sól kuchenna – 6,00 %, azotan(III) sodu – 0,06 %, cukier – 1,10 %, askorbinian sodu – 0,04 %, woda 92,80 % [3, 13, 28]. Mięśnie szynki nastrzykiwano za pomocą ręcznej nastrzykiwarki typu 501, firmy Mifam (Fabryka Maszyn Spożywczych, Spomasz Pleszew S.A., Polska), stosując od 4 do 5 nakłuć i wprowadzając 15 % solanki w odniesieniu do masy mięsa. Następnie szynki umieszczano w pojemnikach i zalewano solanką w stosunku 2 : 1. Peklowanie trwało 2 doby w pomieszczeniu o temp. 4 ÷ 6 °C. Po peklowaniu mięśnie umieszczano w masownicy typu MP1B COBR (Fabryka Maszyn Spożywczych, Spomasz Pleszew S.A.) i masowano przez 240 min, z dodatkiem 30 % solanki [28]. Na uformowane mięśnie naciągano siatkę kurczliwą i wędzono je gorącym dymem w temp. 60 ÷ 70°C, przez około 2 h, do barwy jasnobrązowej. Następnie szynki parzono w wodzie do osiągnięcia temperatury wewnętrznej w centrum 68 ÷ 70 °C, po czym schładzano je w chłodni do temp. ok. 5 °C [11].

Polędwicę wędzoną produkowano według tradycyjnej technologii, tj. bez stosowania nastrzykiwania i masowania mięśni. Próbkę mięśnia najdłuższego grzbietu umieszczano w pojemnikach i zalewano solanką o takim samym składzie, jaki stosowano przy szynkach, w stosunku 2 : 1. Peklowanie trwało 2 doby w temp. $4 \div 6$ °C. Ocieknięte i osuszone mięśnie wędzono zimnym dymem w temp. 25 °C przez 15 h, do barwy jasnobrązowej z odcieniem złocistym, po czym schładzano je w chłodni do temp. 5 °C [11].

Do badań laboratoryjnych pobierano próbki polędwicy wędzonej i szynki gotowanej, w których oznaczano zawartość:

- wody – metodą suszarkową, wg PN ISO 1442:2000 [18],
- tłuszczu – metodą Soxhleta, wg PN ISO 1444:2000 [19],
- białka ogólnego – metodą Kjeldahla [15], przy użyciu aparatury firmy Tecator (Dania),
- chlorku – sodu wg PN-ISO 1841-2:2002 [16],
- związków mineralnych w postaci popiołu całkowitego – metodą spalania, wg PN ISO 936:2000 [17]. Oznaczano także barwę na przekroju w systemie CIE Lab za pomocą aparatu Minolta Chroma Matters CR 400, firmy Konica Minolta (Tokio, Japonia), mierząc parametry L^* , a^* , b^* – źródło światła D65, obserwator 2°, otwór głowicy pomiarowej 8 mm, kalibracją na wzorcu bieli: $L^* - 97,83$, $a^* - 0,45$, $b^* - +1,88$).

Ocenę sensoryczną wyrobów przeprowadzał wyszkolony panel ekspertów. Ocenę prowadzono przy promieniowaniu rozproszonym, w temp. 20 ± 2 °C. W skali od 1 do 5 punktów określano wygląd ogólny, konsystencję, barwę (pożądalność, wyrównanie), zapach, soczystość, kruchość i smakowitość. W szynkach oceniano również stopień związania plastrów o grubości ok. 1 mm [1].

Ponadto z wychłodzonej polędwicy i szynki wykrawano wzdłuż włókien mięśniowych próbki w kształcie walca o średnicy 2,5 cm do pomiaru wielkości siły cięcia. Pomiar wykonywano przy użyciu urządzenia ZWICK (Zwick Roell Zo, Niemcy) wyposażonego w głowicę 0,5 kN oraz przystawkę Warner-Bratzlera. Prędkość przesuwu noża wynosiła 100 mm/min.

Wyniki opracowano statystycznie w programie Statistica Pl, obliczając wartości średnie (\bar{x}) i odchylenia standardowe (s). Statystyczną istotność różnic między wartościami średnimi grup weryfikowano za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji na poziomie istotności $p \leq 0,05$ [23].

Wyniki i dyskusja

Krzyżowanie wpłynęło na mięsność tuczników, jak również na powierzchnię „oka” polędwicy (tab. 2). Największą mięsność osiągnęły mieszańce świń rasy złotniczej pstrej (zp) z rasą wbp (48 %), a najmniejszą – mieszańce $zp \times (zp \times d)$ (ok.

42,5 %). Większy udział rasy duroc (grupa $zp \times d$) skutkował bardziej efektywnym wzrostem mięsności niż 25-procentowy udział tej rasy w krzyżówce (grupa $zp \times (zp \times d)$). Podobnie kształtowała się powierzchnia „oka” połówicy, przy czym była ona również większa w przypadku mieszańców $zp \times (zp \times d)$ niż świń rasy złotnickiej czy-storasowej (zp).

Tabela 2. Wartość rzeźna i pH *m. longissimus dorsi* (LD) oraz *m. semimembranosus* (SEM) świni złotnickiej pstrej i jej mieszańców

Table 2. Slaughter value and pH *m. longissimus dorsi* (LD) and *m. semimembranosus* (SEM) Zlotnicka spotted pig and their hybrids

Cecha Trait	Grupy / Groups							
	$zp \times zp$ ZS \times ZS		$zp \times (zp \times d)$ ZS \times (ZS \times D)		$zp \times d$ ZS \times D		$zp \times wbp$ ZS \times PLW	
	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD
pH ₄₅ LD	6,39	0,31	6,26	0,36	6,38	0,25	6,42	0,26
pH ₄₅ SEM	6,32	0,28	6,12	0,30	6,26	0,26	6,32	0,27
pH ₂₄ LD	5,50	0,09	5,51	0,17	5,41	0,08	5,40	0,09
pH ₂₄ SEM	5,76	0,20	5,74	0,18	5,68	0,17	5,62	0,22
Masa tuszy ciepłej Hot carcass weight [kg]	88,92	6,29	90,57	6,08	88,57	5,46	87,26	5,76
Zawartość mięsa Meat content [%]	43,99 ^a	5,54	42,47 ^a	3,41	45,02 ^a	3,61	48,00 ^b	3,47
Powierzchnia oka połówicy Loin eye area [cm ²]	29,61 ^a	5,46	36,63 ^b	7,05	35,24 ^b	4,77	35,97 ^b	5,61
Grubość słoniny Backfat thickness [cm]:								
- nad łopatką / over shoulder	5,42 ^b	0,86	6,08 ^c	0,75	5,35 ^b	0,49	4,70 ^a	0,77
- nad ostatnim żebrem / over last rib	3,13 ^b	0,95	3,29 ^b	0,70	2,87 ^b	0,51	2,72 ^a	0,46
- na krzyżu I / on cross I	4,40 ^b	0,94	4,45 ^b	0,64	3,88 ^a	0,70	3,61 ^a	0,38
- na krzyżu II / on cross II	3,63 ^b	0,97	3,92 ^b	0,62	3,20 ^a	0,66	3,04 ^a	0,45
- na krzyżu III / on cross III	4,54 ^b	1,26	4,82 ^b	0,63	4,00 ^a	0,70	3,96 ^a	0,51
Grubość słoniny z pięciu pomiarów / Backfat thickness of five measurements [cm]	4,22 ^a	0,93	4,51 ^b	0,57	3,86 ^a	0,52	3,61 ^a	0,36

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Objaśnienia symboli grup jak w tab. 1. / Meanings of group symbols as in Tab. 1.; \bar{x} – wartość średnia / mean value; s – odchylenie standardowe / SD – standard deviation; n = 10; a, b, c – wartości średnie w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$ / mean values in rows and denoted by different letters differ statistically significantly at $p \leq 0.05$.

Zaobserwowano także wpływ grupy genetycznej na grubość okrywy tłuszczu podskórnego. Największą średnią grubość słoniny, mierzoną w pięciu punktach, miały tuczniczki o małym udziale rasy duroc (grupa $zp \times (zp \times d)$). Była ona o 0,9 cm grubsza niż w grupie $zp \times wbp$. Między tymi grupami stwierdzono istotne ($p \leq 0,05$) różnice

grubości słoniny we wszystkich mierzonych punktach, tj. nad łopatką, na grzbiecie, na krzyżu I, II i III. Tuczniaki czystorasowe miały słoninę o grubości zbliżonej do grupy $zp \times (zp \times d)$. Z kolei tuczniaki z grupy $zp \times d$ cechowały się grubością słoniny zbliżoną do grupy $zp \times wbp$, która charakteryzowała się największą mięsnością.

Tabela 3. Charakterystyka cech fizykochemicznych polędwicy wędzonej surowej
Table 3. The physical-chemical traits of raw smoked loin

Cecha Trait	Grupa / Group							
	$zp \times zp$ ZS \times ZS		$zp \times (zp \times d)$ ZS \times (ZS \times D)		$zp \times d$ ZS \times D		$zp \times wbp$ ZS \times PLW	
	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD
Zawartość wody Moisture content [%]	69,19 ^a	1,20	69,42 ^a	1,63	70,77 ^b	1,46	72,49 ^c	0,67
Zawartość tłuszczu Fat content [%]	3,02 ^b	1,00	3,73 ^d	1,28	3,23 ^c	1,22	1,89 ^a	0,48
Zawartość białka Protein content [%]	23,59 ^b	0,92	22,62 ^a	0,80	21,76 ^a	1,2	21,36 ^a	0,61
Zawartość popiołu Ash content [%]	0,94	0,18	1,39	0,20	1,10	0,21	0,93	0,20
L*	49,38	5,58	50,52	3,82	52,46	4,87	49,42	3,14
a*	7,64 ^b	1,21	7,42 ^b	1,99	7,24 ^b	1,2	5,14 ^a	1,17
b*	4,55	2,68	3,98	1,09	4,02	1,7	2,56	1,61
pH	5,59	0,10	5,65	0,10	5,6	0,06	5,62	0,03
Zawartość NaCl Content of NaCl [%]	3,26	0,39	2,84	0,25	3,14	0,45	3,33	0,47

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

Krzyżowanie świń złotnickich z rasą wbp i duroc spowodowało zwiększenie zawartości mięsa w tuszy oraz zmniejszenie grubości słoniny. Grubość słoniny w grupach $zp \times wbp$ i $zp \times d$ zmalała średnio o 0,5 cm, a mięsność zwiększyła się odpowiednio: o około 4 i 1 p.p. W doświadczeniu nad krzyżowaniem świń złotnickiej białej z rasą wbp, wykonanym przez Strzeleckiego i wsp. [24], uzyskano podobne efekty, jak w niniejszej pracy, tj. zwiększenie mięsności z 46,4 do 49,7 %. Ponadto uzyskano zwiększenie powierzchni „oka” polędwicy z 36,2 do 42,2 cm² i zmniejszenie grubości słoniny z 4,1 do 3,1 cm. Znacznie lepsze efekty osiągnięto w badaniach nad krzyżowaniem świń zp z rasą pietrain. Wajda i Meller [31] w prostym krzyżowaniu ($zp \times pi$) uzyskali średnią mięsność mieszańców na poziomie 53,2 %. Grupa tych tuczników wyróżniała się także większą powierzchnią oka polędwicy i cieńszą słoniną. Zwiększenie udziału rasy pietrain do 75 % spowodowało dalszą poprawę cech rzeźnych. Pomimo tych efektów krzyżowanie świni złotnickiej z rasą pietrain jest ryzykowne ze względu na obciążanie mieszańców występowaniem mięsa z wadą PSE (ang. *pale, soft, exudative*). Autorzy dowiedli, że tuczniaki F₁ przejawiały pod tym względem cechy zbliżone do tuczników złotnickich a F₂ – do tuczników pietrain [31]. Inni auto-

rzy w tuszach świń złotnickich wykazali podobny, niski poziom mięsności – od 43,5 do 46 % [6, 12].

Analiza wartości pH badanych mięśni nie wykazała występowania odchylenia jakościowego typu PSE – $\text{pH}_{45} \leq 5,8$ i DFD (ang. *dark, firm, dry*) – $\text{pH}_{24} > 6,3$. Również wartości pH polędwicy wędzonej badanych grup zawierały się w pożądanym przedziale: $5,59 \div 5,65$ (tab. 3), a szynki gotowanej – $5,89 \div 6,01$ (tab. 5). Pod względem zawartości tłuszczu w polędwicy wędzonej badanych grup stwierdzono istotny wpływ ($p \leq 0,05$) rasy duroc na zwiększenie przetłuszczenia śródmięśniowego mieszańców w porównaniu z tucznikami czystorasowymi złotnickiej pstrej (odpowiednio: 3,73 i 3,02 %, tab. 3). Mięso pozyskane ze świń rasy duroc charakteryzowało się większą zawartością tłuszczu śródmięśniowego w porównaniu z mięsem innych ras, co potwierdza wcześniejsze prace innych autorów [10, 14]. Istotnie mniejsze ($p \leq 0,05$) zawartości tłuszczu (1,89 %) i białka (21,36 %) występowały w polędwicy z mięsa mieszańców z rasą wbp.

Tabela 4. Wyniki oceny sensorycznej [punkty] i siła cięcia [N] polędwicy wędzonej surowej
Table 4. Sensory assessment results [points] and shear force [N] of smoked loin

Cecha Trait	Grupa / Group							
	zp × zp ZS × ZS		zp × (zp × d) ZS × (ZS × D)		zp × d ZS × D		zp × wbp ZS × PLW	
	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD	\bar{x}	s / SD
Wygląd ogólny General appearance	4,8	0,15	4,7	0,17	4,9	0,14	4,8	0,17
Konsystencja / Consistence	4,7	0,23	4,7	0,18	4,9	0,12	4,6	0,30
Barwa / Colour:								
- wyrównanie / compensation	4,5	0,26	4,5	0,34	4,5	0,22	4,6	0,24
- pożądalność / desirability	4,5	0,37	4,6	0,28	4,6	0,22	4,7	0,24
Zapach / Flavour	4,6	0,17	4,8	0,12	4,8	0,10	4,7	0,09
Soczystość / Juiciness	4,3	0,16	4,4	0,19	4,3	0,09	4,4	0,14
Kruchość / Tenderness	4,7	0,12	4,8	0,10	4,8	0,18	4,8	0,12
Smakowitość / Palatability	4,7	0,17	4,7	0,12	4,7	0,16	4,6	0,18
Siła cięcia / Shear force [N]	38,23	7,62	38,82	6,73	36,07	6,88	43,72	8,02

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Objaśnienia symboli grup jak w tab. 1. / Meanings of group symbols as in Tab. 1.

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

Pod względem sensorycznym bardzo wysoko oceniono polędwicę wędzoną z mięsa wszystkich badanych grup (tab. 4). Za wygląd zewnętrzny i konsystencję przyznano polędwicom noty: $4,7 \div 4,9$ pkt. Na przekroju polędwicy wszystkich grup stwierdzono bardzo dobre wyrównanie i pożądalność barwy ($4,5 \div 4,7$ pkt). Obserwacje te potwierdziły wyniki instrumentalnego pomiaru jasności barwy, które nie różniły się istotnie – $p \leq 0,05$ ($L^* = 49,38 \div 52,46$). We wcześniejszych badaniach polędwicy

wędzonej uzyskanej z mięsa świń złotnickiej pstrej wykazano podobną, korzystną jasność barwy, która wynosiła $L^* = 49,60$ [5]. Oceniana sensorycznie kruchość polędwicy wędzonej była bardzo korzystna we wszystkich badanych grupach ($4,7 \div 4,8$ pkt), co potwierdziły także niskie wartości siły cięcia. Chociaż wartości siły cięcia nie różniły się istotnie ($p \leq 0,05$) między polędwicą uzyskaną z mięsa badanych grup świń, to jednak obserwowano tendencję do mniejszej kruchości określonej instrumentalnie w grupie mieszańców $zp \times wbp$. Może to mieć związek z mniejszą zawartością tłuszczu śródmięśniowego w mięsie tuczników tej grupy.

We wcześniejszych badaniach w polędwicy surowej wędzonej wytworzonej z mięsa pozyskanego ze świń złotnickich obserwowano wyższe wartości siły cięcia, tzn. w przypadku rasy złotnickiej białej – $58,23$ N, a rasy złotnickiej pstrej – $45,71$ N [5]. W kolejnej publikacji [7] podano, że siła cięcia polędwicy wędzonej surowej wyprodukowanej z mięsa mieszańców $pbz \times wbp$ i $pbz \times d$ była również większa i wynosiła odpowiednio: $46,86$ i $56,50$ N, natomiast wyniki oceny sensorycznej były niższe (odpowiednio: $4,5$ i $4,4$ pkt).

W porównaniu z polędwicą wędzoną szynka gotowana charakteryzowała się mniejszym przetłuszczeniem śródmięśniowym, przy czym w szynce z mięsa świń czystorasowych stwierdzono o około $0,6$ punktu procentowego mniej tłuszczu ($p \leq 0,05$) w stosunku do pozostałych grup (tab. 5). Valkova i wsp. [29], w szynce gotowanej pobranej z supermarketów Republiki Czeskiej, oznaczyli $1,56 \div 4,04$ % tłuszczu (średnio $2,38$ %). Natomiast Santos i wsp. [22] w szynce gotowanej wytworzonej z surowca pochodzącego z tuczników żywionych paszą z dodatkiem wielonienasyconych kwasów tłuszczowych uzyskali zawartość tłuszczu w przedziale $5,96 \div 6,89$ %.

W odróżnieniu od polędwicy wędzonej surowej szynkę gotowaną wyprodukowano w zmodyfikowanej technologii (nastrzykiwanie, masowanie mięśni). Znaczące zmiany właściwości fizycznych mięsa [28] w procesie masowania mogły wpłynąć na brak istotnych ($p \leq 0,05$) różnic pod względem kruchości szynek pomiędzy grupami genetycznymi (siła cięcia $44,88 \div 50,7$ N). Dobrą kruchość szynek badanych grup potwierdziły również wyniki oceny sensorycznej ($4,7$ do $4,8$ pkt). Dobra kruchość wyrobów z mięsa badanych mieszańców wiąże się także z tym, że w populacji nie stwierdzono mięsa wodnistego (tab. 6). Grześ i wsp. [4] wykazali, że bardzo dobrą kruchością charakteryzuje się mięso pozyskane ze świń wolnych od genu *RYSR 1*, natomiast znacznie mniejszą – mięso ze świń obciążonych tym genem. Stwierdzono dobre związanie plasterów szynki (średnia ocena $4,4$ pkt), na co miał niewątpliwy wpływ proces masowania.

Ważną cechą dla konsumenta jest barwa na przekroju wyrobu. Szynki wszystkich grup charakteryzowały się na przekroju pożądaną jasnoczerwoną ($4,5 \div 4,6$ pkt) i wyrównaną barwą (średnio około $4,3$ pkt). Potwierdziły to również wyniki pomiarów jasności barwy ($L^* = 60,38 \div 63,43$), które nie różniły się istotnie ($p \leq 0,05$) pomiędzy

grupami. Podobne wartości jasności barwy ($L^* = 65,59$) stwierdzono w szynce gotowanej wykonanej z mięsa rasy duroc [9].

Tabela 5. Charakterystyka cech fizykochemicznych szynki gotowanej
Table 5. The physical-chemical traits of cooked ham

Cecha Trait	Grupa / Group							
	zp × zp ZS × ZS		zp × (zp × d) ZS × (ZS × D)		zp × d ZS × D		zp × wbp ZS × PLW	
	\bar{X}	s / SD	\bar{X}	s / SD	\bar{X}	s / SD	\bar{X}	s / SD
Zawartość wody Moisture content [%]	71,29 ^b	0,86	70,31 ^a	0,98	70,74 ^a	0,72	70,63 ^b	0,93
Zawartość tłuszczu Fat content [%]	2,26 ^a	0,68	2,79 ^b	0,62	2,89 ^b	0,58	2,89 ^b	0,37
Zawartość białka Protein content [%]	22,43	1,02	22,89	1,23	22,37	0,58	22,48	1,03
Zawartość popiołu Ash content [%]	1,26	0,22	0,94	0,25	1,16	0,18	1,22	0,21
L^*	60,38	1,75	61,40	1,95	61,40	3,98	63,43	4,23
a^*	13,28	2,82	12,24	1,16	12,27	1,66	11,14	1,70
b^*	7,02	0,90	6,95	1,29	6,99	0,64	7,04	1,55
pH	5,95	0,11	6,01	0,14	5,89	0,07	5,90	0,05
Zawartość NaCl Content of NaCl [%]	2,76	0,44	3,07	0,40	2,84	0,36	2,78	0,41

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

Tabela 6. Wyniki oceny sensorycznej [punkty] i siła cięcia [N] szynki gotowanej
Table 6. Sensory assessment results [points] and shear force [N] of cooked ham

Cecha Trait	Grupa / Group							
	zp × zp ZS × ZS		zp × (zp × d) ZS × (ZS × D)		zp × d ZS × D		zp × wbp ZS × PLW	
	\bar{X}	s / SD	\bar{X}	s / SD	\bar{X}	s / SD	\bar{X}	s / SD
Wygląd ogólny General appearance	4,8 ^b	0,11	4,6 ^a	0,14	4,7 ^b	0,14	4,6 ^a	0,17
Konsystencja / Consistence	4,7 ^b	0,16	4,5 ^a	0,23	4,7 ^b	0,18	4,6 ^b	0,21
Związanie plastrów Binding slice	4,44	0,30	4,35	0,21	4,55	0,12	4,45	0,18
Barwa / Colour:								
- wyrównanie / compensation	4,5	0,17	4,3	0,21	4,3	0,22	4,4	0,25
- pożądalność / desirability	4,6	0,19	4,6	0,15	4,5	0,20	4,6	0,23
Zapach / Flavour	4,7	0,15	4,5	0,33	4,7	0,11	4,7	0,10
Soczystość / Juiciness	4,6	0,18	4,6	0,26	4,4	0,25	4,7	0,10
Kruchość / Tenderness	4,8	0,14	4,7	0,27	4,8	0,06	4,8	0,15
Smakowitość / Palatability	4,8	0,14	4,5	0,21	4,7	0,16	4,7	0,16
Siła cięcia / Shear force	44,88	10,11	50,77	15,75	45,39	10,70	48,07	13,50

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

Wnioski

1. Krzyżowanie świń rasy złotnickiej pstrej z rasami duroc i wbp przyczyniło się do wzrostu mięsności tusz i zmniejszenia grubości słoniny, ale tylko w przypadku mieszańców zawierających po 50 % genów obu ras.
2. Jakość przetworów mięsnych wytworzonych z mięsa badanych grup tuczników nie różniła się istotnie ($p \leq 0,05$) pod względem większości cech fizykochemicznych (pH, jasność barwy, siła cięcia), a także sensorycznych.
3. Badane przetwory różniły się pod względem składu chemicznego. Najmniej przetłuszczone połówce uzyskiwano z mięsa mieszańców $zp \times wbp$ (1,89 %), natomiast szynki – z mięsa tuczników czystorasowych (2,26 %).

Praca wykonana w ramach projektu badawczego nr N 311 266336, finansowanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

Literatura

- [1] Baryłko-Pikielna N., Matuszewska I.: Sensoryczne badania żywności. Podstawy. Metody. Zastosowania. Wyd. II. Wyd. Nauk. PTTŻ, Kraków 2014.
- [2] Borzuta K.: Badania nad przydatnością różnych metod szacowania mięsności do klasyfikacji tusz wieprzowych w systemie EUROP. Rozprawa habilit. Roczn. Inst. Przem. Mięś. Tł., 1998, **2 (35)**.
- [3] Dasiewicz K., Jankiewicz L., Słowiński M.: Wpływ dodatku kwasu cytrynowego i rodzaju cukru na właściwości mięsa peklowanego. Gosp. Mięś., 1996, **11**, 24-28.
- [4] Grześ B., Pospiech E., Łyczyński A., Koćwin-Podsiadła M., Mikołajczak B., Iwańska E., Rzosińska E., Czyżak-Runowska G.: Zależność pomiędzy zróżnicowaną podatnością świń na stres a kruchością mięsa i szybkością degradacji titiny. Roczn. Inst. Przem. Mięś. Tł., 2006, **2 (42)**, 25-32.
- [5] Grześkowiak E., Borzuta K., Strzelecki J., Buczyński J.T., Lisiak D., Janiszewski P.: Jakość tusz oraz przydatność technologiczna mięsa świń ras złotnickich. Roczn. Nauk. Zoot., 2007, **34**, 239-250.
- [6] Grześkowiak E., Borys A., Borzuta K., Buczyński J.T., Lisiak D.: Slaughter value, meat quality and backfat fatty acid profile in Złotnicka White and Złotnicka Spotted fatteners. Anim. Sci. Pap. Rep., 2009, **2 (27)**, 115-125.
- [7] Grześkowiak E., Borys A., Borzuta K., Lisiak D., Janiszewski P., Strzelecki J.: Badania jakości mięsa i tłuszczu tuczników pochodzących z krzyżowania ras białych i mieszańców z udziałem rasy duroc. Roczn. Nauk. PTZ, 2009, **2 (5)**, 157-165.
- [8] Grześkowiak E., Borzuta K., Lisiak D., Strzelecki J., Janiszewski P.: Właściwości fizykochemiczne i sensoryczne oraz skład kwasów tłuszczowych mięśnia *longissimus dorsi* mieszańców $pbz \times wbp$ oraz $pbz \times (d \times p)$. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2010, **6 (73)**, 189-198.
- [9] Grześkowiak E., Borzuta K., Strzelecki J., Lisiak D.: Investigations of the effect pigs genotype on the carcass quality and meat technological suitability. Roczn. Inst. Przem. Mięś. Tł., 2008, **3 (XLVI)**, 83-94.
- [10] Grześkowiak E., Pospiech E., Borzuta K.: Influence of high meatiness breeds on pork meat texture. Pol. J. Food Nutr. Sci., 1998, **2 (7/48)**, 216-221.
- [11] Instrukcja technologiczna. Wędliny i wyroby drobowe. Proces produkcyjny. ZPPM, Warszawa 1986.

- [12] Kapelański W., Buczyński J.T., Bocian M.: Slaughter value and meat quality in the Polish native Żłotnicka Spotted pig. Anim. Sci. Pap. Rep., 2006, **1 (24)** Suppl., 7-13.
- [13] Mathes M.: Pekłowanie to wiele więcej niż konserwowanie. Kompleksowe procesy biochemiczne. Mięso, Wędliny 1992, **1**, 14-17.
- [14] Migdał W., Przeor I., Wojtysiak D., Palka K., Natonek-Wiśniewska, Duda I.: Skład chemiczny, parametry tekstury oraz siła cięcia schabu (*m. longissimus*) i szynki (*m. semimembranosus*) loszek-tuczniaków ras polskiej białej zwisłouchej, wielkiej białej polskiej i duroc. Roczn. Nauk. Pol. Tow. Zoot., 2007, **3 (3)**, 105-112.
- [15] Piśula A., Pospiech E. (Red.): Mięso – podstawy nauki i technologii. Wydawnictwo SGGW, Warszawa 2011.
- [16] PN-ISO 1841-2:2002. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczenie zawartości chlorków. Część 2 – Metoda potencjonometryczna.
- [17] PN-ISO 936:2000 Oznaczanie zawartości popiołu
- [18] PN-ISO 1442: 2000. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości wody.
- [19] PN-ISO 1444:2000. Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości tłuszczu.
- [20] Pugliese C., Sirtori F.: Quality of meat and meat products produced from southern European pig breeds. Meat Sci. 2012, **90**, 511-518.
- [21] Salvatori G., Filetti F., Di Cesare C., Maiorano G., Pilla F., Oriani G.: Lipid composition of meat and backfat from casertana purebred and crossbred pigs reared outdoors. Meat Sci., 2008, **80**, 623-631.
- [22] Santos C., Ordonez J.A., Cambero I., D'Arriego M., Hoz L.: Physicochemical characteristics of an α -linolenic acids and α -tocopherol-enriched cooked ham. Food Chem., 2004, **88**, 123-128.
- [23] Stanisław A.: Przystępny kurs statystyki w oparciu o program STATISTICAL PL., na przykładach z medycyny. Statsoft Sp. z o.o. Kraków 1998.
- [24] Strzelecki J., Borzuta K., Grześkowiak E., Janiszewski P., Lisiak D., Buczyński J.T.: Effect of crossbreeding żłotnicka white pigs on carcass slaughter value. Ann. Anim. Sci., 2006, **1 (2)** Suppl., 287-290.
- [25] Szulc K. Stare rasy świń w Europie – casertana i sarda. Trz. Chł., 2009, **4 (XLVII)**, 36-37.
- [26] Szulc K. Stare rasy świń w Europie – Pi Noir du Pays Basque. Trz. Chł., 2010, **10 (XLVIII)**, 23-24.
- [27] Szulc K., Buczyński J.T., Skrzypczak E.: Breeding performance of żłotnicka spotted sows in pure breeding and in two-breed crossing. Ann. Anim. Sci., 2006, **1 (2)** Suppl., 55-59.
- [28] Tyszkiewicz I., Olkiewicz M.: Wpływ oddziaływania energetycznego na niektóre własności fizykochemiczne i mechaniczne surowca i produktu mięsnego. Roczn. Inst. Przem. Mięs. Tł. 1991, **27**, 17-31.
- [29] Valkova V., Salakova A., Buchtova H., Tremlova B.: Chemical, instrumental and sensory characteristics of cooked pork ham. Meat Sci., 2007, **77**, 608-615.
- [30] Ventanas S., Ventanas J., Jurado A., Estevez M.: Quality traits in muscle biceps femoris and backfat from purebred Iberian and reciprocal Iberian \times Duroc crossbred pigs. Meat Sci., 2006, **73**, 651-659.
- [31] Wajda S, Meller Z: Technological ability of meat of żłotnicka spotted pigs. Mat. I Konf. Nauk. Rasy rodzime świń. Poznań 26. XI. 1996, ss. 41-50.
- [32] Wartość pokarmowa pasz oraz normy żywieniowe świń. PAN. Omnitech Press, Warszawa 1993.

EFFECT OF CROSSING ZLOTNICKA SPOTTED PIGS WITH DUROC AND POLISH LARGE WHITE BREEDS ON QUALITY OF SELECTED MEAT PRODUCTS**S u m m a r y**

The quality was studied of raw smoked loin and cooked ham made from the pig meat of Zlotnicka Spotted breed and their hybrids with the Duroc and Polish Large White breeds. The following traits were determined in the meat products: moisture, fat and protein content, colour (L*a*b*), shear force, pH, and NaCl content; also they were assessed using a 1 to 5 points scale. In the case of the crossbreds, each having 50 % of genes of both breeds, the crossing of Zlotnicka Spotted pigs with the Duroc and Polish Large White breeds contributed to the fact that the meatiness of carcasses developed by ca. 1 and 4 pp, respectively, and the thickness of fat by ca. 0.5 cm. In all the genetic groups of the pigs studied, the meat produced showed a very good quality and exhibited no quality deviations. Referring to the majority of physical-chemical and sensory traits, no significant differences were reported among the qualities of meat products made from the meat derived from all the genetic groups studied. The sensory traits of both the ham and the loin were highly rated (over 4.5 pts on average). The mean rates did not differ statistically significantly ($p \leq 0,05$) among the genetic groups of pigs. It was found that the products analyzed differed in their chemical composition. The smoked loins derived from the group of ZS x PLW hybrids had 1.89 % of fat on average and those from all other groups: about 1.5 pp more. The cooked ham made from meat of the purebred porkers had 0.6 pp less fat compared to other groups analyzed. The crossing of the Zlotnicka Spotted pigs with the Duroc and PLW breeds contributes to the improvement of the slaughter value of porkers and does not cause the quality of the meat products made thereof to decrease.

Key words: Zlotnicka Spotted (zp), duroc (d), and Wielka Biała Polska (wbp) pig breeds, smoked loin, cooked ham, quality ☒

MARTA CHMIEL, KRZYSZTOF DASIEWICZ, MIROSLAW SŁOWIŃSKI

EFFECT OF TYPES OF PHOSPHATE PREPARATIONS USED ON THE QUALITY OF EMULSION-TYPE SAUSAGES

Summary

The objective of the research study was to determine the effect of phosphate preparations added in the form of 1 % aqueous solutions of various pH values on the quality of emulsion-type sausages. Four variants of sausages were manufactured: control variant with no phosphate preparations added (V1) and three variants with the phosphate preparations added: V2: 7.3; V3: 8.3; and V4: 9.7. The pH values of the meat batter and finished product were determined and the yield of the finished product was estimated. In the sausages studied, the total heme pigments and nitrosylhemochroms were determined and the heme pigment conversion degree was calculated. The texture parameters were measured and the sensory analysis of the emulsion-type sausages was performed. It was found that the addition of phosphate preparations impacted the pH value of the finished product, its yield, the total heme pigments and nitrosylhemochroms, as well as the heme pigment conversion degree. Moreover, a positive effect was reported of the added phosphate preparations on the texture of finished products (their hardness and chewiness) compared to the sausages with no phosphate preparations added. It was confirmed that it was advantageous to add, during the production process, phosphate preparations in the form of 1 % aqueous solutions of higher pH values to the emulsion-type sausages made from mechanically separated poultry meat; a proof thereof was, among other things, the increased yield of the finished product (from 117.9 % as for V1 to 122.8 % as for V4). The best results were obtained when the pH value of 1 % aqueous solutions of phosphate preparations was 9.7.

Key words: emulsion-type sausages, phosphate preparations, quality, texture

Introduction

Phosphate preparations are additives widely applied during the processing of meat [1, 3, 5, 10, 11]. It is supposed that main mechanisms associated with the activity of phosphates in meat are as follows: dissociation of actomyosin complex, formation of

Dr inż. M. Chmiel, dr hab K. Dasiewicz, prof. dr hab. M. Słowiński, Katedra Technologii Żywności, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa

pH values of the product, reinforcing the strength of ions in the surrounding environment and promoting the complex formation of divalent cations. Those functions are readily utilized in meat industry because the phosphates-based solutions are proven to impact the quality of meat products in many ways both during the production and the distribution processes. This fact is attributed to beneficial effects of phosphate preparations on water holding capacity (WHC) as well as on the rheological and sensory features of finished products [7]. The application of appropriate amounts of phosphates help manufacture meat products the features of which, such as: juiciness, tenderness, cross-section colour stability, easy-to-slice characteristics, and long shelf-life, are better [8, 12, 13, 17, 18, 19, 21]. The maximization of water-holding capacity of meat batters and the manufacturing of finished product with high overall acceptability characteristics in terms of consistency, colour, and flavour, depend, among other factors, on the composition and pH value of phosphate solutions. Owing to a wide range of pH values and their diverse composition, the phosphate-based solutions impact the quality of finished products in various ways [1, 15, 16]. In the industrial practice, blends of several phosphate preparations are applied to ensure the best technological results and to prevent precipitation of orthophosphates and di-phosphates in brine solutions containing calcium ions. In the reference literature, there are many publications on the impact of the amount of phosphates on the quality of processed meat products [4, 14, 20, 22]. However, there are very few scientific papers dealing with the issue of the effect of phosphates with various pH values of their 1% aqueous solution on the quality of emulsion-type sausages.

The objective of the present research study was to determine the effect of phosphate solutions (2000 mg/kg of meat batter expressed as P_2O_5) of various pH values on the quality of emulsion-type sausages. The results obtained should be regarded as important, in particular for the industrial manufacture of emulsion-type sausages.

Materials and methods

Preparing samples

The samples were made from a mechanically separated poultry meat, pork jowl, beef meat (consisting of 80 % of lean meat and 20 % of fat) and emulsion from pork rinds, which were produced in a medium-size meat processing plant in Poland (20 tons/shift) during the carcass fabrication therein.

The raw meat was a one-time purchase product divided into 4 batches that were vacuum packaged and stored at $-20 \pm ^\circ\text{C}$ for further analysis (the maximum storage time of refrigerated meat was 14 days). 18 h before the production of emulsion-type sausages started, relevant batches of pork jowl, beef meat, and emulsion from pork rinds were thawed at $4 \div ^\circ\text{C}$. The following proportions of different meat types were

used to produce four various meat batters: mechanically separated poultry meat: 50%; pork jowl: 25 % beef meat: 15 % (consisting of 80 % of lean meat and 20 % of fat); emulsion from pork rinds: 10 %; and ice: 30 %. To make meat batters, non-meat ingredients, such as spices and functional additives, were also used, including: curing salts: 2 % (99.4 % of NaCl and 0.6 % of NaNO₂); phosphate solution: 0.35 %; curing enhancer: 0.2 %; smoke powder: 0.15 %; and flavouring agents: 0.4 %. The meat batters were enhanced with phosphates of varying pH values of their 1 % aqueous solution; they served as a differentiating factor for the analyzed variants of meat batters: V2: 7.3 (di- and triphosphates); V3: 8.3 (di-, tri-, and polyphosphates); V4: 9.7 (triphosphates). All the phosphate compounds contained 57 % of P₂O₅.

In the analysis performed under this study, the formulation of the product was based on a production practice of one meat processor specialized in this kind of product. The content and composition of phosphate preparations added were as declared in the declaration of their manufacturer (BK Giulini, Germany).

Manufacturing emulsion-type sausages

The formulations of all the subsequent meat batter preparations were made according to good manufacturing practice (GMP) in meat processing plants. The thawed pork jowl and beef meat were processed using a Mesko WN60 mincing machine (manufactured by Mesko, Skarżysko-Kamienna, Poland) that was equipped with a 3 mm plate. The meat was minced in a heavy-duty bowl cutter with rapidly moving blades of 3000 rpm (manufactured by GmbH & Co., Ulm, Germany) in a vacuum environment. The meat batter was prepared in three stages. In the first stage, the ingredients: beef meat, mechanically separated poultry meat, 1/3 of all the crushed ice, curing salts blend, and phosphate solution (appropriate for the sausages manufactured acc. to the formulation of V2-V4 variants) were emulsified for 1 minute. In the second stage, the emulsion of pork rinds and 1/3 of all the crushed ice were added; next, the whole homogenate was minced for 1.5 min. In the third stage, the pork jowl, the rest of the crushed ice, spices, and other functional additives were added. The meat batters were ground for another two minutes until their temperature reached the level of max 12°C. Then, using a hand sausage stuffer (manufactured by Friedr. Dick GmbH & Co. KG, Deizisau, Germany), 22 mm cellulose casings were filled with the ready meat batters; next, 15 cm long batons of stable weight were formed so as to guarantee a uniform fill in each casing. The encased sausages were held at 30 °C for 30 min and, afterwards, heated in a smoking-scalding chamber (manufactured by Jugema, Środa Wielkopolska, Poland) until their internal temperature became 72° C. The sausages were heated for 40 min. Subsequently, the sausages were cold showered for 10 min and, then, stored at 4 ÷ 6 °C for 24 h. In every production batch, approx. 2 kg of sausages of every variant were produced (approx. 40 batons of each product variant).

Ca. 24 h after the production was finished, physicochemical and sensory analyses were performed. Sausages designed for the physicochemical analysis were minced twice using a Zelmer Diana 886.8 mincing machine (manufactured by Zelmer, Rzeszów, Poland) equipped with a 3 mm plate.

Measuring pH values

Both the pH value of the meat batter and the finished product were evaluated using a CP-411 pH-meter calibrated with pH 4 and pH 7 buffers (manufactured by Elmetron, Zabrze, Poland). The pH level of the meat batter was measured by inserting a glass-calomel electrode and temperature compensation sensor directly into the analyzed meat batter. The pH level of the finished product was measured upon the completion of 24 h cooling (at 4 ÷ 6 °C). Prior to taking the pH values, 10 g of previously minced finished sausage and 30 cm³ of distilled water were placed in a 50 cm³ glass beaker; next, all the ingredients were thoroughly mixed and, then, left for 10 min.

Yield of finished product

Upon the completion of the planned 24 hr refrigeration of the sausages at 4 ÷ 6 °C, the yield of the finished product was assessed. The assessments were based on the weight differences between the pre- and post-cooking samples and they were expressed as %.

Content of total heme pigments, nitrosylhemochroms, and the heme pigment conversion degree

The content of total heme pigments and the heme pigment conversion degree were measured according to a method as described by Hornsey [9]. The absorbance was evaluated using a HITACHI-U-1100 reflectance spectrophotometer (Hitachi Corporation, Ltd., Tokyo, Japan). The heme pigment conversion degree was calculated using the following formula:

$$x = Nc/Nt \times 100 \%$$

where: Nc – content of nitrosylhemochrom,

Nt – content of total hem pigments.

Texture analysis

Double compression

A texture analysis of emulsion-type sausages was performed 24 h after the production. The texture readings were taken using a Zwicki 1120 texture analyzer (Zwick GmbH & Co., Ulm, Germany). Prior to the evaluation, the samples of 22 mm in diameter and 30 mm in height were stored at 20 ÷ 22° C for 2 h. Those samples were com-

pressed twice between two parallel sheets of the apparatus. The head speed was set at 30 mm/min until the load cell sensed a 0.2 N force and 50 mm/min during the relevant analysis.

During the first cycle of compression, the sample was 50 % deformed. Once initiated, the second cycle continued until this value decreased upon the sample deformation. A testExpert software (v.12.0, 2006, Zwick GmbH & Co., Ulm, Germany) was used to calculate, based on the parameter descriptors, the values of the following parameters: springiness, cohesiveness, hardness, and chewiness. The analysis was replicated four times and an average was calculated from all four replicates.

The parameters were determined as follows: – hardness: maximum force value [N] at a first sample compression; – cohesiveness: ratio between the work performed during the second compression and the work performed during the first compression; – springiness: ratio between the second peak base and the first peak base; and – chewiness: product of firmness, cohesiveness, and springiness.

Warner-Bratzler shear force

A shear test was performed using a Zwicki 1120 texture analyzer. The samples were taken by cutting the emulsion-type sausages with a special Warner-Bratzler attachment equipped with an inverted V-cut. The crosshead speed was set at 30 mm/min until it reached 0.2 N pre-stress and, then, at 50 mm/min during the main analysis. The analysis was conducted until the sample was wholly cut.

Sensory evaluation

A sensory evaluation was carried out 24 h after the emulsion-type sausages were produced. A six-member sensory panel was selected to evaluate the product. The sensory analysis was performed using an unstructured intensity scale with anchors. The parameters: colour, odour, flavour, hardness, springiness, and overall acceptability of the sausages were evaluated. The sensory evaluation was replicated six times [2].

Statistical analysis

The results obtained were statistically analyzed using a Statgraphics 4.1. Plus software (Statistical Graphics Corp., Rockville, MD). All the data were analysed using an analysis of variance (One-Way ANOVA). Significant differences appearing among the features tested were verified by a Tukey's HSD test at a significance level of $p = 0.05$.

Results and discussion

The effect of phosphate compounds on the pH value of meat batter and emulsion-type sausages

One of the most important indicators of technological quality characteristics of meat and meat batters is their pH value. Based on the One-Way ANOVA analysis, it was proved that, although many phosphates of various pH values of their 1% aqueous solutions were applied, the addition of phosphate compounds did not have any significant ($p > 0.05$) effect on the pH value of meat batter (Tab. 1).

Table 1. pH values and yield of analyzed emulsion-type sausages
Tabela 1. Wartość pH oraz wydajność badanych kielbas homogenizowanych

Characteristic Wyróżnik	Variant 1 Wariant 1 ($\bar{x} \pm SD / s$)	Variant 2 Wariant 2 ($\bar{x} \pm SD / s$)	Variant 3 Wariant 3 ($\bar{x} \pm SD / s$)	Variant 4 Wariant 4 ($\bar{x} \pm SD / s$)
pH of meat batter pH farszu	5.9 ± 0.1	6.1 ± 0.1	6.1 ± 0.1	6.1 ± 0.1
pH of finished product pH wyrobu gotowego	6.1 ^a ± 0.2	6.2 ^{ab} ± 0.1	6.3 ^b ± 0.1	6.3 ^b ± 0.2
Yield of finished product [%] Wydajność wyrobu gotowego	117.9 ^a ± 2.3	121.6 ^b ± 0.6	121.4 ^b ± 1.4	122.8 ^c ± 1.0

Explanatory notes: / objaśnienia:

$\bar{x} \pm s / SD$ – mean value ± standard deviation / wartość średnia ± odchylenie standardowe; a, b – mean values in individual rows and denoted by different lower case letters differ statistically significantly ($p \leq 0.05$) / wartości średnie w poszczególnych wierszach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$).

However, because of the salts of phosphoric acid used in the experiment an alkaline reaction occurred. Thus, their addition caused a slight shift in the pH value of meat batter manufactured according to a V2-V4 recipe towards the acidic region compared to the control meat batter (V1). The tendency observed in this study agrees with the results reported by other authors [4, 6].

The pH level of the finished product was significantly different ($p \leq 0.05$) depending on the variety of phosphate addition used (Tab. 1). The sausages containing phosphate compounds (V2-V4) had a higher pH compared to phosphate-free sausages (V1). Compared to the sausages manufactured without phosphate preparations (V1), the most significant increase in the pH value of sausages was reported in the products enhanced with phosphates the 1 % aqueous solutions of which had a pH value of 8.3 (V3) and 9.7 (V4; Tab. 1). Those results were also consistent with the findings by other researchers [13, 16] who confirmed that the alkaline phosphates produced an increase in the pH value of the finished product.

Yield of finished product

The sausages produced according to the recipe of control variant, i.e. they were not enhanced with the phosphate preparations (V1), were found to have the lowest ($p \leq 0.05$) yield (Tab. 1). The phosphate preparations added (V2-V4) caused the yield of the analyzed sausages to increase by 2.9 units to a level of 4.9 % compared to the sausages without any phosphates added (V1, Tab. 1). This was attributed to the fact that the phosphate anions had a meat protein activating capacity, and, consequently, contributed to the improvement of water binding and retention capacity in the finished products and to the reduction in the cooking loss. The results of the studies by many authors [12, 13, 18, 19] indicate that the addition of phosphates inhibits a drip loss across all processing stages of meat products including emulsion-type sausages. Moreover, the application of the phosphate compounds in combination with NaCl causes the WHC of the finished product to considerably increase and, also, the yield of that product to be raised. The phosphates used in the present study exhibited a reaction from neutral (7.3 for V2) to alkaline (9.7 for V4), which caused the pH to shift away from the isoelectric point (IEP) of myofibrillar proteins and this, in turn, resulted in a higher water retention in the product. The results are in a 'broad agreement' with earlier works on this matter [16, 17].

Content of total hem pigments, nitrosylhemochroms, and heme pigment conversion degree

Including phosphates in the emulsion-type sausage production caused no impact ($p > 0.05$) on the content of the total hem pigments; however, they affected the content of nitrosylhemochroms ($p \leq 0.05$) as well as the heme pigment conversion degree (Tab. 2).

Regardless of the addition of phosphates, the heme pigment conversion degree calculated amounted to more than 50 %, thus, producing a desirable colour of the finished product [9]. The highest heme pigment conversion degree was determined in the non-treated sausages. In addition, it was concluded that the heme pigment conversion degree decreased with the increasing pH of 1 % aqueous solution of the enhanced phosphate (Tab. 2). With regard to the content of nitrosylhemochroms and the heme pigment conversion degree, the differentiation of sausages can be attributed to the fact that while the pH values decreased, the rate of curing process, i.e. of the reaction of heme pigments with nitric oxide (NO), rose.

Table 2. Content of total heme pigments, nitrosylhemochromes, and heme pigment conversion degree of emulsion-type sausages analyzed
 Tabela 2. Zawartość barwników hemowych ogółem, nitrozylobarwników i stopień przereagowania barwników badanych kielbas homogenizowanych

Characteristic Wyróżnik	Variant 1 Wariant 1 ($\bar{x} \pm SD / s$)	Variant 2 Wariant 2 ($\bar{x} \pm SD / s$)	Variant 3 Wariant 3 ($\bar{x} \pm SD / s$)	Variant 4 Wariant 4 ($\bar{x} \pm SD / s$)
Content of total heme pigments Zawartość barwników hemowych ogółem [ppm hemin]	118.2 ± 2.4	117.5 ± 3.3	117.5 ± 3.1	117.1 ± 3.1
Content of nitrosyl-hemochromes Zawartość nitrozylobarwników [ppm hemin]	74.5 ^a ± 1.5	67.9 ^b ± 1.5	66.9 ^b ± 2.0	66.0 ^b ± 2.0
Heme pigment conversion degree Stopień przereagowania barwników [%]	63.0 ^a ± 1.0	57.8 ^b ± 1.9	56.9 ^b ± 3.8	56.4 ^b ± 3.8

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

Texture analysis

Double compression and Warner-Bratzler shear force

The phosphate treatments used in the study significantly ($p \leq 0.05$) impact the hardness and chewiness of the analyzed sausages (Tab. 3). The lowest values of the parameters were determined in the untreated samples (V1) and there were no differences among the sausages with added phosphates of different pH of their 1 % aqueous

Table 3. Texture parameters of emulsion-type sausages analyzed
 Tabela 3. Parametry tekstury badanych kielbas homogenizowanych

Characteristic Wyróżnik	Variant 1 Wariant 1 ($\bar{x} \pm SD / s$)	Variant 2 Wariant 2 ($\bar{x} \pm SD / s$)	Variant 3 Wariant 3 ($\bar{x} \pm SD / s$)	Variant 4 Wariant 4 ($\bar{x} \pm SD / s$)
Cohesiveness Spoistość	0.4 ± 0.04	0.4 ± 0.04	0.4 ± 0.03	0.4 ± 0.02
Springiness Sprężystość	0.7 ± 0.03	0.7 ± 0.01	0.7 ± 0.01	0.7 ± 0.03
Hardness Twardość [N]	35.4 ^a ± 0.5	39.9 ^b ± 1.2	40.9 ^b ± 1.5	41.3 ^b ± 2.3
Chewiness Żujność [N]	9.9 ^a ± 1.3	11.2 ^b ± 1.1	11.5 ^b ± 0.9	11.5 ^b ± 1.5
Shear force Siła cięcia [N/cm ²]	3.6 ± 0.2	3.9 ± 0.2	3.9 ± 0.2	3.9 ± 0.2

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

solutions. The findings made in this study were in agreement with the results reported by other authors [16]. Similarly, the addition of the phosphate compounds for the purpose of producing restructured scalded hams from PSE meat resulted in their greater hardness and chewiness [14].

The statistical analysis did not show significant differences ($p > 0.05$) in shear force on the day after production (Tab. 3). There were no significant differences in shear force among the phosphate-stimulated products (V2-V4). Only a tendency to higher shear force values for sausages with phosphates were observed (Tab. 3).

Sensory analysis

The statistical analysis did not show any effect from adding the phosphates on the colour, odour, and flavour of the emulsion-type sausages that underwent the sensory evaluation (Table 4). However, the sausages were rated higher as regards their overall acceptability for they showed an increasing pattern in pH of their 1% aqueous solution.

Table 4. Characteristics of sensory quality of analyzed emulsion-type sausages

Tabela 4. Wyróżniki jakości sensorycznej badanych kiełbas homogenizowanych

Characteristic / Wyróżnik (0 p. not acceptable - 10 p. acceptable) (0 pkt. niepożądana - 10 pkt. pożądana)	Variant 1 Wariant 1 ($\bar{x} \pm s / SD$)	Variant 2 Wariant 2 ($\bar{x} \pm s / SD$)	Variant 3 Wariant 3 ($\bar{x} \pm s / SD$)	Variant 4 Wariant 4 ($\bar{x} \pm s / SD$)
Colour / Barwa	8.2± 0.3	7.9± 0.5	7.7± 1.0	7.8± 0.8
Odour / Zapach	8.2± 0.5	8.0± 0.9	8.1± 0.9	8.3± 0.5
Flavour / Smak	8.0± 0.3	8.0± 0.6	7.7± 0.5	8.0± 1.0
Hardness / Twardość	7.5± 0.7	7.1± 0.7	7.4± 0.6	7.8± 0.4
Springiness / Żujność	7.8± 0.5	7.4± 1.5	7.5± 0.6	7.8± 1.0
Overall acceptability Akceptowalność ogólna	7.7± 0.3	7.4± 0.3	7.7± 0.6	8.1± 0.2

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

In the reference literature, there are publications on the sensory quality of products with and without phosphate preparations added. The scalded sausages produced with the addition of phosphates did not exhibit differences with regard to the aforementioned descriptors [15].

Conclusions

1. The addition of phosphate compounds of varying pH values of their 1 % aqueous solutions did not impact the pH value of meat batters, but it significantly influenced the pH of the finished product.
2. The concentration of phosphates of higher pH values of their 1 % aqueous solutions represents the most suitable method to increase the yield of the finished prod-

- uct. The best results were obtained using phosphates the 1% aqueous solutions of which had a pH 9.7 (V4).
3. The sensory analysis showed that the addition of phosphates of pH values of their 1 % aqueous solutions improved the overall acceptability of emulsion-type sausages. There were slight differences in the characteristics evaluated as regards the different pH values of 1% aqueous solution of phosphates.
 4. It is suggested to apply phosphates of higher pH values of their 1 % aqueous solutions to produce the emulsion-type sausages from mechanically separated poultry meat because it makes it possible to increase the yield of the finished product. The different pH of 1 % aqueous solutions of phosphates did not significantly influence other examined quality factors, such as texture parameters and sensory characteristics of the emulsion-type sausages.

References

- [1] Arneth W., Herold B., Hammer G.F.: Degradation of di- and triphosphate in cooked sausage. *Fleischwirtschaft.*, 2002, **1**, 78-80.
- [2] Barylko-Pikielna N., Matuszewska I.: *Sensoryczne badania żywności*. Wyd. Nauk. PTTŻ, Kraków 2009.
- [3] Baublits R.T., Pohlman F.W., Brown A.H., Johnson Z.B.: Effect of sodium chloride, phosphate type and concentration, and pump rate on beef biceps femoris quality and sensory characteristics. *Meat Sci.*, 2005, **70**, 205-214.
- [4] Cheng J.H., Ockerman H.W.: Effect of phosphate with tumbling on lipid oxidation of precooked roast beef. *Meat Sci.*, 2003, **65**, 1353-1359.
- [5] Dušek M., Kvasnička F., Lukášková L., Krátká J.: Isotachophoretic determination of added phosphate in meat products. *Meat Sci.*, 2003, **65**, 765-769.
- [6] Fernández-Martín F., Cofrades S., Carballo J., Jiménez-Colmenero F.: Salt and phosphate effects on the gelling process of pressure/heat treated pork batters. *Meat Sci.*, 2002, **61**, 15-23.
- [7] Flores N.C., Boyle E.A.E., Kastner C.L.: Instrumental and consumer evaluation of pork restructured with Aactiva™ or with Fibrimex™ formulated with and without phosphate. *LWT-Food Sci. Technol.*, 2002, **40**, 179-185.
- [8] Hayes J.E., Desmond E.M., Troy D.J., Buckley D.J., Mehra R.: The effect of enhancement with salt, phosphate and milk proteins on the physical and sensory properties of pork loin. *Meat Sci.*, 2006, **72**, 380-386.
- [9] Hornsey H.C.: The color of cooked cured pork. I. Estimation of the nitric oxide-haem pigments. *J. Sci. Food Agric.*, 1956, **7**, 534-540.
- [10] Hsu S.Y., Chung H.Y.: Effects of j-carrageenan, salt, phosphates and fat on qualities of low-fat emulsified meatballs. *J. Food Eng.*, 2001, **47**, 115-121.
- [11] Jastrzębska A., Hrynczyszyn P., Szlyk E.: Comparison of cITP and 31 P NMR Methods for determination of Polyphosphates in Meat Product and Sea Fruits. *Czech J. Food Sci.*, 2009, **27**, 340-344.
- [12] Klettner P.G.: Effect of different phosphates in cooked sausage. *Fleischwirtschaft.*, 2000, **4**, 143-145.
- [13] Klettner P.G.: Technological effects of trisodium phosphate and sodium triphosphate in cooked sausage. *Fleischwirtschaft.*, 2000, **5**, 72-73.

- [14] Kobyliński J., Florowski T.: Wpływ dodatku fosforanów i węgla sodu na jakość szynki restrukturyzowanych wyprodukowanych z mrożonego mięsa PSE. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **6** (85), 167-179.
- [15] Möller S., Rahn M., Schneider F.: Effect of different phosphates preparations for consistency and sensors of cooked sausages. *Fleischwirtschaft.*, 2001, **8**, 101-103.
- [16] Müller W.D., Eber M., Przytulla J.: Influence of different phosphates doses on technological parameters and sensory properties of cooked ham. *Fleischwirtschaft.*, 2000, **1**, 99-102.
- [17] Önenç A., Serdaroglu M., Abdraimov K.: Effect of various additives to marinating baths on some properties of cattle meat. *Eur. Food Res. Technol.*, 2004, **218**, 114-117.
- [18] Pietrasik Z., Janz J.A.M.: Influence of freezing and thawing on the hydration characteristics, quality, and consumer acceptance of whole muscle beef injected with solutions of salt and phosphate. *Meat Sci.*, 2009, **81**, 523-532.
- [19] Puolanne E.J., Ruusunen M.H., Vainionpää J.I.: Combined effects of NaCl and raw meat pH on water-holding in cooked sausage with and without added phosphate. *Meat Sci.*, 2001, **58**, 1-7.
- [20] Sammel L.M., Claus J.R.: Calcium chloride and tricalcium phosphate effects on the pink color defect in cooked ground and intact turkey breast. *Meat Sci.*, 2007, **77**, 492-498.
- [21] Uttaro B., Aalhus J.L.: Effect of thawing rate on distribution of an injected salt and phosphate brine in beef. *Meat Sci.*, 2007, **75**, 480-486.
- [22] Wang P., Xu X.-L., Zhou G.H.: Effects of meat and phosphate level on water-holding capacity and texture of emulsion -type sausage during storage. *Agric. Sci. in China.*, 2009, **8**, 1475-1481.

WPLYW RODZAJU ZASTOSOWANYCH PREPARATÓW FOSFORANOWYCH NA JAKOŚĆ KIELBAS HOMOGENIZOWANYCH

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu dodatku preparatów fosforanowych w postaci 1-procentowych wodnych roztworów o różnym pH na jakość kielbas homogenizowanych. Produkowano 4 warianty kielbas: kontrolny (W1) bez dodatku preparatów fosforanowych oraz 3 warianty z ich dodatkiem o pH: W2 – 7,3, W3 – 8,3 i W4 – 9,7. Dokonano oznaczeń pH farszu oraz wyrobu gotowego, a także obliczono wydajność wyrobu gotowego. W badanych kielbasach oznaczono zawartość barwników hemowych ogółem i nitrozylobarwników, a także obliczono stopień przereagowania barwników. Dokonano pomiaru parametrów tekstury i przeprowadzono analizę sensoryczną badanych kielbas homogenizowanych. Stwierdzono, że dodatek preparatów fosforanowych wpłynął na pH gotowego wyrobu, jego wydajność, a także zawartość barwników hemowych ogółem, nitrozylobarwników oraz stopień przereagowania barwników. Stwierdzono także pozytywny wpływ preparatów fosforanowych na teksturę wyrobów (twardość i żujność) w porównaniu z kielbasami bez ich dodatku. Dowiedziono celowości użycia w produkcji kielbas homogenizowanych z odścięgniętego mięsa drobiowego 1-procentowych roztworów preparatów fosforanowych o wyższym pH, na co wskazuje m.in. wzrost wydajności gotowego wyrobu (ze 117,9 % – W1 do 122,8 % – W4). Najlepsze wyniki uzyskano przy użyciu 1-procentowych roztworów preparatów fosforanowych o pH 9,7.

Słowa kluczowe: kielbasy homogenizowane, preparaty fosforanowe, jakość, tekstura ☒

DOMINIKA TOLIK, MIROSŁAW SŁOWIŃSKI, KATARZYNA DESPERAK

WPLYW ZASTOSOWANIA DROBIOWEGO MIĘSA ODDZIELONEGO MECHANICZNIE ORAZ MIĘSA ODŚCIĘGNIONEGO NA JAKOŚĆ PASZTETÓW STERYLIZOWANYCH

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu zastosowania drobiowego mięsa oddzielonego mechanicznie (MDOM) oraz mięsa odścięgnionego (Baader) na wybrane wyróżniki jakości pasztetów sterylizowanych. Jakość pasztetów określano po 48 h od ich wyprodukowania. Oznaczono w nich: pH, ilość wycieku po obróbce termicznej, parametry barwy, siłę penetracji, zawartość wody, białka i tłuszczu oraz oceniono jakość sensoryczną. Stwierdzono, że zarówno MDOM, jak i Baader mogą być stosowane do produkcji apertyzowanych pasztetów drobiowych. Pasztety zawierające mięso drobiowe oddzielone mechanicznie charakteryzowały się niższą wartością parametru barwy L* (57,2) oraz wyższą wartością parametru barwy a* (7,2) w porównaniu z pasztetami zawierającymi mięso drobiowe odścięgnięte (odpowiednio: 60,8 i 5,8). Nie zaobserwowano istotnego ($p < 0,05$) wpływu rodzaju użytego surowca mięsnego na pH, które w obydwu wariantach pasztetów wynosiło 6,5 oraz na ilość wycieku po obróbce termicznej pasztetów zawierających oddzielone i odścięgnięte mięso drobiowe (odpowiednio: 2,9 i 3,2 %). Wartość siły penetracji pasztetów zawierających MDOM wynosiła 2,5 N i nie różniła się istotnie ($p < 0,05$) od wartości tego parametru pasztetów zawierających Baader (2,4 N). Rodzaj użytego surowca nie wpłynął również na podstawowy skład chemiczny. Zawartość wody, białka i tłuszczu w pasztetach zawierających mechanicznie oddzielone mięso drobiowe wynosiła odpowiednio [%]: 59,1, 17,2 oraz 22,5. Pasztety zawierające drobiowe mięso odścięgnięte charakteryzowały się zawartością wody na poziomie 60,0 %, białka – 17,5 % oraz tłuszczu – 21,2 %. Nie stwierdzono także istotnych ($p < 0,05$) różnic pod względem jakości sensorycznej obu wariantów pasztetu.

Słowa kluczowe: mięso drobiowe oddzielone mechanicznie (MDOM), mięso drobiowe odścięgnięte (Baader), pasztet, konserwy sterylizowane

Wprowadzenie

Konserwy to grupa produktów spożywczych zamkniętych w hermetycznym opakowaniu i poddanych obróbce termicznej, która powoduje zniszczenie mikroflory lub jej redukcję do poziomu zapewniającego ich trwałość oraz bezpieczeństwo zdrowotne [18]. W zależności od sposobu obróbki termicznej i trwałości mikrobiologicznej wyróżnia się konserwy [1]:

- pasteryzowane – po zamknięciu w hermetycznym opakowaniu poddane obróbce cieplnej w temperaturze do 100 °C, wymagające chłodniczego przechowywania;
- sterylizowane – po zamknięciu w hermetycznym opakowaniu poddane obróbce cieplnej w temperaturze powyżej 100 °C, wymagające lub niewymagające chłodniczego przechowywania;
- trwałe w temperaturze otoczenia – po zamknięciu w hermetycznym opakowaniu poddane obróbce cieplnej, spełniającej określone wymagania dotyczące czasu i temperatury osiągniętej w centrum geometrycznym produktu, dobrane w zależności od wsadu konserwy i zawartości soli.

Wśród konserw mięsnych pasztesy są produktami, które charakteryzują się stosunkowo niską wartością odżywczą, zależną głównie od doboru i jakości głównych składników recepturowych, tj. surowców mięsnych, tłuszczowych i dodatków funkcjonalnych [2, 4]. Konserwy typu paszтет cechują się niskimi kosztami produkcji i niską ceną. Zainteresowanie producentów tym sortymentem może wynikać m.in. z możliwości wykorzystania do ich produkcji łatwo dostępnych i tanich surowców, m.in. mięsa oddzielonego mechanicznie oraz mięsa odścięgniętego [7, 16, 23].

Celem pracy było określenie wpływu zastosowania drobiowego mięsa oddzielonego mechanicznie (MDOM) oraz mięsa odścięgniętego (Baader) na wybrane wyróżniki jakości paszтетów sterylizowanych.

Material i metody badań

Część doświadczalną pracy wykonano w Zakładzie Technologii Mięsa Wydziału Nauk o Żywności SGGW w Warszawie. Do produkcji paszтетów używano mięsa drobiowego oddzielonego mechanicznie (MDOM) oraz mięsa drobiowego odścięgniętego (Baader), zakupionych u producenta (Suwalskie Zakłady Drobiarskie, Polska). MDOM zostało pozyskane z tuszek kurcząt po oddzieleniu z nich mięśni piersiowych oraz części udowej, Baader natomiast – z odścięgnięcia skrawków mięśni piersiowych otrzymanych podczas doczyszczania filetów kurcząt. Surowce podzielono na porcje, zapakowano w woreczki foliowe (PE) z zastosowaniem próżni (50 mBar), przy użyciu zamykarki próżniowej C70 (Multivac, Polska) i przechowywano w stanie zamrożonym (w temp. -18 °C) do czasu produkcji paszтетów, tj. przez okres nie dłuższy niż 2 miesiące. Wątroba drobiowa i surowce tłuszczowe (podgardle wieprzowe) pochodziły

z bieżących dostaw sklepowych. Przed przystąpieniem do produkcji pasztetów MDOM i mięso Baader ogrzewano w szczelnie zamkniętych torebkach z folii wielowarstwowej we wrzącej wodzie przez 45 min. W tych samych warunkach gotowano osobno niezapakowane podgardle wraz ze świeżą cebulą, które następnie rozdrabniano w wilku laboratoryjnym (z siatką o średnicy otworów 5 mm). Bulion pozostały po gotowaniu był wykorzystywany do produkcji pasztetów. Przed przystąpieniem do wytwarzania farszu surową wątrobę kutrowano przez 1 min wraz z połową przewidzianej ilości soli aż do uzyskania homogennej konsystencji. Pozostałe składniki odważano zgodnie z recepturą (tab. 1).

Tabela 1. Skład recepturowy apertyzowanych pasztetów drobiowych
Table 1. Composition of apertized poultry pâtés

Składnik / Ingredient [%]	
Mięso drobiowe (oddzielone mechanicznie MDOM lub mięso odścięgnięte Baader) Mechanically deboned poultry meat (MDM) or desinewed meat (DSM)	50,0
Podgardle wieprzowe / Pork jowl	30,0
Wątroбка drobiowa / Poultry liver	20,0
Razem / Total	100,0
Składniki pomocnicze w stosunku do masy surowców podstawowych [%] Supplementary ingredients in relation to weight of basic ingredients [%]	
Sól kuchenna / Salt	1,5
Cebula świeża / Fresh onion	2,0
Gałka muszkatołowa / Nutmeg	0,05
Majeranek / Marjoram	0,2
Pieprz naturalny / Black pepper	0,1
Pieprz ziołowy / Pepper spice mix	0,2
Koncentrat białka sojowego / Soy protein concentrate	4,0
Bulion / Broth	21,95
Razem / Total	130,0

Przygotowane surowce kutrowano w kutrze laboratoryjnym UM-5 (Stephan, Niemcy) (każdy etap przez 2 min) w kolejności:

- podgardle wieprzowe, koncentrat białka sojowego, połowa ilości gorącego bulionu,
- MDOM lub Baader i pozostała sól,
- reszta bulionu i przyprawy,
- wątroba poddana kutrowaniu wcześniej (dodawana po osiągnięciu przez farsz temp. niższej niż 40 °C).

Z tak przygotowanych farszów odważano próbki po 180 g do metalowych puszek i zamykano na podwójną zakładkę przy użyciu zamykarki półautomatycznej Novhandy (Novopack, Niemcy). Wyprodukowane konserwy sterylizowano w autoklawie A-125E (Jugema, Polska) przez 40 min w temp. 121 °C do osiągnięcia dawki cieplnej $F \geq 3,0$.

Po obróbce cieplnej konserwy studzono w zimnej wodzie do temp. ok. 30 °C, a następnie przetrzymywano w chłodni (temp. 4 ÷ 6 °C) przez 24 h. Po tym czasie, przed oceną, konserwy kondycjonowano w temp. 20 °C przez 24 h. Proces produkcji konserw wykonano trzykrotnie.

W celu określenia jakości pasztetów oznaczano:

- pH gotowego wyrobu – przy użyciu pehametru CP-315 (Elmetron, Polska), z elektrodą zespoloną szklano-kalomelową,
- ilość wycieku po obróbce cieplnej – na podstawie różnicy między masą farszu przed obróbką [g], a jego masą po obróbce [g], w stosunku do masy początkowej farszu [g], wynik wyrażano w [%],
- siłę penetracji – przy użyciu maszyny wytrzymałościowej Zwick typ 1120 (Zwick, Niemcy). Używano trzpienia cylindrycznego płaskościennego o średnicy 13 mm. Pomiar wykonywano na blokach pasztetów w otwartych puszkach (próbka płaska). Wartość siły odczytywano po penetracji bolca na głębokość 10 mm od momentu osiągnięcia siły wstępnej 0,1 N przy prędkości przesuwu głowicy 50 mm/min. Za wynik oznaczenia przyjmowano średnią z trzech powtórzeń,
- podstawowy skład chemiczny (zawartość wody, białka i tłuszczu). Oznaczenia wykonywano metodą spektrometrii transmisyjnej w bliskiej podczerwieni przy użyciu aparatu FoodScan (Foss Analytical, Dania). Pomiar wykonywano w trzech powtórzeniach, przyjmując ich średnią za wynik oznaczenia,
- parametry barwy metodą odbiciową przy użyciu spektrofotometru Minolta CR-200 w systemie CIE Lab – źródło światła D₆₅, obserwator 10° (Konica Minolta, Japonia). Za wynik oznaczenia przyjmowano średnią z pięciu pomiarów.

Ocenę sensoryczną metodą 9-stopniowej skali hedonicznej (1 – nieakceptowany, 9 – w pełni akceptowany) przeprowadzał 6-osobowy panel sensoryczny. Oceniano: barwę, zapach, smak, konsystencję, twardość, smarowność i ogólną pożądalność pasztetów [13].

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej przy użyciu programu StatGraphics 7.1., stosując jednoczynnikową analizę wariancji. Istotność różnic weryfikowano testem Tukeya ($p < 0,05$).

Wyniki i dyskusja

Niezależnie od rodzaju użytego surowca mięsnego średnie pH badanych pasztetów wynosiło 6,5 (tab. 2). Tyburcy i wsp. [22] wykazali, że pH rynkowych pasztetów

drobiowych wahało się w granicach $5,9 \div 6,4$, a więc na poziomie zbliżonym do obserwowanego w niniejszych badaniach. Również Polak i wsp. [20] w badaniach pasztetów drobiowych stwierdzili, że pH tych produktów wynosiło 6,4.

Ilość wycieku po obróbce cieplnej konserw, do produkcji których użyto mięsa drobiowego oddzielonego mechanicznie, wynosiła 2,9 %. Nie była ona statystycznie istotnie różna od ilości wycieku powstałego podczas sterylizacji konserw wytworzonych z mięsa drobiowego odścięgniętego (3,2 %) (tab. 2). Ilość wycieku po obróbce cieplnej przetworów mięsnych w dużej mierze zależy od parametrów prowadzenia obróbki (temperatury i czasu trwania), ale również od pH mięsa, jego wodochłonności i zawartości białek miofibrylarnych [11, 21]. Ponadto, według danych literaturowych, stosowanie preparatów białek sojowych powoduje zmniejszenie ubytków termicznych z przetworów mięsnych [5, 6]. Na uzyskane w pracy wyniki mógł zatem wpłynąć dodatek koncentratu białka sojowego, ograniczając ubytki cieplne z badanych konserw.

Tabela 2. Wartość pH, ilość wycieku po obróbce cieplnej oraz siła penetracji sterylizowanych pasztetów drobiowych, w zależności od rodzaju surowca mięsnego użytego do produkcji

Table 2. pH value, amount of leakage after thermal processing, and penetration force of sterilized poultry pâtés depending on type of raw meat material used to produce pâtés

Wyróżnik Characteristic	MDOM MDPM	Baader DSM
pH / pH value	$6,5^a \pm 0,04$	$6,5^a \pm 0,03$
Ilość wycieku po obróbce termicznej Amount of leakage after thermal processing [%]	$2,9^a \pm 0,71$	$3,2^a \pm 1,05$
Siła penetracji / Penetration force [N]	$2,5^a \pm 0,82$	$2,4^a \pm 0,41$

Objaśnienia: / Explanatory notes:

MDOM – mięso drobiowe oddzielone mechanicznie / MDPM – mechanically deboned poultry meat;
Baader – mięso drobiowe odścięgnięte / DSM – desinewed meat; wartość średnia \pm odchylenie standardowe / mean value \pm standard deviation; $n = 3$; a – wartości średnie w wierszach oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) / mean values in rows and denoted by the same letter do not differ statistically significantly ($p < 0.05$).

Tekstura jest jedną z najważniejszych cech jakościowych mięsa i przetworów mięsnych. Pojęcie tekstury jest najczęściej definiowane jako zbiór reologicznych i strukturalnych właściwości żywności, wynikających z naturalnej struktury, wzajemnego uporządkowania i oddziaływania elementów składowych żywności oraz sposób, w jaki są one odbierane przez zmysły człowieka za pomocą receptorów mechanicznych dotyku, a w pewnych przypadkach – receptorów wzroku i słuchu [3].

Wartość siły penetracji pasztetów wytworzonych z MDOM i mięsa typu Baader wynosiła odpowiednio: 2,5 i 2,4 N i nie była ona istotnie zróżnicowana przez rodzaj użytego surowca mięsnego (tab. 2).

Ilościowy i jakościowy skład chemiczny produktów spożywczych wpływa na ich wartość odżywczą, strawność i przyswajalność oraz odgrywa decydującą rolę w kształtowaniu cech sensorycznych. Podstawowy skład chemiczny analizowanych pasztetów przedstawiono w tab. 3. Zawartość wody, białka i tłuszczu nie była statystycznie istotnie zróżnicowana przez rodzaj użytego surowca. Ponadto wszystkie pasztety spełniały wymagania zawarte w nieobligatoryjnych Polskich Normach: odnoszących się do konserw drobiowych [19] oraz konserw mięsnych typu pasztet [18], w zakresie zawartości tłuszczu w gotowym wyrobie, odpowiednio: poniżej 35 % lub nie więcej niż 45 %.

Tabela 3. Zawartość wody, białka i tłuszczu oraz parametry barwy L*, a*, b* sterylizowanych pasztetów drobiowych, w zależności od rodzaju surowca mięsnego użytego do produkcji

Table 3. Content of water, protein and fat, and L*, a*, b* colour parameter of sterilized poultry pâtés depending on type of raw meat material used to produce pâtés

Wyróżnik Characteristic	MDOM MDPM	Baader DSM
Woda / Water [%]	59,1 ^a ± 1,67	60,0 ^a ± 2,07
Białko /Protein [%]	17,2 ^a ± 0,50	17,5 ^a ± 0,64
Tłuszcz / Fat [%]	22,5 ^a ± 2,16	21,2 ^a ± 2,66
L*	57,2 ^b ± 1,69	60,8 ^a ± 0,79
a*	7,2 ^a ± 0,19	5,8 ^b ± 0,36
b*	11,1 ^a ± 0,95	12,1 ^a ± 0,11

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Objaśnienia symboli jak w tab. 2. / Explanatory notes as in Tab. 2; wartość średnia ± odchylenie standardowe / mean value ± standard deviation; n = 3; a, b – wartości średnie w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie (p < 0,05)/ mean values in rows and denoted by different letters differ statistically significantly (p < 0.05)

Według Tyburcego i wsp. [22] skład chemiczny rynkowych pasztetów drobiowych jest bardzo zróżnicowany. Średnia zawartość tłuszczu w takich pasztetach wynosiła 13,7 % (wahania w zakresie 9,9 ÷ 17,2 %), białka – 10,0 %, a wody – 71,4 %. W badaniach własnych pasztety cechowała większa zawartość tłuszczu i białka, a mniejsza – wody w porównaniu z produktami rynkowymi, co wynika głównie z zastosowanego składu recepturowego wyrobów.

Barwa przetworów mięsnych jest wypadkową efektu chromatycznego surowców mięsnych, tłuszczowych i innych dodatkowych składników, które wchodzi w skład farszu [10]. Decydującą rolę w kształtowaniu barwy odgrywa jednak ilość, skład i przemiany zachodzące z udziałem barwników hemowych tkanki mięśniowej [12]. Obok surowców podstawowych na barwę pasztetów sterylizowanych istotny wpływ mogą mieć użyte dodatki niemięsne, przyprawy, zastosowanie substancji peklującej, stabilizatorów barwy [22].

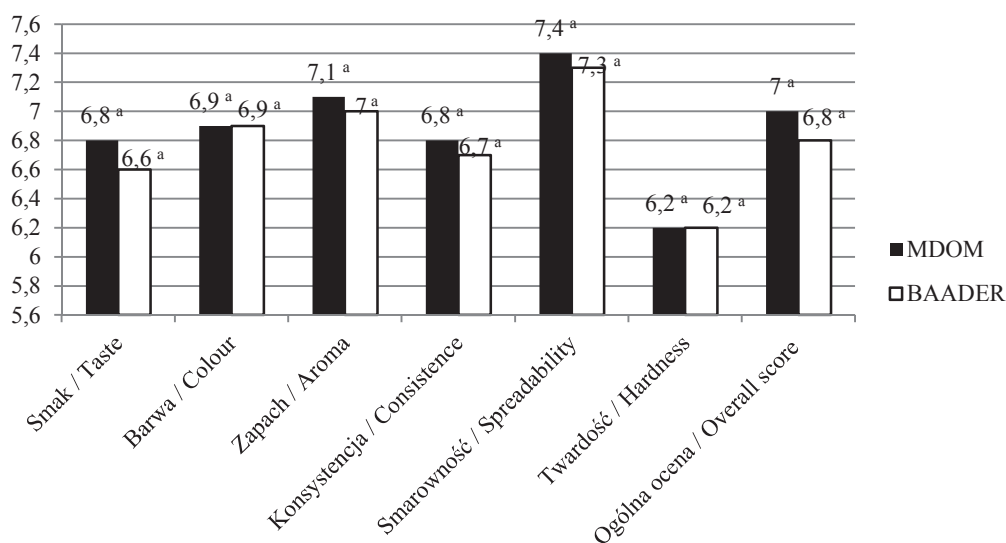
W badanych pasztetach barwę oceniono metodą odbiciową, oznaczając trzy parametry: L^* - jasność barwy, a^* - udział barwy czerwonej, b^* - udział barwy żółtej. Średnia wartość parametru barwy L^* badanych pasztetów zawierających MDOM wynosiła 57,16 i była istotnie niższa niż wartość parametru L^* pasztetów wyprodukowanych z mięsa typu Baader (60,81), co było efektem jaśniejszej barwy surowca wyjściowego. W zależności od użytego surowca podstawowego również parametr a^* zmieniał się statystycznie istotnie. W konserwach wyprodukowanych z MDOM osiągał on wyższe wartości (7,17) niż w pasztetach zawierających odścięgnięte mięso drobiowe typu Baader (5,81) – tab. 3). Polak i wsp. [20], w badaniach pasztetów drobiowych zawierających mięso oddzielone mechanicznie, wykazali, że produkty te charakteryzowały się niższą wartością parametru L^* , a^* i b^* (odpowiednio: 49,13, 6,3 i 9,5) w porównaniu z tymi analizowanymi w niniejszej pracy (odpowiednio: 57,16, 7,17 i 11,1). Różnice te wynikały przede wszystkim z odmiennego składu surowcowego pasztetów.

W wyniku rozdrobnienia kości, następującego podczas separacji, MDOM charakteryzuje się zwiększoną ilością szpiku, a tym samym większą zawartością barwników hemowych i żelaza oraz podwyższonym pH w porównaniu z mięsem wykrawanym ręcznie i mięsem odścięgniętym typu Baader. Ilość barwników w mięsie drobiowym oddzielnym mechanicznie jest około trzy-, a nawet sześciokrotnie wyższa niż w mięsie wykrawanym ręcznie. W MDOM znajduje się około $2,8 \div 4,2$ mg/g barwników hemowych, w tym $0,7 \div 0,9$ mg/g stanowi mioglobina, a $1,9 \div 3,5$ mg/g – hemoglobina. Obecność tych barwników skutkuje ciemniejszą barwą mięsa drobiowego oddzielnego mechanicznie [17]. Nie zaobserwowano istotnego wpływu rodzaju surowca na wartość parametru b^* barwy analizowanych pasztetów (tab. 3).

Jakość produktów spożywczych zależy w decydującym stopniu od ich jakości sensorycznej. Ocena sensoryczna w przedstawionych badaniach miała na celu określenie stopnia akceptacji pasztetów produkowanych z różnych rodzajów surowca (MDOM i Baader). Badane pasztety charakteryzowały się dobrą jakością sensoryczną. Średnie wartości wszystkich wyróżników zawierały się w przedziale $6,2 \div 7,4$. W przypadku żadnego z nich nie zaobserwowano statystycznie istotnego wpływu rodzaju surowca mięsnego na ich wartość (rys. 1).

Według Kowalskiego [14], w grupie czynników produkcyjnych największy wpływ na odchylenia smakowo-zapachowe konserw ma skład surowcowy i temperatura obróbki cieplnej. Szczególnie wrażliwe na obróbkę termiczną są konserwy z dodatkiem wątroby, ponieważ wraz ze wzrostem temperatury i udziału wątroby intensyfikuje się niekorzystny zapach i posmak sterylizacyjny produktu. W zakresie właściwości reologicznych konserw zasadniczą rolę w ich kształtowaniu odgrywa skład surowcowy, a w szczególności zawartość tłuszczu. Nadaje on produktowi cechy pożądanej tekstury, ale również smakowości i soczystości [9]. Istotne zmniejszenie udziału

tłuszczu w produkcji powoduje, że staje się on „pusty smakowo”, a jego tekstura – bardziej sztywna, gumowata i mączysta [24]. Podczas obróbki termicznej przebiega wiele reakcji chemicznych pomiędzy poszczególnymi składnikami produktu, które mają wpływ na kształtowanie charakterystycznej smakowości mięsa i jego przetworów. W wyniku rozkładu lipidów powstaje kilkaset lotnych związków smakowo-zapachowych, a ich całkowita zawartość i wzajemne proporcje odpowiadają za charakterystyczne cechy sensoryczne produktów poddawanych ogrzewaniu [15].



Objaśnienia: / Explanatory notes:

Objaśnienia symboli jak w tab. 2. / Explanatory notes as in Tab. 2; a – wartości średnie oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) / mean values denoted by the same letter do not differ statistically significantly ($p < 0.05$).

Rys. 1. Wpływ rodzaju surowca na wybrane wyróżniki jakości sensorycznej sterylizowanych pasztetów drobiowych

Fig. 1. Effect of type of raw material on selected characteristics of sensory quality of sterilized poultry pâtés

Na pożądaną przez oceniających konsystencję badanych wyrobów mogła zatem wpływać odpowiednia zawartość tłuszczu i wody w produkcji. Taki efekt mógł być również spowodowany dodatkiem białka sojowego, które ma właściwości teksturotwórcze i często jest dodawane do przetworów mięsnych w celu nadania im odpowiednich właściwości technologicznych i sensorycznych [8].

Wnioski

1. Użycie do produkcji pasztetów drobiowych mięsa odścięgniętego zamiast powszechnie stosowanego mięsa oddzielonego mechanicznie spowodowało obniżenie wartości parametrów barwy L^* i a^* , co jednak nie wpłynęło na ocenę sensoryczną ich barwy.
2. Rodzaj użytego surowca mięsno-tłuszczowego (MDOM lub Baader) nie wpłynął istotnie na wartość: pH, siły penetracji, parametru barwy b^* , jak również na skład chemiczny oraz analizowane wyróżniki jakości sensorycznej badanych pasztetów, co wskazuje na brak wpływu tego czynnika na jakość gotowych wyrobów.
3. Mięso drobiowe oddzielone mechanicznie (MDOM), jak i mięso odścięgnięte (Baader) mogą być stosowane do produkcji konserw typu pasztet.

Literatura

- [1] Adamczak L.: Proces produkcji konserw mięsnych. W: Wybrane zagadnienia z technologii żywności. Red. M. Słowiński i M. Mitek. Wyd. SGGW, Warszawa 2006, ss. 301-314.
- [2] Bee G., Gebert S., Messikommer R.: Effect of dietary energy supply and fat source on the fatty acid pattern of adipose and lean tissues and lipogenesis in the pig. *J. Anim. Sci.*, 2002, **80**, 1564-1574.
- [3] Cierach M., Grala R.: Tekstura i barwa wybranych przetworów mięsnych z dodatkiem transglutaminazy. *Inżynieria Rolnicza*, 2005, **9** (69), 19-26.
- [4] D'Arriego M., Hoz L., Cambero L., Lopez-Bote C.J., Pin C., Ordóñez J.A.: Production of *n*-3 fatty acid enriched pork liver pâté. *Lebens. Wissens. Technol.*, 2004, **37**, 585-591.
- [5] Dąbrowski K., Gwiazda S., Rutkowski A.: Białka niemięsne jako dodatki funkcjonalne w przetwórstwie mięsnym. *Gosp. Mięs.*, 1992, **5** (44), 15.
- [6] Danowska-Oziewicz M., Karpińska-Tymoszczyk M.: Wpływ obróbki cieplnej i dodatku białka sojowego na wybrane wskaźniki jakości wyrobów z mięsa wieprzowego. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2012, **3** (14), 543-548.
- [7] Daros F.G., Masson M.L., Amico S.C.: The influence of the addition of mechanically deboned poultry meat on the rheological properties of sausage. *J. Food Eng.*, 2005, **2** (68), 185-189.
- [8] Dłużewska E., Krygier K.: Sojowe preparaty białkowe – otrzymywanie i zastosowanie. *Przem. Spoż.*, 2005, **4** (59), 30-33.
- [9] Dolata W.: Wpływ warunków kutrowania surowców mięsnych i tłuszczowych na jakość farszów i wędlin. *Mięso i Wędliny*, 2001, (3), 26-30.
- [10] Dolatowski Z.J. (Red.). Sprawozdanie z badań podstawowych na rzecz rolnictwa ekologicznego w 2009 z zadania: Prowadzenie badań w przetwórstwie produktów roślinnych, zwierzęcych metodami ekologicznymi. UP, Lublin 2009.
- [11] Grabowski T. (Red). *Technologia mięsa drobiowego*. WNT, Warszawa 1993, ss. 89-92.
- [12] Kijowski J.: Wybrane problemy jakości mięsa drobiu. *Polskie Drobiarstwo*, 1993, (7-8), 7.
- [13] Klepacka M. (Red.). *Analiza żywności*. Fundacja Rozwój SGGW, Warszawa 2005.
- [14] Kowalski Z.: Wpływ obróbki cieplnej na jakość konserw sterylizowanych. *Gosp.a Mięs.*, 2000, **1** (52), 28-30.
- [15] Miazek J., Mroczek J.: Wpływ dodatku preparatu Gel-fat i czasu sterylizacji na właściwości modelowej konserwy mięsnej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, **5** (90), 80-89.
- [16] Mielnik M.B., Aaby K., Rolfsen K., Ellenkjaer M.R., Nilsson A.: Quality of comminuted sausages formulated from mechanically deboned poultry meat. *Meat Sci.*, 2002, **61**, 73-84.
- [17] Pietrzak D., Słowiński M., Mroczek J.: Mięso drobiowe odkostnione mechanicznie. *Przem. Spoż.*, 2011, **7/8** (65), 68-71.

- [18] PN-A-82022: 1998. Mięso i przetwory mięsne. Konserwy mięsne.
- [19] PN-A-86525:1996. Produkty drobiarskie. Konserwy drobiowe
- [20] Polak T., Żlender B., Gašperlin L.: Cholesterol oxides in chicken liver pâté supplemented with coenzyme Q10 and ascorbic acid. *LWT – Food Sci. Technol.*, 2011, **44**, 1052-1058.
- [21] Pyrcz J., Danyluk B., Kowalski R.: Wpływ rodzaju osłonki i stopnia dogrzenia na obraz mikrobiologiczny i zmiany sensoryczne kutowanej kielbasy parzonej. *Med. Weter.*, 2007, **6 (63)**, 742-745.
- [22] Tyburcy A., Kosińska A., Cegiłka A.: Charakterystyka pasztetów sterylizowanych wytwarzanych z różnych surowców. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.*, 2005, **1 (4)**, 103-110.
- [23] Wyrwisz J., Guzek D.: Pasztety mięsne – żywność funkcjonalna. *Mag. Przem. Mięs.*, 2007, **1-2**, 22-23.
- [24] Żochowska-Kujawska J., Lachowicz K., Sobczak M., Gajowiecki L., Kotowicz M., Żych A., Oryl B.: Wykorzystanie mięsa z dzików do produkcji modelowych kielbas drobno rozdrobnionych ze zmiennym dodatkiem wody i tłuszczu. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **2 (69)**, 29-39.

EFFECT OF USING MECHANICALLY DEBONED AND DESINUED POULTRY MEAT ON QUALITY OF STERILIZED PÂTÉS

Summary

The objective of the research study was to determine the effect of using mechanically deboned (MDM) and desinewed (DSM) poultry meat (DSM) on some selected quality characteristics of sterilized pâtés. The quality of pâtés was determined 48 h after they were produced. The following was determined in the pâtés: pH, amount of thermal leakage after thermal processing, colour parameters, penetration force, contents of water, protein, and fat content; the sensory quality was also assessed. It was found that both the MDM and the DSM meat could be used in the manufacture of appertized poultry pâtés. The pâtés containing mechanically deboned poultry meat were characterized by a lower value of L* colour parameter (57.2) and by a higher value of a* colour parameter (7.2) compared to the pâtés containing desinewed poultry meat (60.8 and 5.8, respectively). No significant ($p < 0.05$) impact was reported of the type of meat used on the value of pH, which was 6.5 as for the two pâté variants, nor on the amount of leakage after the thermal processing of the pâtés containing deboned and desinewed poultry meat (2.9% and 3.2%, respectively). The value of penetration force of the pâtés containing MDM was 2.5 N and did not significantly ($p < 0.05$) differ from the penetration force of the pâtés containing DSM (2.4 N). The type of raw material had no impact, either, on the basic chemical composition. The contents of water, protein, and fat in the pâtés containing mechanically deboned poultry meat amounted to [%], respectively: 59.1%, 17.2%, and 22.5%. The pâtés containing desinewed poultry meat were characterized by a water content of 60.0%, protein content of 17.5%, and fat content of 21.2%. No significant ($p < 0.05$) differences were found, either, in the selected characteristics of sensory quality between the two variants of the pâtés analyzed.

Key words: mechanically deboned poultry meat (MDM), desinewed poultry meat (DSM), pâté, sterilized cans ☒

DOROTA KUCHARCZAK, ŁUKASZ MASEWICZ,
JOANNA LE THANH-BLICHAZ, HANNA M. BARANOWSKA

WŁAŚCIWOŚCI MOLEKULARNE WODY HYDRATACYJNEJ W ŻELACH ACETYLOWANEJ SKROBI ZIEMNIACZANEJ

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu stopnia acetylacji skrobi ziemniaczanej na wiązanie wody w sporządzonych żelach skrobiowych. Przeprowadzono pomiary czasów relaksacji spin-sieć T_1 i spin-spin T_2 metodą niskopolewego magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR) oraz oznaczono aktywność wody a_w w żelach skrobi ziemniaczanej acetylowanej. W badaniach użyto polimeru o znanym stopniu podstawienia. Pomiary przeprowadzono w układach o zawartości skrobi w zakresie $0,02 \div 0,10$ g/g. Wyniki pomiarów aktywności wody posłużyły do określenia współczynnika hydratacji skrobi, definiowanego jako masa wody związanej z 1 g biopolimeru. Stwierdzono, że zastosowana modyfikacja skrobi wpłynęła na zmniejszenie wartości jej hydratacji. Najmniejszym współczynnikiem hydratacji charakteryzowała się skrobia o stopniu podstawienia wynoszącym 0,06. Na podstawie wartości czasów relaksacji określono parametry charakteryzujące dynamikę molekularną frakcji wody hydratującej polimer. Określona szybkość relaksacji spin-spin molekuł wody hydratacyjnej malała wraz ze wzrostem ilości grup acetylowych wymieniających grupy hydroksylowe. Oznacza to ograniczenie ilości molekuł wody związanej w sieci polimerowej na skutek przewagi oddziaływań polimer-polimer nad oddziaływaniami polimer-woda.

Słowa kluczowe: hydratacja, czasy relaksacji, woda hydratacyjna, aktywność wody, skrobia acetylowana

Wprowadzenie

Skrobia natywna cechuje się ograniczonymi możliwościami stosowania w przemyśle z uwagi na swoje cechy fizykochemiczne, dlatego częściej używa się skrobi modyfikowanych. W praktyce prowadzi się modyfikacje mające na celu pozyskanie produktu o zaprogramowanych, pożądanymi właściwościami [8, 11]. Skutkiem tego

*Inż. D. Kucharczak, mgr inż. Ł. Masewicz, dr hab. H. M. Baranowska, Katedra Fizyki, Wydz. Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wojska Polskiego 38/42, 60-637 Poznań, dr inż. J. Le Thanh-Blicharz, Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego, Oddział Koncentratów Spożywczych i Produktów Skrobiowych, ul. Starołęcka 40, 61-361 Poznań
Kontakt: hmba@up.poznan.pl*

jest otrzymywanie wciąż nowych modyfikatów skrobiowych. Kleiki natywnej skrobi (niepoddanej modyfikacji) wykazują skłonność do retrogradacji i w konsekwencji do synerezy. Modyfikacje zapobiegają tym zjawiskom, a dodatkowo polepszają właściwości utworzonych żeli.

Najczęściej wyznaczane są parametry określające właściwości lepkie kleików lub żeli skrobiowych [1, 6], wodochłonność i rozpuszczalność skrobi [8], podatność na retrogradację. Parametry te charakteryzują właściwości żeli biopolimerowych, które zależą od utworzonej sieci polimerowej. Nie opisują jednak właściwości fazy ciągłej żelu (wody) oraz wzajemnych oddziaływań woda-polimer na poziomie molekularnym. W wodnych zawiesinach skrobi w niskiej temperaturze następuje hydratacja skrobi zarówno na powierzchni granul [3], jak i w ich wnętrzu [10]. Wzrost temperatury skutkuje trwałymi zmianami konformacji [3]. Na tym etapie następują zmiany wiązania wody ze skrobią. Zmiany te determinują wiązanie wody w układzie po utworzeniu żelu.

Celem pracy było określenie wpływu stopnia acetylacji skrobi ziemniaczanej na wiązanie wody w sporządzonych żelach skrobiowych.

Material i metody badań

Materiałem doświadczalnym była skrobia ziemniaczana Superior Standard (PPZ Trzemeszno, Polska).

Acetylowanie skrobi wykonywano przy użyciu bezwodnika kwasu octowego. Reakcję acetylowania prowadzono w temp. 20 ± 2 °C przy pH = 8,5 ÷ 9,5. Po zakończeniu reakcji zawiesinę doprowadzano do pH = 7 i dwukrotnie przemywano w celu wypłukania nieprzereagowanego bezwodnika octowego. Skrobię odfiltrowywano przy użyciu próżniowego zestawu filtracyjnego i suszono w temp. 20 ± 2 °C przez 48 h.

Zawartość grup acetylowych oznaczano zgodnie z metodą zalecaną przez JECFA [9]. W tym celu grupy acetylowe obecne w skrobi hydrolizowano za pomocą wodorotlenku sodu, a nadmiar użytego ługu miareczkowano alkacymetrycznie za pomocą kwasu solnego. Pomiar wykonywano w czterech powtórzeniach, a wyniki podano jako wartości średnie. Próbą obniesienia była skrobia ziemniaczana natywna.

W tab. 1. przedstawiono wybrane właściwości skrobi użytych do badań.

Przygotowano układy modelowe o zawartości skrobi [g/g]: 0,02, 0,04, 0,06, 0,08 i 0,10. Zawiesiny skrobi w wodzie przygotowywano w pojemnikach o objętości 120 ml. Ogrzewano je w temp. 90 °C, kontrolowanej za pomocą termostatu, przez 45 min. Po przygotowaniu próbki umieszczano w naczyniach pomiarowych zabezpieczonych parafilmem. Tak przygotowane próbki stabilizowano w temp. 20 ± 2 °C. Po 24 h od sporządzenia oznaczano aktywność wody i wykonywano pomiary NMR.

Tabela 1. Wybrane właściwości skrobi

Table 1. Selected properties of starch

Próba Sample	Zawartość suchej masy Dry mass content [%]	Zawartość grup acetylowych Acetyl group content [%]
Skrobia natywna / Native starch	83,3	-
Skrobia acetylowana DS 0,02 DS 0.03 acetylated starch	89,5	0,43
Skrobia acetylowana DS 0,04 DS 0.07 acetylated starch	89,7	0,97
Skrobia acetylowana DS 0,06 DS 0.10 acetylated starch	89,3	1,45
Skrobia acetylowana DS 0,08 DS 0.13 acetylated starch	88,2	2,01
Skrobia acetylowana DS 0,10 DS 0.16 acetylated starch	86,7	2,38

Pomiar aktywności wody wykonywano przy użyciu analizatora dyfuzji i aktywności wody ADA-7 (CORABID, Polska), z systemem automatycznej rejestracji przebiegów czasowych utraty wody z badanych żeli. Przed pomiarem temperaturę stabilizowano z dokładnością do $\pm 0,1$ °C do wartości 20 °C i komorę osuszano do aktywności wody $a_w = 0,06$. Czas trwania pomiaru ustalono na 600 s. Badania wykonywano w 3 powtórzeniach, a wyniki podano jako wartości średnie.

W wodnych roztworach związków niskocząsteczkowych aktywność wody (a_w) zmienia się wraz ze zmianą stężenia substancji rozpuszczonej (X) [12]. Zgodnie z termodynamiczną teorią Flory'ego-Hugginsa dotyczącą roztworów polimerów, parametr X można zastąpić objętością (V) [5]. Opisu zależności pomiędzy rosnącymi stężeniami a aktywnością wody dokonano za pomocą równania (1), biorąc pod uwagę obecność wody hydratacyjnej w układzie. Zmiana potencjału chemicznego wody w odniesieniu do wody wolnej jest determinowana wyłącznie przez zawartość wody hydratacyjnej (n_h/n). Frakcja wody hydratacyjnej jest funkcją stężenia substancji rozpuszczonej (c):

$$\frac{n_h}{n} = H \frac{c^2}{(1-c)^2} \quad (1)$$

gdzie n_h oznacza liczbę moli wody hydratacyjnej obecnej w badanym układzie, a H – hydratację wyrażającą masę wody bezpośrednio związanej z 1 g polimeru.

Stąd aktywność wody, biorąc pod uwagę obecność dynamicznej frakcji wody hydratacyjnej, można opisać równaniem:

$$a_w = a_{w0} \exp\left(\kappa H \frac{c^2}{(1-c)^2}\right) \quad (2)$$

gdzie: a_{w0} jest aktywnością wody przy zerowym stężeniu polimeru, κ jest parametrem oddziaływania wynikającym z teorii Flory'ego-Hugginsa, H jest hydratacją wyrażoną w g wody przypadających na 1g skrobi (współczynnik hydratacji), c jest stężeniem skrobi wyrażonym w g/g.

Badania metodą NMR przeprowadzono przy użyciu impulsowego spektrometru pracującego przy częstotliwości 15 MHz (ELLAB, Poznań) w kontrolowanej temp. 20 °C. Objętość próbki wynosiła 0,14 ml. Badania wykonywano w 3 powtórzeniach, a wyniki podano jako wartości średnie.

W układach biologicznych zamiast przedstawiania wyników w postaci wartości czasu relaksacji (T_1 lub T_2) wykorzystuje się szybkość relaksacji (R_1 lub R_2). Szybkość relaksacji, z jaką molekuly wody w żelu wracają do stanu równowagi termodynamicznej, jest odwrotnością mierzonego w doświadczeniu czasu relaksacji.

W celu określenia parametrów charakteryzujących badane układy, analizowano zmiany szybkości relaksacji w funkcji stężenia skrobi. Wykorzystano do tego znane wcześniej zależności szybkości relaksacji od stężenia biopolimerów [2]. Stężeniowe zależności szybkości relaksacji dopasowano do równania Zimmermana i Brittina [4]:

$$R_1 = p_w R_w + p_H R_H \quad (3)$$

gdzie: R_w – szybkość relaksacji wody wolnej, R_H – szybkość relaksacji wody hydratacyjnej, p_w , p_H – frakcje protonów w obu podukładach wody $p_w + p_H = 1$

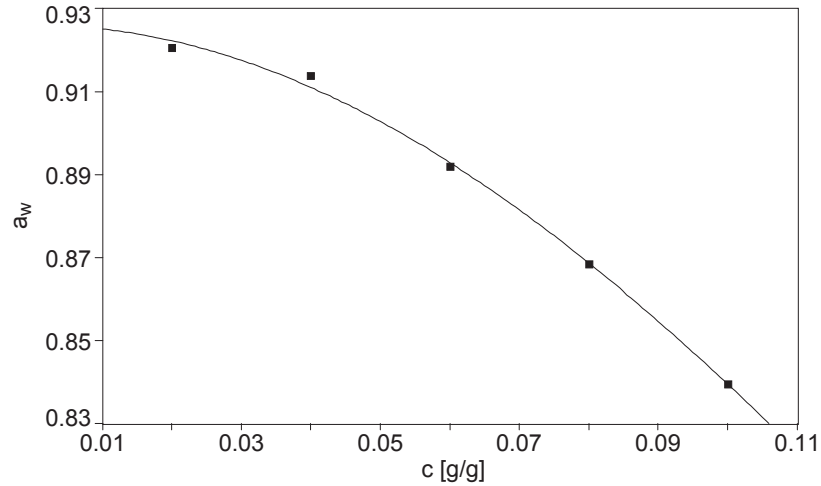
Frakcja wody hydratacyjnej p_H zależy od stężenia polimeru (c) w żelu:

$$p_H = H \frac{c}{1-c} \quad (4)$$

Lepkość maksymalną 3,3-procentowych zawiesin skrobiowych wyznaczano przy użyciu aparatu Brabendera (Brabender® GmbH & Co. KG, Niemcy). Zastosowano puszkę pomiarową – 700 Nm. Temperatura początkowa układów wynosiła 25 °C. Zawiesiny ogrzewano z szybkością 1,5 °C/min do temp. 92,5 °C. Badania wykonywano w 3 powtórzeniach, a wyniki podano jako wartości średnie.

Wyniki i dyskusja

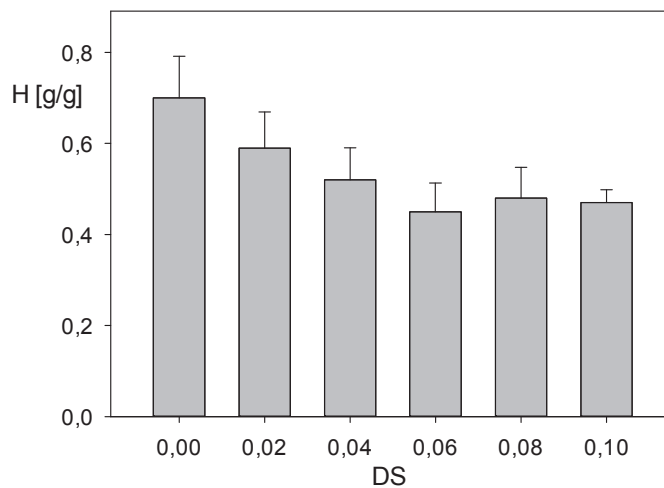
Na rys. 1. przedstawiono wybraną zależność aktywności wody w badanych układach w funkcji stężenia skrobi. Linia ciągła przedstawia dopasowanie równania (2) do danych doświadczalnych. We wszystkich analizowanych układach uzyskano zgodność wyników doświadczenia z przebiegiem teoretycznym określoną współczynnikiem determinacji $R^2 = 0,99 \div 0,98$.



Rys. 1. Zależność aktywności wody od stężenia skrobi w żelu skrobi acetylowanej DS = 0,06

Fig. 1. Dependence of water activity on starch concentration in acetylated starch gel DS = 0,06

Wyniki pomiarów aktywności wody w żelach skrobiowych wykorzystano do określenia hydratacji H skrobi. Na rys. 2. przedstawiono zmiany wartości tego parametru w zależności od stopnia podstawienia skrobi.



Objaśnienie: / Explanatory note:

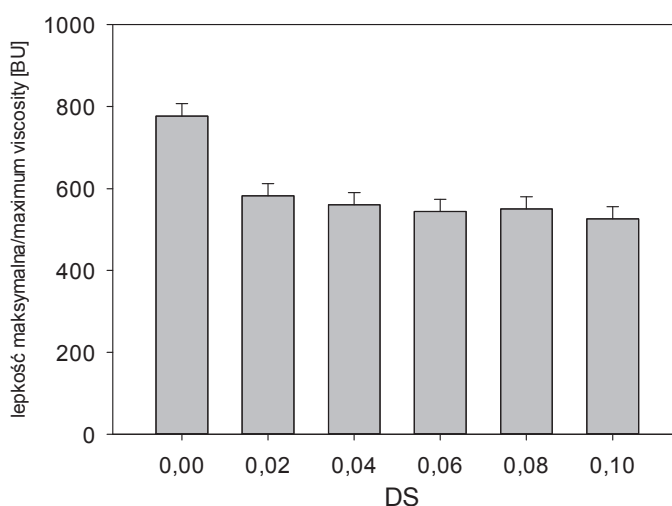
Na rysunku zamieszczono wartości średnie \pm odchylenie standardowe / On the figure shown the mean values \pm standard deviation.

Rys. 2. Zmiany współczynnika hydratacji (H) skrobi ziemniaczanej acetylowanej w zależności od stopnia acetylacji (DS)

Fig. 2. Changes in hydration coefficients (H) of acetylated starch depending on acetylation degree (DS)

Stwierdzono, że w porównaniu ze skrobią natywną, hydratacja polimeru modyfikowanego była mniejsza. Zaobserwowano, że przy stopniu podstawienia wynoszącym 0,06 ze skrobią związana była najmniejsza ilość molekuł wody.

Na podstawie zmian wartości lepkości maksymalnej w zależności od stopnia podstawienia (rys. 3) stwierdzono, że kleiki skrobi modyfikowanej odznaczały się mniejszą lepkością niż kleiki skrobi natywnej. Pietrzyk i wsp. [11] dyskutując lepkość graniczną w kleikach skrobi modyfikowanych wiążą zmniejszenie wartości tego parametru ze zmianami masy cząsteczkowej. Fortuna i wsp. [7] wskazują, że zmniejszenie lepkości maksymalnej skrobi modyfikowanej w porównaniu z natywną wynika z ograniczenia pęcznienia granул skrobiowych.



Objaśnienie jak pod rys. 2. / Explanatory note as in Fig. 2.

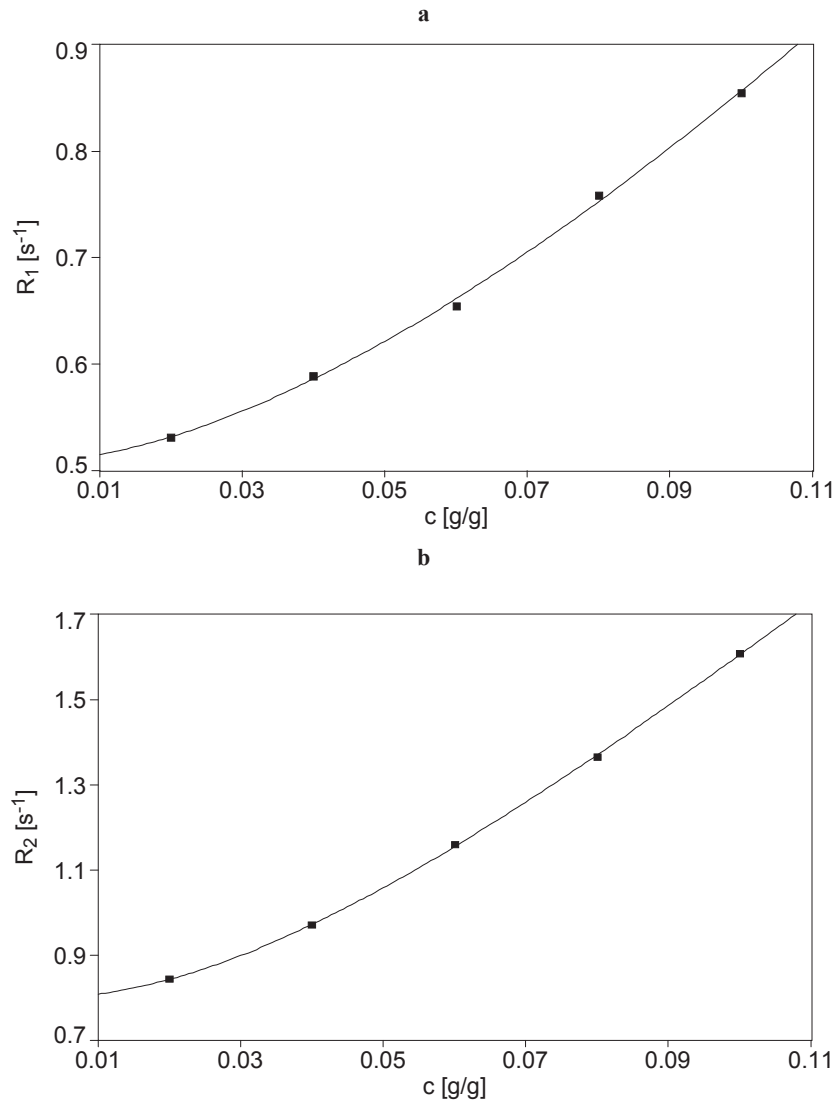
Rys. 3. Zmiany lepkości maksymalnej w zawiesinach skrobiowych, analizowanych wiskografem Brabendera

Fig. 3. Changes in maximum viscosity of starch suspensions analyzed using Brabender viscosograph

Uzyskane wyniki mogą wskazywać, że zastosowanie modyfikacji chemicznej skrobi ziemniaczanej ograniczyło wiązanie wody z polimerem, co skutkowało mniejszą lepkością zawiesin cząstek skrobi.

Żele skrobiowe charakteryzują się jednym czasem relaksacji spin-sieć T_1 i jednym czasem relaksacji spin-spin T_2 . Oznacza to szybką wymianę chemiczną pomiędzy frakcjami protonów. Wartości obu czasów relaksacji maleją ze wzrostem stężenia skrobi. Nie stwierdzono żadnych zależności pomiędzy stopniem podstawienia a wartościami czasów relaksacji.

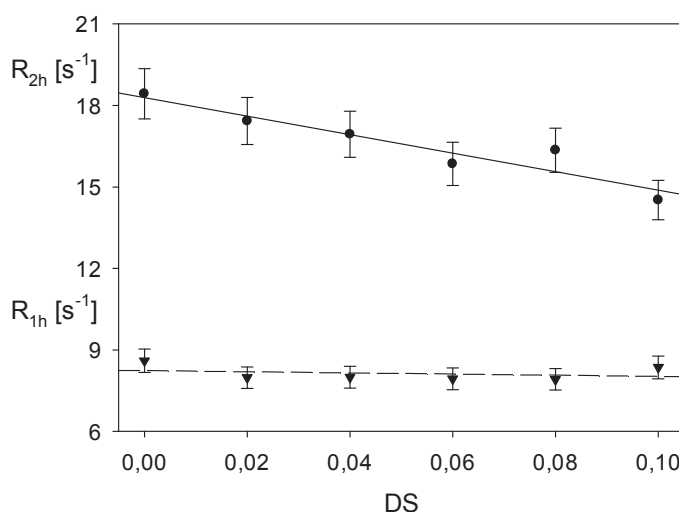
Na rys. 4. przedstawiono zmiany szybkości relaksacji spin-sieć R_1 i spin-spin R_2 w zależności od stężenia skrobi w wybranych badanych żelach skrobiowych.



Rys. 4. Zależności szybkości relaksacji spin-sieć R_1 (a) i spin-spin R_2 (b) od stężenia skrobi w żelach skrobi acetylowanej DS = 0,08

Fig. 4. Dependencies of spin-lattice R_1 (a) and spin-spin R_2 (b) relaxation rates on starch concentration in DS 0.08 starch gels

Wraz ze wzrostem stężenia skrobi zwiększała się szybkość relaksacji spin-sieć R_1 oraz spin-spin R_2 [14]. Zauważono, że szybkość relaksacji spin-spin była znacznie większa niż spin-sieć. Spowodowane to było faktem, że szybkość, z jaką przebiegały procesy relaksacyjne związane z przekazywaniem energii między spinami, była większa niż ta związana z procesami, w których przekazywanie energii odbywa się na drodze spin – otoczenie zwane siatką. Ma to związek z ograniczoną reorientacją cząsteczek wody stanowiących rozpuszczalnik sieci polimerowej.



Objaśnienie jak pod rys. 2. / Explanatory note as in Fig. 2.

Rys. 5. Zmiany szybkości relaksacji spin-sieć R_1 i spin-spin R_2 frakcji wody hydratujucej skrobię w zależności od stopnia podstawienia

Fig. 5. Changes in spin-lattice R_{1h} and spin-spin R_{2h} relaxation rates of starch hydrating water fractions depending on degree of substitution

Obserwowano wzrost obu szybkości relaksacji wraz ze wzrostem stężenia polimeru. Ma to związek z ograniczeniem mobilności molekuł wody proporcjonalne do stężenia biopolimeru [2]. Na poziomie molekularnym podstawienie grup hydroksylowych grupami acetylowymi zmniejszyło ilość molekuł wody przyłączonych do polimeru. Rezultaty te znajdują potwierdzenie w wynikach pomiarów niskopolewego NMR. Na rys. 5. przedstawiono zależności szybkości relaksacji spin-sieć R_{1h} i spin-spin R_{2h} od stopnia podstawienia. Wraz ze wzrostem stopnia podstawienia grup funkcyjnych w skrobi ziemniaczanej malała szybkość relaksacji spin-spin. Relaksacja spin-sieć molekuł wody hydratacyjnej nie zmienia się istotnie. Molekuły wody zawarte w sieci biopolimerowej, tworząc klastry wody niezwiązanej z polimerem, powodują

znaczące zmniejszenie lepkości maksymalnej oznaczanej metodą makroskopową. Wyjaśnia to również obserwowany wcześniej [7] wzrost parametru określającego zdolność wiązania wody przez modyfikowany polimer. Zawartość niepolarnych grup acetylowych blokuje dostęp wody do polimeru. Ograniczenie ilości molekuł wody związanej w sieci polimerowej na skutek wprowadzenia grup acetylowych spowodowało wzrost konkurencyjności oddziaływań polimer-polimer nad oddziaływaniami polimer-woda. Przejawia się to zmniejszeniem wartości szybkości relaksacji spin-spin molekuł wody hydratacyjnej.

Powyższe wyniki uzyskane metodą niskopolowego NMR poszerzają wiedzę na temat interakcji skrobi acetylowanych z wodą [13]. Ma to szczególnie istotne znaczenie w układach spożywczych, w których woda jest nieodzownym składnikiem.

Wnioski

1. Estryfikacja skrobi bezwodnikiem kwasu octowego zmienia makroskopowe właściwości fizykochemiczne żelu, takie jak lepkość maksymalna czy wiązanie wody w sieci żelu.
2. Wykorzystanie metody pomiaru aktywności wody pozwala na wyznaczenie hydratacji skrobi określonej jako ilość wody związanej bezpośrednio z biopolimerem. Jest to poszerzenie aplikacji metody analitycznej, powszechnie stosowanej w przemyśle.
3. Stwierdzono, że modyfikacja skrobi obniża wartość jej hydratacji. Skrobia o stopniu podstawienia wynoszącym 0,06 charakteryzuje się najniższą wartością hydratacji.
4. Zastosowanie metody niskopolowego magnetycznego rezonansu jądrowego do analizy wiązania wody w żelu poszerza wiedzę o właściwościach badanego biopolimeru. Określona, na podstawie wyników badań, szybkość relaksacji spin-spin maleje wraz ze wzrostem ilości grup acetylowych wymieniających grupy hydroksylowe.

Literatura

- [1] Adamczyk G., Krystyan M., Dobosz A., Sikora M.: Tiksotropowe właściwości skrobi. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, **6 (91)**, 16-31.
- [2] Baranowska H.M.: Charakterystyka żeli skrobiowych określona metodą niskopolowego magnetycznego rezonansu jądrowego. Wyd. UP w Poznaniu, Poznań 2012.
- [3] Baranowska H.M., Sikora M., Krystyan M., Tomasiak P.: Contribution to understanding gelatinization of granular starch. In: *Starch recent advances in biopolymer science and technology*. Ed. by M. Fiedorowicz, E. Bertoff. Wyd. Oddział Małopolski PTTŻ, Kraków 2010.
- [4] Colsenet R., Mariette F., Cambert M.: NMR relaxation and water self-diffusion studies in whey protein solutions and gels. *J. Agric. Food Chem.*, 2005, **53**, 6784-6790.

- [5] Flory P.J.: Principles of Polymer Chemistry. Cornell Univ. Press, Ithaca, London 1983.
- [6] Fortuna T., Przetaczek I.: Wpływ sacharozy i jej zamienników na wybrane reologiczne właściwości handlowych skrobi modyfikowanych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **4 (59)**, 111-123.
- [7] Fortuna T., Gałkowska D., Juszcak L.: Porównanie właściwości reologicznych wybranych preparatów skrobi modyfikowanej. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* 2004, **1 (3)**, 21-32.
- [8] Krysińska P., Gałkowska D., Fortuna T.: Charakterystyka układów skrobi modyfikowanych uzyskanych z kukurydzy woskowej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, **5 (60)**, 9-23.
- [9] Modified starches, Food Additives (uses other than as flavouring agents), Database of Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). Dostęp w Internecie [20.03.2015]: <http://apps3.fao.org/jecfa/additive specs/docs/9/additive-0840.htm>.
- [10] Parker R., Ring S.G.: Aspects of the physical chemistry of starch. *J. Cereal Sci.*, 2001 **34**, 1-17.
- [11] Pietrzyk S., Fortuna T., Wojtanowska O.: Wpływ stopnia utlenienia skrobii ziemniaczanej na jej acetylację i właściwości fizykochemiczne. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **6 (85)**, 54-65.
- [12] Poliszko S.: Właściwości wody w produktach spożywczych. Wyd. SGGW, Warszawa 1989, ss. 26-34.
- [13] Prochaska K., Kedziora P., Le Thanh J., Lewandowicz G.: Surface activity of commercial food grade modified starches. *Colloids Surfaces B* 2007, **60**, 187-194.
- [14] Raphaelides S.N., Georgiadis N.: Effect of fatty acids on the rheological behaviour of maize starch dispersions during heating. *Carbohydr. Polym.*, 2006, **65**, 81-92.

MOLECULAR PROPERTIES OF HYDRATION WATER IN GELS OF ACETYLATED STARCH

S u m m a r y

The objective of the research study was to determine the effect of acetylation of potato starch on binding water in starch gels produced. There were taken measurements of the spin-lattice T_1 and spin-spin T_2 relaxation times with the use of a low-field nuclear magnetic resonance (NMR); also, the water activity in acetylated starch gels was determined. A polymer with a known degree of substitution (DS) was utilized in the study. Those systems were measured where the content of starch ranged from 0.02 g/g to 0.10 g/g. The results of the water activity measured were used to determine the hydration coefficient of the starch defined as the weight of water associated with 1 g of biopolymer. It was found that the applied modification of starch caused the value of its hydration to decrease. The acetylated starch with a 0.06 degree of substitution was characterized by the lowest coefficient of hydration. On the basis of the relaxation time values, there were determined those parameters, which characterized the molecular dynamics of polymer hydrating water fraction. The determined spin-spin relaxation rate of hydration water molecules decreased with the increasing quantity of acetyl groups that exchanged hydroxyl groups. That fact means that the quantity of water molecules bound in the polymer network is reduced owing to the predominance of polymer-polymer interactions over the polymer-water interactions.

Key words: hydration, relaxation times, hydration water, water activity, acetylated starch 

ALDONA SOBOTA, ZBIGNIEW RZEDZICKI, PIOTR ZARZYCKI,
ANNA WIRKIJOWSKA, EMILIA SYKUT-DOMAŃSKA

ZMIANY ZAWARTOŚCI TŁUSZCZU WOLNEGO W CZASIE PROCESU PRODUKCJI MAKARONU JAJECZNEGO

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu procesu produkcji makaronu 4-jajecznego na stopień wiązania tłuszczu przez polisacharydy i białka zawarte w półproduktach i w produkcie finalnym. Makaron produkowano w warunkach przemysłowych na linii typu C300 metodą ekstruzji niskotemperaturowej. Dodatkowo, w celu porównania, przygotowano makaron z ciasta ręcznie zagniecionego i walcowanego. W próbkach mąki, ciasta i makaronów, pobieranych na kolejnych etapach produkcji, oznaczano zawartość tłuszczu wolnego (ekstrahowanego eterem dietylowym) oraz zawartość tłuszczu całkowitego (ekstrahowanego eterem dietylowym po uprzedniej kwasowej hydrolizie próbek). Zawartość tłuszczu związanego wyliczano z różnicy pomiędzy tłuszczem całkowitym i wolnym. W badaniach wykazano, że w trakcie procesu produkcji makaronu dochodziło do intensywnego wiązania tłuszczu i zmniejszania zawartości tłuszczu wolnego. Niewielkie zmiany występowały już na etapie tworzenia ciasta makaronowego. Zmiany te pogłębiały się na kolejnych etapach procesu produkcji. Szczególnie intensywne zmniejszanie zawartości tłuszczu wolnego zachodziło na etapie wstępnego suszenia, podczas którego obserwowano także znaczący ubytek wilgoci w makaronie. W produkcie finalnym 38 % tłuszczu całkowitego występowało w formie związanej. Jednocześnie stwierdzono, że zawartość tłuszczu wolnego w wysuszonym makronie wynosiła 1,83 % s.m. i była znacznie mniejsza od zalecanej w Polskiej Normie w przypadku produktów 4-jajecznych. W makronie ręcznie zagniatanym i walcowanym stwierdzono znacznie mniejszy stopień wiązania tłuszczu (27 %). Zawartość tłuszczu wolnego w tym produkcie wynosiła 2,3 % s.m. Uzyskane wyniki badań wskazują, że zawartość tłuszczu wolnego nie jest odpowiednim parametrem do szacowania liczby jaj w makaronie. O zawartości tłuszczu wolnego w produkcie finalnym decyduje nie tylko ilość surowców jajowych wprowadzonych do produktu, ale także stosowana technologia.

Słowa kluczowe: mąka makaronowa, masa jajowa, makaron, wiązanie tłuszczu, ekstruzja niskotemperaturowa, tłuszcz wolny, tłuszcz związany

Wprowadzenie

Do produkcji makaronów jajecznych stosuje się najczęściej mąkę z pszenicy zwyczajnej typu 450, wodę i surowce jajowe, m.in. pasteryzowaną masę jajową lub proszek jajowy. Jaja są bogatym źródłem pełnowartościowego białka (12,6 % m.m.), zawierają również ok. 10,8 % tłuszczu (m.m.), są zasobne w witaminy z grupy B oraz witaminy A, D, E i K, związki mineralne (fosfor, jod, selen, żelazo) i składniki bioaktywne (m.in. lizozym, cystatynę, awidynę, owotransferynę) [12, 23]. Dodatek jaj do makaronów ma nie tylko wzbogacić ich wartość żywieniową, ale także wpłynąć na poprawę jakości kulinarnej i sensorycznej produktów. W czasie tworzenia ciasta makaronowego albuminy zawarte w jajach tworzą wiązania disulfidowe (-S-S-) z białkami glutenu i współuczestniczą w tworzeniu siatki glutenowej, odpowiedzialnej za teksturę i jędrność produktów po ugotowaniu [4, 26]. Dużą rolę w kształtowaniu jakości kulinarnej produktów przypisuje się tłuszczom. Obecne w żółtku jaj monoacyloglicerole oraz wolne kwasy tłuszczowe wchodzi w interakcje z amylozą w czasie gotowania makaronu i ograniczają jej rozpuszczalność w wodzie. Wpływa to na większą jędrność i mniejszą powierzchniową kleistość ugotowanych produktów. Lecytyna obecna w żółtku jaja zwiększa plastyczność ugniatanego ciasta, ułatwia jego kształtowanie, zapobiega sklejanemu się makaronu po wytlóczeniu i ugotowaniu. Dodatkowo żółtka jaj zawierają barwniki karotenoidowe, głównie ksantofile (kryptoksantynę, luteinę i zeaksantynę) oraz karoteny (β -karoten i chlorofil), które nadają produktom wytworzonym z mąki pszennej pożądaną, jasnożółtą barwę [12, 21].

Zgodnie z Polską Normą [19], na podstawie zawartości tłuszczu w makaronach można weryfikować „jajeczność” produktów (liczbę jaj dodanych na 1 kg mąki w czasie procesu produkcji). Przyjmuje się, że przeciętna zawartość tłuszczu w makaronie bezjajecznym wynosi 0,4 % (m.m.), natomiast każde jajo dodane na 1 kg mąki powoduje wzrost zawartości tłuszczu o 0,5 %. Zgodnie z założeniami PN makaron dwujajeczny powinien więc zawierać 1,4 % tłuszczu, natomiast makaron czterojajeczny – 2,4 %. Metoda stosowana do oznaczania zawartości tłuszczu w makaronach nie przewiduje hydrolizy kwasowej próbki przed ekstrakcją tłuszczu. Zalecany do ekstrakcji rozpuszczalnik niepolarny (eter dietylowy) umożliwia jedynie oznaczenie zawartości tzw. tłuszczu wolnego.

Intensywne wiązanie wolnych tłuszczów w czasie procesu produkcji może skutkować zmniejszeniem ich zawartości w makaronie. Mniejszą zawartość tłuszczu wolnego w ekstrudowanych makaronach bezjajecznych, w porównaniu z surowcem, oznaczyli m.in. Barnes i wsp. [2] oraz Sobota i wsp. [22]. Według danych literaturowych, stopień wiązania tłuszczu może być zmienny i zależy zarówno od właściwości fizykochemicznych surowca, jak i parametrów procesu [6, 9, 10, 29]. O intensywności wiązania tłuszczu może decydować również stosowana technologia makaronu. Zastosowanie ekstruzji niskotemperaturowej, w czasie której ciasto poddawane jest

intensywnemu ścinaniu i tłoczeniu pod ciśnieniem nawet 13 MPa, może prowadzić do uszkodzenia granul skrobiowych i częściowej żelifikacji skrobi, a w konsekwencji może sprzyjać procesom wiązania tłuszczu przez amylozę [17]. Jak podają Guzman i wsp. [9], w wyniku procesu ekstruzji prowadzonej w niskiej temperaturze (50 - 60 °C) nawet 2/3 wolnych tłuszczów obecnych w kaszce kukurydzianej ulega wiązaniu przez amylozę. Nasuwa się więc pytanie – czy na podstawie zawartości tłuszczu wolnego można prawidłowo oszacować liczbę jaj w makaronie. Z badań Suwały [25] wynika, że 2/3 badanych makaronów 2- i 5-jajecznych, dostępnych na polskim rynku, cechowało się mniejszą zawartością tłuszczu wolnego w stosunku do poziomu określonego w PN [19]. Według tego autora istnieje podstawa do stwierdzenia, że znaczna część makaronów jajecznych jest zafałszowana i zawiera mniejszą liczbę jaj w porównaniu z deklarowaną przez producentów na opakowaniu. Na podstawie przytoczonych danych można przypuszczać, że mała zawartość tłuszczu wolnego w makaronach nie wynika wyłącznie z nierzetelnego dozowania masy jajowej. Istotną rolę może odgrywać proces wiązania tłuszczów przez białka i polisacharydy w czasie produkcji makaronów.

Celem pracy było określenie wpływu procesu produkcji na zawartość tłuszczu wolnego i tłuszczu związanego w makaronie jajecznym. Zbadano stopień kompleksowania tłuszczów na kolejnych etapach produkcji makaronu.

Material i metody badań

Surowcami użytymi do produkcji makaronu były: mąka makaronowa zwyczajna typu 450 (P.Z.Z. Kraków, Polska) oraz pasteryzowana i homogenizowana masa jajowa (Koźlakiewicz Sp. j., Wiśniewo k. Mławy, Polska). Scharakteryzowano jakość mąki, oznaczając w niej: zawartość glutenu mokrego, liczbę opadania, zawartość związków mineralnych w postaci popiołu [1], skład granulometryczny mąki [22] oraz wyliczono średnicę zastępczą cząstek [11] – tab. 1.

Tabela 1. Parametry jakościowe i skład frakcyjny mąki makaronowej
Table 1. Quality parameters and fractional composition of pasta flour

Zawartość glutenu Gluten content [%]	Liczba opadania Falling number [s]	Zawartość popiołu Ash content [%]	Skład frakcyjny Fractional composition [%]						Średnica zastępcza The equivalent diameter [µm]
			> 315 [µm]	250 - 315 [µm]	160 - 250 [µm]	125 - 160 [µm]	80 - 125 [µm]	< 80 [µm]	
28,33 ± 0,62	362 ± 18,27	0,42 ± 0,03	1	3	60	17	11	8	176,5

Objaśnienie: / Explanatory note:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviation.; n = 3.

Makaron w formie nitek zwijanych w gniazdka produkowano na przemysłowej linii do produkcji makaronu typu C300 (La Parmigiana S.R.L, Parma, Włochy) w Wytwórni Makaronu Domowego Pol-Mak S.A. w Ludwinie. Zastosowano następujące parametry procesu produkcji: dozowanie mąki – 190 kg/h, dozowanie masy jajowej 38 kg/h (20 kg masy/100 kg mąki), dozowanie wody 21 l/h. Wszystkie surowce wstępnie mieszano w premikserze, następnie kolejno w dwóch mieszarkach: I i II. Przy mieszaniu składników ciasta nie stosowano próżni. Przygotowane ciasto kierowano do cylindra ekstrudera jednoślimakowego (typ C300, La Parmigiana S.R.L, Parma, Włochy), gdzie następowało stopniowe jego ugniatanie, uplastycznianie i sprężanie. Obroty ślimaka ekstrudera wynosiły 17 obr./min, ciśnienie tłoczenia makaronu – 8,7 ÷ 8,8 MPa, temperatura głowicy – 41 °C, temperatura cylindra ekstrudera – 39 °C.

Tabela 2. Model doświadczenia

Table 2. Model of the experiment

Symbol próby Samples	Opis prób Description of the samples	Wilgotność Moisture [%]
C1	Ciasto z I mieszarki Dough from mixer	30,84 ^f ± 0,11
C2	Ciasto z II mieszarki Dough from mixer II	30,54 ^f ± 0,25
C3	Ciasto po tłoczeniu Dough after extrusion	29,31 ^e ± 0,04
MT	Makaron po wstępnym suszeniu Pasta after preliminary drying	26,95 ^d ± 0,05
MS1	Makaron po 2 h suszenia Pasta after 2 h drying	14,14 ^c ± 0,21
MS2	Makaron po 3,5 h suszenia Pasta after 3.5 h drying	12,63 ^b ± 0,43
MS3	Makaron po 5 h suszenia Pasta after 5 h drying	11,91 ^{ab} ± 0,49
MS4	Makaron po 7 h suszenia Pasta after 7 h drying	11,07 ^a ± 0,37
CW	Ciasto ręcznie zagniecione i walcowane Manually kneaded and laminated dough	34,23 ^g ± 0,02
MW	Makaron z ciasta ręcznie zagniecionego i walcowanego, po 7 h suszenia / Pasta made of manually kneaded and laminated dough, after 7 h drying	11,39 ^a ± 0,19

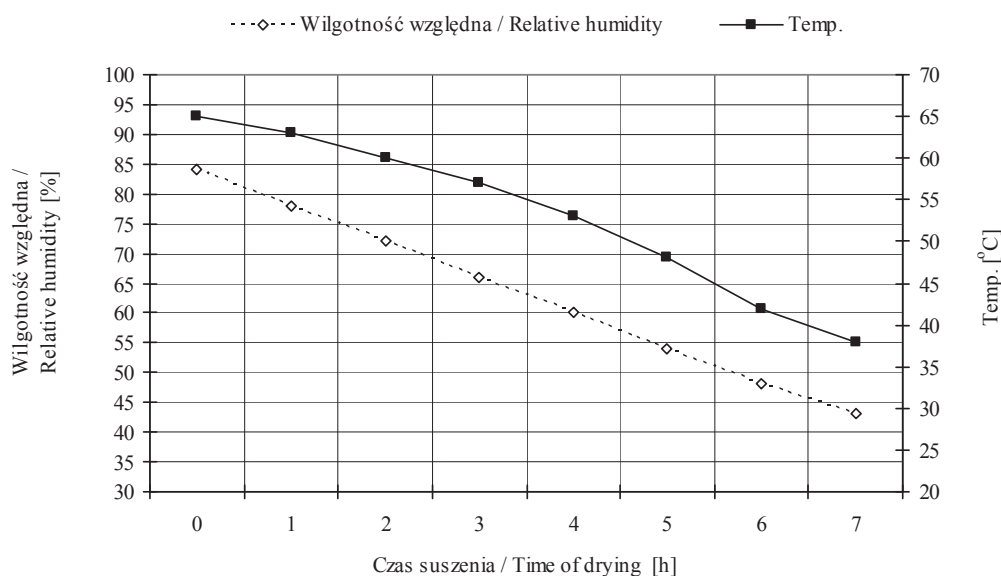
Objaśnienia: / Explanatory notes:

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

wartości średnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią się od siebie statystycznie istotnie (p ≤ 0,05) /

mean values denoted by the same letters do not differ statistically significantly (p ≤ 0.05).

W celach porównawczych z tych samych surowców przygotowano próbę ciasta ręcznie zagniecionego (1 kg mąki, 200 g masy jajowej i 150 ml wody). Następnie ciasto walcowano do cienkich arkuszy, krojono w maszynie do makaronu Atlas 180 (Marcato S.p.A., Campodarsego, Włochy) zwijano w gniazdzka i suszono. Model doświadczenia przedstawiono w tab. 2.



Rys. 1. Zmiany temperatury i wilgotności względnej powietrza w czasie suszenia makaronu
Fig. 1. Changes in air temperature and relative humidity of air during pasta drying

Wyprodukowany makaron układano na sitach i kierowano do suszenia. Proces wstępnego suszenia prowadzono przez ok. 2 min w temp. 75 °C. Następnie makaron kierowano do suszarni komorowych, 4-wózkowych typu ESS 4C (La Parmigiana S.R.L. Parma, Włochy). Parametry suszenia makaronu przedstawiono na rys. 1.

W surowcach użytych do produkcji oraz w próbkach ciasta i makaronu oznaczano wilgotność zgodnie z metodą AACC, 44-15A [1]. Z poszczególnych etapów procesu produkcji pobierano po ok. 1 kg uśrednionej próbki mąki, ciasta i makaronu do oznaczania zawartości tłuszczu. Zawartość tłuszczu wolnego oznaczano według PN-A-74131:1999 (rozpuszczalnik: eter dietylowy) [19]. Zawartość tłuszczu całkowitego oznaczano metodą Weibulla-Stoldta, poddając próbę uprzedniej hydrolizie roztworem kwasu solnego [13]. Tłuszcz z hydrolizatu kwasowego ekstrahowano eterem dietylowym. Z różnicy pomiędzy zawartością tłuszczu całkowitego i wolnego wyliczano zawartość tłuszczu związanego.

Zawartość tłuszczu całkowitego w pasteryzowanej masie jajowej oznaczano po uprzedniej hydrolizie próbek w stężonym kwasie solnym. Do ekstrakcji tłuszczu stosowano mieszaninę eteru dietylowego i naftowego w stosunku 1 : 1 (v/v). Jednocześnie masę jajową poddawano liofilizacji. Proces prowadzono w liofilizatorze Labconco FreeZone 12 (Kansas City, USA), stosując temperaturę kolektora -50 °C. Suszenie sublimacyjne prowadzono w temp. 30 °C, przy ciśnieniu 0,09 mBar, w ciągu 48 h. W liofilizowanej masie jajowej oznaczano zawartość tłuszczu wolnego metodą Soxhleta, stosując do ekstrakcji tłuszczu mieszaninę eteru dietylowego i naftowego w stosunku 1 : 1 (v/v) [13]. W celu porównania wyników z danymi literaturowymi zawartość tłuszczu podano w przeliczeniu na mokrą (m.m.) i suchą (s.m.) masę próbek.

Wszystkie oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach. Analizę statystyczną wyników wykonano w programie SAS ver. 9.2. Obliczono wartości średnie i odchylenia standardowe oraz określono istotność różnic między wybranymi wartościami średnimi (test Duncana, $p \leq 0,05$).

Wyniki i dyskusja

W mące makaronowej użytej w doświadczeniu zawartość tłuszczu całkowitego wynosiła 1,48 % s.m., w tym tłuszcz wolny stanowił 55 % (tab. 3).

Tabela 3. Skład chemiczny surowców użytych do produkcji makaronu

Table 3. Chemical composition of raw materials used to produce pasta

Surowiec Raw material	Wilgotność Moisture [%]	Sucha masa Dry mater [%]	Zawartość tłuszczu wolnego Free fat content		Zawartość tłuszczu całkowitego Total fat content		Tłuszcz wolny [% tłuszczu całkowitego] Free fat [% of total fat]
			[% m.m.] [% w.b.]	[% s.m.] [% d.m.]	[% m.m.] [% w.b.]	[% s.m.] [% d.m.]	
Masa jajowa Egg mass	76,93 ± 0,02	23,07 ± 0,02	7,15 ± 0,02	30,99 ± 0,08	8,39 ± 0,14	36,37 ± 0,61	85
Mąka makaronowa Pasta flour	14,14 ± 0,06	85,86 ± 0,06	0,7 ± 0,06	0,81 ± 0,07	1,27 ± 0,06	1,48 ± 0,07	55

Objaśnienie: / Explanatory note:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviation.; n = 3.

Podobnie według Pomeranza [20] zawartość tłuszczu całkowitego w mące wynosi 1,4 % s.m., a tłuszczu wolnego – 0,8 % (57 % tłuszczu całkowitego). Zawartość tłuszczu w mące pszennej zależy nie tylko od cech gatunkowych i odmiany pszenicy, ale również od warunków uprawy zboża, parametrów przemiału ziarna i metody ekstrakcji

tłuszczów [3, 16]. Według Gąsiorowskiego [7] zawartość tłuszczu w ziarnie pszenicy może być zmienna w zakresie $0,9 \div 3,3$ %. Autor twierdzi, że 45 % tłuszczów znajduje się w bielmie właściwym ziarniaka, co wskazuje, że zawartość tłuszczu w mące pozyskanej z bielma może być zróżnicowana w przedziale $0,4 \div 1,5$ %. W porównaniu z mąką z pszenicy zwyczajnej, znacznie zasobniejsze w tłuszcz są produkty przemiału pszenicy durum. Semolina i mąka makaronowa durum zawierają około $1,8 \div 2$ % tłuszczu [2, 15].

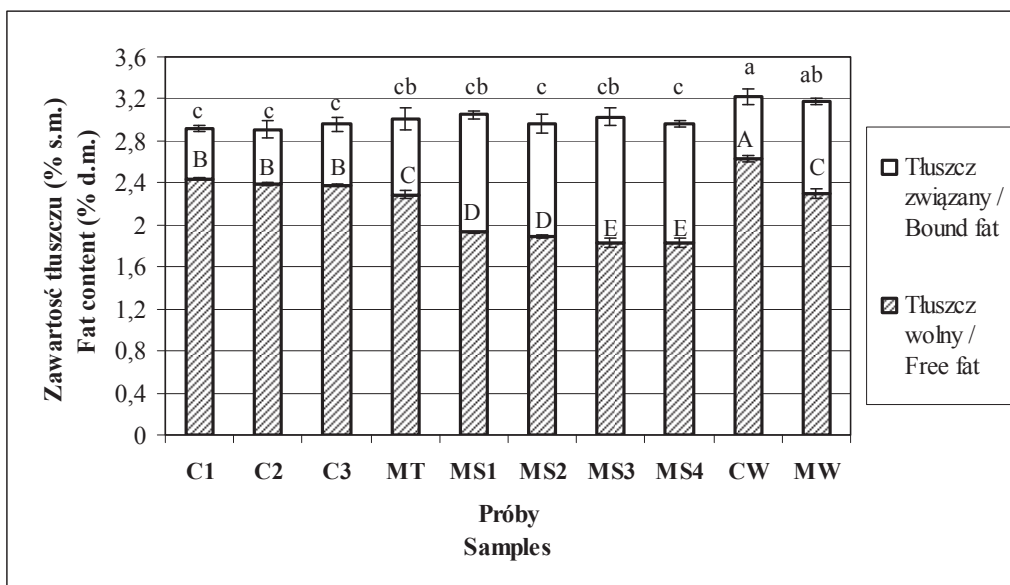
Prowadzone od lat badania dowodzą znaczącego wpływu natywnych tłuszczów mąki na tworzenie ciasta makaronowego i jakość kulinarną makaronów [14]. W mące pszennej występują dwie grupy lipidów: wolne (głównie niepolarne) i związane (głównie polarne). Do lipidów niepolarnych zalicza się tri- di- i monoacyloglicerole oraz wolne kwasy tłuszczowe, natomiast do polarnych: glikolipidy i fosfolipidy [16, 20]. Szczególnie dużą rolę przypisuje się lipidom wolnym. Na etapie tworzenia ciasta makaronowego wchodzi one w interakcje z białkami i współuczestniczą w tworzeniu matrycy glutenowej [4, 28]. W czasie gotowania makaronu wolne kwasy tłuszczowe i monoacyloglicerole mogą być kompleksowane przez amylozę. W wyniku tych interakcji zmniejsza się rozpuszczalność amylozy w wodzie, co prowadzi do mniejszych strat suchej masy podczas gotowania i wpływa na mniejszą powierzchniową kleistość makaronu [14, 15]. Matsuo i wsp. [14] dowodzą, że wolne tłuszcze obecne w mące makaronowej zmniejszają podatność makaronu na rozgotowanie, natomiast Niihara i wsp. [15] twierdzą, że korzystnie wpływają one na jędrność ugotowanych produktów.

Poza natywnymi tłuszczami mąki, w kształtowaniu jakości kulinarnej makaronów jajecznych udział biorą również tłuszcze obecne w surowcach jajecznych [15, 28], dlatego ważna jest zarówno ich zawartość, jak też skład frakcyjny.

Pasteryzowana masa jajowa użyta w doświadczeniu cechowała się stosunkowo małą zawartością tłuszczu całkowitego (8,39 % m.m.), w którym około 85 % stanowił tłuszcz wolny (tab. 3). W surowcu tym zawartość suchej masy wynosiła 23,07 % (tab. 3). Według Polskiej Normy zawartość tłuszczów w masie jajowej nie powinna być mniejsza od 9,8 % (m.m.), a sucha masa powinna stanowić nie mniej niż 23,5 % (m.m.) [18]. Sparks [23] podaje, że przeciętna zawartość tłuszczu w jajach kształtuje się na poziomie 11 % m.m., a średnia zawartość suchej masy wynosi 26 %. Ponad 99 % tłuszczu obecnego w jajach zlokalizowane jest w żółtku. Sinanoglou i wsp. [21] twierdzą, że w tłuszczu obecnym w żółtkach jaj przeważają tłuszcze wolne ($61,6 \div 72,75$ %), w których ilościowo największą frakcję stanowią triacyloglicerole ($58,3 \div 66,6$ %). Tłuszcze polarne to głównie fosfatydylocholina (lecytyna), stanowiąca około $20 \div 30$ % ogółu tłuszczów [12, 21].

W badaniach własnych potwierdzono, że w czasie procesu produkcji makaronu jajecznego doszło do intensywnego kompleksowania tłuszczu (rys. 2). Przy zawartości tłuszczu całkowitego $2,91 \div 3,05$ % s.m. (próby: C1 i MS1), zawartość tłuszczu wol-

nego w próbkach zmniejszała się na kolejnych etapach produkcji makaronu. Najmniej-
 sze, statystycznie nieistotne ($p \leq 0,05$) zmiany zawartości tłuszczu wolnego zaobser-
 rowano na etapie tworzenia ciasta makaronowego i tłoczenia makaronu (próby: C1,
 C2 i C3). Na tych etapach zawartość tłuszczu wolnego zmieniała się w zakresie $2,44 \div$
 $2,38$ % s.m. (rys. 2). Znaczące zmniejszenie zawartości tłuszczu wolnego wystąpiło
 dopiero na etapie wstępnego suszenia makaronu (próba MT) oraz w czasie pierwszych
 dwóch godzin suszenia właściwego w suszarni komorowej (próba MS1) (rys. 2).
 Zmianom zawartości tłuszczu wolnego towarzyszyła znacząca redukcja wilgotności
 próbek. Wstępne suszenie makaronu zmniejszyło wilgotność z 29,31 do 26,95 %, na-
 tomiast kolejne dwie godziny suszenia właściwego zredukowały wilgotność makaronu



Objaśnienie: / Explanatory notes:

C1 – ciasto z I mieszarki / dough from the I mixer; C2 – ciasto z II mieszarki / dough from the II mixer; C3 – ciasto po tłoczeniu / dough after extrusion; MT – makaron po wstępnym suszeniu / pasta after drying in trabatto ; MS1 – makaron po 2 h suszenia / pasta after 2 h drying; MS2 – makaron po 3,5 h suszenia / pasta after 3.5 h drying; MS3 – makaron po 5 h suszenia / pasta after 5 h drying; MS4 – makaron po 7 h suszenia / pasta after 7 h drying; CW – ciasto ręcznie zagniecione i walcowane / manually kneaded and laminated dough; MW – makaron z ciasta ręcznie zagniecione i walcowanego po 7 h suszenia / pasta with manually kneaded and laminated dough, after 7 h drying;

a, b, c; A, B, C, D, E – wartości średnie oznaczone takimi samymi małymi w odniesieniu do tłuszczu związanego i takimi samymi dużymi literami dla tłuszczu wolnego nie różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) / mean values denoted by the same small letters for bound fat and the same capital letters for free fat are not significantly different ($p \leq 0.05$).

Rys. 2. Zawartość tłuszczu w próbkach na kolejnych etapach procesu produkcji makaronu jajecznego.

Fig. 2. Content of fat in samples at consecutive stages of egg pasta production process.

do poziomu 14,14 % (tab. 2). Wraz z upływem czasu suszenia i redukcją wilgotności obserwowano stopniowy ubytek tłuszczu wolnego. W produkcie finalnym (próba MS4) jego zawartość wynosiła 1,83 % s.m. (rys. 2) i była znacznie mniejsza od zawartości przewidzianej w PN dla makaronu 4-jajecznego (2,4 % m.m.).

Większą zawartość tłuszczu wolnego (2,3 % s.m.) oznaczono w makaronie wytworzonym z ciasta ręcznie zagniatanego i walcowanego (próba MW). Makaron ten był suszony w takich samych warunkach jak pozostałe próbki. W tym przypadku również nastąpiła redukcja zawartości tłuszczu wolnego, jednak stwierdzone zmiany były mniejsze w porównaniu z makaronem produkowanym metodą ekstruzji niskotemperaturowej (rys. 2). Tłuszcz związany stanowił w tym makaronie około 27 % ogółu tłuszczów, podczas gdy w makaronie tłoczonym – około 38 %.

Wielu autorów podkreśla, że mechanizm wiązania tłuszczów w trakcie procesu produkcji makaronów nie został do końca poznany [2, 15]. Dane literaturowe wskazują, że na etapie tworzenia ciasta wolne tłuszcze obecne w surowcach makaronowych mogą wchodzić w interakcje z białkami glutenu. W obecności wody następuje zbliżenie do siebie niepolarnych grup tłuszczów i białek, a to może prowadzić do wytworzenia między nimi oddziaływań van der Waalsa [7, 24]. Stosunkowo niewielkie siły, wspomagane przez wiązania wodorowe otaczających cząsteczek wody, mogą prowadzić do powstania stosunkowo trwałych kompleksów [7, 24]. W czasie mieszenia ciasta chlebowego w wyniku tego typu interakcji nawet 2/3 wolnych tłuszczów może zostać włączone w strukturę siatki glutenowej [7, 16]. Przeprowadzone badania własne nie potwierdziły jednak tak dużego wiązania tłuszczów na etapie tworzenia ciasta makaronowego. Jak twierdzą Barnes i wsp. [2], mniejszy stopień uwodnienia mąki (wilgotność około 30 %) i większa granulacja surowca mogą ograniczać tworzenie trwałych kompleksów tłuszczowo-białkowych. Wymienieni autorzy podkreślają, że powstające na etapie tworzenia ciasta oddziaływania hydrofobowe pomiędzy niepolarnymi tłuszczami i białkami nie są wystarczająco trwałe, aby uniemożliwić ekstrakcję tłuszczu niepolarnymi rozpuszczalnikami. Barnes i wsp. [2], prowadząc badania nad stopniem wiązania tłuszczów w czasie procesu produkcji makaronów z semoliny, stwierdzili największe zmniejszenie zawartości tłuszczu wolnego nie na etapie tworzenia ciasta, lecz na etapie wstępnego suszenia makaronu. Jednocześnie wykazali oni znaczną redukcję wilgotności produktów (z 29 do 18 %).

Wyniki badań własnych są zgodne z wynikami uzyskanymi przez Barnesę i wsp. [2]. Również w przypadku makaronów jajecznych największy stopień kompleksowania tłuszczu miał miejsce na etapie intensywnego suszenia produktu. Według Barnesę i wsp. [2] intensywne wiązanie tłuszczów jest spowodowane zmianą stanu fizycznego wody. Słabe oddziaływania, np. hydrofobowe, powstające na etapie tworzenia i kształtowania ciasta makaronowego, prowadzą do włączenia tłuszczów w skrobiowo-białkową strukturę ciasta. W wyniku intensywnego odwodnienia makaronu tłuszcze

zostają „mechanicznie” uwięzione w tej strukturze i stają się niedostępne dla niepolarnych rozpuszczalników.

Intensywność wiązania tłuszczów w czasie procesu produkcji makaronów może być także zależna od stopnia żelifikacji skrobi. W wyniku kleikowania skrobi uwolnione łańcuchy amylozy mogą włączać w swoje helikalne struktury wolne kwasy tłuszczowe i monoacyloglicerole [5, 6]. Skompleksowane w ten sposób tłuszcze stają się niedostępne dla rozpuszczalników niepolarnych. Stopień żelifikacji skrobi w czasie procesu produkcji makaronów może być zmienny i zależy od wielu czynników. Zardetto i wsp. [27] twierdzą, że duże znaczenie ma stosowana technologia. Zdaniem tych autorów makarony produkowane metodą ekstruzji niskotemperaturowej cechują się znacznie większym stopniem żelifikacji skrobi w porównaniu z produktami laminowanymi (walcowanymi). Skrobia obecna w makaronie ekstrudowanym wykazuje większą podatność na wiązanie tłuszczów w porównaniu ze skrobią obecną w makaronach walcowanych. Gomez i Aguilera [8] dowodzą, że w przypadku produktów ekstrudowanych stopień żelifikacji skrobi jest zależny od wartości SME (*Specific Mechanical Energy*). Według Guzmána i wsp. [9] wzrost temperatury ekstruzji oraz wydłużenie czasu retencji materiału w ekstruderze sprzyjają zwiększonej żelifikacji skrobi, a w konsekwencji wpływają na zwiększone wiązanie tłuszczów.

Proces częściowego kleikowania skrobi zachodzi również w czasie suszenia makaronu. Petitot i wsp. [17] uważają, że odpowiednio wysoka temperatura i stosunkowo wysoka wilgotność produktu w pierwszej fazie suszenia mogą indukować proces żelifikacji granul skrobiowych. Zhang i wsp. [29] oraz Güler i wsp. [10] twierdzą, że stopień kleikowania skrobi zależy w głównej mierze od temperatury procesu. Jednak zdania autorów na temat kierunkowości wpływu tego parametru są podzielone. Zhang i wsp. [29] wykazali, że zastosowanie wysokiej ($70 \div 75$ °C) i bardzo wysokiej (> 80 °C) temperatury suszenia makaronu intensyfikuje proces żelifikacji skrobi i jednocześnie sprzyja powstawaniu kompleksów amylozowo-lipidowych. Podobnie twierdzą Petitot i wsp. [17]. Przeciwną tendencję zaobserwowali Güler i wsp. [10]. Według tych autorów bardzo wysoka temperatura suszenia powoduje szybkie odwodnienie produktu. W takich warunkach pęcznienie i kleikowanie granul skrobiowych jest ograniczone. Jednocześnie twierdzą oni, że intensywniejsze powstawanie kompleksów skrobiowo-tłuszczowych ma miejsce w czasie suszenia produktów w niższej temperaturze ($60 \div 67$ °C).

W badaniach własnych wykazano, że w czasie procesu produkcji makaronów jajecznych, w wyniku wiązania tłuszczów, znacząco zmniejszyła się zawartość tłuszczu wolnego. Stopień wiązania tłuszczu był zmienny i zależał od stosowanej technologii produkcji makaronu. Dowiedziono, że zawartość tłuszczu wolnego w makaronach jajecznych nie jest miarodajnym wyznacznikiem liczby jaj w makaronie. O zawartości tłuszczu wolnego w produkcie finalnym może decydować nie tylko ilość wprowadzo-

nej masy jajowej, ale także specyfika surowca, technologia produkcji i parametry procesu. Jeżeli liczba jaj w makaronie ma być w dalszym ciągu szacowana na podstawie zawartość tłuszczu w produkcie, to bardziej miarodajnym parametrem jest zawartość tłuszczu całkowitego. Wykazano, że zawartość tłuszczów w hydrolizacie kwasowym nie różniła się znacząco w próbkach pobranych z kolejnych etapów procesu produkcji. Jeśli nadal miarą „jajeczności” makaronów ma być zawartość tłuszczu wolnego, konieczne jest przeprowadzenie dalszych, wielokierunkowych badań, mających na celu szczegółowe określenie wpływu cech surowca, parametrów procesu tłoczenia (temperatury, ciśnienia, czasu retencji materiału w ekstruderze) i parametrów suszenia makaronu na stopień wiązania tłuszczu. Wyniki badań powinny być podstawą do weryfikacji Polskiej Normy.

Wnioski

1. W czasie procesu produkcji makaronu jajecznego następowało wiązanie tłuszczu przez białka i polisacharydy, w wyniku czego zawartość tłuszczu wolnego w produkcie finalnym zmniejszyła się o około 25 %.
2. Największe zmiany zawartości tłuszczu wolnego stwierdzono na etapie wstępnego suszenia makaronu i w czasie pierwszych godzin suszenia właściwego wraz ze znaczącą redukcją wilgotności produktów.
3. Stopień wiązania tłuszczu uzależniony był od stosowanej technologii produkcji makaronu. W makaronie produkowanym metodą ekstruzji niskotemperaturowej stopień wiązania tłuszczu był wyższy niż w makaronie ręcznie zagniatanym i walcowanym.
4. Dowiedziono, że zawartość tłuszczu wolnego nie jest odpowiednim parametrem do szacowania liczby jaj w makaronie, stąd wskazuje się na konieczność weryfikacji istniejącej Polskiej Normy.

Składamy serdeczne podziękowania Wytwórni Makaronu Domowego Pol-Mak S.A. w Ludwinie za udostępnienie linii produkcyjnej i umożliwienie przeprowadzenia badań.

Literatura

- [1] AACC, Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists, American of Cereal Chemists, St, Paul, Minnesota, USA, 2000.
- [2] Barnes P.J., Day K.W., Schofield J.D.: Commercial pasta manufacture: changes in lipid binding during processing of durum wheat semolina. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 1981, **172**, 373-376.
- [3] Biel W., Maciorowski R.: Ocena wartości odżywczej ziarna wybranych odmian pszenicy. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, **2 (81)**, 45-55.


- [4] Bonet A., Błaszczak W., Rosell C.M.: Formation of homopolymers and heteropolymers between wheat flour and several protein sources by transglutaminase-catalyzed cross-linking. *Cereal Chem.*, 2006, **6 (83)**, 655-662.
- [5] Copeland L., Blazek J., Salman H., Chiming Tang M.: Form and functionality of starch. *Food Hydrocoll.*, 2009, **23**, 1527-1534.
- [6] De Pilli T., Derossi A., Talja R.A., Jouppila K., Severini C.: Study of starch-lipid complexes in model system and real food produced using extrusion-cooking technology. *Innov. Food Sci. Emerg.*, 2011, **4 (12)**, 610-616.
- [7] Gąsiorowski H.: *Pszenica – chemia i technologia*. Praca zbiorowa. PWRiL, Poznań 2004.
- [8] Gomez M.H., Aguilera J.M.: Changes in starch fraction during extrusion cooking of corn. *J. Food Sci.*, 1983, **48**, 378-381.
- [9] Guzman L.B., Lee T.-C., Chichester C.O.: Lipid binding during extrusion cooking. In: *Food Extrusion Science and Technology*. Eds. J.L. Kokini, C.-T. Ho, M.V. Karwe. Marcel Dekker Inc., New York 1992, pp. 427-436.
- [10] Güler S. Köksel H., Ng P.K.W.: Effects of industrial pasta drying temperatures on starch properties and pasta quality. *Food Res. Int.*, 2002, **35**, 421-427.
- [11] Kasprzak M., Rzedzicki Z.: Application of grasspea wholemeal in the technology of white bread production. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2012, **62**, 207-213.
- [12] Kijowski J., Leśniewski G., Cegielska-Radziejewska R.: Jaja cennym źródłem składników bioaktywnych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, **5 (90)**, 29-41.
- [13] Krelowska-Kułas M.: *Badanie jakości produktów spożywczych*. PWE, Warszawa 1993.
- [14] Matsuo R.R., Dexter J.E., Boudreau A., Duan J.K.: The role of lipids in determining spaghetti cooking quality. *Cereal Chem.*, 1986, **63**, 484-489.
- [15] Niihara R., Yonezawa D., Matsuo R.R.: Effect of flour lipids on pasta and noodle quality. In: *Pasta and Noodle Technology*. Eds. J.E. Kruger, R.B. Matsuo, J.W. Dick. AACC, St. Paul 1996, pp. 275-300.
- [16] Pareyt B., Finnie S.M., Pusteys J.A., Delcour J.A.: Lipids in bread making: Sources, interactions, and impact on bread quality. *J. Cereal Sci.*, 2011, **3 (54)**, 266-279.
- [17] Petitot M., Abecassis J, Micard V.: Structuring of pasta components during processing: impact on starch and protein digestibility and allergenicity. *Trends Food Sci. Technol.*, 2009, **20**, 521-532.
- [18] PN-A-86501:1996P. Przetwory jajowe chłodzone i mrożone. Wymagania i metody badań.
- [19] PN-A-74131:1999. Makaron.
- [20] Pomeranz Y.: Composition and functionality of wheat flour components. In: *Wheat Chemistry and Technology*. Eds. Pomeranz. AACC, St. Paul 1988, pp. 219-328.
- [21] Sinanoglou V.J., Strati I.F., Miniadis-Meimaroglou S.: Lipid, fatty acid and carotenoid content of edible egg yolks from avian species: A comparative study. *Food Chem.*, 2011, **3 (124)**, 971-977.
- [22] Sobota A., Rzedzicki Z., Zarzycki P., Kuzawińska E.: Application of common wheat bran for the industrial production of high fibre pasta. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2015, **50**, 111-119.
- [23] Sparks N.H.C.: The hen's egg – is it role in human nutrition changing? *World's Poultry Sci. J.*, 2006, **62**, 308-315.
- [24] Surówka K., Maciejaszek I.: Oddziaływania białkowo-polisacharydowe i ich praktyczne wykorzystanie. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **4 (53)**, 17-35.
- [25] Suwała G.: Czynniki determinujące autentyczność makaronów jajecznych. W: *Wybrane aspekty oceny jakości żywności*. Red. R. Zieliński i J. Żuchowski. Wyd. Nauk. Inst. Technol. Eksploatacji – PIB, Radom 2012, ss. 41-48.
- [26] Wang F., Huang W. Kim Y, Liu R, Tilley M.: Effects of transglutaminase on the rheological and noodle-making characteristics of oat dough containing vital wheat gluten or egg albumin. *J. Cereal Sci.*, 2011, **1 (54)**, 53-59.

- [27] Zardetto S., Dalla Rosa M.: Study of the effect of lamination process on pasta by physical chemical determination and near infrared spectroscopy analysis. *J. Food Eng.*, 2006, **74**, 402-409.
- [28] Zardetto S., Dalla Rosa M.: Effect of extrusion process on properties of cooked, fresh egg pasta. *J. Food Eng.*, 2009, **92**, 70-77.
- [29] Zhang L., Nishizu T., Hayakawa S., Nakdashima R., Goto K.: Effects of different drying conditions on water absorption and gelatinization properties of pasta. *Food Bioprocess Technol.*, 2013, **6**, 2000-2009.

CHANGES IN CONTENT OF FREE FAT DURING EGG PASTA MANUFACTURING PROCESS

S u m m a r y

The objective of the research study was to determine the effect of 4-egg pasta manufacturing process on the degree of binding fat by polysaccharides and proteins contained in semi-finished and finished products. The pasta was produced under industrial conditions, on a C300 type production line, using a low temperature extrusion method. Additionally, for the purpose of comparison, a sample of pasta was manually kneaded and laminated. In the flour, dough, and pasta samples, taken at the successive production stages, there were analyzed the contents of free fat (extracted with diethyl ether) and total fat (extracted with diethyl ether after the samples underwent acidic hydrolysis). The content of bound fat was calculated based on the difference between the total and free fat content. During the research study, it was proved that, during the manufacturing of pasta, fat was intensely bound and the content of free fat decreased. Minor changes occurred as early as at the stage of forming pasta dough. Those changes became more intense at the successive stages of the pasta production process. Particularly intensive reduction in the content of free fat was found at the preliminary drying stage along with a simultaneous significant reduction in the content of moisture content in the product. It was reported that in the final product, 38% of total fats occurred as a bound form. At the same time, it was found that the content of free fat in the dried pasta was 1.83% of dry mass and it was much lower than that as recommended by the Polish Norm regarding the 4-egg pasta products. A significantly lower degree of fat binding (27 %) was reported in the manually kneaded and laminated pasta. The content of free fat in that product was 2.3 % of dry mass. The study results obtained imply that the content of free fat is not a suitable parameter to estimate the number of eggs in pasta. The free fat content in the final product depends not only on the amount of raw eggs added into the product, but, also, on the production technology applied.

Key words: pasta flour, egg mass, pasta, fat binding, low-temperature extrusion, free fat, bound fat 

RADOSŁAW DEMBCZYŃSKI, WOJCIECH BIAŁAS, ANNA OLEJNIK,
PRZEMYSŁAW KOWALCZEWSKI, AGNIESZKA DROŹDŻYŃSKA,
TOMASZ JANKOWSKI

POZYSKIWANIE ANTOCYJANÓW Z OWOCÓW ARONII, CZARNEGO BZU, CZARNEJ PORZECZKI I KORZENIA CZARNEJ MARCHWI METODĄ EKSTRAKCJI

Streszczenie

Celem badań było opracowanie metody ekstrakcji barwników antocyjanowych z owoców aronii, czarnego bzu i czarnej porzeczki oraz korzeni czarnej marchwi. Do ekstrakcji antocyjanów zastosowano roztwory: wodę zakwaszoną kwasem octowym (0,75 % m/m), wodę zakwaszoną kwasem solnym (0,75 % w/w), metanol/wodę/kwas octowy (40 : 60 : 0,5 v/v/v), aceton/wodę/kwas octowy (70 : 29,5 : 0,5 v/v/v). W otrzymanych ekstraktach oznaczono zawartość związków fenolowych oraz antocyjanów i na ich podstawie wykonano analizę kinetyki ekstrakcji. Zbadano również właściwości przeciwutleniające uzyskanych ekstraktów metodami ABTS^{•+} i FRAP. W procesie ekstrakcji antocyjanów z owoców aronii, czarnego bzu i czarnej porzeczki optymalnymi ekstrahentami okazały się: wodny roztwór metanolu z dodatkiem kwasu octowego oraz wodny roztwór kwasu octowego, natomiast w trakcie ekstrakcji antocyjanów z korzenia czarnej marchwi najlepsze rezultaty uzyskano przy użyciu wodnego roztworu metanolu z dodatkiem kwasu octowego oraz wodnego roztworu acetonu z dodatkiem kwasu octowego.

Słowa kluczowe: antocyjany, ekstrakcja, właściwości przeciwutleniające, ABTS^{•+}, FRAP

Wprowadzenie

Antocyjany są ważną grupą barwników roślinnych. Ich struktura chemiczna jest bardzo złożona. Zbudowane są z części niecukrowej (aglikonu) połączonej wiązaniem glikozydowym z resztą cukrową. Aglikon zawiera szkielet antocyjanidyny zwany kationem 2-fenylbenzopiryliowym lub flawyliowym. Wyróżnia się ponad 20 typów

*Dr inż. R. Dembczyński, dr inż. W. Białas, dr hab. A. Olejnik, mgr inż. P. Kowalczewski, mgr inż. A. Drożdżyńska, prof. dr hab. T. Jankowski, Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Wydz. Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 Poznań.
Kontakt: rdembcz@up.poznan.pl*

budowy antocyjanidyn, przy czym najczęściej spotykane są: cyjanidyna, delfinidyna, malwidyna, pelargonidyna, petunidyna i peonidyna. Część cukrowa to najczęściej glukoza, rzadziej galaktoza, ramnoza lub arabinoza. Różnice w budowie części cukrowej, jak rodzaj i liczba cząsteczek cukru i rodzaj cząsteczek acetylujących, są także przyczyną dużego zróżnicowania struktury antocyjanów. Obecnie znanych jest kilkaset barwników antocyjanowych [24].

Barwniki antocyjanowe występują w kwiatach, owocach, a także w liściach, łodygach i korzeniach. Konkretny gatunek rośliny zawiera zwykle charakterystyczny zestaw od kilku do kilkunastu antocyjanów o różnej budowie i właściwościach [17]. Podstawową metodą pozyskiwania barwników antocyjanowych jest ekstrakcja selektywnymi rozpuszczalnikami [24]. Możliwa jest także synteza chemiczna antocyjanów występujących *in vivo*, jednak jest ona bardzo kosztowna i mało wydajna [5, 16].

Ekstrakcja jest bardzo istotnym etapem procesu separacji, identyfikacji oraz produkcji na szeroką skalę związków polifenolowych, w tym także barwników antocyjanowych. Związki te najczęściej pozyskuje się metodą ekstrakcji w układzie ciecz – ciało stałe oraz ekstrakcji w warunkach nadkrytycznych [3]. Wydajność procesu zależy od szeregu czynników związanych zarówno z właściwościami separowanych związków, jak i stosowanych rozpuszczalników. Szczególną uwagę zwraca się na polarność oraz pH ekstrahenta. Antocyjany nie są stabilne w roztworach obojętnych i zasadowych, stąd podczas ekstrakcji stosuje się wyłącznie zakwaszone wodne roztwory wybranych rozpuszczalników organicznych. Najpowszechniej używanymi rozpuszczalnikami są roztwory wodno-alkoholowe zawierające etanol lub metanol, ale można również stosować roztwory zawierające n-butanol, aceton, glikol propylenowy [9, 10]. Ekstrahent zakwasza się za pomocą kwasu solnego lub kwasu organicznego (np. kwasu octowego), co według Strack i Wray [26] jest szczególnie przydatne w separacji złożonych poliacetylowanych antocyjanów. Ze względu na złożoną budowę tych związków oraz na rodzaj materiału, z którego są one pozyskiwane, trudno wskazać jedną, uniwersalną metodę pozwalającą na ich wydajną separację.

Celem badań było opracowanie metody ekstrakcji barwników antocyjanowych z owoców aronii, czarnego bzu i czarnej porzeczki oraz korzeni czarnej marchwi.

Material i metody badań

Przygotowanie materiału roślinnego

Materiałem do badań były owoce: aronii czarnowoocowej (*Aronia melanocarpa* Ellliata), czarnego bzu (*Sambucus nigra* L.) i czarnej porzeczki (*Ribes nigrum* L.) oraz korzenie spichrzowe czarnej marchwi odmiany Deep Purple (*Daucus carota* subsp. *sativus* var. *atrorubens* Alef). Owoce czarnego bzu pochodziły z obszaru Natura 2000 Dolina Samicy Kierskiej. Korzenie czarnej marchwi pozyskano z firmy Bejo Zaden

Poland (Ożarów Mazowiecki, Polska), natomiast owoce czarnej porzeczki i aronii pochodziły z gospodarstwa ekologicznego w miejscowości Borowo (gmina Czempin, Wielkopolska). Materiał roślinny zebrano w sezonie wegetacyjnym w 2012 roku, a następnie zamrażano w temperaturze $-85\text{ }^{\circ}\text{C}$ i suszono sublimacyjnie w liofilizatorze Beta 1-16 (Martin Christ, Niemcy) przez 48 h (suszenie właściwe – 40 h i dosuszanie – 8 h). Temperatura półek, na których umieszczano zamrożony surowiec w trakcie suszenia właściwego wynosiła $15\text{ }^{\circ}\text{C}$, natomiast podczas dosuszania – $25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Suszenie właściwe przebiegało pod ciśnieniem równym 10 Pa, natomiast dosuszanie odbywało się bez kontroli ciśnienia. Susz mielono w młynku MF 10 Basic (IKA®-Werke GmbH & Co. KG, Niemcy) do proszku o maksymalnej średnicy ziaren równej 2 mm, a następnie przechowywano we fiolkach w atmosferze gazowego azotu w temp. $-85\text{ }^{\circ}\text{C}$. Zawartość suchej masy w liofilizatach oznaczano metodą wagową zgodnie z normą PN-EN 12145 [19].

Ekstrakcja antocyjanów

Do ekstrakcji antocyjanów zastosowano następujące roztwory: wodę zakwaszoną kwasem octowym (0,75 % w/w), wodę zakwaszoną kwasem solnym (0,75 % w/w), metanol/wodę/kwas octowy (40 : 60 : 0,5 v/v/v), aceton/woda/kwas octowy (70 : 29,5 : 0,5 v/v/v).

Ekstrakcję prowadzono wielostopniowo w temp. $20\text{ }^{\circ}\text{C}$. W probówce wirówkowej umieszczano 1 g zmielonego liofilizatu aronii, czarnej porzeczki lub czarnego bzu oraz 10 ml roztworu ekstrakcyjnego. W trakcie trwającego 15 min pierwszego stopnia ekstrakcji zawartość próbki poddawano działaniu ultradźwięków przez 5 min w łaźni ultradźwiękowej (Sonic 6, Polsonic Sp. z o.o., Polska) oraz pięciokrotnie wytrząsano przy użyciu wytrząsarki wortex przez 30 s. Następnie zawartość próbki wirowano ($3500\times\text{g}$, 10 min).

W czasie ekstrakcji antocyjanów z czarnej marchwi, 1 g suszu zawieszano w 20 ml roztworu ekstrakcyjnego. Procedura pierwszego stopnia ekstrakcji była identyczna z zastosowaną do badanych owoców. Separację osadu od ekstraktu wykonywano w próżniowym filtrze siatkowym własnej konstrukcji. Czas trwania ekstrakcji pierwszego stopnia wynosił 17 min. Dodatkowo po ekstrakcji roztworem zawierającym aceton/wodę/kwas octowy wykonywano płukanie ekstraktu chloroformem w celu usunięcia związków lipofilnych. Do ekstraktu dodawano chloroform (1 : 2 v/v), a uzyskaną mieszaninę intensywnie mieszano przez 2 min. Po separacji faz ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$, 12 h) zbierano górną fazę wodną.

Uzyskane ekstrakty przenoszono do nowej próbki, natomiast do osadu otrzymanego po pierwszym stopniu ekstrakcji dodawano kolejną, świeżą porcję roztworu ekstrakcyjnego. Ekstrakcja w kolejnych stopniach, których było 8, przebiegała w taki sam sposób jak w stopniu pierwszym. Ekstrakty przechowywano w temp. $-86\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Analiza fizykochemiczna ekstraktów

Oznaczanie zawartości związków fenolowych ogółem wykonywano z użyciem odczynnika Folina-Ciocalteu'a, według Fang i wsp. [7]. Zawartość związków fenolowych w ekstrakcie wyrażano jako równoważnik kwasu chlorogenowego w przeliczeniu na gram suchej masy ekstrahowanego materiału roślinnego (mg CAE/g s.m.).

Całkowitą zawartość antocyjanów w ekstraktach z owoców oznaczano spektrofotometryczną metodą różnicową według Fuleki i Francis [8], natomiast zawartość antocyjanów w ekstraktach z czarnej marchwi oznaczano za pomocą procedury opracowanej przez Kidonia i Czapskiego [15].

Właściwości przeciwutleniające mierzono jako efektywność wygaszania stabilnego kationorodnika ABTS^{•+} według Re i wsp. [23]. Stężenie wygaszonego ABTS przeliczano na równoważniki Troloxu.

Właściwości redukujące ekstraktów określano metodą FRAP, opisaną przez Benzie i Strain [2]. Miarą zdolności redukujących był równoważnik Troloxu.

Modelowanie kinetyki ekstrakcji

Do analizy kinetyki ekstrakcji związków fenolowych i barwników antocyjanowych zastosowano równanie [3]:

$$E = E_0 + \frac{t}{K_1 + K_2 \cdot t}$$

gdzie:

E – zawartość związków fenolowych lub antocyjanów [mg/g s.m.] w czasie t [min],

E_0 – początkowa zawartość związków fenolowych lub antocyjanów [mg/g s.m.] wyznaczona w $t = t_0$,

K_1 – stała szybkości [min. g s.m./mg],

K_2 – stała określająca pojemność układu [g s.m./mg].

Parametry równania obliczano w module Solver programu Microsoft Excel. Wyznaczano je, obliczając minimum funkcji straty stanowiącej kwadrat różnicy pomiędzy wartością obserwowaną i przewidywaną. Warunkiem ograniczającym były nieujemne wartości estymowanych parametrów. Na podstawie wielkości stałej K_1 obliczano szybkość ekstrakcji B_0 [mg/min. g s.m.] w fazie początkowej ($t = t_0$):

$$B_0 = \frac{1}{K_1}$$

Wyznaczano także maksymalną teoretyczną zawartość związków fenolowych lub antocyjanów E_m [mg/g s.m.]:

$$E_m = E_0 + \frac{1}{K_2}$$

Analiza statystyczna

W celu oceny związku pomiędzy parametrami równań modelowych opisujących ekstrakcję polifenoli i antocyjanów wyznaczono współczynniki korelacji liniowej Pearsona. Wyniki przedstawiające zawartość antocyjanów i polifenoli w ekstraktach analizowano za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji oraz testu wielokrotnych porównań post-hoc Tukeya. Analizy statystyczne wykonano w programie Statistica 12.0 PL ($p = 0,05$).

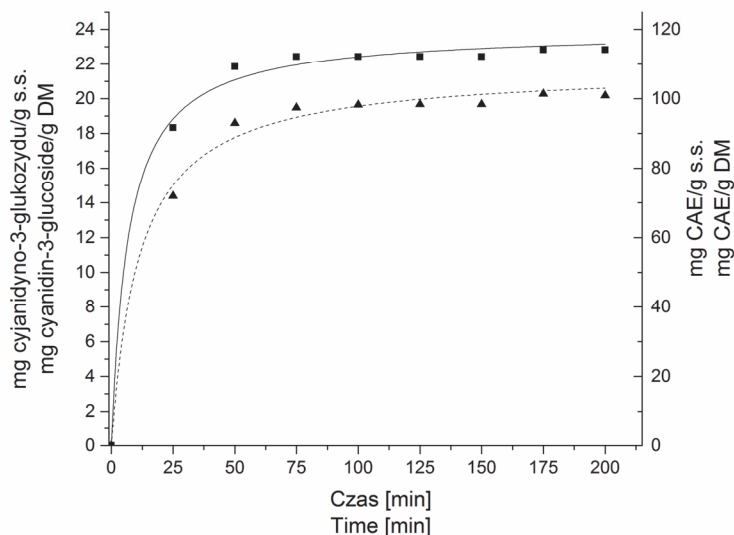
Wyniki i dyskusja

Kinetyki ekstrakcji

W niniejszej pracy do matematycznego opisu kinetyki procesu zastosowano model Pelega [3]. Na jego podstawie wyznaczono szybkość ekstrakcji B_0 w fazie początkowej procesu oraz maksymalną zawartość związków fenolowych lub antocyjanów w ekstrakcie E_m , odpowiadającą stężeniu równowagowemu. Przykładowe dane dotyczące kinetyki ekstrakcji wspomnianych wyżej związków przedstawiono na rys. 1. Zawartość suchej masy w liofilizatach aronii, czarnego bzu, czarnej porzeczki i czarnej marchwi, które następnie poddano ekstrakcji, średnio wynosiła odpowiednio [%]: 88, 90, 89 i 88.

Krzywa ekstrakcji miała przebieg nieliniowy. Największą szybkość ekstrakcji obserwowano w pierwszych 25 min, co wynikało z dużej różnicy stężeń. W kolejnych 25 min szybkość ekstrakcji znacznie malała na skutek zmniejszenia się różnicy stężenia ekstrahowanych substancji pomiędzy ekstrahentem a materiałem poddanym ekstrakcji.

Po 75 minutach ekstrakcji układ osiągał stan zbliżony do równowagowego, co oznacza, że podczas kolejnych wymian rozpuszczalnika stężenie badanych substancji w ekstrakcie zmieniało się w niewielkim zakresie. Parametry równań modelowych oraz współczynniki dopasowania (R^2) modelu opisującego kinetykę ekstrakcji do danych doświadczalnych przedstawiono w tab. 1. i 2. Obliczone współczynniki dowodzą, że w przypadku wszystkich badanych surowców największą szybkością ekstrakcji barwników antocyjanowych w początkowej fazie procesu cechował się układ, w którym ekstrahentem był wodny roztwór metanolu z dodatkiem kwasu octowego. Największą szybkością odznaczała się ekstrakcja owoców aronii ($B_0 = 3,717$ mg/min g s.m). Mniejszą szybkość ekstrakcji antocyjanów uzyskano przy użyciu wodnych roztworów acetonu i kwasu solnego. Wielkości otrzymane w obrębie tych dwóch



Objaśnienia: / Explanatory notes:

Dane doświadczalne: ■ - mg cyjanidyno-3-glukozydu/g s.m./ mg cyanidin-3-glucoside/g DM; ▲ - mg CAE/g s.m./ mgCAE/g DM

Linie / lines – model ekstrakcji /extraction model.

Rys. 1. Kinetyka ekstrakcji antocyjanów oraz polifenoli ogółem z owoców czarnego bzu za pomocą metanolu/wody/kwasu octowego (40 : 60 : 0,5 v/v/v)

Fig. 1. Extraction kinetics of anthocyanins and total phenolics from fruits of elderberry using methanol/water/acetic acid (40 :60 : 0.5 v/v/v)

rozpuszczalników były porównywalne dla większości badanych surowców. Z najmniejszą szybkością przebiegała ekstrakcja wodnym roztworem kwasu octowego. Szczególnie wyraźne różnice zaobserwowano w przypadku aronii ($B_0 = 0,52$ mg/min g s.m.) – szybkość ekstrakcji za pomocą wodnego roztworu kwasu octowego była ponad siedmiokrotnie mniejsza od szybkości osiągniętej przy zastosowaniu wodnego roztworu metanolu z dodatkiem kwasu octowego. Maksymalne teoretyczne zawartości antocyjanów w ekstrakcie E_m , odpowiadające stężeniu równowagowemu (czas ekstrakcji, $t \rightarrow \infty$) uzyskane podczas ekstrakcji wodnym roztworem kwasu octowego były w większości przypadków porównywalne do tych, jakie uzyskano podczas ekstrakcji wodnym roztworem metanolu z dodatkiem kwasu octowego. Eliminacja metanolu, który charakteryzuje się bardzo wysoką toksycznością, jest korzystna ze względów bezpieczeństwa produktu, a jego ewentualne pozostałości zwykle usuwa się za pomocą destylacji, co dodatkowo zwiększa koszty procesu. Przedstawione dane są zgodne z danymi literaturowymi [1, 14, 27]. Różnice w kinetyce ekstrakcji można wyjaśnić różną polarnością stosowanych rozpuszczalników. Jak podaje Snyder [25], najwyższym wskaźnikiem

polarności charakteryzuje się woda, następnie metanol, aceton i kwas octowy. Antocyjany, ze względu na obecność w cząsteczce grup hydroksylowych, karboksylowych oraz metoksyloowych, związanych z pierścieniem aromatycznym, zaliczane są do grupy związków polarnych, stąd znacznie lepiej rozpuszczają się w rozpuszczalnikach polarnych aniżeli w niepolarnych [11].

Znacznie większe różnice pomiędzy badanymi surowcami stwierdzono w odniesieniu do kinetyki ekstrakcji związków fenolowych. Największą szybkością ekstrakcji owoców aronii i czarnej porzeczki charakteryzowały się układy, w których zastosowano aceton – wartość liczbowa współczynnika B_0 wynosiła odpowiednio: 53,17 oraz 12,47 mg/min. g s.m. Szybkość ekstrakcji korzenia czarnej marchwi z zastosowaniem kwasu octowego ($B_0 = 4,06$ mg/min. g s.m.) była około dwukrotnie wyższa aniżeli z zastosowaniem kwaśnego roztworu metanolu ($B_0 = 2,31$ mg/min. g s.m.) czy acetonu ($B_0 = 2,16$ mg/min. g s.m.). Zdecydowanie inaczej przebiegała kinetyka ekstrakcji związków fenolowych z owoców czarnego bzu. Najskuteczniejszym ekstrahentem zarówno pod względem szybkości ekstrakcji (B_0), jak i maksymalnej zawartości związków fenolowych w ekstrakcie (E_m) był wodny roztwór kwasu solnego. Ponadto, podobnie jak w pracy Piljac-Zegarac i wsp. [18], nie było zasadniczo statystycznie istotnej ($p > 0,05$) korelacji pomiędzy współczynnikami określającymi kinetykę ekstrakcji związków polifenolowych i antocyjanów. Występowanie statystycznie istotnej korelacji stwierdzono jedynie w przypadku współczynnika K_1 wyznaczonego dla ekstrakcji antocyjanów i polifenoli z owoców aronii ($r = 0,95$, $p = 0,042$) i czarnej porzeczki ($r = 0,96$, $p = 0,034$). Warto zauważyć, że każdy z badanych surowców zaliczany jest do innej rodziny: aronia do różowatych, czarna bez do piżmaczkowatych, czarna porzeczka do agrestowatych, a czarna marchew do selerowatych. Zróżnicowane pochodzenie botaniczne oraz warunki wzrostu mogą być przyczyną znacznych różnic w obrębie składu chemicznego poszczególnych surowców, co w istotny sposób będzie wpływało na przebieg ekstrakcji oraz wyniki analiz chemicznych. Według Escarpa i Gonzales [6], odczynnik Folina-Ciocalteu'a charakteryzuje się niską selektywnością, która wynika z jego reaktywności także z innymi substancjami redukującymi znajdującym się w owocach (cukry, karotenoidy, aminokwasy, witamina C). Poszczególne ekstrakty, w zależności od zastosowanego surowca oraz rozpuszczalnika, mogą różnić się pod względem zawartości substancji reagujących z odczynnikiem Folina-Ciocalteu'a, co przekłada się na wspomniany wyżej brak wyraźnej korelacji pomiędzy kinetyką ekstrakcji związków polifenolowych i antocyjanów.

Tabela 1. Współczynniki równania modelowego opisującego kinetykę ekstrakcji antocyjanów i polifenoli z owoców aronii i czarnego bzu
 Table 1. Coefficients of model equation to describe extraction kinetics of anthocyanins and total phenolics from fruits of chokeberry and elderberry

Surowiec Material	Ekstrahent Extractant	Parametry ekstrakcji antocyjanów Extraction parameters of anthocyanins				Parametry ekstrakcji polifenoli Extraction parameters of total phenolics					
		K_1	K_2	B_0	E_m	R^2	K_1	K_2	B_0	E_m	R^2
Aronia Chokeberry	Kwas octowy Acetic acid	1,914	0,049	0,522	20,553	0,98	0,233	0,008	4,296	123,079	0,99
	Kwas solny Hydrochloric acid	0,462	0,062	2,167	16,057	0,99	0,069	0,008	14,568	125,102	0,98
	Metanol/woda/kwas octowy Methanol/water/acetic acid	0,269	0,042	3,717	23,999	0,99	0,058	0,007	17,133	152,234	0,98
	Aceton/woda/kwas octowy Acetone/water/acetic acid	0,466	0,09	2,148	11,073	0,98	0,019	0,008	53,173	130,729	0,97
Czarny bez Elderberry	Kwas octowy Acetic acid	0,727	0,037	1,375	26,674	0,98	0,147	0,008	6,814	122,745	0,99
	Kwas solny Hydrochloric acid	0,302	0,056	3,313	17,983	0,97	0,062	0,007	16,134	142,812	0,99
	Metanol/woda/kwas octowy Methanol/water/acetic acid	0,283	0,042	3,532	23,942	0,98	0,103	0,009	9,703	108,791	0,98
	Aceton/woda/kwas octowy Acetone/water/acetic acid	0,342	0,082	2,921	12,23	0,99	0,1	0,009	10,003	107,291	0,98

Objaśnienia: / Explanatory notes:
 we wszystkich równaniach $E_0 = 0$, dlatego nie zostało ujęte w tab. 1./ in all the equations, $E_0 = 0$, thus, it was not included in Tab. 1; K_1 – stała szybkości [min g s.m./mg] / rate constant [min g DM/mg]; K_2 – stała określająca pojemność układu [g s.m./mg] / capacity constant [g DM/mg]; B_0 – szybkość ekstrakcji [mg/min g s.m.] w fazie początkowej ($t = t_0$) / extraction rate [mg/min g DM] during initial phase ($t = t_0$); E_m – maksymalna, teoretyczna zawartość związków fenolowych lub antocyjanów [mg/g s.m.] / theoretical maximum of extraction yield [mg/g DM]; R^2 – współczynnik determinacji / coefficient of determination.

Tabela 2. Współczynniki równania modelowego opisującego kinetykę ekstrakcji antocyjanów i polifenoli z owoców czarnej porzeczki i korzeni czarnej marchwi

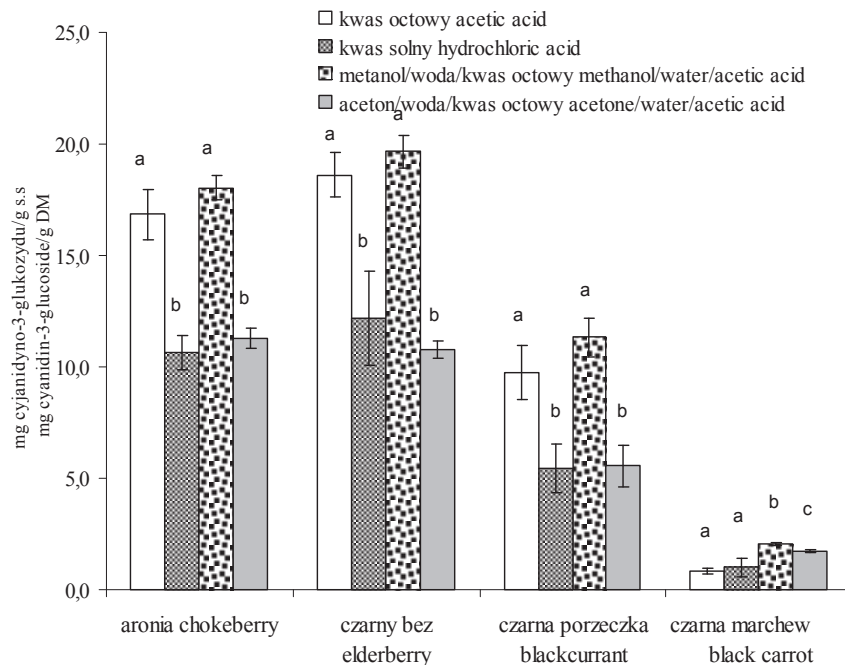
Table 2. Coefficients of model equation to describe extraction kinetics of anthocyanins and total phenolics from fruits of blackcurrant and roots of black carrot

Surowiec Material	Ekstrahent Extractant	Parametry ekstrakcji antocyjanów Extraction parameters of anthocyanins				Parametry ekstrakcji polifenoli Extraction parameters of total phenolics					
		K_1	K_2	B_0	E_m	R^2	K_1	K_2	B_0	E_m	R^2
Czarna porzeczka Blackcurrant	Kwas octowy Acetic acid	2,443	0,08	0,409	12,55	0,98	0,256	0,011	3,903	91,046	0,97
	Kwas solny Hydrochloric acid	0,706	0,109	1,416	9,17	0,98	0,088	0,01	11,342	98,794	0,98
	Metanol/woda/kwas octowy Methanol/water/acetic acid	0,511	0,077	1,958	12,957	0,97	0,109	0,011	9,177	93,998	0,98
	Acetone/woda/kwas octowy Acetone/water/acetic acid	0,747	0,159	1,338	6,282	0,96	0,08	0,011	12,473	87,301	0,96
Czarna marchew Black carrot	Kwas octowy Acetic acid	3,419	0,755	0,293	1,324	0,98	0,246	0,031	4,064	32,368	0,98
	Kwas solny Hydrochloric acid	3,985	0,532	0,251	1,88	0,97	0,669	0,062	1,496	16,192	0,97
	Metanol/woda/kwas octowy Methanol/water/acetic acid	1,876	0,371	0,533	2,694	0,99	0,433	0,059	2,311	17,005	0,98
	Acetone/woda/kwas octowy Acetone/water/acetic acid	2,523	0,612	0,396	1,634	0,99	0,461	0,073	2,169	13,674	0,99

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

Właściwości fizykochemiczne ekstraktów

Zawartości antocyjanów i polifenoli w ekstraktach po zakończeniu procesu ekstrakcji przedstawiono na rys 2. i 3. Uzyskane wielkości były zasadniczo niższe od współczynników E_m (E_m oznacza maksymalną, teoretyczną zawartość składnika, który może zostać wyekstrahowany z badanego surowca). W praktyce uzyskanie ekstraktów o zawartości składnika odpowiadającego E_m wymagałoby znacznego wydłużenia czasu procesu, ponieważ ekstrakcja w stopniu większym niż trzeci w niewielkim stopniu wpływała na stężenie ekstrahowanych substancji. Pod względem ekonomicznym uzasadnione jest zatem wcześniejsze zakończenie procesu ekstrakcji, zanim zostanie osiągnięta wielkość E_m . Po ekstrakcji wodnym roztworem kwasu octowego, w zależności od rodzaju materiału poddanego ekstrakcji, stanowiły one w odniesieniu do polifenoli i antocyjanów odpowiednio: $77 \div 87 \% E_m$ i $70 \div 82 \% E_m$. Jedynie po zakończeniu ekstrakcji korzeni czarnej marchwi rzeczywista zawartość antocyjanów w ekstrakcie była jeszcze mniejsza i równa $62 \% E_m$ maksymalnej, teoretycznej zawartości. Z kolei po ekstrakcji wodnym roztworem kwasu solnego zawartość polifenoli w ekstrakcie była równa $55 \div 78 \% E_m$, zaś zawartość antocyjanów – $54 \div 68 \% E_m$. Zawartości polifenoli i antocyjanów bardziej zbliżone do współczynników E_m uzyskano podczas ekstrakcji wodnym roztworem metanolu z dodatkiem kwasu octowego (polifenole – $73 \div 100 \% E_m$; antocyjany – $75 \div 87 \% E_m$). Największą zbieżność rzeczywistej zawartości polifenoli i antocyjanów w ekstraktach do współczynników E_m osiągnięto w trakcie ekstrakcji wodnym roztworem acetonu z dodatkiem kwasu octowego (polifenole – $82 \div 100 \% E_m$; antocyjany – $88 \div 100 \% E_m$). Niemniej zastosowanie do ekstrakcji wodnego roztworu acetonu z dodatkiem kwasu octowego spowodowało, że ilość uzyskanych antocyjanów z owoców aronii, czarnego bzu i czarnej porzeczki była znacznie mniejsza niż otrzymana w trakcie ekstrakcji wodnym roztworem kwasu octowego czy wodnym roztworem metanolu z dodatkiem kwasu octowego. Przykładowo, po ekstrakcji wodnym roztworem metanolu z dodatkiem kwasu octowego ekstrakt z owoców czarnego bzu zawierał blisko dwa razy więcej antocyjanów niż ekstrakt po ekstrakcji wodnym roztworem acetonu z dodatkiem kwasu octowego. Podobną zależność stwierdzono po ekstrakcji antocyjanów wodnym roztworem kwasu solnego z owoców aronii, czarnego bzu i czarnej porzeczki. Uzyskane wyniki wskazują, że zarówno aceton, jak i kwas solny nie są odpowiednimi rozpuszczalnikami do ekstrakcji antocyjanów z wymienionych owoców. Wniosek ten potwierdzają także wyniki eksperymentów przeprowadzonych przez innych autorów [4]. Inną zależność między rodzajem zastosowanego ekstrahenta a zawartością antocyjanów zaobserwowano w ekstraktach z korzenia czarnej marchwi. Największą zawartość antocyjanów uzyskano, gdy jako ekstrahent stosowano wodny roztwór metanolu z dodatkiem kwasu octowego, najmniejszą natomiast – gdy ekstrakcję wykonywano przy użyciu wodnych roztworów kwasu solnego i octowego.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

wyniki podano jako wartość średnia \pm odchylenie standardowe / results are expressed as mean value \pm standard deviation, $n = 3$;

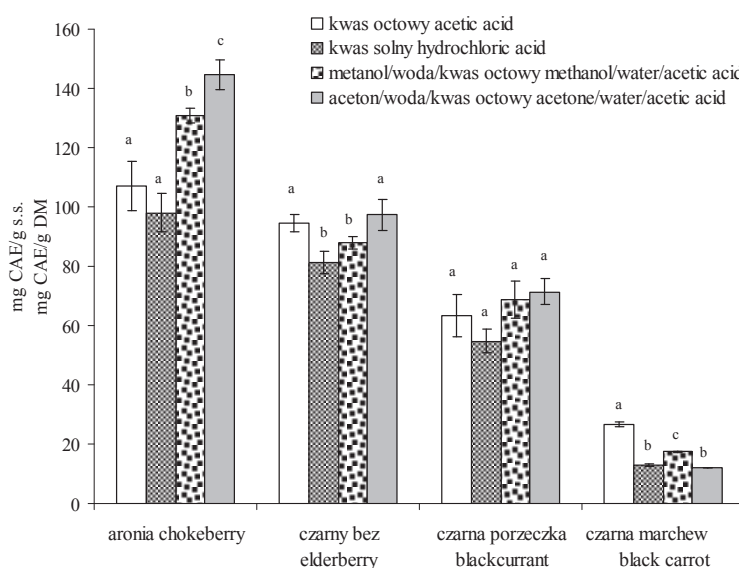
a, b, c – różne litery oznaczają występowanie statystycznie istotnych różnic ($p < 0,05$) w obrębie danego rodzaju materiału roślinnego/ different letters denote statistically significant differences at $p < 0.05$ for a specified type of plant material.

Rys. 2. Zawartość antocyjanów w badanych ekstraktach

Fig. 2. Content of anthocyanins in extracts analyzed

W zależności od rodzaju zastosowanego ekstrahenta, otrzymane ekstrakty różniły się także zawartością antocyjanów w stosunku do ogólnej zawartości związków fenolowych. Podczas ekstrakcji antocyjanów z owoców aronii, czarnego bzu i czarnej porzeczki największą selektywnością w stosunku do tych związków wyróżniały się wodne roztwory kwasu octowego i metanolu z dodatkiem kwasu octowego. W ekstraktach wodnego roztworu kwasu octowego antocyjany stanowiły $15,4 \div 19,6$ % związków fenolowych, natomiast ekstrakty wodnego roztworu metanolu z dodatkiem kwasu octowego zawierały $13,8 \div 22,3$ % antocyjanów w stosunku do ogólnej zawartości związków fenolowych. Najmniejszą selektywnością w stosunku do antocyjanów odznaczał się wodny roztwór acetonu z dodatkiem kwasu octowego. Wymywał on najmniejszą ilość antocyjanów z owoców, przy stosunkowo największym obciążeniu ekstraktu innymi związkami fenolowymi. Dlatego w tych ekstraktach antocyjany

stanowiły tylko 7,8 ÷ 11,1 % związków fenolowych. Ponownie inne tendencje dotyczyły ekstraktów z korzenia czarnej marchwi. Największą selektywność w stosunku do antocyjanów zawartych w tym surowcu wykazywały wodne roztwory acetonu i metanolu z dodatkiem kwasu octowego. Wyekstrahowane związki fenolowe zawierały 14,2 % antocyjanów w przypadku pierwszego z wymienionych rozpuszczalników oraz 11,9 %, gdy zastosowano drugi z ekstrahentów. Z kolei zawartość antocyjanów w stosunku do związków fenolowych była najmniejsza i równa 3,1 %, gdy jako rozpuszczalnik zastosowano wodny roztwór kwasu octowego.



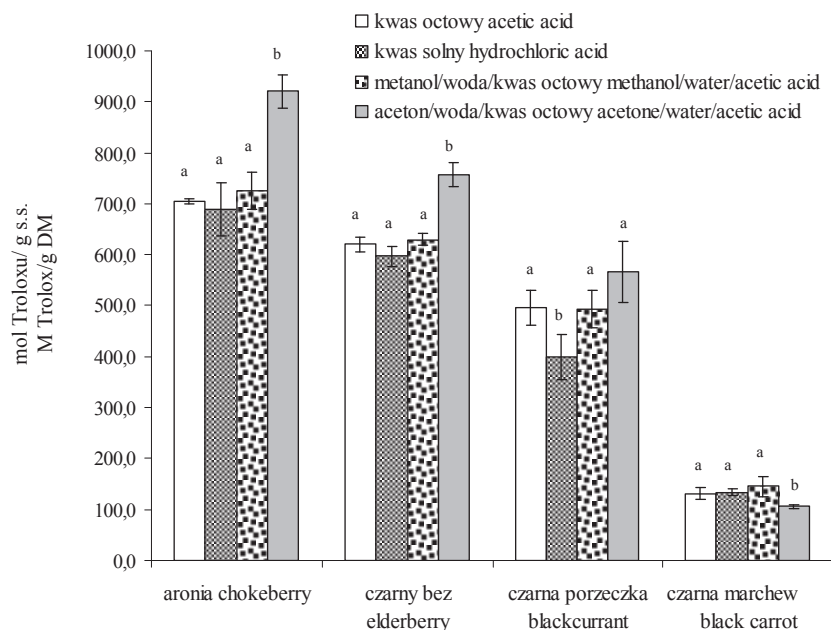
Objaśnienia jak pod rys. 2. / Explanatory notes as in Fig. 2.

Rys. 3. Zawartość polifenoli w badanych ekstraktach

Fig. 3. Content of total phenolics in extracts

Po zakończeniu ekstrakcji zmierzono także potencjał przeciwutleniający poszczególnych ekstraktów. W tym celu zastosowano dwie metody analizy właściwości przeciwutleniających: ABTS^{•+} (rys. 4) i FRAP (rys. 5). Wyniki uzyskane za pomocą metody ABTS^{•+} były znacznie większe od osiągniętych przy wykorzystaniu metody FRAP. Trudno jednak porównywać rezultaty uzyskane za pomocą obu metod, ponieważ każda z nich charakteryzuje się odmiennym mechanizmem detekcji związków przeciwutleniających. Metoda FRAP wykrywa związki, które inaktywują wolne rodniki na zasadzie transferu pojedynczego elektronu, natomiast metoda ABTS^{•+} uwzględnia także związki, które mają zdolność wygaszania wolnych rodników poprzez oddanie wodoru

[20]. Niemniej wyniki uzyskane za pomocą obu metod były ze sobą silnie skorelowane ($r = 0,92$). Najwyższym potencjałem przeciwutleniającym charakteryzowały się ekstrakty uzyskane z owoców po ekstrakcji wodnym roztworem acetonu z dodatkiem kwasu octowego. Natomiast właściwości przeciwutleniające ekstraktów z korzenia czarnej marchwi były podobne, niezależnie od rodzaju użytego ekstrahenta. Jedynie potencjał przeciwutleniający ekstraktów otrzymanych przy udziale wodnego roztworu acetonu z dodatkiem kwasu octowego był nieznacznie niższy w porównaniu z pozostałymi ekstraktami z korzenia czarnej marchwi. Potencjał przeciwutleniający ekstraktów był silniej skorelowany z zawartością związków fenolowych (metoda ABTS – $r = 0,96$; metoda FRAP – $r = 0,97$) niż z zawartością antocyjanów (metoda ABTS – $r = 0,76$; metoda FRAP – $r = 0,79$). Podobną korelację pomiędzy właściwościami przeciwutleniającymi a zawartością polifenoli zaobserwowali także Wu i wsp. [28]. Na zawartość związków fenolowych, jak i na potencjał przeciwutleniający, wpływa bardzo wiele czynników. Są one zdeterminowane nie tylko przez cechy gatunkowe, ale zależą także m.in. od sezonu wegetacyjnego, nasłonecznienia uprawy, dojrzałości zebranego materiału czy sposobu jego przechowywania po zbiorze [12, 21, 22]. Potwierdzają

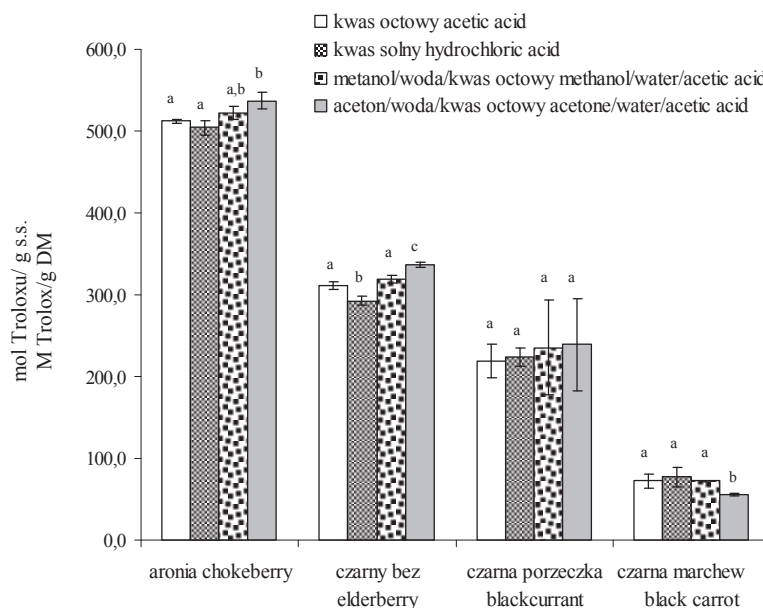


Objaśnienia jak pod rys. 2. / Explanatory notes as in Fig. 2.

Rys. 4. Właściwości przeciwutleniające badanych ekstraktów oznaczone metodą ABTS

Fig. 4. Antioxidant capacity of the extracts measured by the ABTS method

to doniesienia, w których nie stwierdzono statystycznie istotnych korelacji pomiędzy aktywnością przeciwutleniającą a zawartością związków fenolowych w ekstraktach [13].



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

Rys. 5. Właściwości przeciwutleniające badanych ekstraktów oznaczone metodą FRAP
Fig. 5. Antioxidant properties of extracts as determined by FRAP method

Wnioski

1. W procesie ekstrakcji antocyjanów z owoców aronii, czarnego bzu i czarnej porzeczki optymalnymi ekstrahentami spośród zbadanych są: wodny roztwór metanolu z dodatkiem kwasu octowego (metanol/woda/kwas octowy – 40 : 60 : 0,5 v/v/v) oraz wodny roztwór kwasu octowego (0,75 % m/m).
2. Wybrane rozpuszczalniki umożliwiają uzyskanie zbliżonej zawartości antocyjanów w ekstraktach oraz największej zawartości antocyjanów w stosunku do wszystkich związków fenolowych. Szybkość ekstrakcji za pomocą wodnego roztworu metanolu z dodatkiem kwasu octowego jest znacznie większa. Jednak metanol charakteryzuje się bardzo wysoką toksycznością, a jego usuwanie jest kosztowne. Dlatego w praktyce zaleca się, aby zamiast tego ekstrahenta użyć wodnego roztworu kwasu octowego.

3. W procesie ekstrakcji antocyjanów z korzenia czarnej marchwi najlepsze rezultaty, zarówno pod względem szybkości procesu, jak i zawartości antocyjanów w ekstraktach, uzyskuje się przy zastosowaniu wodnego roztworu metanolu z dodatkiem kwasu octowego (metanol/woda/kwas octowy – 40 : 60 : 0,5 v/v/v) oraz wodnego roztworu acetonu z dodatkiem kwasu octowego (aceton/woda/kwas octowy – 70 : 29,5 : 0,5 v/v/v).

Badania zrealizowano w ramach projektu NN 312 211 338 finansowanego przez MNiSW.

Literatura

- [1] Awika J.M., Rooney L.W., Waniska R.D.: Properties of 3-deoxyanthocyanins from sorghum. *J. Agric. Food Chem.*, 2004, **52**, 4388-4394.
- [2] Benzie I.F.F., Strain J.J.: The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal. Biochem.*, 1996, **239**, 70-76.
- [3] Bucic-Kojic A., Planinic M., Tomas S., Bilic M., Velic D.: Study of solid-liquid extraction kinetics of total polyphenols from grape seeds. *J. Food Eng.*, 2007, **81**, 236-242.
- [4] Castañeda-Ovando A., de Lourdes Pacheco-Hernández Ma., Páez-Hernández Ma.E., Rodríguez J.A., Galán-Vidal C.A.: Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chem.*, 2009, **113**, 859-871.
- [5] Cruz L., Mateus N., de Freitas V.: First chemical synthesis report of an anthocyanin metabolite with in vivo occurrence: cyanidin-4'-O-methyl-3-glucoside. *Tetrahedron Lett.*, 2013, **54**, 2865-2869.
- [6] Escarpa A., González M.C.: Approach to the content of total extractable phenolic compounds from different food samples by comparison of chromatographic and spectrophotometric methods. *Anal. Chim. Acta*, 2001, **427**, 119-127.
- [7] Fang Z., Zhang M., Sun Y., Sun J.: How to improve bayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.) juice color quality: effect of juice processing on bayberry anthocyanins and polyphenolics. *J. Agric. Food Chem.*, 2006, **54**, 99-106.
- [8] Fuleki T., Francis F.J.: Quantitative methods for anthocyanins. 1. Extraction of total anthocyanins and degradation index for cranberry juice. *J. Food Sci.*, 1968, **33**, 78-83.
- [9] Garcia-Viguera C., Zafrilla P., Tomas-Barberan F.A.: The use of acetone as an extraction solvent for anthocyanins from strawberry fruit. *Phytochem. Anal.*, 1998, **9**, 274-277.
- [10] Giusti M.M., Rodriguez-Saona L.E., Baggett J.R., Reed G.L., Durst R.W., Wrolstad R.E.: Anthocyanin pigment composition of red radish cultivars as potential food colorants. *J. Food Sci.*, 1998, **63**, 219-224.
- [11] Harbone J.B., Grayer R.J.: The anthocyanins. In: *The Flavonoids*. Ed. J.B. Harborne. Chapman and Hall Ltd, London 1988, pp 1-20.
- [12] Howard L.R., Clark J.R., Brownmiller C.: Antioxidant capacity and phenolic content in blueberries as affected by genotype and growing season. *J. Sci. Food Agric.*, 2003, **83**, 1238-1247.
- [13] Kahkonen M.P., Hopia A.I., Vuorela H.J., Rauha J.-P., Pihlaja K., Kujala T.S., Heinonen M.: Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47**, 3954-3962.
- [14] Kapasakalidis P.G., Rastall R.A., Gordon M.H.: Extraction of polyphenols from processed black currant (*Ribes nigrum* L.) residue. *J. Agric. Food Chem.*, 2006, **54**, 4016-4021.

- [15] Kidoń M., Czapski J.: Spektrofotometryczna różnicowa metoda oznaczania acylowanych antocyjanów na przykładzie barwników marchwi purpurowej. *Aparatura Badawcza i Dydaktyczna*, 2008, **4**, 82-86.
- [16] Oyama K., Kawaguchi S., Yoshida K., Kondo T.: Synthesis of pelargonidin 3-O-6''-O-acetyl- β -D-glucopyranoside, an acylated anthocyanin, via the corresponding kaempferol glucoside. *Tetrahedron Lett.*, 2007, **48**, 6005-6009.
- [17] Piątkowska E., Kopeć A., Leszczyńska T.: Antocyjany – charakterystyka, występowanie i oddziaływanie na organizm człowieka. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, **4 (77)**, 24-35.
- [18] Piljac-Zegarac J., Valek L., Martinez S., Belscak A.: Fluctuations in the phenolic content and antioxidant capacity of dark fruit juices in refrigerated storage. *Food Chem.*, 2009, **113**, 394-400.
- [19] PN-EN 12145:2001. Soki owocowe i warzywne. Oznaczanie całkowitej suchej substancji. Metoda grawimetryczna oznaczania ubytku masy w wyniku suszenia.
- [20] Prior R.L., Wu X., Schaich K.: Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agric. Food Chem.*, 2005, **53**, 4290-4302.
- [21] Radziejewska-Kubzdela E., Biegańska-Marecik R., Kidon M.: Applicability of vacuum impregnation to modify physico-chemical, sensory and nutritive characteristics of plant origin products – A review. *Int. J. Mol. Sci.*, 2014, **15**, 16577-16610.
- [22] Radziejewska-Kubzdela E., Biegańska-Marecik R.: A comparison of the composition and antioxidant capacity of novel beverages with an addition of red cabbage in the frozen, purée and freeze-dried forms. *LWT- Food Sci. Technol.*, 2015, **62**, 821-829.
- [23] Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C.: Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio. Med.*, 1999, **26**, 1291-1237.
- [24] Saluk-Juszczak J.: Antocyjany jako składnik żywności funkcjonalnej stosowanej w profilaktyce chorób układu krążenia. *Post. Hig. Med. Dośw.* [online], 2010, **64**, 451-458.
- [25] Snyder L.R.: Classification of the solvent properties of common liquids. *J. Chromatogr. A.*, 1974, **92**, 223-230.
- [26] Strack D., Wray V.: Anthocyanins. In: *Methods in Plant Biochemistry-Vol 1*. Eds. P.M. Dey and J.B. Harborne. Academic Press, New York 1989, pp. 325-356.
- [27] Wang Z.Y., Xu M.L., Zhu B.W.: Optimum conditions for extraction of anthocyanidin from blueberry. *J. Dalian Inst. Light Ind.*, 2007, **26**, 196-198.
- [28] Wu X., Gu L., Prior R.L., McKay S.: Characterization of anthocyanins and proanthocyanidins in some cultivars of *Ribes*, *Aronia*, and *Sambucus* and their antioxidant capacity. *J. Agric. Food Chem.*, 2004, **52**, 7846-7856.

OBTAINING ANTHOCYANINS FROM CHOKEBERRY, BLACKCURRANT AND ELDERBERRY FRUITS, AND FROM ROOTS OF BLACK CARROT USING EXTRACTION METHOD

S u m m a r y

The objective of the research study was to develop a method of extracting anthocyanins from fruits of chokeberry, elderberry and blackcurrant as well as from black carrot roots. The following solutions were used to extract anthocyanins: water acidified with acetic acid (0.75 % w/w), water acidified with hydrochloric acid (0.75 % w/w), methanol/water/acetic acid (40: 60: 0.5 v / v / v), and acetone/water/acetic acid (70: 29.5: 0.5 v / v / v). In the extracts produced, the content of phenolic compounds and anthocyanins was determined, and, on the basis thereof, the extraction kinetics was analyzed. Furthermore, the antioxidant

properties of the extracts obtained were analyzed with the use of ABTS and FRAP tests. During the process of extracting anthocyanins from fruits of chokeberry, elderberry, and blackcurrant, the aqueous methanol with acetic acid added and the aqueous solution of acetic acid appeared to be the optimal extractants, while, during the extraction of anthocyanins from black carrot roots, the best results were achieved when using the aqueous solution of methanol with acetic acid added and the aqueous solution of acetone with acetic acid added.

Key words: anthocyanins, extraction, antioxidant properties, ABTS•+, FRAP 

ELŻBIETA WSZELACZYŃSKA, JAROSŁAW POBEREŻNY,
ANNA J. KEUTGEN, MAŁGORZATA SZCZEPANEK, NATALIA IDASZEWSKA,
JULIAN BREWKA

QUALITATIVE CHANGES IN CARROT PRESERVES DEPENDING ON FOLIAR FERTILIZATION OF PLANTS WITH MAGNESIUM AND ON SELECTED TECHNOLOGICAL PROCESSES

Summary

Carrots cultivated in Poland are either sold as fresh vegetables or preserved. The quality of processed products does not depend only on the properly implemented technological process, but, also on the biological value of the initial raw material.

The objective of the research study was to determine the impact of foliar fertilization of plants with a 3 % solution of magnesium amounting to: 0, 45, and 90 kg of MgO ha⁻¹ on the quality of roots of five carrot cultivars ('Berio', 'Flacoro', 'Karotan', 'Koral', and 'Perfekcja'). Moreover, the effect of processing operations of carrot roots was determined as regards the quality of frozen and dried products as well as the quality of preserves in jars.

The highest amounts of total carotenoids and vitamin C were found in the products produced from storage roots of carrot cultivated on small fields that were fertilized with a magnesium dose of 90 kg ha⁻¹. Irrespective of the applied processing operation, there were reported losses of carotenoids: 36.1 %, of vitamin C: 59.2 %, and of magnesium: 23.3 %. Under the freezing and preserving processes, the losses of carotenoids and vitamin C were the lowest, whereas under the drying process, the losses of those two components were the highest. The levels of those losses were, respectively: 28.6 and 23.6 % in the frozen products; 27.7 and 64.4 % in the preserves, and 51.9 and 89.6 % in the dried products. As for magnesium, the losses reported were quite different to those of the two previous compounds: the highest losses of 52.3 % occurred under the preservation process, whereas the lowest of 0.14 % under the drying process. The preserves produced from roots of carrots fertilized by the highest dose of magnesium were characterized by the highest nutritional value. Of the investigated carrot cultivars, it was found that the order of suitability for processing was 'Karotan', 'Koral', and 'Perfekcja'.

Dr inż. E. Wszelaczyńska, dr inż. J. Pobereżny, mgr inż. J. Brewka, Katedra Mikrobiologii i Technologii Żywności, dr hab. inż. M. Szczepanek, Katedra Agrotechnologii, Wydz. Rolnictwa i Biotechnologii, Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy w Bydgoszczy, ul. Kordeckiego 20, 85-225 Bydgoszcz, prof. dr hab. A. J. Keutgen, Department of Crop Sciences, Division of Vegetables and Ornamentals, University of Natural Resources and Life Sciences, Gregor Mendel Str. 33, 1180 Vienna, Austria, mgr inż. N. Idaszewska, Instytut Maszyn Roboczych i Pojazdów Samochodowych, Wydz. Maszyn Roboczych i Transportu, Politechnika Poznańska, ul. Piotrowo 3, 60-965 Poznań. Kontakt: wszela@utp.edu.pl

Key words: carrot, plant nutrition, magnesium, freezing, drying, preservation in jars, carotenoids, ascorbic acid

Introduction

As a result of economical, social, and cultural processes in modern societies, consumer needs change dynamically and generate the demand for convenient, safe, and readily accessible food that enables easy preparation of meals [2, 6, 12, 23, 26, 38, 39]. Carrot, because of its constituents, is a plant of high nutritional value [11, 12, 18, 21, 33]. Thus, the demand for fresh carrots is high. In addition, the processing industry, where carrot is a very important raw material, applies high quantities of carrot. About 20 % of the total yield of carrots are industrially processed; therefore, this product is and will be one of the most important crops for food manufacturing purposes [7, 12, 21]. The processing of carrots comprises such technologies as freezing, preserving in jars, drying, and making juice. The quality of end-products also depends on whether or not the technological processes applied are appropriately performed [16]. The content of organic and mineral compounds, described as biological value [7, 21, 32, 33], determines, to a large extent, whether or not carrot roots are or are not suitable for processing. It is well known that the basic nutritional elements (N, P, K) contained in the roots of carrots decide the value thereof [30]. Moreover, the carrot requires soil rich in magnesium, because a yield of 100 t of carrots extracts 21 kg of magnesium from the soil, and 15 kg accounts for a marketable root yield [28]. Magnesium is involved in the metabolism of carbohydrates and in protein synthesis. It activates enzymatic reactions and represents a main component of chlorophyll. Therefore, research studies were conducted in order to determine the quality of products frozen, dried and preserved in jars, and produced from five carrot cultivars fertilized by foliar feeding with magnesium sulphate during the growing season.

Material and methods

The investigation material used in the research study came from 3-year lasting field experiments conducted at the Experimental Station in Mochełek, Faculty of Agriculture and Biotechnology of University of Science and Technology in Bydgoszcz. Those field experiments were carried out on a light sandy soil with a low content of magnesium, using a split-plot system, with three replicates. The experiments comprised the following factors: five cultivars ('Berio', 'Flacoro', 'Karotan', 'Koral', 'Perfekcja') and three magnesium doses (0, 45, and 90 kg MgO ha⁻¹) in the form of magnesium sulphate ('EPSO Top' include 16 % of MgO) and applied to the leaves at a concentration of 3 % during the phase of intensive plant growth. The basic needs of plants were covered by fertilizing the fields with 70 kg N ha⁻¹, 80 kg P₂O₅ ha⁻¹ and

100 kg K₂O ha⁻¹ before planting. Agrotechnical treatments of plant protection against diseases and pests were performed in accordance with the needs of the carrot: the seeds were treated with Funaben T seed dressing, in every experiment year, and, as a pre-emergence herbicide, Stomp 330 EC was applied.

The carrots used for the preservation in jars and for freezing were cut into cubes 1cmx1cmx1cm, whereas the carrots for drying were sliced into 0.4 cm thick pieces. After cutting, the carrots were blanched at a temperature of 95 °C during 3 minutes and immediately thereafter they were cooled down in water. The carrot preserves in jars were prepared according to the official Polish Standards PN-A-77807:1997/Az1:2004. Hot 'Twist' jars were filled to ¾ of their volume with the previously prepared carrot cubes. A salt solution (2 g NaCl per 1 litre of water) was added to the carrot cubes in the jars. The jars were sealed and pasteurized twice at preset temperatures ranging from 85 to 95 °C for 30 min on two consecutive days. After the jars with carrots were cooled, they were stored in a dark, cool, and dry place. The products that has to be frozen were processed in a freezer (Whirlpool, CO405W with an electronic control system of a range between -1 and -30 °C) at a temperature between -22 and -24 °C. The drying process was conducted at a temperature of 60 °C (for 24 h); then, for 1 hr at 105 °C in a laboratory oven (WAMED, model SUP – 100, Poland) with an artificial air circulation. The dry matter was determined by weighing acc. to PN-EN 12145:2001. The ruling principle is that a sample is dried to a constant weight under certain pressure and temperature conditions and a percentage of the dry residue of the sample before drying is calculated. After carrot preservation, total carotenoids, ascorbic acid, and magnesium contents were determined, where total carotenoids and β-carotene were evaluated spectrophotometrically after PN-EN 12136:2000, ascorbic acid levels were measured spectrophotometrically after PN-A-04019:1998 (Shimadzu UV-1800, UV Spectrophotometer System, Japan), by the method, in which 2,6-dichlorophenolindophenol dye is reduced by ascorbic acid. The magnesium content was measured by atom absorption spectroscopy. The analyses were performed on material in three replications. The material was washed in a tap and in the distilled water, and, then, ground down. Next, it was dried until a constant weight was reached; initially at 60 °C, and then 105 °C. Dried potatoes (1.0 g of a sample) were ground and a mixture of H₂SO₄ (10 ml) and H₂O₂ (1 ml) was added. Then, the plant material was mineralised in a laboratory oven in a Digest Automat K-438 with an auto-Sampler K371 (Büchi, Switzerland) and, also, during one cycle (2 h). Following the filtration, the content of magnesium was determined using an AAS AA240FS Fast Sequential Atomic Absorption Spectrometer, manufactured by Varian (USA). The contents of magnesium are expressed as g kg⁻¹ of dry matter.

A daily consumption rate of the bioactive compounds investigated was evaluated based on the assumed consumption rate of carrot products that equalled 55 g per capita

(acc. To GUS 2001-2011). The results calculated were compared with the RDA amounts (RDA = Recommended Dietary Allowances). The vitamin A amounts were calculated by converting 18 mg of total carotenoids into 1 mg of retinol; those amounts were presented as retinol equivalents (RE).

The results from three experimental years were statistically analyzed using relevant tests to check the normal distribution of data and the homogeneity of their variances. Then, the resulting mean values were compared using a Two-Way ANOVA at a significance level of 0.05. The significant differences were identified by Tukey tests.

Results and discussion

Table 1 contains results that refer to the total carotenoids in frozen and dried products as well as to the preserves in jars, all of them produced from the five cultivars as indicated above. The highest significant content of carotenoids was reported in the 'Perfekcja' and 'Karotan' cultivars, whereas the lowest in the 'Flacoro' cultivar. Irrespective of the cultivars, the highest content of carotenoids was found in the carrots preserved in jars (mean value: 86.80 mg kg⁻¹ of the product). Domaradzki et al. [7], while investigating the content of β-carotene in preserved carrot products, found higher amounts compared to the present results, viz. 198.9 mg kg⁻¹ for carrots preserves in jars produced by "Bonduelle" Co. and 154.3 mg kg⁻¹ for the carrots preserves in jars produced by "Jamar" Co. The above mentioned authors evaluated products from different markets; they had no information on the type of cultivars, the cultivation methods, and the processing technology. Wachowicz and Czarniecka-Skubina [33] reported that the amount of total carotenoids in carrot after cooking was at a level up to 127 – 136.6 mg kg⁻¹ of the product. However, the investigations by Marx et al. [20] and by Chen et al. [5] showed the contents of carotenoids in pasteurized carrots between 52.7 and 134.2 mg kg⁻¹. Obviously, the differences between the results of the authors of this paper and those of others depend on the kind of carrot preserves, cultivar, and storage time.

In the above described experiments, the content of carotenoids in the frozen products was comparable to those in the thermally treated preserves and its level was 86.07 mg kg⁻¹ on average. The highest concentration thereof was found in the frozen 'Perfekcja' and 'Karotan' carrots. This is possible because those two cultivars were characterized by a more intense colour compared to other cvs – a proof of a higher content of the carotenoids, which are, among other things, responsible for the colour of the carrot roots. Platta and Kolenda [24] performed an organoleptic evaluation of frozen carrots and they found statistically significant correlations between the cultivar and the visual appearance (especially colour). Frozen products made from 'Napa F₁' cv. were higher rated than those from 'Nerrac F₁' cv. Under the present research study, the 'Napa F₁' cv. was also higher rated (higher acceptance). Thus, it can be concluded that

the differences between those two cultivars were caused by differences in the content of carotenoids therein.

Table 1. Content of carotenoids in processed carrot [mg kg^{-1} of product weight]
Tabela 1. Zawartość karotenoidów w marchwi przetworzonej [mg kg^{-1} masy produktu]

Cultivars / Odmiany [A]	Fertilization with MgO / Nawożenie MgO kg ha^{-1} [B]			LSD / NIR $p=0,05$
	0	45	90	
Frozen products / Mrożonki				
Berjo	74,5 ± 13,8	79,7 ± 16,0	81,5 ± 18,2	A ¹ = 17,32 B ¹ = 1,71 B/A = n.s. / ins. ² A/B = n.s. / ins.
Flacoro	71,2 ± 12,1	72,9 ± 13,0	76,0 ± 12,0	
Karotan	94,0 ± 20,8	100,1 ± 21,9	103,1 ± 22,9	
Koral	75,2 ± 8,0	78,4 ± 6,2	84,1 ± 10,9	
Perfekcja	95,5 ± 20,1	101,6 ± 23,5	103,1 ± 24,5	
\bar{x}	82,1 ± 17,1	86,5 ± 19,1	89,6 ± 19,6	
Dried products / Susze				
Berjo	59,3 ± 0,6	60,3 ± 7,5	62,7 ± 11,9	A = 6,09 B = 0,56 B/A = 1,25 A/B = 6,21
Flacoro	52,6 ± 45,3	50,9 ± 44,0	49,3 ± 44,6	
Karotan	64,8 ± 48,2	62,9 ± 47,7	63,3 ± 61,1	
Koral	45,9 ± 58,2	46,2 ± 48,3	47,9 ± 66,1	
Perfekcja	66,6 ± 55,3	68,1 ± 58,5	67,3 ± 59,4	
\bar{x}	57,9 ± 93,5	57,7 ± 68,7	58,1 ± 62,3	
Preserves in jars / Konserwy w słoikach				
Berjo	78,7 ± 7,7	85,0 ± 8,0	86,7 ± 9,7	A = 12,57 B = 0,89 A/B = 12,71 B/A = 1,99
Flacoro	75,0 ± 7,0	77,3 ± 6,8	80,4 ± 5,9	
Karotan	94,0 ± 12,3	98,1 ± 13,9	101,1 ± 14,9	
Koral	79,5 ± 4,5	80,9 ± 3,4	82,5 ± 3,5	
Perfekcja	89,3 ± 13,1	96,0 ± 13,7	97,6 ± 15,1	
\bar{x}	83,3 ± 10,9	87,5 ± 12,0	89,7 ± 12,5	

Explanatory notes: / Objaśnienia:

Table 1 shows mean values from 3 experimental years ± standard deviations. / W tabeli przedstawiono wartości średnie z 3 lat badań ± odchylenia standardowe; n = 12; 1 – Tukey test / Test Tukey; LSD / NIR (p = 0,05) A (Cultivars / Odmiany), B (Fertilization with MgO / Nawożenie MgO); ² – difference among mean values is statistically insignificant (ins.) (p < 0.05) / różnica między wartościami średnimi jest statystycznie nieistotna (n.i.).

The content of β -carotene in dried products was the smallest and amounted to 57.90 mg kg^{-1} on average. Similar to the case of preserves in jars and frozen products, the highest contents of carotenoids were found in the ‘Karotan’ and ‘Perfekcja’ cultivars. Also, their fresh mass had the highest content of carotenoids. According to [10, 15, 29], carotenoids are considered to be thermostable pigments. The doses of magnesium applied while growing carrots significantly increased the contents of carotenoids in all the products investigated (Tab. 1). Where a $90 \text{ kg MgO ha}^{-1}$ dose was applied, the highest contents of carotenoids were determined in the preserves in jars and in the frozen carrots, and the smallest content – in the dried products. Compared to the combina-

tion without additional nutrition with magnesium, the increase in the content of carotenoids was, respectively: 8.3 % in the frozen products, 7.1 % in the preserves in jars, and 0.4 % in the dried carrots.

From the nutritional point of view, the content of ascorbic acid is very important for it influences antioxidative mechanisms in human body. Carrot is the main source of ascorbic acid in the diet of Polish citizens [7], after potatoes, tomatoes, and white cabbage. According to [7], depending on cultivar, the content of ascorbic acid in 1 kg of fresh mass of carrot roots is 6-10 mg [21], 5.9 mg [14], 6.0 mg [34], and 6.52-9.78 mg [19]. In addition, those authors reported, in line with Alasalvar et al. [1], that the storage roots of more colour-intensive cultivars were characterized by higher contents of ascorbic acid.

Table 2. Content of ascorbic acid in processed carrot – mean values from 3 experimental years [mg kg⁻¹ product weight]

Tabela 2. Zawartość kwasu askorbinowego w marchwi przetworzonej – średnio z 3 lat badań [mg kg⁻¹ masy produktu]

Cultivars / Odmiany [A]	Fertilization with MgO/ Nawożenie MgO kg ha ⁻¹ [B]			LSD / NIR _{p=0,05}
	0	45	90	
Frozen products / Mrożonki				
Berjo	5,85 ± 0,4	6,08 ± 0,3	6,65 ± 0,7	A ¹ = n.s. / n.i. ² B ¹ = 0,19 B/A = n.s. / n.i. A/B = n.s. / n.i.
Flacoro	6,12 ± 0,6	6,36 ± 0,8	6,85 ± 0,4	
Karotan	7,50 ± 2,1	8,29 ± 2,3	8,72 ± 2,6	
Koral	7,73 ± 2,1	8,20 ± 2,1	8,54 ± 2,2	
Perfekcja	7,72 ± 1,8	8,32 ± 2,3	8,58 ± 2,3	
\bar{x}	6,98 ± 1,6	7,45 ± 1,8	7,87 ± 1,8	
Dried products / Susze				
Berjo	0,90 ± 0,04	0,98 ± 0,08	1,10 ± 0,03	A = n.s. / n.i. B = 0,02 B/A = 0,05 A/B = 0,07
Flacoro	0,87 ± 0,03	1,01 ± 0,02	1,10 ± 0,03	
Karotan	0,96 ± 0,03	1,03 ± 0,01	1,08 ± 0,05	
Koral	0,96 ± 0,02	1,02 ± 0,01	1,06 ± 0,02	
Perfekcja	0,96 ± 0,01	1,04 ± 0,04	1,07 ± 0,01	
\bar{x}	0,93 ± 0,04	1,02 ± 0,04	1,08 ± 0,03	
Preserved in jars / Konserwy w słoikach				
Berjo	2,99 ± 0,15	3,37 ± 0,06	3,97 ± 0,50	A = 0,47 B = 0,18 B/A = n.s. / n.i. A/B = n.s./ n.i.
Flacoro	2,97 ± 0,27	3,20 ± 0,10	3,49 ± 0,09	
Karotan	2,90 ± 0,40	3,52 ± 0,12	3,85 ± 0,09	
Koral	3,49 ± 0,18	3,73 ± 0,07	4,19 ± 0,19	
Perfekcja	3,24 ± 0,27	3,36 ± 0,38	3,58 ± 0,49	
\bar{x}	3,12 ± 0,32	3,44 ± 0,24	3,82 ± 0,38	

Explanatory notes as in Tab. 1. / Objasnienia jak pod Tab. 1.

In the presented research study, the differences in the contents of ascorbic acid between the tested cultivars, processed to produce frozen or dried products, were not

found (Tab. 2). Only in the case of carrot preserves in jars, the cultivars significantly varied in their ascorbic acid content; its highest mean value equalling 3.8 mg kg^{-1} was determined in 'Koral'.

Irrespective of the cultivar, the highest content of ascorbic acid was determined in the frozen products (7.43 mg kg^{-1} , Tab. 2). These results differ from those of Polak et al. [26] who reported $2.1 \text{ mg ascorbic acid kg}^{-1}$ of the product for frozen carrots. The positive influence of magnesium nutrition on ascorbic acid content in the frozen and dried products, and in the preserves in jars was statistically significant (Tab. 2). The highest increase in ascorbic acid was found, as in the case of carotenoids, in the products from carrots supplied with the highest magnesium dose of $90 \text{ kg MgO ha}^{-1}$. Compared to the control sample, the increase was 12.7 % in the frozen products, 15.1 % in the dried products, and 22.4 % in the carrot preserves in jars. In contrast to the present results, Biesiada et al. [3] did not report any significant influence of leaf nutrition with macro- and microelements on the content of ascorbic acid in fresh carrots, although those carrots were not processed.

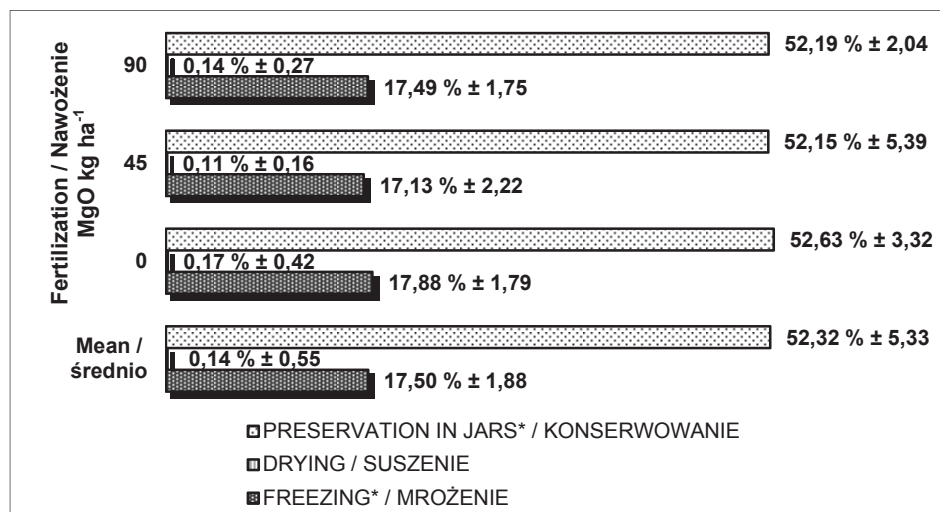
Table 3. Content of magnesium in processed carrot – mean values from 3 experimental years [g kg^{-1} of d.m.]

Tabela 3. Zawartość magnezu w marchwi przetworzonej – średnie z 3 lat badań [g kg^{-1} s.m.]

Cultivars / Odmiany [A]	Fertilization with MgO/ Nawożenie MgO kg ha^{-1} [B]			LSD / NIR $p=0,05$
	0	45	90	
Frozen products / Mrożonki				
Berjo	$1,71 \pm 0,03$	$1,81 \pm 0,18$	$1,96 \pm 0,12$	$A^1 = 0,03$ $B^1 = 0,02$ $B/A = 0,04$ $A/B = 0,05$
Flacoro	$1,50 \pm 0,10$	$1,75 \pm 0,20$	$1,87 \pm 0,04$	
Karotan	$1,51 \pm 0,01$	$1,66 \pm 0,06$	$1,96 \pm 0,09$	
Koral	$1,43 \pm 0,46$	$1,78 \pm 0,13$	$2,01 \pm 0,22$	
Perfekcja	$1,72 \pm 0,04$	$1,73 \pm 0,19$	$2,09 \pm 0,09$	
\bar{x}	$1,57 \pm 0,21$	$1,75 \pm 0,14$	$1,98 \pm 0,13$	
Dried products/ Susze				
Berjo	$0,90 \pm 0,04$	$0,98 \pm 0,08$	$1,10 \pm 0,03$	$A = 0,04$ $B = 0,03$ $B/A = 0,07$ $A/B = 0,08$
Flacoro	$0,87 \pm 0,03$	$1,01 \pm 0,02$	$1,10 \pm 0,03$	
Karotan	$0,96 \pm 0,03$	$1,03 \pm 0,01$	$1,08 \pm 0,05$	
Koral	$0,96 \pm 0,02$	$1,02 \pm 0,01$	$1,06 \pm 0,02$	
Perfekcja	$0,96 \pm 0,01$	$1,04 \pm 0,04$	$1,07 \pm 0,01$	
\bar{x}	$0,93 \pm 0,04$	$1,02 \pm 0,04$	$1,08 \pm 0,03$	
Preserves in jars / Konserwy w słoikach				
Berjo	$1,69 \pm 0,02$	$1,79 \pm 0,11$	$1,95 \pm 0,20$	$A = 0,06$ $B = 0,04$ $B/A = 0,09$ $A/B = 0,11$
Flacoro	$1,49 \pm 0,08$	$1,73 \pm 0,12$	$1,86 \pm 0,06$	
Karotan	$1,50 \pm 0,07$	$1,65 \pm 0,04$	$1,94 \pm 0,11$	
Koral	$1,41 \pm 0,24$	$1,77 \pm 0,12$	$2,00 \pm 0,23$	
Perfekcja	$1,70 \pm 0,09$	$1,72 \pm 0,16$	$2,08 \pm 0,06$	
\bar{x}	$1,56 \pm 0,14$	$1,73 \pm 0,12$	$1,97 \pm 0,16$	

Explanatory notes as in Tab. 1. / Objasnienia jak pod Tab. 1.

The analysis of variance did not show any significant differences in the content of magnesium between the investigated cultivars in each of the considered products (Tab. 3). Irrespective of the processing technology, the content of magnesium ranged from 1.68 to 1.87 g kg⁻¹ of dry matter.



LSD / NIR_{p=0,05} A (fertilization with MgO/ nawożenie MgO) – 1,10; B – (processing method / sposób przetwarzania) 1,03; A/B – 1,81; B/A – 1,78

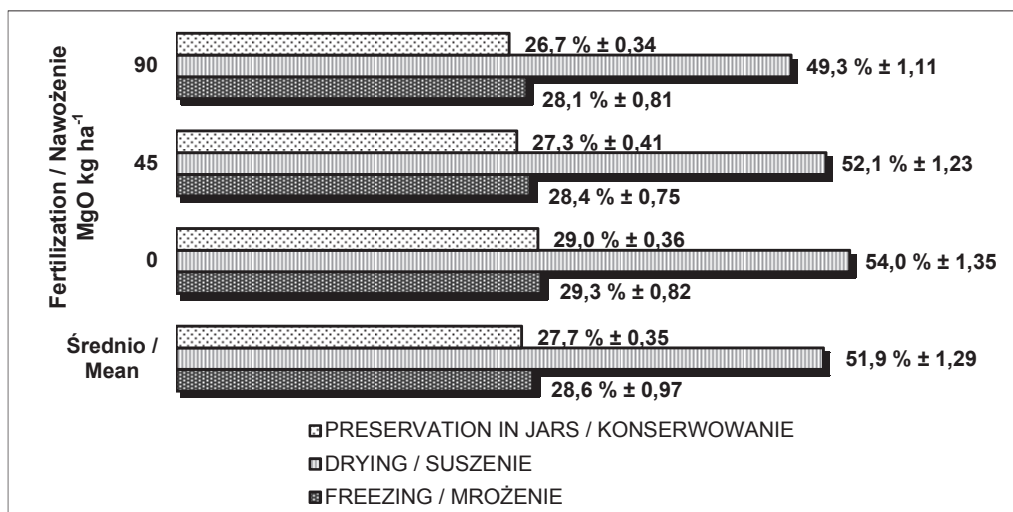
* - losses of Mg were calculated based on dry matter in processed products / wyliczono straty magnezu uwzględniając zawartość suchej masy w produktach przetworzonych

Fig. 1. Losses [%] of magnesium in storage roots of carrots depending on leaf fertilization with MgO and processing technology – mean values for individual cultivar and year of experiments

Rys. 1. Straty [%] magnezu w korzeniach spichrzowych marchwi w zależności od nawożenia MgO i technologii przetwarzania – średnio dla odmian i lata badań

For comparison, Majkowska-Gadomska and Wierzbicka [19] as well as Platta and Kolenda [25] reported, respectively, the contents of 1.0 to 1.2 and 2.8-3.2 g kg⁻¹ of dry matter in the cultivars other than the ones used here. The applied magnesium nutrition significantly influenced the content of this nutrient in the processed products, where the positive dependency was linear (Tab. 3): a higher magnesium dose resulted in a higher content of magnesium in the product. With a dose of 90 kg ha⁻¹, the concentration of magnesium in the investigated products was 1.77 g kg⁻¹ of dry matter on average.

Furthermore, the additional magnesium fertilization had no effect on the extent of Mg⁺² losses during processing (Fig. 1). As expected, the highest losses were detected in the case of carrot preservation (52.32 %) and followed by freezing of the carrots (17.50 %) and by drying them (0.14 %) owing to leaching processes.



LSD / NIR $p=0,05$ A (fertilization with MgO/ nawożenie MgO) – 10,85; B (processing method / sposób przetwarzania) – 1,18; A/B – n.s.¹ / ins.; B/A – n.s. / ins.

¹ - insignificant difference / nieistotna różnica

Fig. 2. Losses [%] of total carotenoids in storage roots of carrots depending on leaf fertilization with MgO and processing technology – mean values for individual cultivars and year of experiments

Rys. 2. Straty [%] sumy karotenoidów w korzeniach spichrzowych marchwi w zależności od nawożenia MgO i technologii przetwarzania – średnio dla odmian i lat badań

Technological operations such as peeling, washing, size reduction, cooking, blanching, or thawing may cause losses in the product compounds. In the case of drying, freezing, or preserving in jars, where other factors interact in combination with the thermal preserving process, the risk of losing chemical compounds may be significant.

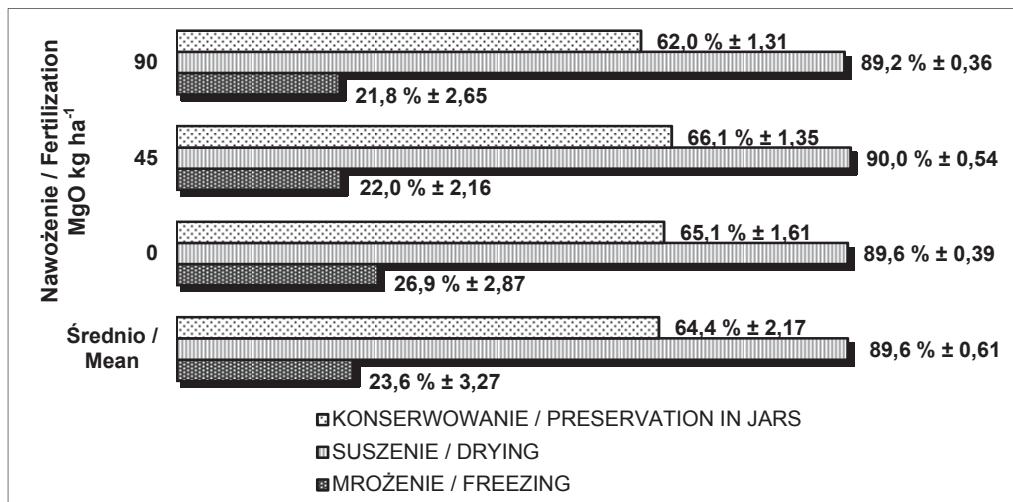
According to Buggenhout et al. [4], in all cases, the freezing stress causes the loss of quality in the frozen products. However, in comparison with other processing methods, this process is the best for maintaining the high quality of a product [9, 12, 13, 17, 26].

Only the freezing process results in small losses of carotenoids in a product. However, it is worth noting that before freezing, plant products should be pre-processed; in the case of carrots, they should be blanched. The blanching process causes the highest losses of carotenoids pigments; Fik et al. [9] report about 17 % in their investigations; Gębczyński [12]: 6 %, and Kozłowska-Wojciechowska [17]: 20 to 30 %. The results as presented under this study (Fig. 2) were in line with the cited reference literature because, irrespective of the cultivar, the losses of carotenoids were determined in the frozen products. However, with 28.6 % on average, the present losses were higher than those mentioned in the reference literature. It should be stressed that those losses were found in the frozen products, which underwent various pre-

processing operations. According to Gębczyński [12], the contents of total carotenoids and β -carotene in the frozen carrots could be very high up to the level of 37 % of total carotenoids and 24 % of β -carotene; the values indicated referred to the products stored for a period of 12 months. The above author pointed out that the nutritional value of frozen carrots is also influenced by the storage temperature. A decrease in the storage temperature by 10 °C from -20 °C to -30 °C limited the losses of the compounds investigated by 7 to 12 %. The application of magnesium fertilization did not considerably influence the losses of carotenoids in the frozen products (Fig. 2), which were 28.6 % on average. Freezing plus such processes as washing of raw materials, spraying, cooling, and blanching during pre-processing are an important cause of losses of ascorbic acid. Those losses could be explained by a high water-solubility of this vitamin and its susceptibility to oxidation. According to Kozłowska-Wojciechowska [17], the losses of ascorbic acid caused by the freezing process itself were not higher than 20 %. Gayathri et al. [11], while investigating the levels of ascorbic acid and β -carotene in vacuum and conventionally cooled carrots, did not determine significant differences in the contents of those compounds. Zhang and Sun [39] reported that water spraying applied in addition to the cooling process reduced, even more, the losses of quality compounds in carrots. However, Gołaszewska and Czarniecka-Skubina [13] stated that, as a consequence of blanching, the losses could be even 60 %. Further investigations confirmed the latter results [31]. The above authors mentioned that the losses of this vitamin in the frozen and not blanched vegetables ranged from 20 to 30 % while in the case of the blanched vegetables, they were even 50 %. Gębczyński [12], while investigating carrots subjected to blanching and cooking prior to freezing, reported the losses of ascorbic acid between 40 % and 51 %, respectively. In the present research experiment, the losses, expressed as a percentage of ascorbic acid, were smaller in the frozen products: 23.6 % on average as regards the cultivars tested (Fig. 3). The differences could be explained by the elevated temperature during thawing and microwave radiation applied by the above mentioned authors. In the investigations by Gębczyński [12], the extension of the storage time and, at the same, the reduction of the temperature to -30 °C caused the losses of ascorbic acid and carotenoids to decrease (by ca. 7 % and ca. 8 %, respectively). In the present experiment, the application of 90 kg ha⁻¹ of magnesium significantly reduced the losses of ascorbic acid in the frozen carrots (Fig. 3).

During the drying process, visual changes of carotenoids are caused by strong and long lasting oxidation [8, 35]. According to Świdorski and Waszkiewicz-Robak [31], the losses of β -carotene during the drying process may be up to 20 %. However, other authors mentioned that the losses of carotene were not higher than 50 % [27]. The same authors determined a decrease in the content of carotenoids in their experiments with the conventionally dried and freeze-dried carrots, which was ca. 50% and 5%, respectively. Witrowa-Rajchert [35] dried carrots using fluidization and a 'through the

layer' and 'along the layer' methods; she reported a decrease in the carotenoids of 56 %, 26 %, and 16 %, respectively. In the present investigation, the drying process of the carrots resulted in high losses of carotenoids; they were 51.9 % on average (Fig. 2). The additional magnesium fertilization, applied during the vegetation period, limited those losses. The dried products of carrot fertilized with the highest amount of magnesium (90 kg ha^{-1}) were characterized by the lowest losses of carotenoids (49.3 %).



LSD / NIR_{p=0.05} A (fertilization with MgO / nawożenie MgO) – 4,64; B (sposób przetwarzania / processing method) – 1,65; A/B – n.s.¹ / n.i. /; B/A – n.s. / ins.

* - insignificant difference / nieistotna różnica

Fig. 3. Losses [%] of ascorbic acid in storage roots of carrot depending on leaf fertilization with MgO and processing technology – mean values for individual cultivars and year of experiments.

Rys. 3. Straty [%] kwasu askorbinowego w korzeniach spichrzowych marchwi w zależności od nawożenia MgO i technologii przetwarzania – średnio dla odmian i lat badań.

According to Świdorski and Waszkiewicz-Robak [31], the mean losses of ascorbic acid in the dried products were about 80 %. In the present experiment, the losses were higher: 89.6 % (Fig. 2). However, the additional application of magnesium fertilization lowered them.

One of the traditional methods to extend shelf-life of raw materials is food preservation through applying cooking salt solutions and high temperature (tin or jar production). Similar to the drying process, several changes in chemical contents occur also during the thermal processing of raw materials. Carrots were preserved according to the Polish standards: PN-A-77807:1997/Az1:2004. The peeled carrots, cut or whole, were covered with a cooking salt solution and preserved by sterilization. The changes that might occur during the sterilization process are correlated with the product con-

sistency such as excessive softening, which considerably decreases the quality [13]. The authors [13] reported that the preservation process itself resulted in the decomposition of carotenoids between 2 and 4 %. In the present study, irrespective of the cultivars and fertilization level, the losses of carotenoids were 27.7% on average (Fig. 2). Those higher values were probably owing to the additionally applied blanching process. In the case of preserves in jars, the application of magnesium had no influence on the level of carotenoids during processing.

Under the present investigations, the degradation of ascorbic acid of sterilized carrots was 64.4 % on average (Fig. 3) and was in line with the reference literature [13, 22, 29]. The authors as named in [13] of the reference literature mentioned that, compared to the raw material, the losses of ascorbic acid in the preserved carrots might be up to 60%. Several authors [29, 36, 37] referred to the fact that the ascorbic acid was thermo-labile. Consequently, high temperatures used during the preservation processes (tin or jar production) caused considerable losses. Since the ascorbic acid is highly water-soluble and susceptible to oxidation, it may decompose during pre-processing operations such as washing, cutting, or blanching [13]. According to Nowacka et al. [22], the storing of the preserved products also contributes to the losses of ascorbic acid. A 90 kg MgO ha⁻¹ dose of the fertilizer applied reduced the losses compared to the products in jars produced from carrots with no leaf fertilization.

Table 4. Meeting daily nutritional needs of humans while consuming 55 g portion of carrot*: mean values for individual cultivars and year of experiments. [%]

Tabela 4. Pokrycie dziennego zapotrzebowania organizmu człowieka przy konsumpcji 55 g marchwi* – średnio dla odmian i lat badań. [%]

Dose / Dawka MgO kg ha ⁻¹	Carotenoids Karotenoidy			Ascorbic acid Kwas askorbinowy			Magnesium Magnez		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0	27,9	19,7	28,3	0,42	0,05	0,19	2,6	3,2	5,3
45	29,4	19,6	29,7	0,46	0,07	0,21	3,0	3,6	6,1
90	30,4	19,7	30,4	0,48	0,07	0,23	3,5	4,2	7,1

Explanatory notes: / Objasnienia:

* - mean consumption level of fresh and processed carrot (without juices) is 20 kg year⁻¹ per person in Poland / średnie spożycie marchwi świeżej i przetworzonej (bez soków) wynosi 20 kg rok⁻¹ przez osobę w Polsce

1 – frozen carrot / marchew mrożona; 2 – dried carrot / marchew suszona; 3 – carrot preserves in jars / marchew konserwowa; RDA (Recommended Dietary Allowances per day / Dienne zapotrzebowanie organizmu – 100 %): Vitamin A / Witamina A – 900 µg day⁻¹ / µg dzień⁻¹, (18 mg of carotenoids/ karotenoidy = 1 mg of vitamin A/ witamina A); Ascorbic acid / Kwas askorbinowy – 90 mg day⁻¹ / mg dzień⁻¹; Magnesium / Magnez – 350 mg day⁻¹ / mg dzień⁻¹.

At least 500 g of vegetables should be consumed per day in 4 to 5 portions. Carrot is the most often consumed vegetable, both fresh and processed; thus, a model estima-

tion of a daily portion of consumed carotenoids, ascorbic acids, and magnesium was performed based on the assumed 55 g intake per capita and per day (Tab. 4). Comparing the results obtained with the RDA-based standards proved that when consuming a 55 g portion of the processed carrots investigated, the daily needs for ascorbic acid and magnesium were covered by these products to a very low extent (an average of 0.25 and 4.3 %). Wszelaczyńska and Pobereźny [37] also confirmed this dependence in relation to the roots of fresh carrots. However, in the case of carotenoids, the amounts are high. When computing the transformation of total carotenoids to retinol based on the assumption that 18 mg of carotenoids yielded 1 mg of retinol equivalent (RE), the daily demand for vitamin A was covered, on average, by 29.4 %, provided that 55 g of the preserves or frozen carrots were consumed. In the case of dried carrots this value was lower and amounted to 19.7 %.

Conclusions

1. The 'Karotan', 'Koral', and 'Perfekcja' cultivars were most suitable when processing carrots to produce frozen, dried, and sterilized products.
2. The fertilization of plants with magnesium increased the content of carotenoids and ascorbic acid in fresh carrots. The same was also confirmed in the case of the processed products (frozen and dried products as well as preserves in jars).
3. The freezing process caused the lowest losses of carotenoids and ascorbic acid, whereas the drying process generated the largest losses of those compounds.
4. A dose of 90 kg MgO ha⁻¹ in the form of magnesium sulphate applied as an additional leaf fertilization during the vegetation period was confirmed to be the most appropriate for the processed products.

References

- [1] Alasalvar C., Gregor J.M., Zhang D., Quantick P.C., Shahidi F.: Comparison of Volatiles, Phenolics, Sugars, Antioxidant Vitamins, and Quality of Different Colored Carrot Varieties. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, **49**, 1410-1416.
- [2] Barrera C., Betoreln N., Fito P.: Ca²⁺ and Fe²⁺ influence on the osmotic dehydration kinetics of apple slices. *J. Food Eng.*, 2004, **65**, 9-14.
- [3] Biesiada A., Kołota E., Osińska M., Michalak K.: Effect of foliar fertilization on selected indicators of the nutritional value of carrots. *Zesz. Nauk. AR Kraków*, 2000, **364**, 53-56.
- [4] Buggenhout S., Lille M., Messagie I., Loey A., Autio K., Hendricks M.: Impact of pretreatment and freezing conditions on the microstructure of frozen carrots: Quantification and relation to texture loss. *Eur. Food Res. Technol.*, 2006, **222**, 543-553.
- [5] Chen B.H., Peng H.Y., Chen H.E.: Changes of carotenoids, color, and vitamin A contents during processing of carrot juice. *J. Agric. Food Chem.*, 1995, **43**, 1912-1918.
- [6] Czerwińska E., Zgórska K.: Quality changes of minimally processed and vacuum-packed carrot during chilling storage. *Rocznik Ochrony Środowiska*, 2011, **13 (51)**, 845-858.

- [7] Domaradzki P., Malik A., Wójcik W.: Zawartość β -karotenu i witaminy C w wybranych produktach z marchwi. *Brom. Chem. Toksykol.*, 2010, **2 (XLIII)**, 118-123.
- [8] Drance T.D., Wang J.H.: Energy consumption, density, and rehydration rate of vacuum microwave- and hot-air convection-dehydrated tomatoes. *Food Eng. Phys. Propert.*, 2002, **6 (67)**, 2212-2216.
- [9] Fik M., Macura R., Zawisłak A.: Effect of blanching and cooking frozen carrots to changes in the content of carotenoids and antioxidant properties. *Chłodnictwo*, 2008, **6 (XLIII)**, 66-70.
- [10] Gajewski M., Dąbrowska A.: Quality characteristics of carrot cultivars depending to long-term storage. Spontaneous and Induced Variation for the Genetic Improvement of Horticultural Products. (P. Nowaczyk ed.) Univ. Press Univ. Technol. Life Sci. in Bydgoszcz, 2007, ss. 95-103.
- [11] Gayathri G.N., Platel K., Prakash J., Srinivasan K.: Influence of antioxidant spices on the retention of β -carotene in vegetables during domestic cooking processes. *Food Chem.*, 2004, **1 (84)**, 35-43.
- [12] Gębczyński P.: Content of selected antioxidative compounds in raw carrot and in frozen product prepared for consumption, *EJPAU*, 2006, **3 (9)**, #03. Available Online: <http://www.ejpau.media.pl/volume9/issue3/art-03.html>
- [13] Gołaszewska B., Czarniecka-Skubina E.: Effects of technological processes on the quality of selected vegetables. *Res. Conf.: Human Nutrition – Hotelarstwo – Piekarstwo ICE*, 2000, pp. 97-100.
- [14] Holden J.M., Eldridge A.L., Beecher G.R., Buzzaed M., Bhagwat S., Davis C.S., Douglass L.W., Erhardt S., Haytowitz D., Schakel S.: Carotenoid content of U.S. foods: an update of the base. *J. Food Compos. Anal.*, 1999, **12**, 169-196.
- [15] Koca N., Karadeniz F.: Changes of bioactive compounds and anti-oxidant activity during cold storage of carrots. *Int. J. Food Sci. Tech.*, 2008, **11 (43)**, 2019-2025.
- [16] Kowalska H.: The treatment of carrots with calcium chloride during osmotic dehydration. *Inż. Roln.*, 2006, **3**, 135-141.
- [17] Kozłowska-Wojciechowska M.: Frozen - the necessary components of healthy, modern diet. *Przem. Ferment. Owoc. Warz.*, 2007, **3**, 34-35.
- [18] Krześciński W., Knaflowski M.: The effect of solar radiation on beta-carotene and other carotenoid content in carrot roots. *Folia Hort.*, 2002, **2 (14)**, 25-33.
- [19] Majkowska-Gadomska J., Wierzbicka B.: The yield and nutritive value of selected carrot cultivars with orange and purple-colored storage roots. *Acta Sci. Pol. Hort. Cult.*, 2010, **4 (9)**, 75-84.
- [20] Marx M., Schieber A., Carle R.: Quantitative determination of carotene stereoisomers in carrot juices and vitamin supplemented (ATBC) drinks. *Food Chem.*, 2000, **70**, 403-408.
- [21] Nawirska A., Król A.: Carrots – comparison of selected chemical components of four cultivars. *Przem. Ferment. Owoc. Warz.*, 2004, **1**, 25-26.
- [22] Nowacka M., Witrowa-Rajchert D., Strachota W., Sobczak E.: Changes in the content of vitamin C and carotenoids during dried carrot and potato storage. *Acta Agroph.*, 2011, **1 (17)**, 165-175.
- [23] Patras A., Brunon N., Da Pieve S., Butler F., Downey G.: Effect of thermal and pressure processing on antioxidant activity and instrumental colour tomato and carrot purées. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2009, **10**, 16-22.
- [24] Platta A., Kolenda H.: Sensory quality of selected species of frozen boiled carrots. *Brom. Chem. Toksykol.*, 2008, **3 (XLI)**, 314-318.
- [25] Platta A., Kolenda H.: The concentration of mineral compounds in selected carrot varieties. *Brom. Chem. Toksykol.*, 2009, **3 (XLI)**, 294-298.
- [26] Polak E., Ćwiertniewski K., Egierski K.: Nutritional quality of selected groups of frozen vegetables. *Przem. Spoż.*, 2004, **9**, 44-46.
- [27] Prakash S., Jha S.K., Datta N.: Performance evaluation of blanch carrots dried by three different driers. *J. Food Eng.*, 2004, **62**, 305-313.

- [28] Rosen C.J., Eliason R.: Nutrient management for commercial fruit & vegetable crops in Minnesota. Developed by the University of Minnesota Extension Service. Collage Agric., Food Environ. Sci., USA, 2005.
- [29] Singh D.P., Beloy J., McInerney J.K., Day L.: Impact of boron, calcium and genetic factors on vitamin C, carotenoids, phenolic acids, anthocyanins and antioxidant capacity of carrots (*Daucus carota*). Food Chem., 2012, **3 (132)**, 1161-1170.
- [30] Smoleń S., Sady W.: The effect of nitrogen fertilizer and foliar nutrition on the content of carotenoids, soluble sugars and phenolic compounds in carrot. Roczn. AR w Poznaniu, 2007, **CCCLXXXIII**, 619-623.
- [31] Świdorski F., Waszkiewicz-Robak B.: Bioactive components in functional foods. Przem. Spoż., 2005, **4**, 20-22.
- [32] Talcott S.T., Howard L.R., Brenes C.H.: Antioxidant changes and sensory properties of carrot puree processed with and without periderm tissue. Agric. Food Chem., 2000, **48**, 1315-1321.
- [33] Wachowicz I., Czarniecka-Skubina E.: Wpływ procesu kulinarnego na wybrane mierniki jakości marchwi i buraków. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość., 2004, **3 (40)** Suppl., 204-217.
- [34] Wierzbicka B., Kuskowska M.: The effect of some factors on the vitamin C content in vegetables. Acta Sci. Pol. Hort. Cult., 2002, **1 (2)**, 49-57.
- [35] Witrowa-Rajchert D.: Rehydration as an indicator of changes in plant tissue during drying. Inż. Chem. i Proc., 2004, **25 (3/4)**, 2051-2060.
- [36] Witrowa-Rajchert D., Radecka-Wierzbicka M.: The influence of convective drying technique on chosen dried plant tissue quality determinants. Inż. Rol., 2005, **9 (69)**, 387-393.
- [37] Wszelaczyńska E., Pobereżny J.: Effect of foliar magnesium fertilization and storage on some parameters of the nutritive value of carrot storage roots. J. Elem., 2011, **4 (16)**, 635-649.
- [38] Zawiślak K., Panasiewicz M., Grochowicz J., Sobczak P.: Technological guidelines for production of new-generation ford fancy goods. Inż. Rol., 2005, **9 (69)**, 413-418.
- [39] Zhang Z., Sun D.W.: Effect of cooling methods on the cooling efficiencies and qualities of cooked broccoli and carrot slices. J. Food Eng., 2006, **77**, 320-326.

ZMIANY JAKOŚCIOWE PRZETWORÓW Z MARCHWI W ZALEŻNOŚCI OD DOLISTNEGO NAWOŻENIA ROŚLIN MAGNEZEM ORAZ WYBRANYCH PROCESÓW TECHNOLOGICZNYCH

Streszczenie

Marchew uprawiana w Polsce przeznaczana jest do sprzedaży w postaci świeżego warzywa oraz do przetwórstwa. Jakość produktów przetworzonych zależy nie tylko od prawidłowo przeprowadzonego procesu technologicznego, ale również od wartości biologicznej surowca wyjściowego.

Celem pracy było określenie wpływu dolistnego nawożenia roślin 3-procentowym roztworem magnezu, w ilości 0, 45, 90 kg MgO ha⁻¹, na jakość korzeni pięciu odmianach marchwi ('Berio', 'Flacoro', 'Kartotan', 'Koral', 'Perfekcja'). Ponadto określono wpływ procesów przetwórczych korzeni na jakość mrożonek, suszu i konserw w słoikach.

Największą zawartość sumy karotenoidów i witaminy C uzyskano w przetworach wyprodukowanych z korzeni spichrzowych marchwi pochodzących z poletek nawożonych dawką magnezu 90 kg ha⁻¹. Niezależnie od zastosowanego procesu przetwarzania następowały straty karotenoidów średnio o 36,1 %, witaminy C – o 59,2 % a magnezu – o 23,3 %. Najmniejsze straty karotenoidów i witaminy C powodowały procesy mrożenia i konserwowania, największe – proces suszenia. Straty te wynosiły odpowiednio: 28,6 % i 23,6 % w mrożonkach, 27,7 % i 64,4 % – w konserwach oraz 51,9 % i 89,6 % – w suszu. Odwrotne

wyniki uzyskano w przypadku magnezu, którego największe straty powodował proces konserwowania – 52,3 %, a najmniejsze suszenia – 0,14 %. Największą wartością odżywczą charakteryzowały przetwory wyprodukowane z korzeni marchwi nawożonych najwyższą dawką magnezu. Z badanych odmian marchwi do przetwórstwa najbardziej przydatne okazały się kolejno: ‘Karotan’, ‘Koral’ i ‘Perfekcja’.

Słowa kluczowe: marchew, odżywianie roślin, magnez, mrożenie, suszenie, konserwowanie w słoikach, karotenoidy, kwas askorbinowy ☒

ANNA PRUSAK, MAGDALENA SZUMIŁO-KULCZYCKA, TADEUSZ SIKORA

**ŻYWNOŚĆ GENETYCZNIE ZMODYFIKOWANA (ŻYWNOŚĆ GM) –
ANALIZA PUBLIKACJI W *GAZECIE WYBORCZEJ*
W LATACH 1995 ÷ 2012**

Streszczenie

Celem pracy była analiza sposobu przedstawiania wybranych aspektów żywności genetycznie zmodyfikowanej (GM) w *Gazecie Wyborczej* (GW), uznanej za jeden z najbardziej poczytnych dzienników ogólnopolskich o charakterze opiniotwórczym. Żywność GM stanowi atrakcyjny temat przekazów medialnych ze względu na wieloaspektowość oraz kontrowersyjność wynikającą z braku społecznego konsensu w zakresie korzyści i ryzyka stosowania modyfikacji genetycznych w produkcji żywności. Większość konsumentów w Europie jest nastawiona negatywnie do modyfikacji genetycznych. Jednak przekazy medialne mają duży wpływ na opinię publiczną, dlatego istotne było poznanie formy i sposobu, w jaki jeden z najpoczytniejszych dzienników w Polsce przekazuje informacje o żywności GM. Analizy treści dokonano na podstawie 227 artykułów dotyczących żywności GM, wyselekcjonowanych z archiwum GW, opublikowanych w latach 1995 ÷ 2012. Uzyskane wyniki przedstawiono jako liczbę artykułów i odniesień dotyczących określonych zagadnień. Lista kodów odpowiadających tym zagadnieniom obejmuje następujące kategorie: 1) datę publikacji, 2) charakter tytułu (nagłówek), 3) aspekty zdrowotne, 4) aspekty środowiskowe, 5) aspekty gospodarcze. Wyniki badań przedstawiono z uwagi na liczbę artykułów i odniesień przyporządkowanych do określonych kodów. Na podstawie analizy wyników stwierdzono, że duży wpływ na częstotliwość publikacji artykułów na temat GMO miały zmiany legislacyjne, a w GW dominowały przekazy dotyczące wpływu GMO na zdrowie, w większości o charakterze pozytywnym (produkcja leków). Z kolei najwięcej negatywnych przekazów odnosiło się do aspektów środowiskowych (wpływ na inne gatunki, transfer genów).

Słowa kluczowe: media, prasa codzienna, żywność zmodyfikowana genetycznie, zagrożenia, korzyści

Wprowadzenie

Zdaniem wielu badaczy, rola mediów i dziennikarzy przekracza granicę neutralnego przekazu informacji, mając możliwość kształtowania opinii publicznej i wpływu

*Dr A. Prusak, mgr inż. M. Szumiło-Kulczycka, prof. dr hab. T. Sikora, Katedra Zarządzania Jakością, Wydz. Towaroznawstwa, Uniwersytet Ekonomiczny w Krakowie, ul. Rakowicka 27, 31-510 Kraków.
Kontakt: anna.prusak@uek.krakow.pl*

na poszczególne zachowania [21, 24]. Komunikaty medialne są tak szeroko rozpowszechniane i łatwo dostępne, że większość ludzi jest ich mimowolnym, codziennym odbiorcą [18]. Żywność genetycznie zmodyfikowana, zwana także "żywnością GM" lub "transgeniczną", stanowi atrakcyjny i ważny społecznie temat przekazów medialnych z kilku powodów [7, 13, 17, 18, 27, 28, 38]: 1) żywność i jej bezpieczeństwo mają osobiste odniesienie do każdego konsumenta, 2) brak jest społecznego konsensu w kwestii korzyści i ryzyka zastosowania biotechnologii w produkcji żywności, co czyni ją tematem społecznie kontrowersyjnym, 3) dyskurs dotyczący produkcji i sprzedaży żywności GM obejmuje szeroki zakres argumentów dotyczących m.in. zdrowia ludzi i zwierząt, rolnictwa, gospodarki, środowiska, etyki, polityki i kultury. Dowiedziono, że ludzie są bardziej podatni na przekazy negatywne (dotyczące ryzyka) niż pozytywne (dotyczące korzyści). Tendencja ta wykorzystywana jest przez środki masowego przekazu, które z większą częstotliwością publikują informacje alarmistyczne lub dotyczące negatywnych wydarzeń [10, 23, 36, 45, 46]. W literaturze opisano zjawisko społecznej amplifikacji ryzyka, które powoduje, że obawy społeczeństwa dotyczące danego tematu wynikają z dużej liczby negatywnych przekazów [14, 15]. Co więcej, już sama liczba komunikatów (niekoniecznie negatywnych) związana z określonym tematem przyciąga uwagę i może być przyczyną amplifikacji ryzyka [12]. Dlatego większość konsumentów w Europie jest nastawiona negatywnie do modyfikacji genetycznych, zwłaszcza gdy przeprowadzane są na zwierzętach [16]. Dowiedziono, że konsumenci są szczególnie przeciwni zastosowaniom biotechnologii w żywności [8, 19]. Podobne nastroje społeczne występują w Polsce [25], co wpływa na odpowiednie reakcje władz. Na przykład Rada Ministrów w II kwartale 2014 r. przyjęła projekt o zmianie ustawy *o organizmach genetycznie zmodyfikowanych oraz niektórych innych ustaw*, w celu poprawy poziomu bezpieczeństwa ludzi i środowiska.

W Polsce prowadzono badania dotyczące wpływu przekazów medialnych na kształt krajowego prawodawstwa regulującego kwestię GMO, które obejmowały również analizę profilu artykułów prasowych poświęconych tej tematyce [26].

Celem niniejszej pracy była analiza treści artykułów poświęconych zagadnieniom dotyczącym zastosowania biotechnologii w produkcji żywności (dalej: żywność GM) w codziennej prasie w Polsce.

Material i metody badań

Przedmiotem badań był sposób przedstawiania wybranych zagadnień dotyczących żywności genetycznie zmodyfikowanej w codziennej prasie drukowanej w Polsce. Jako przykład takiej prasy wybrano ogólnopolski dziennik – *Gazetę Wyborczą* (GW), który od kilku lat zajmuje dominującą pozycję pod względem wyników sprzedaży, tuż po tabloidach *Fakt* i *Super Express* [35]. Te ostatnie, mimo wysokiej poczytności, wyłączono z analizy ze względu na prowokacyjny charakter przekazów. Wybór

tylko jednego kanału przekazu informacji prasowej był podyktowany złożonością analizy artykułów prasowych, z których każdy kodowano pod względem występowania różnych kategorii zagadnień i charakteru przekazu. Badania nie miały na celu wykazania korelacji pomiędzy sposobem prezentacji żywności GM w mediach a jej społeczną percepcją, jak problem przedstawili Vilella-Vila i Costa-Font [47]. Oczywiście jest jednak, że przekazy medialne mają duży wpływ na opinię publiczną, stąd też istotna jest analiza formy i sposobu, w jaki jeden z najbardziej poczytnych dzienników w Polsce przekazuje informacje o zagrożeniach i korzyściach związanych z żywnością genetycznie zmodyfikowaną.

Podstawowymi kryteriami wyboru tego dziennika były: długi czas obecności na rynku (GW ukazuje się nieprzerwanie od 1989 r.), ogólnokrajowy zasięg, opiniotwórczy (nietabloidowy) charakter oraz wysoka poczytność wg danych Polskiego Badania Czytelnictwa [1, 2, 3]. Przedział czasowy wybranych artykułów dotyczył 18 lat (1995 ÷ 2012) i był zdeterminowany przez ich dostępność na stronie internetowej GW, w dziale Internetowe Archiwum GW. W Archiwum tym dostępne są wszystkie teksty, które ukazały się w tych latach w wydaniu drukowanym. Kryteria wstępnego doboru artykułów obejmowały listę dwudziestu słów kluczowych, wyrazów bliskoznacznych terminu żywność GM oraz bezpośrednio z nią związanych, np.: "żywność genetycznie zmodyfikowana", "żywność transgeniczna", "biotechnologia żywności". Nie używano natomiast innych słów kluczowych, związanych z żywnością GM jedynie pośrednio, jak np. „nowoczesne technologie”, „biogospodarka”. Taki dobór słów kluczowych pozwolił skoncentrować się wyłącznie na tych artykułach, w których żywność GM stanowiła wiodący temat. Wyselekcjonowano 1084 artykuły, które poddano wstępnej analizie, aby wykluczyć nieadekwatne treści i powtarzające się zazwyczaj na pierwszej stronie dziennika nagłówki tej samej publikacji. Prawie połowę z nich (515) uznano za nieprzydatne do badania ze względu na odmienną tematykę. Usunięto także te artykuły, w których „żywność GM” występowała jedynie jako pojedyncze wyrażenie. Celem badań nie była bowiem analiza frekwencji występowania hasła „żywność GM” w prasie, co wskazywałoby jedynie na skalę popularności tego problemu. W tym zakresie prowadzono już w Polsce badania obejmujące znacznie szerszy zakres przekazów medialnych [26]. Z tego samego powodu nie brano pod uwagę powtarzających się w tym samym wydaniu *Gazety* nagłówków artykułów. Do analizy treści włączono ostatecznie 227 publikacji.

Pod pojęciem „sposób przedstawiania żywności GM” autorzy rozumieją m.in. liczbę artykułów na temat żywności GM publikowanych w poszczególnych miesiącach i latach (przy czym artykuł pojawiający się w tym samym wydaniu dwa razy liczono jako pojedynczy komunikat), charakter nagłówka artykułu oraz sposób przekazu informacji dotyczących produkcji i konsumpcji żywności GM. Informacje przekazywane w artykułach prasowych pogrupowano według zagadnień następująco: zdrowie, śro-

dowisko i gospodarka, w ramach których wyodrębniono bardziej szczegółowe kategorie (tab. 1). Zostały one opracowane zarówno na podstawie literatury dotyczącej potencjalnych skutków inżynierii genetycznej, jak również na podstawie wstępnej lektury („pierwszego czytania”) wyselekcjonowanych artykułów. Kategorie te stanowią: 1) data publikacji, 2) charakter tytułu (przekaz zawarty w nagłówku, sugerujący treść artykułu, stanowiący preinterpretację danego materiału dziennikarskiego), 3) aspekty zdrowotne, 4) aspekty środowiskowe, 5) aspekty gospodarcze.

Wyróżniono trzy główne kategorie tytułów, ze względu na ich charakter: "budzący niepewność", "uspokajający" i „informujący", wraz z trzystopniową skalą stopnia intensywności (tab. 1). Treść artykułów z kolei analizowano w odniesieniu do charakteru prezentacji danego zagadnienia. Każdy z trzech aspektów poddawano szczegółowej analizie w odniesieniu do konkretnych problemów związanych z zastosowaniem inżynierii genetycznej w produkcji żywności. Każdy tekst mógł być zakodowany jednocześnie jako „+” (przedstawiono jedynie wpływ pozytywny, korzystny względem danego zagadnienia, prezentowany przede wszystkim przez zwolenników GMO), „-” (przedstawiono jedynie wpływ negatywny, zagrożenie, prezentowany przede wszystkim przez przeciwników GMO), „=” (omówiono zarówno wpływ pozytywny, jak i negatywny), oraz „1” (zawiera neutralny przekaz, bez podania wpływu) (tab. 1).

Posługując się danymi z tab. 1., przeprowadzono analizę treści wyodrębnionych publikacji. W celu uniknięcia błędów, publikacje kodowane były niezależnie przez dwóch badaczy. W trakcie analizy ocenie poddawano liczbę artykułów oraz odniesień przyporządkowanych do składowych poszczególnych kategorii. Przez „odniesienia” autorzy rozumieją fragmenty artykułów odnoszące się do danego problemu, gdyż jeden artykuł mógł zawierać jednocześnie kilka różnych odniesień. Dzięki temu można było uzyskać odpowiedzi na następujące pytania badawcze:

- kiedy opublikowano najwięcej artykułów na temat żywności GM i z czym wiązała się wzmożona intensywność ich publikacji,
- jaki był charakter tytułów tych przekazów,
- jakie informacje były najczęściej, a jakie najrzadziej zamieszczane w treści artykułów i jaki był charakter tych przekazów.

Wyniki i ich omówienie

Przedstawione poniżej wyniki oraz ich omówienie dotyczą wyłącznie badań własnych w zakresie liczby publikacji, charakteru nagłówków artykułów prasowych oraz analizy przekazów dotyczących aspektów zdrowotnych, środowiskowych i gospodarczych żywności GM. Brak jest natomiast artykułów innych autorów, do których można by się odnieść, ze względu na ich odmienną metodykę i zakres badań.

Tabela 1. Zestawienie kategorii zagadnień i sposobów kodowania

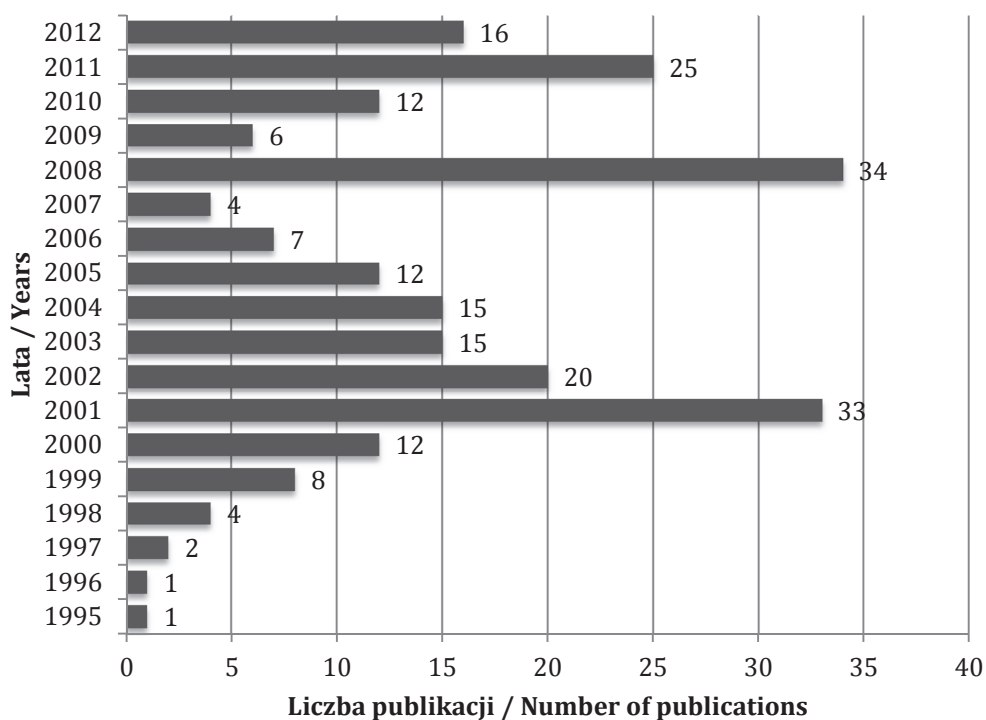
Table 1. List of categories of issues and coding methods

Kategorie zagadnień Categories of issues	Lista kodów / List of codes	Sposób kodowania Coding method
Data publikacji Date of publication	Dzień / Day Miesiąc / Month Rok / Year	1-31 1-12 1989-2012
Charakter tytułu Character of headline	Informujący / Informative Budzący niepewność / Causing uncertainty Uspokajający / Calming	„1” – w małym stopniu / a little „2” – w średnim stopniu / fairly „3” – w dużym stopniu / considerably
Aspekty zdrowotne Health aspects	Alergie / Allergies Toksyny / Toxins Środki ochrony roślin / Pesticides Mutacje / Mutations Nowotwory / Tumours Nieznane choroby / Unknown diseases Znane choroby / Known diseases Niepłodność / Infertility Antybiotyki / Antibiotics Leki / Drugs Wartość odżywcza / Nutritional value Szerszy dostęp do żywności / Wider access to food Trudność przewidzenia skutków / Difficult to predict consequences	„0” – brak przekazu na dany temat / no information on the relevant subject "+” – przekaz pozytywny / positive information "-” – przekaz negatywny / negative information "=" – zarówno pozytywny jak i negatywny / both positive and negative information „1” – przekaz neutralny / neutral information
Aspekty środowiskowe Environmental aspects	Ekosystem / Ecosystem Transfer i krzyżowanie się genów / Transfer and crossing-over of genes Środki ochrony roślin / Pesticides Inne gatunki (wyniszczenie pewnych gatunków roślin i zwierząt) / Other species (eradication of certain plant and animal species) Odporność na szkodniki / Resistance to pests Trudność przewidzenia skutków / Difficult to predict consequences Bioróżnorodność / Biodiversity	„0” – brak przekazu na dany temat / lack of information "+” – przekaz pozytywny / positive information "-” – przekaz negatywny / negative information "=" – zarówno pozytywny jak i negatywny / both positive and negative information „1” – przekaz neutralny / neutral information
Aspekty gospodarcze Economic aspects	Wydajność / Efficiency Koszty uprawy / Costs of cultivation Ceny żywności / Food prices Koszt alternatywny / Opportunity cost Zależność od koncernów / Dependence on concerns (business groups) Zagrożenie dla rolnictwa ekologicznego / Threat to organic agriculture	„0” – brak przekazu na dany temat / no information "+” – przekaz pozytywny / positive information "-” – przekaz negatywny / negative information "=" – zarówno pozytywny jak i negatywny / both positive and negative information „1” – przekaz neutralny / neutral information

Źródło: opracowanie własne / Source: authors' own study

Liczba artykułów na temat żywności GM

Liczbę artykułów dotyczących żywności GM w badanym dzienniku w poszczególnych latach, w okresie 1995 ÷ 2012, przedstawiono na rys. 1.



Rys. 1. Liczba artykułów w GW nt. żywności GM w latach 1995 ÷ 2012 (ogółem 227 artykułów)

Fig. 1. Number of publications in GW on GM food in 1995 ÷ 2012 (227 articles in total)

Źródło: opracowanie własne / Source: authors' own study

Liczby artykułów ukazujących się w poszczególnych latach były zróżnicowane. Najmniej publikacji (1 ÷ 2 artykuły) odnotowano w latach 1995 ÷ 1997. Największa liczba publikacji na temat GM ukazała się w roku 2001 – 33 artykuły oraz w 2008 – 34 artykuły a także w 2002 i w 2011 (odpowiednio: 20 i 25 artykułów). Podobne dane w odniesieniu do tych samych lat przedstawili Małyska i Twardowski [26]. Za główną przyczynę zaobserwowanego zainteresowania należy uznać zmiany prawa. W Polsce 22 czerwca 2001 r. Sejm uchwalił ustawę *o organizmach genetycznie zmodyfikowanych* [42]. Jej zakres przedmiotowy obejmował zagadnienia związane z zamkniętym użyciem GMO, zamierzonym uwalnianiem genetycznie zmodyfikowanych organizmów do środowiska, wprowadzaniem do obrotu, a także ich tranzytem i eksportem. Ustawa określiła też właściwości organów administracji rządowej. W tym samym roku uchwalono także dwie inne ustawy, będące częścią krajowego systemu bezpieczeństwa

biologicznego: ustawę *o środkach żywienia zwierząt* [41] oraz prawo *ochrony środowiska* [43]. W styczniu 2008 roku Polska została pozwana do unijnego Trybunału Sprawiedliwości za nieprzestrzeganie prawa Wspólnoty. Komisja Europejska sprzeciwiła się bowiem wprowadzeniu w Polsce zakazu obrotu materiałem siewnym oraz paszami pochodzącymi z odmian roślin GM [4]. Wcześniej rząd Stanów Zjednoczonych, w związku z niedostosowaniem prawa UE do zasad WTO, przystąpił do złożenia pozwu nakładającego na kraje członkowskie sankcje finansowe [6]. Wpłynęło to m.in. na odroczenie dnia wejścia w życie przepisów ustawy *o paszach* z dnia 22 lipca 2006 roku [44] zakazującej wytwarzania, wprowadzania do obrotu i stosowania w żywieniu zwierząt pasz genetycznie zmodyfikowanych oraz genetycznie zmodyfikowanych organizmów przeznaczonych do użytku paszowego – do 1 stycznia 2013 roku [40].

W roku 2002 ukazało się rozporządzenie Ministra Środowiska m.in. w sprawie określenia szczegółowego sposobu przeprowadzania oceny zagrożeń dla zdrowia ludzi i środowiska w związku z podjęciem działań polegających na zamkniętym użyciu GMO, zamierzonym uwolnieniu GMO do środowiska, w tym wprowadzeniu do obrotu produktów GMO, oraz wymagań, jakie powinna spełniać dokumentacja zawierająca ustalenia takiej oceny [31]. W drugim rozporządzeniu z 2002 roku [32] zamieszczono listę organizmów patogennych oraz ich klasyfikację, jak również podano środki niezbędne dla poszczególnych stopni hermetyczności. W kolejnym rozporządzeniu, z 2002 roku [33], określono wzory wniosków dotyczących zgód i zezwoleń na działania w zakresie organizmów genetycznie zmodyfikowanych, natomiast w ostatnim rozporządzeniu z tego samego roku [34] sformułowano szczegółowy sposób funkcjonowania Komisji do spraw organizmów genetycznie zmodyfikowanych. W dniu 18 lutego 2008 r. odbyło się spotkanie ministrów rolnictwa krajów członkowskich UE, na którym debatowano nad akceptacją zastosowania nowych odmian roślin GM w paszach [9]. Rozpoczęte na szczeblu unijnym rozmowy były następnie kontynuowane indywidualnie przez rządy poszczególnych państw. W Polsce 18 listopada 2008 r. Rada Ministrów przyjęła Ramowe Stanowisko RP dotyczące Organizmów Genetycznie Modyfikowanych [30], w którym wypowiedziała się negatywnie na temat wprowadzenia na rynek wspólnoty GMO w postaci żywności i pasz. W roku 2008 miały miejsce liczne wystąpienia, np. Polskiego Związku Producentów Kukurydzy, Stowarzyszenia „Koalicja na Rzecz Nowoczesnego Rolnictwa”, Polskiego Związku Producentów Roślin Zbożowych oraz happeningi, np. Międzynarodowego Szczytu Przeciwko GMO, mające na celu zachęcenie lub zniechęcenie opinii publicznej do produktów inżynierii genetycznej [20].

W 2012 roku uchwalono *ustawę o nasiennictwie* [39], wprowadzającą zakaz stosowania materiału siewnego w postaci odmian kukurydzy zmodyfikowanych genetycznie i zmodyfikowanych genetycznie ziemniaków – sadzeniaków oraz sankcje prawne wobec właścicieli nielegalnych upraw.

Nie odnotowano wzrostu liczby artykułów bezpośrednio po wprowadzeniu kluczowych wytycznych dotyczących GMO na szczeblu międzynarodowym, np. Konwencji o Różnorodności Biologicznej z Rio de Janeiro [22] (1996 r. – 1 publikacja), Protokołu Kartageńskiego [29] (2000 r. – 12 publikacji) czy unijnym, np. Dyrektywy 2009/41/KE [11] dot. powszechnego użycia GMO (6 publikacji). Świadczyć to może o tendencji do skupienia większej uwagi opinii publicznej na problematyce GM w ujęciu krajowym niż międzynarodowym.

Charakter tytułu artykułu

Nagłówek prasowy artykułu jest równie ważny, jak jego treść, gdyż przez jego pryzmat postrzegany jest dalszy tekst. Krótkie, kontrowersyjne i pobudzające ciekawość tytuły są łatwo i często zupełnie nieświadomie przyswajane przez czytelnika, tworząc podstawę jego dalszej percepcji [37]. Jeden tytuł mógł zostać zakwalifikowany do kilku kategorii jednocześnie. Na potrzeby badania nagłówków "budzący niepewność" zdefiniowano jako alarmujący, z dominacją informacji o zagrożeniach i negatywnych skutkach biotechnologii oraz wyrażający negatywny stosunek autora artykułu do żywności GM (np. „Mutanty" bardziej dozwolone”). Z kolei tytuł "uspokajający" przedstawia pozytywne strony żywności GM i ukazuje przychylny stosunek autora do tej technologii, najczęściej poprzez pozytywny wydźwięk (np. „Mówię "tak" dla GMO”). Natomiast tytuł "informujący" przedstawia fakty, ma wymowę neutralną i pozbawiony jest komentarza autora (np. „Marsz przeciw GMO w Zielonej Górze”). Przykładem tytułu zakwalifikowanego jednocześnie jako informacyjny i uspokajający jest „GMO pod nadzorem” lub „W Polsce nie będzie upraw genetycznie modyfikowanych”. Wyniki analizy tytułów przedstawiono w tab. 2.

Najwięcej, bo aż 136 tytułów określono jako "budzące niepewność", przy czym większość z nich (80) budziła niepewność w małym stopniu, a 52 – w średnim. Niewiele mniej tytułów (120) zostało zakwalifikowanych jako informujące, z tym, że prawie wszystkie były informujące jedynie w małym stopniu. Bardzo niewiele nagłówków (22) uznano natomiast za uspokajające.

Przekazy dotyczące aspektów zdrowotnych, środowiskowych i gospodarczych

Stosunkowo często problematyka GMO omawiana była w kontekście więcej niż jednego z tych aspektów i przedstawiana zarówno w ujęciu korzyści, jak i zagrożeń. Aby zapewnić czytelność oraz przeliczalność zebranych danych, analizę sporządzono na podstawie sumy przekazów (odniesień) na temat wybranych zagadnień w ogólnej liczbie publikacji (tab. 3). Należy nadmienić, że jeden artykuł w swojej treści często przedstawiał kilka różnych problemów GMO, które mogły być rozpatrywane zarówno jako korzyść, jak i zagrożenie. Ogółem największa liczba odniesień dotyczyła wpływu

Tabela 2. Charakter tytułu artykułów w GW na temat żywności GM ogółem w latach 1995 ÷ 2012

Table 2. Character of title (headline) of all the articles in GW on GM food in 1995 ÷ 2012

Rok / Year	Charakter tytułu / Character of title (headline)								
	Informujący Informative			Budzący niepewność Evoking uncertainty			Uspokajający Reassuring		
	Mały Low	Średni Me- dium	Duży High	Mały Low	Średni Me- dium	Duży High	Mały Low	Średni Me- dium	Duży High
1995	0	0	0	1	0	0	0	0	0
1996	0	0	0	0	1	0	0	0	0
1997	0	0	0	2	0	0	0	0	0
1998	3	0	0	0	2	0	0	0	0
1999	4	0	0	3	1	0	0	1	0
2000	7	1	0	4	1	0	0	2	0
2001	13	0	0	16	8	2	1	1	0
2002	13	0	0	7	4	0	0	0	0
2003	6	0	0	3	7	0	0	0	0
2004	12	0	0	5	3	0	2	1	0
2005	7	1	0	3	1	1	0	0	1
2006	4	0	0	2	2	0	0	0	0
2007	1	0	0	1	2	0	0	0	1
2008	13	2	0	13	4	0	2	1	0
2009	4	1	0	2	0	0	0	0	0
2010	8	1	0	4	3	0	1	0	0
2011	8	4	0	9	4	1	2	3	1
2012	7	0	0	5	9	0	0	1	1
Liczba analizowa- nych tytułów ze względu na stopień intensywności * Number of analysed titles (headlines) as regards their intensi- ty degree	110	10	0	79	52	4	8	10	4
Liczba ana- lizowanych tytułów ogółem* Total number of analysed titles (headlines)	120			135			22		

* W odniesieniu do ogółu artykułów (227 artykułów bez komentarzy)

* With respect to all the newspaper publications (227 articles without comments)

Źródło: opracowanie własne / Source: authors' own study

Tabela 3. Liczba odniesień dotyczących wybranych zagadnień nt. żywności GM w ogólnej liczbie artykułów w GW w latach 1995 ÷ 2012

Table 3. Number of references to selected GM food issues among total number of newspaper articles in GW in 1995 ÷ 2012

Kategorie zagadnień / Categories of issues	Łączna liczba odniesień w ogólnej liczbie artykułów Total number of references among all the articles			
	„+”	„-”	„=”	„1”
Wpływ na zdrowie / Health effect				
Trudność przewidzenia skutków Difficult to predict consequences	0	0	0	96
Szerszy dostęp do żywności / Wider access to food	34	1	4	3
Wartość odżywcza / Nutritional value	32	3	3	2
Leki / Medicines	37	0	0	0
Alergie / Allergies	4	23	1	6
Środki ochrony roślin / Pesticides	19	9	1	0
Nowotwory / Tumours	5	13	0	4
Znane choroby / Known diseases	14	4	0	4
Antybiotyki / Antibiotics	0	16	1	3
Toksyny / Toxins	4	7	1	3
Mutacje / Mutations	0	8	1	2
Niepłodność / Infertility	0	6	0	1
Nieznane choroby / Unknown diseases	1	4	0	0
Łączna liczba odniesień Total number of references	150	94	12	124
Wpływ na środowisko / Environmental effect				
Odporność na szkodniki/choroby/ klimat Resistance to pests/diseases/climate	61	0	0	9
Trudność przewidzenia skutków Difficult to predict consequences	0	0	0	48
Środki ochrony roślin / Pesticides	25	13	4	0
Inne gatunki / Other species	0	33	0	3
Transfer/krzyżowanie się genów Transfer/crossing-over of genes	0	28	0	6
Ekosystem / Ecosystems	1	20	0	3
Bioróżnorodność / Biodiversity	1	18	0	2
Łączna liczba odniesień Total number of references	88	112	4	71
Wpływ na gospodarkę / Economic effect				
Wydajność / Efficiency	54	2	0	1
Koszt alternatywny / Opportunity costs	12	36	0	1
Ceny żywności / Food prices	34	2	2	0
Wpływ na dla rolnictwo ekologiczne Impact on organic agriculture	1	24	1	3
Koszty uprawy / Costs of cultivation	22	3	2	1
Zależność od koncernów Dependence on concerns (business groups)	0	8	2	18

Łączna liczba odniesień Total number of references	123	75	7	24
Ogółem / Total				
Łączna liczba odniesień Total number of references	361		23	219
	281			

Objaśnienia: / Explanatory notes:

„+” – pozytywny przekaz / positive information; „-” – negatywny przekaz / negative information; „=” – zarówno pozytywny, jak i negatywny przekaz / both positive and negative information; „1” – neutralny przekaz / neutral information

Źródło: opracowanie własne / Source: authors' own study

żywności GM na zdrowie (380), w następnej kolejności był wpływ na środowisko (275). Tematyka gospodarcza była poruszana względnie najrzadziej (229 odniesień). W aspekcie zdrowia były to m.in. wartość odżywcza, nowotwory, toksyny, leki. W obszarze środowiska uwzględniano takie skutki, jak: odporność roślin na szkodniki, transfer genów, wpływ na inne gatunki. Z kolei w analizie aspektu gospodarczego rozważano takie skutki, jak: wydajność, ceny żywności, wpływ na rolnictwo ekologiczne i zależność producentów rolnych od dużych koncernów.

Najczęściej powtarzającym się tematem w obszarze zdrowia była trudność przewidzenia skutków związanych z konsumpcją żywności transgenicznej (96 odniesień). O połowę niższa liczba artykułów (po ok. 40) dotyczyła wypowiedzi na temat szerszego dostępu do żywności oraz jej wartości odżywczej. Najrzadziej w stosunku do ogółu publikacji (mniej niż 10 odniesień) ukazywały się treści łączące żywność transgeniczną z problemem niepłodności oraz nieznanymi chorobami. Ogółem aspekty zdrowotne miały aż 150 pozytywnych odniesień. W szczególności dotyczyły one poprawy dostępu do żywności (42), wzrostu wartości odżywczej produktów spożywczych (40) oraz zastosowania inżynierii genetycznej do produkcji leków (37 artykułów) (na 119 odniesień łącznie, 103 były pozytywne). Są to najczęściej opisywane zalety żywności GM w badanym dzienniku. Liczba odniesień o charakterze negatywnym, czyli dotyczących potencjalnych zagrożeń, była w tym zakresie dużo mniejsza (94 odniesienia). Wśród informacji o skutkach negatywnych przeważały dotyczące: alergii (23), odporności na antybiotyki (16) oraz chorób nowotworowych (13). Warto zaznaczyć, że zaledwie 12 razy przedstawiono jednocześnie obydwa stanowiska (zalety i zagrożenia) względem zdrowia, z kolei aż 124 odniesienia miały charakter neutralny.

Aspekt środowiskowy uwzględniał przede wszystkim odporność roślin na szkodniki i choroby (70 odniesień). Stosunkowo często ukazywały się także teksty nawiązujące do niepewności skutków powszechnego wprowadzenia upraw i/lub hodowli transgenicznych (48 odniesień). Z mniejszą intensywnością publikowano informacje na temat oddziaływania technologii genetycznych modyfikacji na ekosystem (24 razy) i bioróżnorodność (21 razy). Odwrotnie niż podczas przedstawiania stanowisk w zakresie oddziaływania na zdrowie, w przypadku środowiska przeważały postawy nega-

tywne (112 odniesień) nad pozytywnymi (88 odniesień). Niektóre czynniki były opisywane wyłącznie lub prawie wyłącznie, jako zagrożenia, na przykład wpływ na bioróżnorodność. Na podstawie analizy wykazano, że tylko 4 razy wśród wszystkich odniesień dotyczących aspektu środowiskowego odniesiono się zarówno do skutków pozytywnych, jak i negatywnych, a 71 zaprezentowanych odniesień miało przekaz neutralny.

Wśród ekonomicznych aspektów żywności GM najczęściej omawianym zagadnieniem było zwiększenie wydajności (o łącznej sumie 57 odniesień), przy czym w zdecydowanej większości w ujęciu pozytywnym (54 odniesienia). Negatywnie natomiast odnoszono się do potencjalnego kosztu alternatywnego, rozumianego jako koszt utraconych możliwości wynikających z braku akceptacji dla uprawy czy importu produktów inżynierii genetycznej (36 odniesień). W przypadku kwestii gospodarczych, podobnie jak w przypadku aspektu zdrowotnego, większość treści przedstawiała korzyści (123 odniesienia). W porównaniu z pozostałymi obszarami zidentyfikowano bardzo niewiele wypowiedzi neutralnych (24 odniesienia) oraz przedstawiających stanowisko zarówno przeciwników, jak i zwolenników (7 odniesień).

Głównym ograniczeniem przedstawionych badań jest fakt, że zostały one przeprowadzone na podstawie analizy tylko jednego dziennika – *Gazety Wyborczej*. Analiza ta jest jednak bardzo obszerna, obejmująca 18 lat (1995 ÷ 2012), podczas gdy przykładowe badania dotyczące podobnej tematyki przeprowadzone w Hiszpanii i Wielkiej Brytanii obejmowały jedynie 6 lat (1999 ÷ 2004) [47]. Z tego względu niemożliwe było uwzględnienie – na przyjętym poziomie szczegółowości analizy – artykułów pochodzących z innych dzienników o podobnym do GW zasięgu, ale o dużo niższej poczytności, np. z *Rzeczpospolitej*. Na uwagę zasługują także artykuły ukazujące się w prasie tabloidowej (*Super Express*, *Fakt*) – ze względu na ich wysoką poczytność oraz treści prezentowane w tygodnikach (np. *Wprost*, *Polityka*). Biorąc pod uwagę ogólne zmniejszenie czytelnictwa prasy w Polsce [5], w przyszłych badaniach warto także uwzględnić rosnącą rolę Internetu oraz telewizji jako źródeł informacji na temat GMO. Przedstawiony sposób analizy artykułów prasowych można zastosować także w badaniach innych zagadnień związanych z kwestią GMO oraz w analizie bardziej zróżnicowanych przekazów medialnych.

Wnioski

1. Intensywność przekazów na temat GMO w poszczególnych latach zwiększa się w okresach wprowadzania odpowiednich zmian w ustawodawstwie, co zawsze jest związane z publiczną dyskusją na ten temat.
2. Mimo opiniotwórczego charakteru dziennika, dominują artykuły, których nagłówki mają charakter budzący niepewność, co potwierdza charakterystyczną dla współczesnych mediów tendencję do wykorzystywania tzw. siły negatywnej informacji.

3. Analizowane wypowiedzi najczęściej odnosiły się do skutków zdrowotnych żywności GM, przy czym dominowały wśród nich przekazy pozytywne i neutralne, co jest związane z potencjalnym zastosowaniem roślin zmodyfikowanych genetycznie do produkcji leków oraz z poprawą dostępu do żywności.
4. Wypowiedzi dotyczące skutków środowiskowych miały przeważnie charakter negatywny, co może mieć swoje źródło w sprzecznych opiniach ekspertów w zakresie oddziaływania organizmów zmodyfikowanych genetycznie na ekosystemy.

Literatura

- [1] Anonim: „Gazeta Wyborcza” i „Fakt” nadal najchętniej czytane. [online]. PBC. Dostęp w Internecie [3.03.2010]: <http://www.wirtualnemedi.pl/artykul/gazeta-wyborcza-i-fakt-nadal-najchetniej-czytane>.
- [2] Anonim: Które pisma mają największe czytelnictwo? [online]. PBC. Dostęp w Internecie: [3.03.2010]: <http://www.wirtualnemedi.pl/artykul/ktore-pisma-maja-najwieksze-czytelnictwo>.
- [3] Anonim: PBC: Wyborcza przed Faktem. [online]. PBC. Dostęp w Internecie [3.03.2010]: <http://www.wirtualnemedi.pl/artykul/pbc-wyborcza-przed-faktem>.
- [4] Anonim: Polska przed Trybunałem za zakaz uprawy GMO. [online]. PAP. Dostęp w Internecie [5.06.2010]: <http://www.naukawpolsce.pap.pl/aktualnosc/news,70164,polska-przed-trybunalem-za-zakaz-uprawy-gmo.html>.
- [5] Anonim: Spada czytelnictwo dzienników. Wszystkie tytuły na minusie w II półroczu 2012. [online]. Dostęp w Internecie [2014.12.20]: <http://www.wirtualnemedi.pl/artykul/spada-czytelnictwo-dziennikow-wszystkie-tytuły-na-minusie-w-ii-polroczu-2012>.
- [6] Anonim: UE wbrew WTO w sprawie upraw transgenicznych. [online]. National Academies Press. Dostęp w Internecie [5.04.2010]: <http://www.biotechnolog.pl/ue-wbrew-wto-w-sprawie-upraw-transgenicznych>.
- [7] Clive J.: Global status of commercialized biotech/GM crops: ISAAA, 2009, **41**, 122-187.
- [8] Costa-Font M., Gil J.M., Traill B.: Consumer acceptance, valuation of and attitudes towards Genetically Modified Food: review and implications for food policy. *Food Policy*, 2008, **2 (33)**, 99-111.
- [9] Council of the European Union: Press Release on the 2849th Council Meeting, Agriculture and Fisheries, Bruksela, 18 luty 2008, 6199/08 (Presse 33).
- [10] Dahlgran R.A., Fairchild D.G.: The demand impacts of chicken contamination publicity – A case study. *Agribusiness*, 2002, **4 (18)**, 459-474.
- [11] Dyrektywa 2009/41/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dn. 6 maja 2009 r. w sprawie ograniczonego stosowania mikroorganizmów zmodyfikowanych genetycznie, *Dziennik Urzędowy UE*
- [12] Flynn J., Peters E., Mertz C.K. i Slovic P.: Risk, media, and stigma at rocky flat. *Risk Analysis*, 1998, **6 (18)**, 715-727.
- [13] Frewer L.J., Raats M., Shepherd R.: Modelling the media: The transmission of risk information in the British quality press. *IMA J. Man. Mathematics*, 1993, **1 (5)**, 235-247.
- [14] Frewer L.J., Miles S., Brennan M., Kuznesof S., Ness M., Ritson Ch.: Public preferences for informed choice under conditions of risk uncertainty. *Public Understanding of Science*, 2002, **11**, 363-372.
- [15] Frewer L.J.: Societal issues and public attitudes towards genetically modified foods. *Trends Food Sci. Technol.*, 2003, **5-8 (14)**, 319-332.
- [16] Gaskell G., Stares S., Allansdottir A., Allum N., Corchero C., Jackson J.: Europeans and biotechnology in 2005: patterns and trends: final report on Eurobarometer 64.3. Publications Office of the European Union, Luxembourg 2006.
- [17] Highhouse S., Paese P.W.: Problem domain and prospect frame: choice under opportunity versus threat. *Personality and Social Psychology Bulletin*, 1996, **2 (22)**, 124-132.

- [18] Houghton J.R., Rowe G., Frewer L.J., Kleef E.V., Chryssochoidis G., Kehagia O., Korzen S.M., Lassen J., Pfenning U., Strada A.: The quality of food risk management in Europe: perspectives and priorities. *Food Policy*, 2008, **1** (33), 13-26.
- [19] Janik-Janiec B., Twardowska A., Twardowski T.: Public perception of biotechnology – 2003, Wyd. Instytut of Plant Breeding, Radzików 2003.
- [20] Kawiorski P.: Międzynarodowy szczyt przeciwko GMO w Krakowie. [online]. Dostęp w Internecie [5.04.2010]: http://www.wiadomosci24.pl/artukul/miedzynarodowy_szczyt_przeciwko_gmo_w_krakowie_78867.html
- [21] Kirk S.F.L., Greenwood D., Cade J.E., Pearman A.D.: Public perception of a range of potential food risks in the UK. *Appetite*, 2002, **38**, 189-197.
- [22] Konwencja o różnorodności biologicznej, sporządzona w Rio de Janeiro dn. 5 czerwca 1992 r., Dz. U. 2002 r. Nr 184 poz. 1532
- [23] Koren G., Klein N.: Bias against negative studies in newspaper reports of medical research. *J. Am. Med. Assoc.*, 1991, **13** (266), 1824-1826.
- [24] Małyska A., Twardowski T.: Sposoby kształtowania świadomości społecznej w Internecie na przykładzie GMO. *Nauka*, 2009, **1**, 135-147.
- [25] Małyska A., Twardowski T.: Opinia publiczna o bioetnologii w Polsce i innych krajach UE. *Nauka*, 2011, **1**, 85-98.
- [26] Małyska A., Twardowski T.: Wpływ przekazów medialnych i dyskursu publicznego na kształt krajowego prawodawstwa regulującego kwestię GMO. *Nauka*, 2012, **4**, 143-153.
- [27] McHughen A.: *A Consumer's Guide to GM Food*. Oxford University Press, Oxford 2000.
- [28] Plahuta P., Raspor P.: Comparison of hazards: Current vs. GMO wine. *Food Control*, 2007, **5** (18), 492-502.
- [29] Protokół Kartageński o bezpieczeństwie biologicznym do Konwencji o różnorodności biologicznej, sporządzony w Montrealu dn. 29 stycznia 2000 r. Dz. U. 2004 r. Nr 216, poz. 2201.
- [30] Ramowe Stanowisko RP dotyczące Organizmów Genetycznie Zmodyfikowanych z dn. 18 listopada 2008 r. Dostęp w Internecie [2014.11.10]: <https://www.premier.gov.pl/mobile/wydarzenia/decyzje-rzadu/ramowe-stanowisko-dotyczace-organizmow-genetycznie-zmodyfikowanych-gmo.html>
- [31] Rozporządzenie Ministra Środowiska z dn. 8 lipca 2002 r. w sprawie określenia szczegółowego sposobu przeprowadzania oceny zagrożeń dla zdrowia ludzi i środowiska w związku z podjęciem działań polegających na zamkniętym użyciu GMO, zamierzonym uwolnieniu GMO do środowiska, w tym wprowadzeniu do obrotu produktów GMO oraz wymagań, jakie powinna spełniać dokumentacja zawierająca ustalenia takiej oceny. Dz. U. 2002 r. Nr 107, poz. 944.
- [32] Rozporządzenie Ministra Środowiska z dn. 29 listopada 2002 r. w sprawie listy organizmów patogennych oraz ich klasyfikacji, a także środków niezbędnych dla poszczególnych stopni hermetryczności. Dz. U. 2002 r. Nr 212, poz. 1798.
- [33] Rozporządzenie Ministra Środowiska z dn. 6 czerwca 2002 r. w sprawie określenia wzorów wniosków dotyczących zgód i zezwoleń na działania w zakresie organizmów genetycznie zmodyfikowanych. Dz. U. 2002 r. Nr 87, poz. 797.
- [34] Rozporządzenie Ministra Środowiska z dn. 21 lutego 2002 r. w sprawie szczegółowego sposobu funkcjonowania Komisji do spraw organizmów genetycznie zmodyfikowanych. Dz. U. 2002 r. Nr 19, poz. 196.
- [35] Sędek J.: Najbardziej spada sprzedaż "Gazety Wyborczej" i "Rzeczpospolitej". [online]. Dostęp w Internecie [2014.12.20]: <http://www.press.pl/newsy/prasa/pokaz/43337,Najbardziej-spada-sprzedaz-Gazety-Wyborczej-i-Rzeczpospolitej>.
- [36] Siegrist M., Cvetkovich G.: Better negative than positive? Evidence of bias for negative information about possible health danger. *Risk Analysis*, 2001, **1** (21), 199-206.
- [37] Ślawska M.: Tytuł – najmniejszy tekst prasowy. *Rocznik Prasoznawczy*, 2008, **2**, 119.
- [38] Tironi M., Salazar M., Valenzuela D.: Resisting and accepting: Farmers' hybrid epistemologies in the GMO controversy in Chile. *Technology in Society*, 2013, **35**, 93-104.
- [39] Ustawa z dn. 9 listopada 2012 r. o nasiennictwie. Dz. U. 2012 r., poz. 1512.
- [40] Ustawa z dn. 26 czerwca 2008 r. o zmianie ustawy o paszach. Dz. U. 2008 r. Nr 144, poz. 899.
- [41] Ustawa z dn. 23 sierpnia 2001 r. o środkach żywienia zwierząt. Dz. U. 2001 r. Nr 123, poz. 1350.

- [42] Ustawa z dn. 22 czerwca 2001 r. o organizmach genetycznie zmodyfikowanych. Dz. U. 2001 r. Nr 76, poz. 811, z późn. zm.
- [43] Ustawa z dn. 27 kwietnia 2001 r. Prawo ochrony środowiska. Dz. U. 2001 r. Nr 62, poz. 627.
- [44] Ustawa z dn. 22 lipca 2006 r. o paszach. Dz. U. 2006 r. Nr 144, poz. 1045.
- [45] Washer P.: Representations of SARS in the British newspapers. *Social Sci. Med.*, 2004, **59**, 1-11.
- [46] Verbeke W., Ward R.W., Viaene J.: Probit analysis of fresh meat consumption in Belgium: Exploring BSE and television communication impact. *Agribusiness*, 2000, **2 (16)**, 215-234.
- [47] Vilella-Vila M., Costa-Font J.: Press media reporting effects on risk perceptions and attitudes towards genetically modified (GM) food. *J. Soc.-Econ.*, 2008, **5 (37)**, 2095-2106.

GENETICALLY MODIFIED FOOD (GM FOOD) – ANALYSIS OF PUBLICATIONS IN *GAZETA WYBORCZA* IN 1995 - 2012

S u m m a r y

The objective of this research study was to analyse the ways some selected GM food-related aspects were represented in *Gazeta Wyborcza* (GW), a newspaper deemed to be one of the most widely-read and opinion-forming nationwide dailies in Poland [1, 2, 3]. GM food is an attractive subject in media coverage as it is a multifaceted and controversial problem that is attributed to the lack of social consensus on the benefits and risks of using genetic modifications in the food production. The majority of consumers in Europe negatively approach genetic modifications [16]. However, the media reports have a major impact on public opinion, and, thus, it is important to get to know the form and way, in which one of the most widely-read newspapers in Poland provides information about GM foods. The content analysis was performed based on 227 articles on GM food, which were selected from the archive of GW and published in a period from 1995 to 2012. The results obtained were presented as a number of articles on and references to specific issues. The list of codes referring to those issues consists of the following categories: 1) date of publication; 2) nature of title (header); 3) health aspects; 4) environmental aspects; 5) economic aspects. Based on the analysis of results, it was found that legislative changes had a big impact on the publication frequency of the articles about GM food; in the GW newspaper, the messages predominated that discussed the effect of GM food on health and the majority of them were positive (the manufacture of medicines). Then again, the majority of negative messages referred to environmental aspects (effect of other species, transfer of genes).

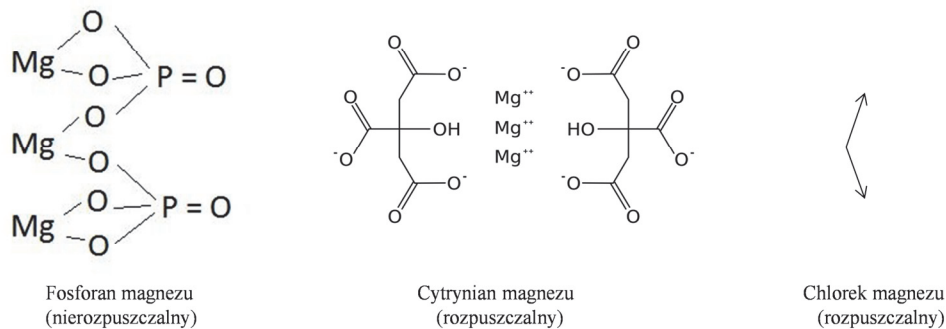
Key words: media, daily press, genetically modified food, risks, benefits 

HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA

INTERAKCJE SKŁADNIKÓW ŻYWNOŚCI

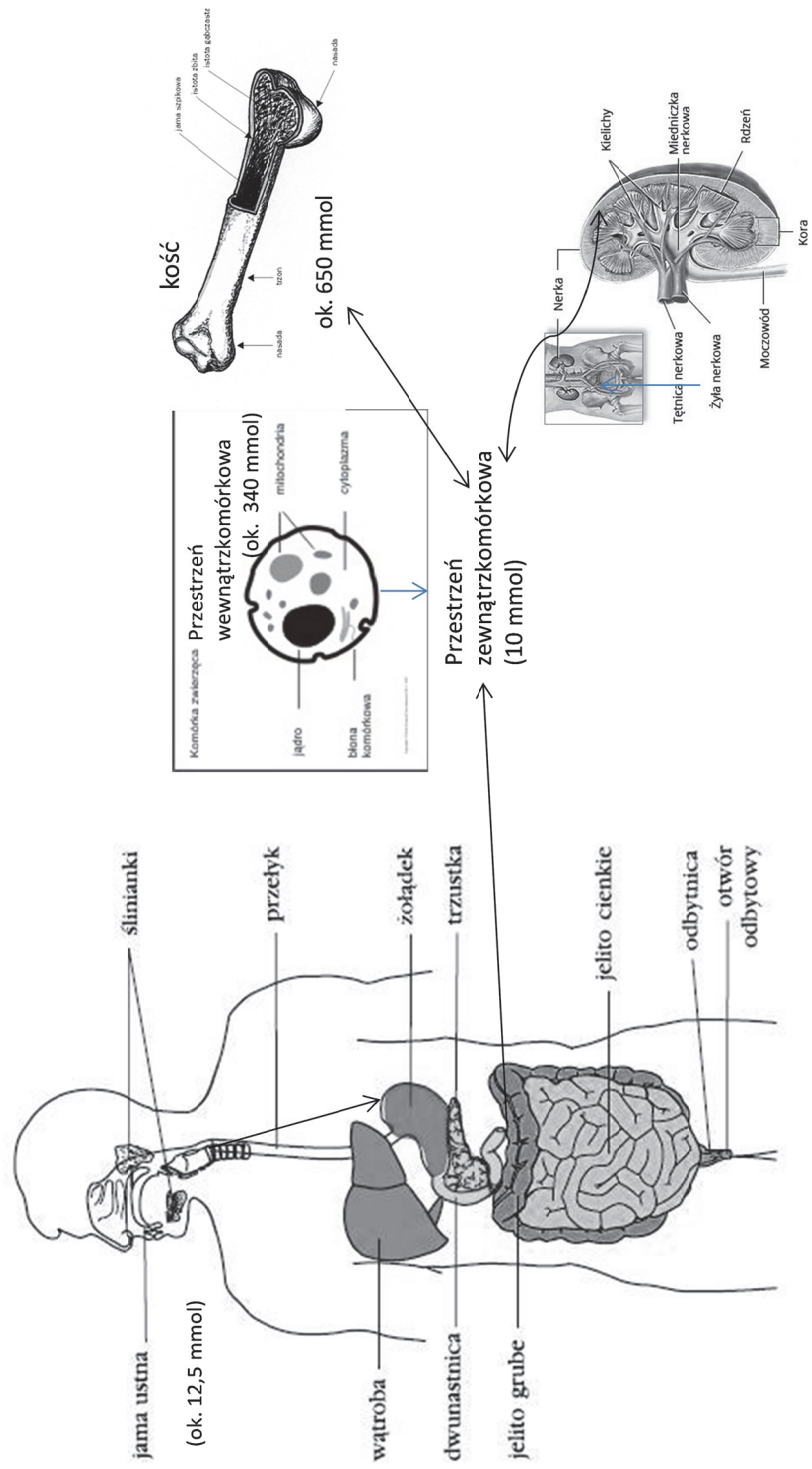
Prezentujemy 29. część cyklu nt. „Interakcje składników żywności”. Druk materiałów z tego cyklu rozpoczęliśmy w *Żywności* nr 1 (74), 2011.

Magnez jest makroelementem, którego zawartość w organizmie człowieka osiąga ok. 24 000 mg (ok. 1000 nmoli). Z tego w płynie zewnątrzkomórkowym znajduje się zaledwie 1 %. Oznacza to, że magnez występuje głównie w przestrzeni wewnątrzkomórkowej. Dystrybucję magnezu w organizmie człowieka przedstawiono na rys. 1. Dienne zapotrzebowanie organizmu człowieka na ten pierwiastek wynosi od 300-350 mmoli. Przykładowo, taka ilość magnezu znajduje się w 250 g płatków owsianych, 150 g zarodków, 60 g otrąb pszennych, 200 g suchej fasoli, 1200 g warzyw, 500 g szpinaku, 1200 g mięsa, 1000 g ryb oraz w 200 g orzechów. Wchłanianie magnezu odbywa się na całej długości jelita cienkiego, zarówno według mechanizmu dyfuzji biernej, nie wymagającej nakładu energii, oraz dyfuzji wspomaganą transporterami i kanałami jonowymi. We krwi znajduje się 60 % magnezu w postaci jonów magnezu (Mg^{2+}), a dalsze 10 % jest związane kompleksowo z małymi cząsteczkami organicznymi, np. cytrynianem (rys. 2.) Jony magnezu są także kofaktorami ok. 300 enzymów, kształtując ich aktywną biologicznie konformację. W wielu reakcjach jony magnezu uczestniczą jako $ATP-Mg^{2+}$, który z enzymem i substratem tworzy kompleks i umożliwia w ten sposób przeniesienie grupy fosforanowej na substrat. Pod względem fizjologicznym warto wspomnieć o współzawodnictwie pomiędzy jonami magnezu i wapnia, które powoduje, że ubytkowi jonów magnezu we wnętrzu komórki towarzyszy wzrost zawartości jonów wapnia w cytosolu. Efektem tego jest zwiększenie kurczliwości mięśni gładkich ścian naczyń, co jest powodem wzrostu nadciśnienia tętniczego. Z kolei niedobór jonów magnezu wywołuje oporność na insulinę, co

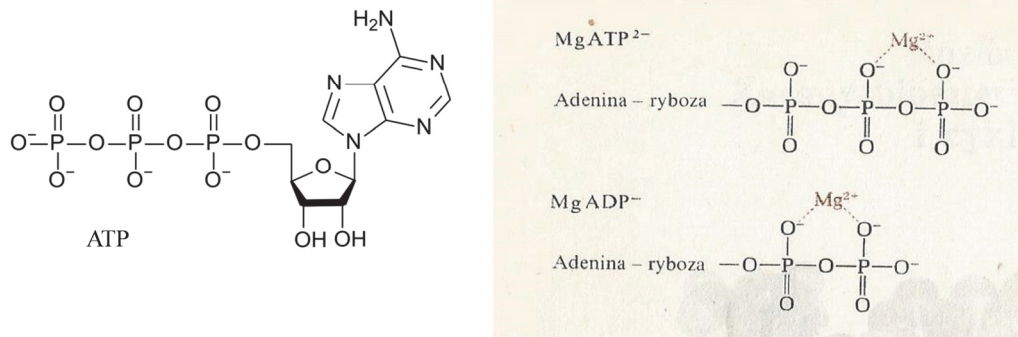


Rys.1. Wzory strukturalne rozpuszczalnych i nierozpuszczalnych soli magnezu

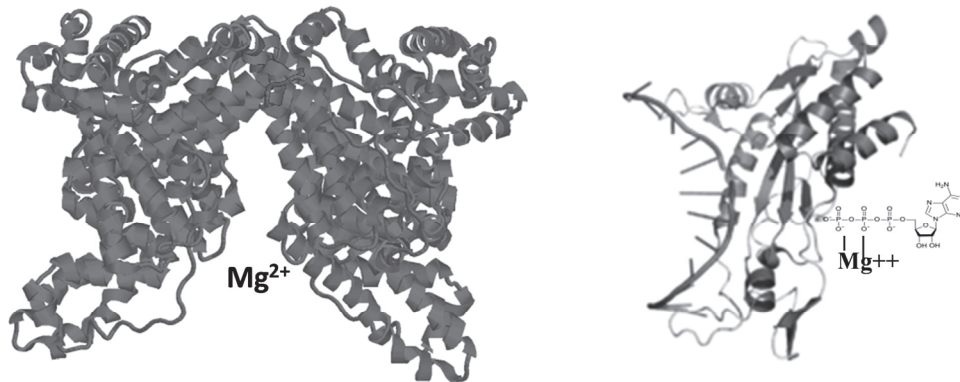
prowadzi do cukrzycy, miażdżycy i hiperlipidemii. Po tych wstępnych informacjach o roli magnezu w organizmie człowieka wróćmy do jego interakcji z biomolekułami. Na wstępie wyjaśnijmy budowę ATP – adenozy-5' trifosforanu. Nukleotyd ten składa się z adeniny, rybozy i trzech reszt kwasu fosforowego (V) (rys. 3.). Jedna z reszt kwasu fosforowego połączona jest wiązaniem estrowym przez grupę -OH przy węglu 5' rybozy, a wszystkie trzy pomiędzy sobą połączone są wiązaniami bezwodnikowymi o wysokiej energii. Określenie energia wiązania fosforanowego, stosowane w biochemii, nie należy mylić z fizykochemicznym pojęciem energii wiązania, które oznacza ilość energii potrzebną do rozerwania wiązania między dwoma atomami. Określenie energia wiązania fosforanowego odnosi się wyłącznie do różnicy zawartości energii swobodnej w substancjach reagujących i produktach, kiedy związek ufosforylowany podlega hydrolizie, uwalniając fosforan nieorganiczny. Wolny ATP, ADP i fosforan tworzą w odwracalnych reakcjach kompleksy z jonami Mg^{2+} . W komórce jony magnezu tworzą kompleksy metalonukleotydowe w difosfo- i trifosfonukleozydach. Jony magnezu ulegają skoordynowaniu wyłącznie z atomami tlenu grup fosforanowych znajdujących się w pozycjach α i β lub β i γ (rys. 3). Kompleksy β , γ -Mg-ATP są faworyzowane w środowisku wodnym. Ta postać kompleksu magnezowo-nukleotydowego wiąże się z enzymami – kinazami (rys. 4). W cząsteczkach ATP ładunki ujemne są rozmieszczone blisko siebie i silnie się odpychają. To odpychanie jest zredukowane po przyłączeniu jonów magnezu, co ułatwia połączenie ATP z częścią białkową enzymu. Podobnie jony magnezu zobojętniają kwasy nukleinowe przed stanem, w którym odpychanie elektrostatyczne uzyskałoby przewagę nad innymi czynnikami stabilizującymi te biomolekuły. Wszystkie te fakty świadczą o występowaniu magnezu w organizmie człowieka w różnych postaciach molekularnych oraz o zróżnicowanej funkcji biologicznej kompleksów jonów magnezu z biomolekułami.



Rys. 2. Dystrybucja magnezu w organizmie człowieka



Rys. 3. Wzór ATP i jego kompleksów z magnezem



Rys. 4. Kompleksy albuminy z jonami magnezu i hipotetycznej kinazy ☒

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 września 2015 r.

Polskie akty prawne

1. Ustawa z dn. 18 grudnia 2003 r. o zakładach leczniczych dla zwierząt (tekst jednolity) (Dz. U. 2015 r., poz. 1047).
Ogłoszono jednolity tekst ustawy z dn. 18 grudnia 2003 r. o zakładach leczniczych dla zwierząt. Zgodnie z ustawą zakład leczniczy dla zwierząt jest placówką ochrony zdrowia i dobrostanu zwierząt utworzoną w celu świadczenia usług z zakresu medycyny weterynaryjnej. Zakład leczniczy dla zwierząt może być utworzony i utrzymywany również w celu realizacji zadań dydaktycznych i badawczych w powiązaniu ze świadczeniem usług weterynaryjnych.
Usługa weterynaryjna jest czynnością mającą na celu zachowanie, ratowanie lub poprawę zdrowia zwierząt i ich produktywności.
2. Ustawa z dn. 2 kwietnia 2004 r. o systemie identyfikacji i rejestracji zwierząt (tekst jednolity) (Dz. U. 2015 r., poz. 1047).
Został ogłoszony jednolity tekst ustawy z dn. 2 kwietnia 2004 r. o systemie identyfikacji i rejestracji zwierząt.
Ustawa określa:
 - zasady identyfikacji i rejestracji zwierząt, w tym tryb nadawania numerów siedzib stad oraz numerów identyfikacyjnych zwierząt, a także wpisywania na listę prowadzoną przez Agencję Restrukturyzacji i Modernizacji Rolnictwa i skreślenia z tej listy podmiotów dostarczających kolczyki lub duplikaty kol-

czyków, zawierające elektroniczne identyfikatory albo czytniki elektronicznych identyfikatorów,

- zadania Agencji Restrukturyzacji i Modernizacji Rolnictwa, organów Inspekcji Weterynaryjnej oraz innych podmiotów w ramach utworzonego Systemu Identyfikacji i Rejestracji Zwierząt, w tym sposób sprawowania nadzoru przez organy Inspekcji Weterynaryjnej oraz sposób sprawowania kontroli przez Agencję nad identyfikacją i rejestracją zwierząt gospodarskich.

3. Ustawa z dn. 14 marca 1985 r. o Państwowej Inspekcji Sanitarnej (tekst jednolity) (Dz. U. 2015 r., poz. 1412).

Ogłoszono jednolity tekst ustawy z dn. 14 marca 1985 r. o Państwowej Inspekcji Sanitarnej.

Państwowa Inspekcja Sanitarna została powołana do realizacji zadań z zakresu zdrowia publicznego, w szczególności poprzez sprawowanie nadzoru nad warunkami:

- higieny środowiska,
- higieny pracy w zakładach pracy,
- higieny radiacyjnej,
- higieny procesów nauczania i wychowania,
- higieny wypoczynku i rekreacji,
- zdrowotnymi żywności, żywienia i przedmiotów użytku,
- higieniczno-sanitarnymi, jakie powinien spełniać personel medyczny, sprzęt oraz pomieszczenia, w których są udzielane świadczenia zdrowotne,

oraz w celu ochrony zdrowia ludzkiego przed niekorzystnym wpływem szkodliwości i uciążliwości środowiskowych, zapobiegania powstawaniu chorób, w tym chorób zakaźnych i zawodowych.

4. Ustawa z dn. 29 stycznia 2004 r. o Inspekcji Weterynaryjnej (tekst jednolity) (Dz. U. 2015 r., poz. 1482).

Ogłoszono jednolity tekst ustawy z dn. 29 stycznia 2004 r. o Inspekcji Weterynaryjnej.

Ustawa określa:

- zadania, organizację, tryb działania oraz zasady finansowania Inspekcji Weterynaryjnej,
- zasady współpracy organów Inspekcji z organami centralnymi państw członkowskich Unii Europejskiej odpowiedzialnymi za przestrzeganie stosowania prawodawstwa weterynaryjnego lub organami, którym takie kompetencje zostały przekazane (właściwą władzą) oraz Komisją Europejską w zakresie realizacji zadań Inspekcji,

- zasady wystawiania świadectw zdrowia, w tym określone w przepisach zawartych w aktach prawnych wymienionych w załącznikach nr 1 i 2 do ustawy z dnia 10 grudnia 2003 r. o kontroli weterynaryjnej w handlu (Dz. U. z 2015 r. poz. 519).
5. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dn. 16 września 2010 r. w sprawie środków spożywczych specjalnego przeznaczenia żywieniowego (tekst jednolity) (Dz. U. 2015 r., poz. 1026).
Ogłoszono jednolity tekst rozporządzenia Ministra Zdrowia z dn. 16 września 2010 r. w sprawie środków spożywczych specjalnego przeznaczenia żywieniowego.

Unijne akty prawne

1. Rozporządzenie Komisji (UE) 2015/1102 z dn. 8 lipca 2015 r. zmieniające załącznik I do rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1334/2008 w odniesieniu do usunięcia z unijnego wykazu niektórych substancji aromatycznych (Tekst mający znaczenie dla EOG) (Dz. Urz. UE L, 2015 r., nr 181, s. 54).
W części A załącznika I do rozporządzenia (WE) nr 1334/2008 wprowadzono zmiany, polegające na usunięciu z unijnego wykazu następujących substancji aromatycznych: 1-metylonaftalen, eter furfurylowy, siarczek difurfurylu, eterdifurfurylu, eter etylu furfurylu.
Żywność zawierająca pięć wyżej wymienionych substancji aromatycznych, która jest zgodnie z prawem wprowadzona do obrotu lub etykietowana przed upływem 9 miesięcy od daty wejścia w życie niniejszego rozporządzenia, ale nie spełnia wymogów części A załącznika I do rozporządzenia (WE) nr 1334/2008, może być przedmiotem obrotu do upływu jej daty minimalnej trwałości lub terminu przydatności do spożycia.
2. Rozporządzenie Komisji (UE) 2015/1125 z dn. 10 lipca 2015 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1881/2006 w odniesieniu do najwyższych dopuszczalnych poziomów wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w katsuobushi (suszony bonito) oraz w niektórych wędzonych śledziach bałtyckich (Tekst mający znaczenie dla EOG) (Dz. Urz. UE L, 2015 r., nr 184, s. 7).
W rozporządzeniu Komisji (WE) nr 1881/2006 ustalono najwyższe dopuszczalne poziomy wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) w żywności. W załączniku do rozporządzenia (WE) nr 1881/2006 wprowadzono zmiany dotyczące najwyższych dopuszczalnych poziomów wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w katsuobushi (suszony bonito) oraz w niektórych wędzonych śledziach bałtyckich.
3. Rozporządzenie Komisji (UE) 2015/1137 z dn. 13 lipca 2015 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1881/2006 w odniesieniu do najwyższego dopuszczalnego po-

ziomu ochratoksyny A w przyprawach *Capsicum* spp.(Tekst mający znaczenie dla EOG) (Dz. Urz. UE L, 2015 r., nr 185, s. 11).

Wprowadzone zmiany dotyczą najwyższego dopuszczalnego poziomu ochratoksyny A w przyprawach *Capsicum* spp.

Przyprawy *Capsicum* spp., w przypadku których nie są spełnione najwyższe dopuszczalne poziomy ochratoksyny A zgodnie z pkt 2.2.11. załącznika do rozporządzenia (WE) nr 1881/2006, zmienionego niniejszym rozporządzeniem, które zgodnie z prawem wprowadzono do obrotu przed dniem 1 stycznia 2015 r., mogą pozostawać w obrocie po tej dacie do upływu ich daty minimalnej trwałości lub przydatności do spożycia.

4. Rozporządzenie Komisji (UE) 2015/1378 z dn. 11 sierpnia 2015 r. zmieniające załącznik II do rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1333/2008 w odniesieniu do stosowania ryboflawin (E 101) i karotenów (E 160a) w suszonych ziemniakach w postaci granulatu i płatków (Tekst mający znaczenie dla EOG) (Dz. Urz. UE L, 2015 r., nr 213, s. 1).

Ryboflawina (E 101) i karoten (E 160a) jako dodatek do żywności może być stosowany tylko w suszonych ziemniakach w postaci granulatu i płatków. ☒

NOWE KSIĄŻKI

Dietoterapia 1

Saeed B., Gajewska D., Kozłowska L., Lange E., Myszkowska-Ryciak J., Włodarek D.
Wydawnictwo: Wyd. SGGW, Warszawa 2015, stron 228, ISBN 978-83-7583-088-0,
cena 35,00 zł.

Zamówienia: www.wydawnictwosggw.pl

W książce podjęto zagadnienie postępowania dietetycznego w różnych schorzeniach. Opracowanie składa się z 13 rozdziałów. W pierwszym rozdziale opisano zasady ustalania zapotrzebowania energetycznego w różnych stanach chorobowych. W kolejnych rozdziałach podjęto tematy postępowania dietetycznego: w nadwrażliwościach pokarmowych, w stanach zapalnych jelit, u osób z zespołem jelita drażliwego, w marskości wątroby, w schorzeniach trzustki, w przewlekłej chorobie nerek, w chorobach neurodegeneracyjnych ośrodkowego układu nerwowego, w zespole metabolicznym, w dnie moczanowej. Dwa ostatnie rozdziały dotyczą żywienia w chorobach nowotworowych oraz zastosowania indeksu glikemicznego w dietoterapii chorób dietozależnych. Książka jest polecana dla osób interesujących się dietetyką, studentów kierunków związanych z żywieniem człowieka.

Woda w żywieniu i jej źródła

Brzozowska A., Gawęcki J. (red.)

Wydawnictwo: Wyd. Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, Poznań 2015, stron 148, ISBN 978-83-7160-774-5, cena 26,00 zł

Zamówienia: www.wydawnictwo.up-poznan.net

Woda jest konieczna do życia dla człowieka. Bez niej może on przeżyć najwyżej kilka dni, natomiast bez pokarmu – nawet kilka tygodni. Autorzy zauważyli, że mimo tego w podręcznikach o tematyce żywieniowej mało miejsca poświęca się wodzie. Wszystkie rodzaje żywności zawierają wodę – mniejsze lub większe ilości. W książce dokonano charakterystyki wody pitnej i płynów, które są w żywieniu głównymi źródłami wody. Oprócz wody pitnej są to: wody stołowe, źródlane i mineralne, soki owocowe i warzywne, mleko i napoje mleczne, bezalkoholowe napoje orzeźwiające, kawa i herbata spożywane w postaci naparów oraz produkowane przemysłowo zupy. Nie omówiono

napojów alkoholowych, ponieważ mimo znaczącej zawartości wody wywierają one z reguły ujemny wpływ na bilans wodny w organizmie. Przy omawianiu poszczególnych źródeł wody, oprócz podstawowych informacji towaroznawczych i technologicznych, zawarto charakterystykę wartości odżywczej i prozdrowotnej.

Chemia żywności. Tom 1. Główne składniki żywności

Sikorski Z. E., Staroszczyk H. (red.)

Wydawnictwo: WNT, Warszawa 2015, stron 400, ISBN 978-83-7926-242-7, cena 68,00 zł

Zamówienia: www.wnt.pl

W książce omówiono zakres i rolę chemii żywności, budowę i podstawowy skład surowców oraz produktów żywnościowych (mięso, mleko, surowce bogate w skrobię, nasiona roślin strączkowych, tłuszcze jadalne, owoce i warzywa), funkcję wody, składników mineralnych, sacharydów, tłuszczów, białka, niebiałkowych związków azotowych i witamin w produktach żywnościowych, naturalne barwniki surowców, substancje wpływające na smak i zapach żywności.

Podręcznik przeznaczony jest dla studentów i pracowników naukowych uniwersytetów przyrodniczych i medycznych oraz politechnik, do przedmiotów z zakresu chemii, technologii i biotechnologii żywności, a także bromatologii i żywienia człowieka. Książka będzie też przydatna technologom, towaroznawcom oraz producentom żywności, a także kontrolerom sprawdzającym jakość produktów żywnościowych.

Food Emulsions: Principles, Practices, and Techniques, Third Edition

[Emulsje spożywcze: podstawy, zastosowanie i techniki. Wydanie trzecie]

McClements D. J.

Wydawnictwo: CRC Press, 2015, stron 690, ISBN 9781498726689, cena 127 £

Zamówienia: www.crcpress.com

W książce scharakteryzowano główne czynniki mające wpływ na stabilność, reologię, zapach i wygląd emulsji spożywczych. Zawarto w niej również najnowsze informacje dotyczące projektowania emulsji spożywczych i ich zastosowania. Krytycznej ocenie poddano różnorodne metody wykorzystywane do przygotowania emulsji spożywczych. Opisano nowoczesne metody w zakresie badania właściwości emulsji spożywczych. Książka jest polecana dla studentów kierunków związanych z żywnością oraz osób zajmujących się analizą żywności.

Opracowała: Magdalena Niewczas-Dobrowolska

**„CHEMIA ŻYWNOŚCI”
PRACA ZBIOROWA POD REDAKCJĄ
ZDZISŁAWA E. SIKORSKIEGO I HANNY STAROSZCZYK**

– RECENZJA PODRĘCZNIKA –

W Wydawnictwie WNT ukazał się 2-tomowy akademicki podręcznik, praca zbiorowa (23 autorów) pod redakcją Zdzisława E. Sikorskiego oraz Hanny Staroszczyk. Wysoko oceniony, konstruktywny i refleksyjny współudział w redakcji podręcznika – Magdalena Karamać – PAN Olsztyn.

W tomie **1.** pod tytułem: **„Główne składniki żywności”**, stron 400, oprócz przedmowy, znajdują się następujące rozdziały:

1. Zakres i rola chemii żywności – *Zdzisław E. Sikorski*. **2.** Budowa i podstawowy skład surowców i produktów – *Robert Tylingo*. **3.** Rola wody w żywności – *Zdzisław Pałacha i Andrzej Lenart*. **4.** Składniki mineralne, ich niezbędność fizjologiczna, zagrożenia toksykologiczne raz rola w żywności – *Piotr Szefer*. **5.** Sacharydy, występowanie i znaczenie – *Hanna Staroszczyk*. **6.** Tłuszcze, właściwości i modyfikowanie – *Marek Adamczak*. **7.** Białka – *Zdzisław E. Sikorski*. **8.** Niebiałkowe związki azotowe – *Edyta Malinowska-Pańczyk*. **9.** Witaminy – *Teresa Sejdler*. **10.** Naturalne barwniki surowców żywnościowych – *Jaroslawa Rutkowska*. **11.** Substancje zapachowe żywności – *Henryk Jeleń*. **12.** Związki wpływające na smak żywności – *Robert Tylingo*.

Każdy rozdział opatrzony jest bibliografią, a tom skorowidzem oraz słowem o Autorach.

W tomie **2.** zatytułowanym: **„Biologiczne właściwości składników żywności”**, stron 322, po przedmowie, zamieszczono następujące rozdziały:

1. Składniki wpływające na reologiczne cechy żywności – *Robert Tylingo*. **2.** Rola rodników, utleniaczy i przeciwutleniaczy w żywności – *Izabela Sinkiewicz*. **3.** Nauki o żywieniu w erze postgenomicznej – *Joanna Cyprys, Magdalena Doraczyńska, Agnieszka Bartoszek*. **4.** Nieodżywcze substancje prozdrowotne pochodzenia roślinnego – *Barbara Kuśnierewicz*. **5.** Alergeny w żywności – *Barbara Wróblewska*. **6.** Muta-genne i rakotwórcze składniki żywności – *Anna Lewandowska, Agnieszka Bartoszek*.

7. Toksyny surowców żywnościowych – *Danuta Kołożyn-Krajewska*. 8. Dodatki do żywności, właściwości, rola i zasady stosowania – *Kazimierz Dąbrowski, Antoni Rutkowski*. 9. Chemiczne właściwości i działanie suplementów diety – *Iwona Wawer*. 10. Analiza żywności – *Beata Plutowska, Henryk Jeleń*.

Każdy rozdział opatrzony jest bibliografią, a tom skorowidzem oraz słowem o autorach.

Dynamiczny postęp wszystkich dyscyplin naukowych, w tym również chemii żywności i permanentne wzbogacanie wiedzy również i w tej dyscyplinie naukowej o nowe odkrycia, doświadczalne wyniki badań naukowych oraz czynionych obserwacji, wykluczają ich jednoosobowy przekaz. Encyklopedyści już nieodwołalnie przeszli do historii. Stąd też współcześnie w pełni uzasadnione i powszechnie akceptowane jest informowanie czytelników o osiągnięciach danej dyscypliny naukowej przez zespoły składające się z wąsko wyspecjalizowanych autorów. Doskonałym przykładem podporządkowania się tym aktualnym trendom jest ostatnio oddany potencjalnym czytelnikom, znacząco różniący się od poprzednich wydań, zaktualizowany o nowe wyniki badań oraz w pełni nowocześnie zredagowany akademicki podręcznik „Chemia żywności”. Został on napisany przez 23 wybitnych specjalistów reprezentujących wąskie zagadnienia dyscypliny naukowej, jaką jest chemia żywności. W podręczniku przedstawiono szeroki wachlarz zagadnień, jednocześnie unikając obarczania treści wiedzą dostępną i reprezentowaną przez: chemię organiczną i nieorganiczną, biochemię, biologię oraz dyscypliny pokrewne. Odmienne do poprzednich wydań chemii żywności, zrezygnowano ze wzorów chemicznych.

Uwagę czytelników zogniskowano natomiast na informacjach o m.in. suplementach diety, nieodżywczych substancjach prozdrowotnych, żywnościowych toksynach i alergenach, mutagennych i rakotwórczych składnikach żywności. Nie rezygnując z przedstawienia fundamentalnych zagadnień chemii żywności, tj. o budowie i składzie chemicznym surowców i produktów, biologicznych właściwościach składników żywności, procesach i reakcjach przetwórczych i przechowalniczych, z problematyki sensorycznej (smak, zapach, barwa, tekstura) itp.

Wyczerpująco przedstawiono współczesne poglądy na główne składowe surowców i produktów żywnościowych, tj. wodę, białka i niebiałkowe związki azotowe, tłuszcze, węglowodany, sole mineralne, witaminy, barwniki i substancje zapachowe oraz związki uczestniczące w kształtowaniu smakowości żywności. Opisano ponadto problematykę związaną z analityką surowców i produktów ich przetwarzania w artykuły żywnościowe.

Wysoce korzystne jest przekazywanie treści prezentowanych w książce językiem precyzyjnym pod względem obowiązującej terminologii i jej ilustrowanie niezbędnymi tabelami, rysunkami, wzorami i wykresami.

Należy sądzić, że podręcznik będzie niezbędną pozycją dydaktyczną dla: studiujących naukę o żywności i żywieniu człowieka, technologicie przetwarzania surowców

roślinnych i zwierzęcych w artykuły żywnościowe, dietetykę, bromatologię i farmację przede wszystkim akademickiego szczebla nauczania. Omawiana praca zbiorowa zapewne zainteresuje również inżynierską kadrę kierowniczą i operacyjną przedsiębiorstw przemysłu żywnościowego, a także pracowników naukowo-badawczego jego zaplecza.

Zbigniew Duda

TWÓRCY POLSKIEJ NAUKI O ŻYWNOSCI

POLSCY UCZENI PO II WOJNIE ŚWIATOWEJ PROF. DR HAB. KAZIMIERZ SZEBIOTKO (1921-2014)



Kazimierz Szebiotko urodził się 14 listopada 1921 roku w Sokółce w województwie białostockim (obecnie województwo podlaskie). Szkołę powszechną i gimnazjum ukończył w Sokółce, a liceum w Grodnie w 1939 roku. Podczas II wojny światowej, po zajęciu terenu przez Niemców, pracował jako kierowca w Mleczarni Powiatowej w Sokółce. W 1943 roku za niezgłoszenie się na wyjazd do prac przymusowych w Niemczech został aresztowany i skazany na 1,5 roku karnego obozu pracy, a następnie przewieziony do Prus Wschodnich i skierowany do pracy w Bartoszycach i Królewcu.

W marcu 1945 roku powrócił do kraju i jesienią rozpoczął studia na Wydziale Rolniczo-Leśnym Uniwersytetu Poznańskiego. W 1949 roku ukończył je ze specjalizacją w zakresie technologii rolno-spożywczej, a w styczniu 1950 roku uzyskał dyplom magistra inżyniera (praca magisterska pt. „Wpływ granulacji i zanieczyszczeń soli kuchennej na przebieg procesu solenia dorsza” pod kierunkiem prof. dr. Józefa Janickiego). Już w trakcie studiów, w latach 1948-49 pracował w kierowanym przez profesora Janickiego Zakładzie Technologii Rolnej jako zastępca asystenta, a od 1.01.1949 roku jako młodszy asystent. Pracę doktorską pt. „Zachowanie beta-karotenu przy niektórych sposobach konserwowania pasz zielonych” obronił w 1957 roku. Najważniejsze prowadzone przez Niego w tym czasie badania, realizowane w zespole prof. Janickiego, dotyczyły produkcji i przechowywania pasz, otrzymywania krystalicznej witaminy B₁₂ i metod technologicznych zwiększających zasoby cennych składników pasz (biosynteza białka i witamin). Rezultatem tych badań była zakończona w 1965 roku praca habilitacyjna pt. „Metody otrzymywania i trwałość niektórych koncentratów witaminy A w mieszankach paszowych i mineralnych” i uzyskanie w rok później stanowiska docenta nauk technicznych. Ten okres kariery Profe-

sora Szebiotki to również czas wielu staży zagranicznych, w tym: dwumiesięczny staż w Rostoku (1960 u prof. K. Nehringa), ośmiomiesięczny pobyt w USA (Cornell University, Kansas State University, Davis University of California, 1963 rok) i trzymiesięczny staż w Danii (Holding, 1970 rok). Często wyjeżdżał również na staże krótkoterminowe do ZSSR, Bułgarii, Rumunii, Anglii, Holandii, Francji, Szwecji i Kanady.

W roku 1973 Kazimierz Szebiotko uzyskał tytuł profesora nadzwyczajnego, a recenzentami Jego dorobku byli wybitni naukowcy z dziedziny technologii żywności: prof. Józef Janicki, prof. Eugeniusz Pijanowski i prof. Antoni Rutkowski. W roku 1982 został profesorem zwyczajnym.

Profesor Kazimierz Szebiotko pełnił szereg funkcji kierowniczych w strukturach organizacyjnych macierzystej Uczelni i Wydziału. W roku 1972 został dyrektorem nowopowstałego Instytutu Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego i kierownikiem Zakładu Technologii Fermentacji i Biosyntezy Składników Paszowych – jednej z sześciu jednostek wewnętrznych Instytutu. Obie funkcje sprawował nieprzerwanie do roku 1992, w którym przeszedł na emeryturę. W latach 1972-1975 był prodziekanem na Wydziale Technologii Żywności. W roku 1984 został wybrany na funkcję Rektora Akademii Rolniczej w Poznaniu, na kadencję 1984-1987.

W dorobku naukowym Profesora Szebiotki, publikowanym nierzadko w czasopiśmie o randze światowej, mieszczą się wyniki badań prowadzonych często we współpracy międzynarodowej, a także w ramach programów rządowych i międzynarodowych (tzw. amerykańskich).

Profesor Szebiotko odznaczał się bardzo szerokimi zainteresowaniami badawczymi i skupiał wokół siebie nie tylko technologów, ale także chemików, mikrobiologów, inżynierów procesowych, ekonomistów i specjalistów z innych dziedzin. Spośród rozległej tematyki badawczej podejmowanej przez Profesora należy wymienić trzy grupy tematyczne, mające duże znaczenie gospodarcze.

Pierwsza grupa dotyczyła wykorzystania surowców bogatych w celulozę do biosyntezy białka. Jako podłoża do wyprodukowania bogatej w białko biomasy organizmów jednokomórkowych interesowały Profesora przede wszystkim produkty uboczne i odpadowe przemysłu spożywczego i rolnictwa. Do tej grupy badań można zaliczyć, wprowadzoną do praktyki, metodę produkcji wysokobiałkowej paszy dla trzody chlewnej na bazie zacierów ziemniaczanych i zbożowych.

Drugą grupą zagadnień, dzięki którym Profesor Szebiotko stał się naukowcem znanym w kraju i na świecie, były prace nad mikotoksynami w zbożach, udoskonalaniem metod ich wykrywania oraz sposobami detoksykacji. Dzięki ważnym aspektom teoretycznym i aplikacyjnym tych badań ośrodek poznański stał się placówką liczącą się w tej dziedzinie w skali międzynarodowej.

Trzeci problem, wiążący się w zasadzie z poprzednimi, dotyczył opracowania nowych metod i poprawiania istniejących procesów technologicznych w przetwórstwie różnych surowców i produktów ubocznych na cele żywieniowe i paszowe. Trzeba wspomnieć również o badaniach, w których kierowany przez Niego Zakład Technologii Fermentacji i Biosyntezy Składników Paszowych zajmował się możliwościami polepszania wartości żywieniowej nasion roślin strączkowych metodą fermentacji, a także pracami mającymi na celu doskonalenie technologii produkcji etanolu i wódek.

Dzięki результатам tych badań zespół Profesora Szebiotki stał się jednostką liczącą się w uprawianej dziedzinie naukowej w skali międzynarodowej. Skutkowało to pośrednio uzyskaniem przez pracowników Instytutu i Zakładu wielu grantów naukowych i stypendiów, w tym również dwóch wysoko cenionych na arenie międzynarodowej stypendiów Fulbrighta.

Profesor Szebiotko wykształcił wielu absolwentów, którzy odegrali znaczącą rolę w polskim przemyśle spożywczym i w rozwoju nauk o żywności. Wśród jego wychowanków było ponad 180 dyplomantów oraz czternastu doktorów – większość tych osób nadal działa aktywnie w nauce i przemyśle. Profesor opiekował się bezpośrednio pięcioma habilitantami. Warto podkreślić, że Profesor pozostawił liczne grono uczniów pracujących na naszym Wydziale, a wśród nich czterech profesorów tytularnych, którzy odegrali i nadal odgrywają ważną rolę w funkcjonowaniu Wydziału. Wykształcił także profesorów pracujących obecnie na innych uczelniach i w placówkach naukowego zaplecza przemysłu.

Współpraca z wieloma ośrodkami badawczymi w kraju i za granicą to ważna część rozległej działalności Profesora Szebiotki. Osobiste kontakty z naukowcami i aktywny udział w wielu kongresach i konferencjach naukowych krajowych i zagranicznych oraz liczne funkcje w towarzystwach naukowych umacniały Jego pozycję naukową.

Z ważniejszych funkcji pełnionych poza uczelnią należy wymienić udział Profesora w pracach Rady Naukowej i Technologicznej przy Ministrze Przemysłu Spożywczego i Skupu oraz przy Ministrze Rolnictwa i Gospodarki Żywnościowej, funkcję Przewodniczącego Komitetu ds. tworzenia programu rządowego PR-4 dotyczącego produkcji i wykorzystania białka. Był także członkiem Rad Naukowych wielu Instytutów Resortowych i Centralnych Laboratoriów.

Profesor Szebiotko współdziałał z organizacjami międzynarodowymi, m.in. FAO i IAU. Trzeba również wspomnieć Jego wieloletnią działalność w Komitecie Technologii i Chemii Żywności PAN, który w tym czasie miał znaczący wpływ na kształtowanie się kierunków badawczych w polskiej nauce o żywności.

Profesor Szebiotko otrzymał wiele wyróżnień państwowych, odznaczeń, medali i nagród, w tym: Krzyż Kawalerski Orderu Odrodzenia Polski, Złoty Krzyż Zasługi, Order Zasłużonego Nauczyciela PRL, Nagrody Ministra Nauki, Szkolnictwa Wyższe-

go i Techniki, Odznakę Zasłużonego Pracownika Rolnictwa, Odznakę Zasłużonego Pracownika Przemysłu Spożywczego i Skupu, Medal 150-lecia Cukrownictwa Polskiego, Honorową Odznakę Komitetu ds. Radia i Telewizji, Nagrodę i Odznakę Miasta Poznania. W 2006 roku został Laureatem Złotego Hipolita.

Podsumowując, trzeba podkreślić wielki wkład Profesora Kazimierza Szebiotki w kształtowanie oraz rozwój technologii i nauki o żywności, w tym również tworzącej się nowej dziedziny – biotechnologii, zarówno na Uczelni, jak i w Polsce. Profesor odegrał również silnie opiniotwórczą rolę w kształtowaniu się kierunków rozwoju wielu obszarów nauk rolniczych zarówno w środowiskach naukowych, jak i przemysłowych. Powołanie Profesora Szebiotki do pełnienia funkcji Rektora z wyboru, w trudnych czasach stanu wojennego, było ważnym, ale i trudnym wyzwaniem, z którego w pełni się wywiązał. Było również świadectwem jego wielkiego autorytetu zarówno jako naukowca, jak i jako człowieka oddanego bez reszty Uczelni. Należy podkreślić Jego wyjątkową życzliwość i wszechstronną pomoc, jaką był gotów zawsze ofiarować młodszym adeptom nauki. Dotyczyło to nie tylko spraw rozwoju naukowego, ale także daleko idącej pomocy Profesora w rozwiązywaniu problemów życiowych i bytowych bliskich Mu współpracowników.

Profesor Kazimierz Szebiotko zmarł w Puszczykowie 19 listopada 2014 roku. Na zawsze pozostanie we wdzięcznej pamięci swoich wychowanków.

Zbigniew Czarnecki, Jacek Nowak

TECHNOLOG ŻYWNOŚCI

INFORMATOR POLSKIEGO TOWARZYSTWA TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI

Rok 25 Nr 5

październik 2015

DZIAŁALNOŚĆ TOWARZYSTWA

Zarząd Główny

Wiceprezes PTTŻ, prof. dr hab. Danuta Kołożyn-Krajewska uczestniczyła w konferencji pt. „Sieć na rzecz innowacji w rolnictwie i na obszarach wiejskich sposobem na zapewnienie zrównoważonego i inteligentnego rozwoju polskiej wsi.”, która odbyła się 3 i 4 listopada 2015 r. w Centrum Doradztwa Rolniczego z siedzibą w Brwinowie. Celem Konferencji było zapoznanie uczestników z zagadnieniami dotyczącymi funkcjonowania Sieci, w tym roli brokerów innowacji w organizacji grup operacyjnych, przedstawienie możliwości finansowania wdrażania innowacji w ramach działania „Współpraca” w Programie Rozwoju Obszarów Wiejskich w latach 2014 - 2020 oraz umożliwienie transferu wiedzy i innowacji poprzez przedstawienie przykładów innowacyjnych projektów, technologii i badań w rolnictwie.

Rozstrzygnięto konkurs na najlepszą publikację w 2014 roku w czasopiśmie Żywność. Nauka. Technologia. Jakość. Jury wyróżniło:

- w kategorii prac przeglądowych:
 - Krzysztof Dwiecki, Małgorzata Nogala-Kałużka, Krzysztof Polewski: Zastosowanie kropek kwantowych do oznaczania składników i zanieczyszczeń żywności. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2014, 3 (94), 5-13;
- w kategorii prac oryginalnych:
 - Elżbieta Klewicka, Katarzyna Śliżewska, Adriana Nowak: Ocena przeżywalności bakterii *Lactobacillus* zawartych w preparacie probiotycznym podczas pasażu w symulowanym przewodzie pokarmowym. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2014, 6 (97), 170-181.

Gratulujemy!

WAŻNIEJSZE MIĘDZYKRAJOWE I KRAJOWE
KONFERENCJE NAUKOWE W 2015 I 2016 r.

2015

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

Listopad

17 - 18 WARSZAWA = IX Konferencja Naukowa z cyklu: „Jakość i bezpieczeństwo żywności”, nt. „Systemy zarządzania bezpieczeństwem i jakością żywności – teraźniejszość i przyszłość”

Organizatorzy: Oddział Warszawski PTTŻ, Wydział Nauk o Żywności SGGW

Informacje: <http://kizop.sggw.pl/konferencjapttz/>

Kontakt: konferencja_pttz@sggw.pl

2016

Luty

5 POZNAŃ = II Wielkopolska Konferencja – Nauka Gospodarce Żywnościowej, nt. „25 lat technologii żywności w warunkach gospodarki rynkowej”

Organizatorzy: Oddział Wielkopolski PTTŻ, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu

Kontakt: konferencja.sekretariat@gmail.com

Kwiecień

7 - 8 PIEŠŤANY, Słowacja = XIII Scientific Conference with International Participation “Food Safety and Control”

Informacje: www.bezpecnostpotravin.sk

Kontakt: Jozef.Golian@uniag.sk

Wrzesień

12 - 16 WARNA, Bułgaria = 20th IGWT Symposium "Commodity science in a changing world".

Informacje: <http://igwt2016.ue-varna.bg/>

22 - 23 KRAKÓW = XII Konferencja Naukowa z cyklu „Żywność XXI wieku“, nt. „Żywność a innowacje“

Organizatorzy: Oddział Małopolski PTTŻ, Wydział Technologii Żywności UR w Krakowie

Informacje: <http://www.pttzm.org>

Kontakt: zywnoscxxi@pttzm.org

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.**

Materiał zawarty w Nr 5 (102)/2015 Biuletynu podano według stanu informacji do 15 sierpnia 2015 r. Materiały do Nr 6 (103)/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. Chełmońskiego 37/41, 51-630 WROCŁAW Tel.: 71 320 50 38; e-mail: agnieszka.kita@wnoz.up.wroc.pl
SEKCJE	
Dr Karol Krajewski Ekonomiczna	Politechnika Koszalińska, ul. Kwiatkowskiego 6e, 75-343 KOSZALIN Tel.: 609 807 618; e-mail: janjasiencyk@poczta.onet.pl
Dr inż. Arkadiusz Żych Technologii Mięsa	ZUT, ul. Kazimierza Królewicza 3, 71-550 SZCZECIN Tel.: 91 449 66 00 wew. 6583; e-mail: arkadiusz.zych@zut.edu.pl
Dr hab. Magdalena Rudzińska Chemii i Technologii Tłuszczów	UP, Ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ Tel.: 61 848 72 76; e-mail: magdar@up.poznan.pl
Prof. dr hab. Antoni Golachowski Technologii Węglowodanów	UP, ul. Chełmońskiego 37/41, 51-630 WROCŁAW Tel.: 71 320 77 68; e-mail: antoni.golachowski@up.wroc.pl
Dr hab. inż. Piotr Gębczyński, prof. nadzw. Technologii Owoców i Warzyw	UR, ul. Balicka 122, 30-149 KRAKÓW e-mail: rrgebczy@cyf-kr.edu.pl
Mgr inż. Monika Przeor Młodej Kadry Naukowej	UP, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 POZNAŃ e-mail: m.przeor@au.poznan.pl